

5 신개발 농약(살충제)의 생물검정 기술<下>

약제 처리와 약효평가

이경휘 / 유재기

농약연구소 농약생물과

4. 약제처리방법 및 평가분석

가. 약제, 처리법

약제의 처리방법은 그 약제의 작용특성이나 이용목적에 따라 달라지며 스크리닝 방법도 목적하는 대상 곤충이나 피처리물의 종류에 따라서 여러가지 방법으로 실시되고 있다. 더우기 최근 개발되는 신물질들은 여러가지 작용 특성을 가지고 있어 한가지 방법으로 효력평가를 하는 것은 매우 위험한 일이 아닐수 없다. 그러므로 실내 및 실온에서 실시되고 있는 살충제 스크리닝 방법도 여러가지의 실험기구 발명과 함께 다양화되고 있으며 단계별로 몇개의 실험방법을 병행실시하고 있다. 여기에서는 신화합물의 실내 스크리닝의 몇가지 약제처리방법을 아주 간단히 알아보기로 한다.

1) 분무법 (Spraying method)

분무법(살포법)은 살충제의 효력검정에 가장 널리 적용되는 방법으로 짧은 시간내에 많은 양을 처리할 수 있고 여러가지 방법으로 처리할수 있다는 잇점이 있으며 최근 신화합물의 첫단계 스크리닝에서 가장 많이 활용되고 있는 방법이다. 살충검정에 사용되고 있는 살포용구나 장치는 매우 다양하나 공기의 압력에 의한 노즐을 통하여 분무된다는 점에서는 공통된다. 그러므로 압력과 노즐에 의하여 결정되는 입자의 크기는 살충률에 영향을 주는 매우 중요한 요인이다.

○분무탑(Spray tower)법

분무탑은 처음 Tattersfield와 M-orris 등에 의하여 고안되었으며 그 후 여러 연구자에 의하여 개량되었다. 이 방법은 일정한 높이에서 일정한 양의 약액을 살포함으로써 좋은 반복성(Repeatability)과 소형 목표물에 좋은 살포 효과를 보여주기 때문에 미소 곤충이나 살란효과 시험등에 많이 이용된다.

○포터(Potter tower)법

Potter 씨에 의하여 고안된 이 분무탑법은 비교적 광범위한 공시충에 쓰이며 노즐이 탑의 정상중심에 수평으로 고정되어 있어 정량한 시약을 넣게끔 저장관이 붙어 있기 때문에 한번 약제가 처리되면 신선공기와 기압을 충분히 회복시키는 것이 다른 분무탑과 다르다. 최근 영국의 Bukard 사 제품이 여러나라에서 많이 쓰이고 있으며 특히 1차 스크리닝에 꼭 필요한 실험기구로 자리하고 있다.

2) 침지법(Dipping method)

침지법은 공시충이나 식물체를 약액에 직접 담그는 방법으로 실제 농약 사용과는 매우 다른 방법이지만 살충력 검정에 있어 처리조작이 간편하고 성적의 오차가 적으며 타 처리 방법에 비하여 약제간에 효력 차이가 분명하게 나오기 때문에 오

래전 부터 써오고 있다. 그러나 이 처리방법의 문제점은 공시충의 영양상태, 층태나 령기의 차이, 침지시간, 침지온도 등인데 표1에서와 같이 약제에 따라 식물체 잎을 침지한 것과 공시충을 직접 침지한 것의 살충률 차이가 현저함을 알수 있다. 이는 약제의 특성상 작용특성이 다르기 때문이다. 즉 침지법은 접촉제와 소화 중독제에서 살충효과를 기대할 수 있을 뿐이다.

○Shepard & Richardson법

이 방법은 니코틴제나 피레스로이드계의 화합물과 같은 접촉제의 활성을 검정 비교할때 많이 사용되며 상당히 정확한 평가방법으로 알려져 있다. 이 방법에 많이 사용되는 공시충은 진딧물류 등이다. 진딧물 시험을 예로들면 시험관에 진딧물을 일정수 옮긴후 회석된 약액을 시험관에 반쯤 채워 붓고 진딧물의 이동을 막기 위해 약액표면에 면(綿)으로 된 거즈등을 띄워둔다. 침지시간은 대상해충이나 목적하는 시험에 따라 다르며 침지가 끝난후 약액과 공시충을 자기판(瓷器板)에 쏟아 부은 다음 부드러운 붓등으로 공시충을 여지(濾紙)등에 옮겨 공시충체에 남아있는 약액이 여지에 흡수되게 한다. 이후 식이식물등에 옮겨서 온도 25℃ 내외, 습도 65~70%의 조건에서 1~2

