

살충성 물질 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate의 유전독성 평가

이제봉* · 성하정 · 정미혜 · 권오경 · 이해근 · 김영구

농촌진흥청 농업과학기술원 농약안전성과

요약 : 벼멸구에 대해 살충성이 있는 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate를 신농약으로 개발할 목적으로 변이원성 시험, 즉 유전자복귀돌연변이, 염색체이상 및 소핵시험을 수행하였다. *Salmonella typhimurium*을 이용한 복귀돌연변이원성을 TA1535, TA1537, TA98과 TA100 균주를 이용하여 시험한 결과 대사활성화물질(S-9mix)의 첨가여부에 관계없이 유전자에 이상을 미치지 않았으며, CHL세포에 대한 세포독성은 EMEM 배지에서 LC_{50} 이 $200 \mu\text{g/ml}$ 이었으므로 $200 \mu\text{g/ml}$ 을 최고농도로 공비2, 농도4로 염색체이상시험을 실시한 결과 200과 $100 \mu\text{g/ml}$ 에서 이상세포가 나타났으나 양성으로 판정되지는 않았다. 2-Carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate가 ICR 마우스의 골수세포에 미치는 영향을 탐색하기 위해 실시한 소핵시험에서도 음성대조, 양성대조 및 시험물질처리 군에서 PCE 및 MNPCE의 출현율이 모두 정상범위 내에 있어서 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate가 ICR 마우스의 골수세포에 소핵을 형성시키지 않는 것이 확인되었다. 이상의 결과를 종합할 때 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate는 미생물, 배양세포 그리고 생체 내에서 유전물질에 영향을 주지 않는 물질인 것으로 판단된다. (1998년 6월 10일 접수, 1998년 7월 30일 수리)

Key words : 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate, mutagenicity, Ames test, chromosome aberration test, micronucleus test.

서론

농약의 개발은 고도의 정밀화학 분야로서 안전성 확보와 평가방법의 다양성으로 인하여 새로운 농약의 개발에 소요되는 시간은 약 10~20년이고, 개발경비는 200~300억원 정도가 되며 그 개발 확률은 1/3만~1/3만5천으로 매우 낮다고 한다(Gesrh, 1990). 농약의 개발을 위해서는 급성독성과 변이원성 등 단 기간 내에 수행할 수 있는 시험을 통하여 안전성을 예측한 후 농약으로서의 개발 여부를 판단하게 된다 (Ashby, 1986; 농약공업협회, 1992).

1970년대 후반부터 화학물질에 대한 환경오염 및 인체에 미치는 영향, 특히 발암성, 변이원성 등에 대한 관심이 고조되면서 이들을 평가하는 다양한 시험법이 개발되었다. 단 기간 내에 수행할 수 있는 변이원성시험은 유전자, 염색체 그리고 DNA 등에 어떤 영향을 주는가를 여러 가지 방법으로 시험하여 시험물질의 유전독성을 평가하고 그 결과를 토대로 발암성을 예측하기도 한다 (Maron과 Ames, 1983; Hayes, 1989).

2-Carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate는 5-chloro salicylic acid를 모화합물로 하여 합성되었으며, 벼멸구에 대한 살충력이 우수하여 신농약으로 개발될 가능성이 있는 물질이다. 2-Carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate는 실험동물에 투여했을 때 설사, 운동실조, 유루 등의 임상증상이 관찰되었고, 급성경구독성 및 급성경피독성의 LD_{50} 이 각각 715 mg/kg, 2,000 mg/kg 이상이며 급성어독성이 10 mg/l 이상인 것으로 보고되었다(농과원 연구보고서, 1994).

이 시험에서는 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate가 인축의 유전물질에 미치는 영향을 평가하기 위하여 유전독성 시험을 수행하였다. 각국마다 유전독성 시험체계가 일정치는 않으나 미국, 일본등 선진국에서는 주로 3가지 이상의 시험을 실시하여 다양한 각도로 나타날 수 있는 유전독성을 평가하고 있다 (US/EPA guideline, 1982). 이 시험에서도 *Salmonella typhimurium*을 이용한 유전자 복귀돌연변이시험, chinese hamster lung fibroblast 세포를 이용한 염색체이상시험 그리고 마우스 골수세포를 이용한 소핵시험을 실시하여 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate에 대한 발암성을 예측하고 신농약으로서 개발 가능성을 탐색하였다.

