

## 카드미움이 누에 生理에 미치는 影響

### Ⅱ. 누에 血液의 Protein 含量과 GOT 및 GPT 活性의 變化에 대하여

崔 震 浹

東亞大學校 農科大學 蠶絲學科

## Studies on the Effect of Cadmium on the Physiology of Silkworm, *Bombyx mori* L.

### Ⅱ. With Reference to the Change of Total Proteins and Activities of GOT and GPT in Haemolymph of Fifth Instar Silkworm Larvae

Choi, Jin-Sup

Department of Sericulture, College of Agriculture, Dong-A University.

### Summary

The just molted larvae of the fifth instar were fed on with cadmium treated mulberry leaf and on the third day of the fifth instar the daily change of the total protein, activities of GOT and GPT in larvae haemolymph were sexually analyzed. The result obtained are summarized as follows:

1. The total haemolymph was decreased by cadmium treatment. A decreasing ratio of the total haemolymph protein was higher at the later development stage of the male fifth instar than the female fifth instar.
2. There seemed a slight difference in albumin content of the female blood along with the fifth larvae development between control and cadmium treatment whereas 7% decrease of blood albumin took place with cadmium treatment comparing to that of control. Contrarily a decrease of blood globulin was made on both sexes.
3. The activities of GOT and GPT were inhibited by cadmium treatment.

### 緒 言

카드미움은 植物의 生長을 抑制하며(Foy, 1979; Lamo reaux, 1978; Levings, 1977; 耳等 1975), 또한 動物에 있어서도 生體內 各器官 및 組織에 蓄積되어 中毒 내지 致死에까지 이르게 하고 있다(鈴木, 1971; Huang 等, 1974; Bazzaz 等 1974; Sung, 1979). 한편 카드미움은 뽕나무에도 蓄積되어(茅野, 1979) 뽕나무의 生長 및 代謝를 阻害하고 있다(裴 等 1983). 또한 카드미움은 누에에 蓄積되어 누에의 生理에 影響을 미쳐(三好 等, 1971; 松原 等, 1974, 1977, 1978, 1981,

1985; 崔 等, 1979, 1980, 1981) 飼育經過일수를 길게 하고 發育을 不齊하게할 뿐만 아니라 發育停止 내지 致死에까지 이르게 한다고 하였고(李 等, 1980) 崔 等 (투고중)은 40ppm濃度の 카드미움量은 繭層量 및 繭層比率에도 影響을 미친다고 報告하고 있다. 이와 같이 카드미움이 누에 發育을 阻害한다는 報告는 많으나 어떤 機構에 依한 것인지는 아직 明確히 밝혀진 바 없다. 본 연구는 카드미움의 누에 血液에 미치는 影響을 알하고자 우선 血液蛋白質含量의 變化와 아미노산代謝에 重要한 役割을 하는 GOT 및 GPT의 活性度를 調査하므로써 누에 발육에 미치는 카드미움의 저해기구를 해명을 위한 기초 자료를 얻고자 하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 試驗材料

가. 供試蠶品種: 多寶蠶

나. 飼育: 86年 春蠶期에 桑葉으로 25±2°C에서 飼育하였다.

다. Cd處理: 原子吸光 分析用 Cd標準液을 0, 50, 100ppm의 농도로 桑葉에 噴霧하여 5齡 起蠶부터 自體로 나누어 給桑하였으며 處理된 桑葉의 Cd含量은 다음과 같다.

處理된 桑葉의 Cd含量(μg/g)

Cd處理(ppm)	0	50	100
桑葉乾物當 Cd含量	0	28.0	48.0

### 2. 實驗方法

가. 혈액採取

血液은 관행방법에 따라 누에의 배발로부터 採取하였고 이때 血液의 酸化防止를 爲하여 少量의 phenylthiourea를 添加하였다. 그리고 血球 및 組織破片을 除去하기 爲하여 3,000rpm에서 15분간 遠心分離하고 얻어진 上登液은 試料분석까지 -20°C에서 냉동 保管하였다.

나. 試料分析

A. 總 단백질량의 測定

總蛋白質량은 Biuret法에 의해 處理한 후 Spectrophotometer(CE 2292, England)을 사용하여 540nm에서의 吸光度를 測定하고 Bovine Serum Albumin(6g/dl)을 標準液으로 使用하여 표준곡선을 作成, 總단백질량을 計算하였다.