〈표 1〉. 약제처리방법에 따른 약제별 담배거세미나방 살충률

처리방법	약 제 명	처리 1일후 살충률 (%)		
		25ppm	100 ppm	250ppm
엽 침 지	methomyl	13	87	100
	acephate	13	43	63
	prothiophos	63	100	100
	phenthoate	80	73	100
층체침지	methomyl	53	93	100
	acephate	30	27	19
	prothiophos	17	7	37
	phenthoate	20	27	19

시간 혹은 24시간 보존한후 살충률을 조사한다. 이 시험방법에서는 대개 침지시간을 고정하고 약액의 농도를 다르게 하여 시험하는 것이 보통이나 농도를 고정시키고 침지시간의 장단을 조정하여 시험하는 경우도 많다.

○ Slide dip method

이 시험 방법은 Voss 씨가 개발하여 Ditrach 씨가 보완개선했던 방법으로 응애류와 같이 미소한 해충의 정확한 시험을 위해 고안된 방법인데 Slide glass 위에 폭 1.5~2cm 정도의 양면접착테이프를 감고 그위에 부드러운 소형 붓으로 해부현미경 하에서 응애를 뒤집어 붙이는데 한개의 Slide glass 에 보통 30~40 마리 정도를 5~10 줄로 열을 맞추어 붙인후 약액에 침지하기 전에 옆으로 붙은 것등 잘못 붙여진

응애는 제거 시킨후 희석된 약액에 5~10초간 담근다. 담근 Slide glass 는 꺼내어 여지위에 놓아 약액을 깨끗이 말린후 온도 25℃내외, 관계습도 80% 정도의 데시케이터 속에 24~48시간 보관한후 살충률을 조사한다.

○ Fleming & Baker 법

이 방법은 갑충류에 대한 접촉제 농약의 시험에 많이 쓰인다. 일벌레류등의 성충 100마리 정도를 철망 원통형의 케이지에 넣어 약액에 2분정도 침지한후 공시충을 살충률조사 케이지로 옮겨 온도 27℃, 관계습도 90~96%의 조건에서 24시간정도 보관한후 살충률을 조사하여 약효를 판정하는 방법이다. 그러나 이 방법은 공시충이 식이식물 없이 오래살지 못해 부주의시 무처리구의 자연 살충률이 높아지게 된

다. 그 밖에도 이 시험법과 유사한 방법으로 Goetz는 딱정벌레류를 한 반복에 20 마리 정도로 하여 피레스로이드계 원제를 아세톤에 용해시킨 액에 10~20초간 침지시킨후 여지 위에서 말려 시험관에 식이식물과 함께 보존하면서 살충률을 조사하는 방법을 고안하였다.

○ Morrison 법

이 방법은 초파리를 비롯하여 파리류의 성충을 대상으로 니코틴제 등과 같은 접촉제 농약의 생물검정 방법에 쓰인다. 파리류 성충 15~20 마리 정도를 높이 45mm, 직경 15mm 되는 시험관에 탄산개스로 마취시켜 넣은후 솜으로 시험관 마개를 하여 깊이 밀어넣고 주사기로 시험관에 약액을 솜마개 높이까지 채운다. 침지시간은 보통 30분내외로 하여 침지한후 처리된 공시충을 쏟아서 여지가 깔린 Petri dish나 같은 형의 Vial 등에 옮겨 5% 정도의 설탕물을 흡즙시킨 솜뭉치를 넣어주고 21℃의 실온에서 24시간 보존한 다음 살충률을 조사한다.

3) 미량 국소 처리법

(Topical application method)

국소시용법은 살충제의 직접적인 효력검정을 위해 각 분야에 적용되고 있으며 특히 최근에는 미량의

약액을 충체에 처리할수 있는 극히 정교하고 취급이 간편한 실험장치들이 개발되어 있다. 이러한 기구를 이용해 공시충의 원하는 부위에 정확히 약량을 처리하게 된다. 이 처리 방법은 본래 공시충 중량(重量)에 대한 치사약량을 비교하기 위하여 약제학, 독물학에서 널리 사용되는 방법이다. 특히 최근에는 유기합성 농약개발 초기 단계나 자연생물 농약개발 단계에서 극소량의 약량으로 살충력 유무를 판단하는데 매우 유용하게 이용된다.