* 연락처

재료 및 방법

시험물질 및 시약

2 - Carbomethoxy - 4 - chlorodiethyl phosphate는 농촌진흥청 농업과학기술원 농약개발과에서 합성한 것을 DMSO (Fluka, AG)에 적당한 농도로 녹여 사용하였으며, 양성대조 물질인 2 - aminofluorene, sodium azide, mitomycin - C, benzo [a] pyrene, 2 - nitrofluorene, ICR - 191 등은 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 사용하였다. 그 밖의 일반시약은 Sigma Chemical Co., 배지는 Difco 및 Gibco에서 구입하였으며 일반 시약은 시중에서 구입하여 사용하였다.

사용균주 및 세포

시험에 사용한 *Salmonella typhimurium* TA1535, TA 1537, TA 100, TA 98은 국립보건안전연구원 유전독성과로부터 분양 받았으며, 그 유전적 특성은 표 1과 같다. 각 균주는 Maron과 Ames (1983)가 제시한 방법에 따라, 본시험에 앞서 histidine 요구성, crystal violet 감수성, UV 감수성, 항생제 내성과 자발 복귀빈도 등의 유전적 특성을 확인하였다. 각 균주는 -70℃로 동결 보존된 것으로부터 직접 10 ml의 nutrient broth에 접종하여 37℃ 회전식 진탕 배양기에서 12시간 배양하여 시험에 사용하였다.

Table 1. Genotypes of the TA strains used for mutagenicity test

TA strains ^{a)}	Genotypes of TA strains			
	Histidine mutation	LPS	Repair	R-factor
TA 1535	his G46	rfa ^{b)}	Δ uvr B ^{c)}	-
TA 1537	his C3076	rfa	Δ uvr B	-
TA 98	his D3052	rfa	Δ uvr B	pKM 101
TA 100	his G46	rfa	Δ uvr B	pKM 101

^{a)}All strains were originally derived from *S. typhimurium* LT2.

^{b)}rfa mutation; partial loss of the lipopolysaccharide barrier.

^{c)} Δ uvr B; deletion of gene coding for the DNA excision repair system.

염색체이상시험에 사용한 세포는 chinese hamster lung (CHL) fibroblast cell로서, 염색체 수는 25개이며 세포주

기는 15시간이다. 배양액은 5% fetal bovine serum (FBS, Gibco)과 1%의 antibiotic - antimycotic용액 (100×용액, Gibco)을 포함한 Eagle's minimal essential medium (EMEM, Gibco)을 사용하여, 포화 습도 하에서 5% CO₂를 공급하는 37℃의 배양기에서 배양하였다. 배양된 세포는 3~5일마다 0.25% trypsin - EDTA (Gibco)용액을 사용하여 계대 유지하였다.

Rat 간 S9 mix의 조제

Sprague-Dawley계 수컷(체중 약 200~250 g, 8주령)에 약물대사 효소계 유도제인 arochlor 1254를 500 mg/kg 무게 1회 복강내 투여하였다. 투여 5일째에 경추 탈골에 의해 도살하여 간장을 적출하고 관류하여 혈액을 제거한 후 3배의 0.15M KCl 용액으로 균질화하였다. 이것을 9,000×g에서 원심분리하여 얻어진 상층액 0.1 ml을 nutrient agar 배지에 도달한후 12시간 배양하여 무균성을 확인하였다. 이와 같이 얻어진 효소액(S9 fraction)을 사용할 때까지 -70℃에서 동결보존 하였다. S9 mix의 조제는 실험실시 직전에 혼합하여 직경 0.45 μ m 여과지로 여과하여 사용하였다.

복귀돌연변이 시험

2 - Carbomethoxy - 4 - chlorodiethyl phosphate의 예비 독성시험에서 결정된 최고 농도인 400 μ g/plate부터 공비 2로 5단계 농도를 설정하여 시험하였다. 그 밖에 양성 및 음성대조를 두었으며, 모든 검체를 전배양법(preincubation method)을 이용하여 시험관(13 mm×100 mm)에 각 배양균 0.1 ml, 시험물질 0.1 ml 및 0.2M 인산완충용액 (pH 7.4) 0.5 ml (대사활성화법에서는 S-9 mix 0.5 ml)을 넣어 혼합한후 30분간 37℃에서 진탕배양하였다. 그 다음 top agar 2 ml을 첨가하여 혼합하고 glucose 한천 평판배지에 접종하여 37℃에서 48시간 배양한 후 복귀돌연변이 빈도를 수동식 집락계수기로 계수하였다. 복귀돌연변이 집락의 수는 3개의 plate의 평균치로 나타내었고, 돌연변이 유발성의 판정은 음성대조에 비해 2배 이상의 집락을 나타내며 용량 의존적일 때 양성으로 평가하였다.