### B. Albumin量 및 Globulin量の 測定

Albumin量の 測定은 B.C.G法에 의해 處理한 용액을 Spectrophotometer (CE 2292, England)로 630nm에서 測定하였다. 檢量線은 Bovine Serum Albumin (6g/dl)을 標準液으로 作成하였고 試料의 O.D.를 代入하여 Albumin量을 測定하고 Globulin量은 總단백질量에서 Albumin量을 뺀 수치로 換算하였다.

### C. GOT, GPT 活性測定

GOT(Glutamic Oxaloacetic Transaminase)와 GPT(Glutamic Pyruvate Transaminase)의 測定은 Reitman-Frankel法에 의해 處理 한후 Spectrophotometer(CE 2292, England)로 505nm에서의 흡광도를 測定하였다. 그리고 檢量線은 3次元 曲線回歸公式를 利用하여 標準 曲線에 의한 Transaminase의 活性度를 計算하였다.

## 實驗 結果

### 1. 血液의 總蛋白質含量

5齡期 血液에서의 總蛋白質 含量은 Table I과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 無處理區에서는 5齡 3日제가 23.8mg/ml이던 것이 5齡 5日에는 49.3mg/ml, 5齡 7日에는 62mg/ml 정도로 5齡期の 起蠶에서 盛食期로 감에 따라 蛋白質 含量이 增加하는 傾向이었고 암수별로 보면 無處理區와 Cd處理區 모두 수컷보다 암컷이 약간 높은 數値를 보였다. 그리고 Cd 處理濃도가 높아짐에 따라 蛋白質含量은 낮았다.

### 2. 血液의 Albumin含量

春蠶 5齡期 血液에서의 Albumin含量을 보면 Table 1과 Fig. 2에서와 같다. 無處理區와 Cd 100ppm 處理區間을 보면 암컷의 경우 無處理區가 8.71mg/ml이고 Cd 100ppm 處理區가 8.77mg/ml로서 비슷하였으며 5

Table 1. Changes in hemolymph protein and globulin at Cd treatment in the silkworm larvae.

(mg/ml)

Protein	Larval age	5~3			5~5			5~7		
		0	50	100	0	50	100	0	50	100
Total protein	F	23.80	20.87	21.17	49.80	49.13	48.47	63.60	62.93	57.43
	M	23.80	20.30	21.07	48.80	48.40	46.57	61.10	55.80	52.83
	$\bar{X}$	23.80	20.59	21.12	49.30	48.77	47.52	62.35	59.37	55.13
Albumin	F	8.71	8.95	8.77	23.13	30.52	27.11	31.33	37.06	31.12
	M	14.63	13.67	14.83	24.69	22.95	22.76	29.05	27.47	27.06
	$\bar{X}$	11.67	11.31	11.80	23.91	26.74	24.94	30.19	32.27	29.09
Globulin	F	15.10	11.92	12.40	26.67	24.61	21.46	32.27	25.87	26.31
	M	9.17	6.63	6.24	24.12	25.45	23.81	32.05	28.33	25.77
	$\bar{X}$	12.14	9.28	9.32	25.40	25.03	22.64	32.16	27.10	26.04

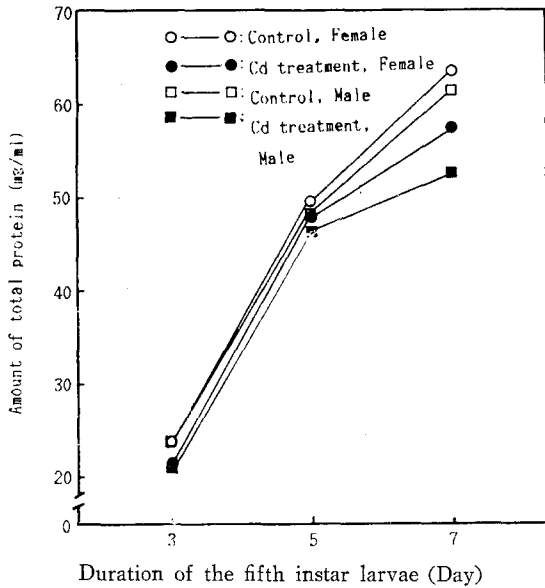


Fig. 1. Daily changes of the total protein in the silkworm haemolymph.