이 방법을 이용할때의 주의점은 용매의 선택과 공시충체 처리국부의 선정이다. 첫째는 용매의 가용성이 높아야 하며 곤충 피부에 잘 접촉되는 것이라야 한다. 둘째로는 높은 휘발성이 있어 불과 수초내에 곤충체로부터 증발되고 살충제의 유효성분만이 남아있는 것이 좋다. 일부의 용매는 휘발하는 대신에 공시충의 피부에 침투되어 Residual film으로 남아있어 살충률을 높이는 역할을 하기 때문이다. 셋째로 충체에 약액을 처리할 국부의 형태적인 선정은 공시충의 종류나 그 크기 및 생태에 따라서 선정 되어야 하는데 동일한 약제라도 국부의 선택에 따라서 살충효과에 많은 차이를 초래한다는 보고가 있다. 대부분의 국부처리는 대체적으로 넓

고 평평한 부분 즉 전흉부의 배판(背板)이나 날개 바로 밑에 있는 장부의 배판등이 좋은 장소로 알려져 있다. 미량 국소처리 방법에서도 공시충수는 일반적으로 20~50마리 내외로 하며 보통 처리 24시간 후에 살충률을 조사한다.

4) 기타방법

○ Residual film 법

분무법등 직접약제처리법은 공시 약제를 공시충에 직접 처리 하는데 반하여 이 방법은 약제를 작물과 같은 대상처리물에 살포하여 처리한 화합물이나 약제가 공시충의 부절(跗節) 등 외피를 통하여 충체내에 흡수되게 함으로써 살충작용을 일으키게 하는 방법이다. 그러므로 Residual film 법은 직접 처리법과는 달리 약제 처리후의 여러가지 조건에 따라서 살충효과가 크게 영향을 받는다.

○ 주입법 (Injection method)

국소시용법은 공시 약제를 공시충의 외피 일부분에 낙적(落滴)하는데 반하여 주입법은 내부기관에 주입하는 방법이다. 그러므로 이 방법에 의한 시험은 특수한 기술을 필요로 한다. 이 처리법은 바퀴벌레, 메뚜기, 누에등과 같은 큰 곤충에 대하여 주로 쓰이는 방법으로 곤충의 크기에 따라 침의 구경이나

크기등을 결정하게 되는데 대체적으로 27~30 호가 많이 이용된다. 투약량에 있어서도 국소시용 처리와 거의 비슷한데 적은 곤충은 0.2~0.5 μ l 내외이며 대형 곤충에는 1~20 μ l 정도로 한다.

○ 식독법 (Stomach poison)

섭식법 (Feeding method) 또는 음독법 (Drinking method) 은 소화 중독제 (식독제) 의 약효를 평가하는데 많이 사용된다. 그러나 대부분의 살충제가 식독 뿐 아니라 접촉독을 겸비하고 있어 식독 효과만을 분리하여 평가하기란 어려운 점이 많다. 우선 섭식법 (음독법) 은 크게 두가지로 나누어 지는데 약제가 처리된 사료나 먹이에 공시충을 접촉 하여 시험하는 비한정 섭식법과 일정량의 먹이를 공급하는 한정 섭식법으로 분류된다. 이와같이 식독법에는 몇가지 방법이 있으나 사실상 노력과 시간이 많이 소요되며 여러가지의 기구장치가 필요한 경우가 많다. 그러나 독미끼제 농약개발이나 멸구류와 같은 흡즙성 해충의 특수시험에 종종 사용되고 있다.

나. 약효 평가법

살충제의 생물검정 결과를 평가하는 데는 여러가지 방법이 있으며 살충제의 효과에 있어서 그 평가를

量的반응 위에서 시험할 경우 그 결과는 공시충의 생사로부터 근거가 되는 것이다. 그러므로 농약의 효과는 한계약량의 상호 비교에 의하여 만들어지는데 공시 농약의 실제 약효를 비교할 때에는 한계약량으로 표시된 중앙치사율 또는 반수치사약량(LD₅₀)으로 비교한다.

때로는 중앙치사율 대신에 90%, 95% 치사율의 한계약량을 인용하는 때도 있다. 한편 다른 약량의 개념으로 반수치사농도(LC₅₀) 또는 반수치사 처리 시간(LT₅₀) 이나 반수 Knock-down 약량(KD₅₀) 혹은 반수 약제효과 약량(ED₅₀)으로 나타내기도 한다. 그런 의미에서 살충제의 실내실험의 경우 약량을 정확히 비교 판정할 수 있는 방법은 투약량이나 시간의 한계반응 비교율에 의해서 이루어지게 된다.