염색체이상시험

2 - Carbomethoxy - 4 - chlorodiethyl phosphate의 예비독성

시험에서 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 약 50% 세포생장을 억제하였으므로 본시험에는 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 최고농도로 4 단계를 공비 2로하여 용매 대조군과 양성대조군을 설정하여 시험하였다. 염색체이상시험은 CHL세포를 60mm 일회용 플라스크 배양접시에 $1 \times 10^5/\text{ml}$ 되도록 접종하여 3일간 배양한 다음, 각 시험물질과 양성대조 물질 등을 함유하는 배양액으로 교환하여 22시간 동안 배양하였다. 각 배양접시에 colcemid(Gibco)를 1 μM 되도록 처리한 후 2시간 동안 더 배양하여 검체의 총 처리시간이 24시간이 되도록 하였다. 0.25% trypsin-EDTA를 처리하여 15 ml 원심관에 세포를 모은 다음 37°C의 저장액(0.075M KCl) 10 ml에 잘 현탁시켜 37°C 수조에 15분간 방치하고, 고정액(methanol : acetic acid, 3 : 1, v/v)으로 3회 고정시킨 후 슬라이드를 제작하였다. 제작된 슬라이드는 공기 건조법으로 건조하여 5% gimsa용액에 15분간 염색하여 현미경으로 관찰하였다. 양성대조 물질로는 mitomycin-C 0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 사용하였으며, 결과의 관찰은 구조이상으로 염색분체 gap, 염색분체 절단, 염색분체 교환, 염색체 절단, 염색체 교환으로 구별하여 판독하였으며, 배수체를 계수하여 염색체의 수적 이상을 평가하였다. 결과의 평가는 5%미만이면 음성, 5%이상 10%미만이면 의양성으로 판단하였으며 그이상의 이상염색체 출현시는 양성으로 판정하나 농도 의존적인지 여부를 참조하여 판정하였다.

설치류를 이용한 소핵시험

본 연구소에 사육한 ICR 마우스(7주령)를 온도 23±1°C, 습도 55±5%, 배기 10~18회/시간, 명암교대 12시간 주기, 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 폴리카보네이트 케이지에 10마리씩 넣에 사육하였다. 사료는 삼양사로부터 구입한 마우스용 고품사료를 자유로이 급식시켰으며, 음용수는 수도물을 자유공급하였다.

시험물질인 2 - carbomethoxy - 4 - chlorodiethyl phosphate는 옥수수기름에 녹여서 투여하였다. 투여량은 예비 급성경구독성 시험결과 LD₅₀이 700~800 mg/kg 이었으므로 400 mg/kg를 최고농도로하여 공비 2로 5단계, 투여경로를 경구와 복강으로 하여 시험하였다. 용매 대조물질로는 옥수수기름을 20 ml/kg, 양성 대조물질은 mitomycin-C를 주사용 증류수에 녹여 2 mg/kg 투여하였다.

시험물질 투여후 24시간에 경추탈골에 의해 도살한 동물의 양쪽 대퇴골을 적출하고, 미리 준비된 0.5 ml

fetal bovine serum(FBS, Gibco)을 주입한 1 ml주사기(23 gauge 주사침)를 삽입하여 골수를 채취하고 부유액을 1,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상정액을 제거한 후 침전된 골수를 파스퇴르 피펫으로 소량의 혈청에 고르게 현탁시켜 청결한 슬라이드에 떨어뜨린 후 도말하고 공기중에서 충분히 건조시킨 다음 메탄올에 5분간 고정하였다. 고정된 슬라이드를 건조시켜 5% Gimsa액에 30분간 염색하였다. 염색 후 동일 완충액에 1회 세척하고 0.004%의 구연산수용액에 수초간 점적한 다음 증류수에 수회 세척하고 공기중에서 건조시켜 1,000배의 광학현미경(Zeiss Axiolab[®])으로 Schmid 등(1975)의 방법에 따라 검경하였다. 결과의 판정은 마우스 1개체당 1,000개의 적혈구에서 다염성적혈구(polychromatic erythrocyte, PCE)와 정염성적혈구(normochromatic erythrocyte, NCE)의 비를 구하고 다시 1,000개의 다염성 적혈구중에서 소핵을 가진 다염성 적혈구(micronucliated polychromatic erythrocyte, MNPCE)의 출현빈도를 구하였다. 계수시 소핵의 크기는 세포 직경의 1/2로부터 관찰 가능한 범위까지로 하였으며 주변 유핵세포의 핵과 염색상이 동일한 것을 선택하였다.