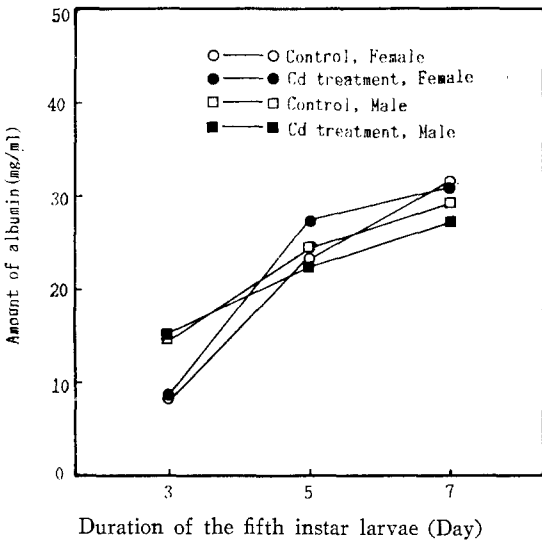


Fig. 2. Daily changes of the albumin in the silkworm haemolymph

齡 5日에는 處理區가 약간 높은 것 같으나 5齡 7日에는 無處理區와 處理區間의 차가 없는 것으로 보아 암컷에는 Cd 處理로 인한 血液 Albumin에서의變化가 거의 없는 것으로 보이나 수컷에서는 5齡 5日과 5齡 7日에 無處理區보다 Cd 處理區에서 약 7%의 減少를 보여 性差에 따른 Albumin量에 差異를 보였다. Albumin 함량은 5령의 발육경과에 따라 蛋白質 含量과 比例하여 增加하였고 암수별로 보면 無處理區와 Cd處理區 모

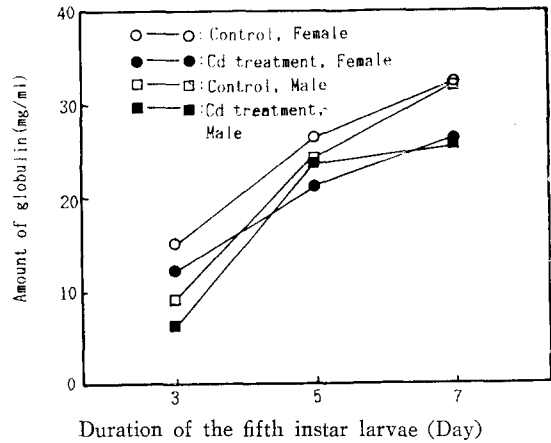


Fig. 3. Daily changes of the globulin in the silkworm haemolymph

두 5齡 3日에는 암컷 Albumin 含量이 수컷보다 적었으나 5齡 7日에 가서는 암컷의 Albumin含量이 수컷보다 많았다.

### 3. 血液의 Globulin含量

5齡 누에 血液의 Globulin의 含量을 보면 Table 1과 Fig. 3에서의 같이 無處理區와 Cd 100ppm 處理區에 있어서는 암컷은 5齡 3, 5, 7日 모두 無處理區보다 Cd 處理區가 약 20% 減少하는 傾向이며 수컷에서도 無處理區에 比하여 Cd 處理區가 암컷과 비슷하게 減少하여 카드미움의 영향이 Albumin보다 Globulin에 더 크게 나타났다.

그리고 암수간을 보면 5齡 3日에는 無處理區와 Cd 處理區 모두 암컷의 Globulin 含量이 높은 것 같이 보이나 5齡 7日에 가서는 암수간 差異를 볼 수 없었다.

### 4. 血液中的 GOT活性

누에 혈액중의 GOT의 活性變化를 測定한 結果 Table 2와 Fig. 4에서의 같이 암수 모두 無處理區에 비해 Cd 處理區가 약간 높은 것으로 나타났다. 그리고 암·수별 GOT활성을 비교한 결과 5齡 3, 5日은 수컷이 높았으나 5齡 7日에는 반대로 암컷이 높았다. 또 암컷은 無處理區와 Cd處理區 모두 누에의 발육 經過일수에 따라 GOT活性이 증가하였으나 수컷은 5齡 7日에 오히려 떨어지는 傾向이었다.