여러가지 방법으로 처리된 공시충을 일정한 조건하에서 일정기간 보존한후 약효판정을 하게 되는데 약효판정시기, 방법, 기준등이 곤충의 종류나 검정방법에 따라 다르게 된다. 살충제의 생물검정에 있어서 약제 처리된 공시충은 여러 종류의 반응을 나타내게 되며 이 반응을 편리에 따라 4가지로 구분하여 표시할 수 있다. ① 전연영향이 없는 것(unaffected), ② 약간의 영향을 받은것(affected), ③ 빈사상태인것

(moribund), ④ 죽은것(dead)으로 표시된다. 그러나 이것들은 통계적으로 종합 처리하는데 부적합하므로 약제반응의 한 단계를 택하여 이에 소요되는 약량이나 시간을 계산하게 된다. 이럴 경우 일반적으로 살충제는 곤충을 죽일 목적으로 사용되는 것이기 때문에 약제반응은 공시충중 죽은 것(dead)에 기초를 두고 조사하는 경우가 대부분이다. 물론 바퀴벌레, 파리, 모기등의 위생해충 시험에 있어서는 녹다운(Knock-down) 효과를 별도로 측정하기 위한 시험이 병행되어 조사되는 경우가 많다.

그러나 미소곤충류의 생사감별은 매우 어렵기 때문에 몇가지의 조사기준을 설정하여 조사하게 되며 일반적으로 많이 통용되는 기준을 보면 ① 발의 움직임 여부 ② 보행가능여부 ③ 배면으로 놓으면 제자리로 돌아올수 있는지의 여부 ④ 어떤 자극을 주면 움직일수 있는지의 여부등으로 생사를 판가름 하게 된다. 그러나 생사의 판별은 시험수행자에 따라 다를수 있으며 각자의 여러 경험등에 비추어 판별하는 경우가 많다.

일본에서의 살충제 시험 방법중 일반적인 생사판정 기준은 인시목충(鱗翅目虫)에 국소시용법, 주사법, 경구 투여법으로 처리한 경우 처리

24 시간 후에, 그리고 다른 처리 방법으로 처리한 경우 24~48 시간 후에 살충률을 조사하는데 정상보행이 가능한 개체는 산것으로, 그리고 부자연보행, 고비(苦悶), 완전사망 개체등을 모두 포함하여 죽은 개체로 판정한다. 또한 진딧물의 경우에 있어 국소시용법, 침지법, 살포법으로 약제처리후 24시간에 약효조사를 하게 되는데 생사의 판정 기준은 식이 식물에 정상적으로 붙어있는 것, 정상 보행이 가능한 개체를 산개체로 보고 나머지는 죽은 개체로 판단한다. 한편 속효성 살충제를 지효성 약제와 비교해보면 Time - mortality에 관한 시험에서 그 효력은 조사하는 시간에 따라 매우 다르게 되는데 대체적으로 살충률은 시간이 경과함에 따라 점차적으로 안정 상태가 되므로 이러한 상태가 된후에 살충률을 조사하는 것이 일반적이다.

생물검정의 약효 평가에서 또 하나의 중요한 부분은 처리시간(Exposure time)과 처리후시간(Time of survival)의 한계를 분명히 해야하는 것인데 그 이유는 처리 시간은 약량의 한계이고 처리후 시간은 약량에 대한 효과를 나타내는 것이기 때문이다. 그러므로 어느 시험에 있어서나 약제의 농도와 처리 시간의 관계가 있는 것이다. 공시약량에 반

응되는 살충효과는 공시충의 수, 사충수 및 약량 또는 시간에 의하여 측정된다.

5. 맺음말

농산물의 안정적 생산을 위해 농약은 중요한 농업 자재의 하나로서 국제적으로도 농약시장의 경쟁은 더욱 격화될 전망이다. 국내에서도 물질특허제 도입등 여러 요인에 의해 농약, 의약품등을 비롯한 정밀화학 분야의 신물질 창출에 박차를 가하고 있으며 앞으로 많은 신농약개발이 기대된다. 한가지의 새 농약이 개발되기 위해서는 여러 단계의 시험 연구가 이루어져야 하며 수많은 물질중 최종 농약으로서 개발되는 확률이 수만분의 일 밖에 안되며 개발기간도 수년이 소요되기 때문에 자본과 기술 축적이 적은 개발도상국이나 중소기업에서의 신농약개발은 많은 어려움이 따르게 된다. 이에 신농약의 개발 초기 단계에서의 생물검정 기술확립 연구등은 정부나 단체에서 적극 지원하여 생물검정 분야에서 더욱 정확하고 신속한 스크리닝 기술을 개발하여 기업에 이전하고 농약개발에 새로운 정보생산공급과 아울러 생물검정을 위한 전문 연구원 배출등이 시급한 실정이라 하겠다