결과 및 고찰

미생물을 이용한 복귀돌연변이 시험

시험물질인 2 - carbomethoxy - 4 - chlorodiethyl phosphate의 복귀돌연변이 시험결과 직접법 및 대사활성화법의 모든 투여용량에서 시험 균주인 TA98, TA100, TA1535 및 TA1537에 대한 복귀돌연변이 집락수는 Ames 등(1982)이 제시한 자연복귀돌연변이 수준이었으며 음성 대조군과 유사하게 나타났다. 반면 양성대조 물질들은 각 시험농도에서 표 2에서 보는 바와 같이 음성대조군의 수배에서 수백 배에 이르는 균총수를 나타내었다. 이와같은 결과는 2 - carbomethoxy - 4 - chlorodiethyl phosphate가 유전자 상에서 염기서열의 치환이나 염기서열에서의 절단에 의한 변이가 유발되지 않는다는 것을 의미하며, 유전자 이상을 초래하지 않는 물질인 것으로 판명되었다.

CHL세포 주를 이용한 염색체이상 시험

염색체이상 시험은 처리 농도 설정을 위한 세포 독성 시험과 염색체이상 시험으로 나누어 시험하였다. 세포독

Table 2. Reverse mutagenic effect of 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate(CMCP) in preincubated with *S. typhimurium* (Mean \pm S.D)

Compound	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 mix	Number of revertant colony			
			TA1535	TA1537	TA98	TA100
DMSO	50 μl	-	12 \pm 1	7 \pm 1	37 \pm 10	111 \pm 6
CMCP ^{a)}	400	-	13 \pm 6	8 \pm 5	32 \pm 4	150 \pm 14
	200	-	16 \pm 1	8 \pm 2	22 \pm 9	141 \pm 14
	100	-	17 \pm 7	7 \pm 3	32 \pm 6	138 \pm 19
	50	-	13 \pm 4	7 \pm 3	25 \pm 2	131 \pm 9
	25	-	16 \pm 6	8 \pm 2	27 \pm 2	131 \pm 10
SAZ ^{b)}	25	-	16 \pm 6	8 \pm 2	27 \pm 2	131 \pm 10
ICR191	1.5	-	52 \pm 11	-	-	314 \pm 38
2-NF ^{c)}	1.0	-	-	2870 \pm 139	-	-
	1.0	-	-	-	624 \pm 1	-
DMSO	50 μl	+	9 \pm 4	5 \pm 2	-	103 \pm 15
CMCP	400	+	5 \pm 3	4 \pm 2	-	68 \pm 5
	200	+	8 \pm 1	3 \pm 1	-	82 \pm 19
	100	+	8 \pm 1	4 \pm 1	-	103 \pm 15
	50	+	7 \pm 1	3 \pm 1	-	81 \pm 18
	25	+	8 \pm 1	4 \pm 1	-	93 \pm 2
2-AF ^{d)}	10	+	30 \pm 7	21 \pm 10	-	585 \pm 12

^{a)}CMCP: 2-Carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate, ^{b)}SAZ : Sodium azide, ^{c)}2-NF : 2-Nitrofluorene, ^{d)}2-AF : 2-Aminofluorene.