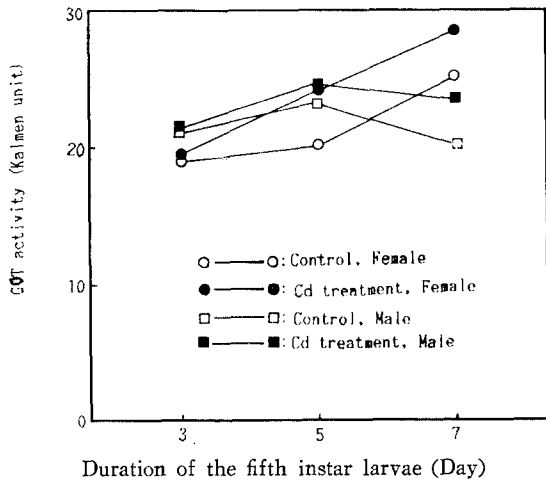
### 5. 血液中的 GPT活性

血液에서의 GPT 活性變化를 測定하여 본 結果 Table 2와 Fig. 5에서의 같이 5齡 初期에는 암수 모두 Cd 處理區가 無處理區보다 GPT活性이 增加하나 5齡 7日에는 Cd 處理區가 암수 모두 GPT活性이 낮은 것으로 나타났다. 그리고 無處理區의 암컷과 수컷을 比較하면 5齡 3日과 5齡 5日에는 암컷이 또 5齡 7日에는 수컷의

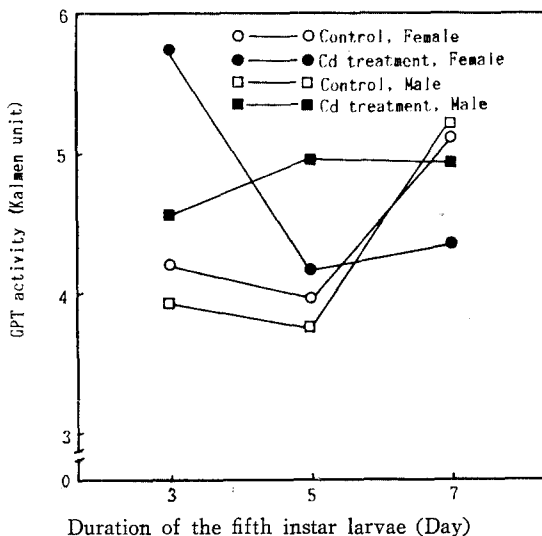
**Table 2.** Activities of hemolymph GOT and GPT at Cd treatment in the silkworm larvae.

(kalmen unit)

Larval age		5~3			5~5			5~7		
		0	50	100	0	50	100	0	50	100
GOT	F	19.12	21.97	19.67	20.21	26.68	24.37	25.31	21.87	28.63
	M	21.86	23.32	23.83	23.08	26.30	24.95	20.05	26.21	23.78
	$\bar{X}$	20.49	22.65	21.75	21.65	26.49	24.66	22.68	24.04	26.21
GPT	F	4.21	4.78	5.75	3.99	4.41	4.17	5.12	4.07	4.37
	M	3.94	5.79	4.59	3.77	4.88	4.98	5.21	4.48	4.93
	$\bar{X}$	4.08	5.29	5.17	3.88	4.65	4.58	5.17	4.28	4.68



**Fig. 4.** Daily changes of GOT activities in the silkworm haemolymph



**Fig. 5.** Daily changes of GPT activities in the silkworm haemolymph

GPT活性이 강하며 또 Cd 處理區에서의 암컷과 수컷을 比較하면 無處理區와는 달리 5齡 3日에도 암컷이 높았고 5齡 5日과 7日에는 수컷이 높았다.

### 考 察

누에의 血液中에는 여러 種類의 蛋白質이 存在하고 있고 이 蛋白質들은 發育經過에 따라 量的으로나 質的으로 變化가 일어난다고 알려져 있다(Nakasone and Kobayashi, 1965; 江口 等, 1966; 土井良 1968; Izumi 等 1981; Gamo, 1978; Seong 等, 1985). 5齡起點에 카드미움을 單獨投與했을 때 繭層量 및 繭層比率 等に 影響을 미치는 것으로 보아(투고중) 우선 누에 體內에 吸收된 物質의 運搬體인 血液中的의 蛋白質에 異常이 있을 것으로 推定된다. 따라서 本 實驗에서는 카드미움 投與後 5齡經過日數別로 血液總蛋白質量 Albumin 및 globulin량의 變化를 조사하고 또한 아미노酸代謝에 重要한 役割을 하는 GOT, GPT活性度를 測定하였다. 血液의 總蛋白質量은 經過의 進行에 따라 增加하였고 性別로 보면 암컷이 높았다. 이러한 事實은 藤井 等(1983)이 報告와 一致하고 있다. 그리고 無處理區에 비해 카드미움處理區가 蛋白質含量이 낮았고 카드미움 濃度가 높을 수록 蛋白質含量이 낮아지는 것으로 볼때 浜野 等(1970) 및 Green 等(1952)이 報告한 바와 같이 카드미움에 依한 消化液內的 蛋白質分解酵素活性이 阻害되어 이로 인한 吸收量의 감소에 起因하지 않나 생각된다. 한편 血液의 重要蛋白質인 Albumin의 量的의 變化를 보면 암컷의 경우 無處理區와 處理區間에 큰 差異가 認定되지 않았고 수컷에 있어서는 無處理區에 비해 處理區가 減少한다는 事實도 카드미움에 의한 消化管內的 蛋白質分解酵素活性阻害에 따른 消化吸收量의 감소로 보여진다. 無處理區나 處理區 모두 5齡初期(3日)의 性差에 따른 Albumin量과 5齡後期(7日)의 Albumin量이 逆轉된다는 事實 等도 카드미움에 의한

消化管內에서 阻害받는 酵素의 性質에 對해서 더 檢討가 필요할 것 같다.