Table 3. The results of chromosome aberration test by 2 - carbomethoxy - 4 - chlorodiethyl phosphate (CMCP) in chinese hamster lung fibroblast cell treated for 24 hours

Compound	Dose (mg/ml)	Treatment time (hr)	Frequencies of aberrant cells					Normal cells	Scored
			ctg ^{a)}	ctb ^{b)}	cte ^{c)}	csg ^{d)}	csb ^{e)}		
Control	---	24	2					98	100
CMCP	0.2	"	2	1	1			96	100
	0.1	"	5	1				94	100
	0.05	"	1	1				98	100
	0.025	"	2	1				97	100
	Mitomycin-C	0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$	"	9	7	24	3	2	55

^{a)}ctg:chromatid gap, ^{b)}ctb:chromatid breakage, ^{c)}cte:chromatid exchange, ^{d)}csg:chromosome gap, ^{e)}csb:chromosome breakage.

성시험 결과 CHL세포의 EMEM배지 내에서 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate의 LC₅₀은 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었으므로 염색체이상시험의 처리농도를 200, 100, 50 그리고 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 시험하였다.

염색체이상 시험 결과는 표 3에서 보는 바와 같이 음성 대조물질인 옥수수기름을 투여한 군에서는 chromatid gap이 2, chromatid breakage가 1세포씩 나타났으며, 양성 대조물질인 mitomycin-C가 처리된 군에서는 chromosome 및 chromatid에서 다양한 이상이 나타나 하 등(1991)이

실험한 결과와 유사한 50% 이상의 높은 출현율을 보인 반면, 시험물질인 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate는 이상세포 출현율이 200 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 각각 4 및 5% 정도로 나타났고 그 이하의 농도에서는 염색체이상 출현율이 3% 이하로서 자연발생을 수준으로 나타났다.

이와 같은 결과는 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate가 높은 농도에서도 염색체에 영향을 미치지 않는 물질인 것을 의미한다.

마우스를 이용한 소핵시험

마우스를 이용한 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate의 소핵시험 결과 표4와 같이 음성 대조물질인 옥수수기름 투여군의 MNPCE는 경구 0.20±0.08 및 복강 0.10±0.10이고, 전체 적혈구중 PCE 출현율은 경구 및 복강투여 군에서 각각 0.554±0.01 및 0.583±0.01로 나타났다. 양성대조물질인 mitomycin-C 처리군의 MNPCE 출현율은 경구 및 복강투여 군에서 각각 0.83±0.40 및 5.05±0.15를 나타내었으며 PCE 출현율은 경구투여 군에서 0.495±0.01, 복강투여 군에서 0.495±0.03으로 나타났다. 시험물질인 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate의 MNPCE는 0.23±0.05~0.10±0.08범위에 있었으며, PCE역시 0.461±0.01~0.582±0.01범위내에 있었다. 이와 같은 결과는 Benning 등(1992)이 mitomycin-C에 대해 실험한 성적과 유사하여 전체적인 시험조건을 만족시켰다. 따라서 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate에 대한

소핵시험 결과 자연 소핵 발생율인 0.2% 내외이기 때문에 생체내에서 염색체에 변이를 일으키는 물질이 아닌 것으로 평가되었다.

인용문헌

Ames, B. N., J. McCann and E. Yamasaki (1975) Method for detecting carcinogens and mutagens with *salmonella*/mammalian-microsomal mutagenicity test. *Mutation Res.* 31:347~364.

Ashby, J. (1986) The prospects for a simplified and internationally harmonized approach to the detection of possible human carcinogens and mutagens. *Mutagenesis* 1:3~16.

Benning, V., F. Depasse, C. Melcion and A. Cordier (1992) Detection of micronuclei after exposure to mitomycin-C,

Table 4. Effect of administration route and concentration of 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate(CMCP) on MNPCE ratio and PCE/(PCE+NCE) in male mouse bone marrow (Mean±S.D)

Compound	Dose (mg/kg)	Per oral		Intraperitoneal	
		MNPCE ratio ^{a)} (%)	PCE/(PCE+NCE) ^{b)}	MNPCE ratio(%)	PCE/(PCE+NCE)
Corn oil	20 _{ml}	0.15±0.05	0.497±0.02	0.15±0.05	0.469±0.02
	200	0.15±0.05	0.455±0.01	0.20±0.00	0.520±0.01
	100	0.10±0.00	0.449±0.01	0.50±0.20	0.570±0.01
	50	0.40±0.00	0.458±0.02	0.25±0.05	0.557±0.02
	25	0.25±0.05	0.444±0.05	0.30±0.00	0.548±0.02
MMC ^{c)}	2	1.15±0.15	0.402±0.01	5.75±0.65	0.493±0.01

^{a)}MNPCE(%):Micronucleated polychromatic erythrocytes/1000 polychromatic erythrocytes, ^{b)}NCE:Normochromatic erythrocytes, ^{c)}MMC:mitomycin-C.

Table 5. Effect of administration route and concentration of 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate on MNPCE ratio and PCE/(PCE+NCE) in female mouse bone marrow (Mean±S.D)

Compound	Dose (mg/kg)	Per oral		Intraperitoneal	
		MnNPCE(%) ratio ^{a)}	PCE/PCE+NCE ^{b)}	MnNPCE(%) ratio	PCE/PCE+NCE
Cornoil	20 _{ml}	0.20±0.08	0.544±0.01	0.10±0.10	0.582±0.01
CMCP	200	0.23±0.05	0.582±0.01	0.15±0.05	0.504±0.03
	100	0.23±0.05	0.543±0.01	0.25±0.05	0.461±0.01
	50	0.17±0.05	0.550±0.01	0.25±0.05	0.551±0.01
	25	0.10±0.08	0.491±0.03	0.15±0.15	0.476±0.01
MMC ^{c)}	2	0.83±0.40	0.495±0.01	5.05±0.15	0.495±0.03

^{a)}MNPCE(%) : Micronucleated polychromatic erythrocytes/1000 polychromatic erythrocytes,

^{b)}NCE : Normochromatic erythrocytes, ^{c)}MMC : mitomycin - C.

- cyclophosphamide and diehtylnitrosamine by the *in vivo* micronucleus test in mouse splenocytes. *Mutation Res.* 280:137~142.
- EPA (1982) EPA Guidelines(series 84, Mutagenicity).
- EPA (1986) EPA Guidelines for mutagenicity risk assessment. Fed. Register 51:34006~34012.
- Gesrh, N. G. E. (1990) Trends in agriculture and the agrochemicals ICI, UK.
- Hayes, A. W. (1989) Genetic toxicology in principle and methods of toxicology. pp.407~435, Raven Press, USA.
- Maron, D. H. and B. N. Ames (1983) Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.* 113:173~215.
- Motoi, I. J. and O. Youichi (1989) Negative micronlus tests on caprolactam and benzoin in ICR/JCL male mice. *Mutation Res.* 224:357~359.
- 권오경, 성기석, 김영구, 이희삼, 황보선 (1992) 피마자잎의 베타글루칸 살충성분을 이용한 식물성 농약 개발. 농시 논문집 34:127~137.
- 농약공업협회 (1992) 농약-세론과 정론. pp. 48~56.
- 이제봉, 신진섭, 양재설, 이해근, 권오경, 정영호 (1993) Ricinine과 2종 살균제가 유전자 이상에 미치는 영향. 농업논문집 35(1):430~434.
- 이제봉, 성하정, 정미혜, 이해근 (1994) Ricinine 유도체의 독성시험. 농업과학기술원 연구보고서 pp.461~469.
- 하광원 (1993) 외용색소의 변이원성에 대한 연구. 국립보건안전연구원보 pp.401~417.

Mutagenicity evaluation of insecticidal 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate in short-term bioassays

Je-Bong Lee*, Ha-Jung Sung, Mi-Hye Jeong, Oh-Kyung Kwon, Hae-Keun Lee, and Young-Koo Kim(Pesticide Safety Division, National Institute of Agricultural Science and Technology, RDA, Suwon 441-707, Korea)

Abstract : For evaluating the mutagenic potential of 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate, three different short-term mutagenicity tests were used ; *Salmonella typhimurium* preincubation assay with and without rat liver microsomal activation, chromosome aberration test in cultured chinese hamster lung fibroblast cell and *in vivo* micronucleus test in male mice bone marrow. In *Salmonella typhimurium* reverse mutation assay using TA98, TA100, TA1535 and TA1537, 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate did not show any mutagenic response in the presence and absence of S9 mix. It did not induce any significant structural chromosome aberrations in the absence of metabolic activation. In micronucleus test using ICR mice, the frequency of micronucleated polychromatic erythrocytes (MNPCE) increased in bone marrow cells treated with positive control, mitomycin-C, but 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate did not increase micronucleated polychromatic erythrocytes. These results indicate that 2-carbomethoxy-4-chlorodiethyl phosphate does not show any positive responses in short-term genotoxicity assays.

* Corresponding author