血液의 Globulin量도 Albumin量과 같은 傾向으로 카드미움處理에 의해서 암수 모두 減少하나 5齡後期(7日)에 가서는 Albumin量과는 달리 암수間에 差異가 없는 것이 特徵이었다. 따라서 消化管內에서의 albumin蛋白質構成에 關與하는 蛋白質分解酵素의 活性阻害機構에 있어서 性差가 存在하는 것이 아닌가 생각된다. 아미노酸代謝에 重要な 役割을 하는 GOT 및 GPT의 活性에 있어서도 無處理區와 處理區間에 差異가 있어 處理區가 약한 것으로 볼 때 아미노酸代謝에 關與하는 두 酵素가 카드미움에 依해 阻害받고 있음을 알 수 있었다. 一般적으로 카드미움은 細胞呼吸作用抑制, 세포내 蛋白質 및 炭水化合物量 減少를 초래한다는 사실(金, 1969; Huang 等, 1974)로부터 누에에 있어서도 消化管內蛋白質分解酵素의 活性度가 카드미움에 의해 阻害되고 있을 가능성은 충분하며, 나아가서 카드미움의 혈액 단백질에 미치는 영향은 누에 5령기 활발한 단백질 합성이 이루어지는 지방체에 대해서도 검토되어야 할 것으로 생각된다.

## 摘 要

카드미움을 누에에 投與하여 發育經過에 따른 암수間의 누에 血液蛋白質의 變化 및 GOT, GPT活性을 調査하였다. 얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 카드미움處理區는 無處理區에 비해 總血液蛋白質含量이 낮았다. 한편 카드미움처리에 의한 암수間의 總蛋白質含量的 變化에 있어서는 숫컷이 더 큰 影響을 받고 있었다.

2. 발육경과에 따른 Albumin含量은 암컷에 있어서는 카드미움의 影響이 적은데 반해 수컷에 있어서는 無處理에 비해 約 7% 減少하였다. 그러나 Globulin은 암컷 숫컷 모두 카드미움의 影響이 컸다.

3. GPT 및 GOT의 活性은 카드미움에 의해 다같이 阻害되었다.

## 引 用 文 獻

- Bazzaz, F.A., R.W. Carlson, and G.L. Rolfe, (1974) The effect of heavy metal on plants; part I. Inhibition of gas exchange in Sunflower by Pb, Cd, Ni, and Tl, Environ, Pollut 7, 241-246.
- 裴啓宣·金永相(1983) 카드뮴의 處理가 桑樹의 生長 및 生體內 代謝에 미치는 影響. 韓蠶學誌,

- 25(1), 27-33.
- 車鍾煥·金炳宇(1975) 環境汚染防止를 위한 植物生態學的 研究(IV), Cadmium 處理土壤에 의한 여러 植物의 生長反應. 韓國植物學會誌 18(1), 23-30.
- 崔震浹·裴啓宣·孫興大·鄭元福(1979) 大氣公害가 養蠶에 미치는 影響에 관한 研究. (IV) 東亞大, 農技研 2.
- Doira, H. and Kawaguchi, Y(1972) Changes in hemolymph and egg protein by the castration and implantation of the ovary in Bombyx mori, J. Fac. Agri. Kyushu Univ. 17, 117-125.
- Gamo, Y. (1978) Low molecular weight lipoproteins in the hemolymph of the silkworm, Bombyx mori: Inheritance, isolation and some Properties. Insect Biochem. 8, 457-470.
- 浜野國勝·向山文雄(1970) 家蠶幼蟲における消化液蛋白質分解酵素の二, 三の性状および數種蛋白質の分解度とその營養價との關連. 日蠶雜 39, 371-376.
- Huang, C.Y., F.A. Bazzaz, and L.N. Vanderhoef, (1974) The inhibition of soy bean metabolism by Cadmium and lead. Plant Physiol 54, 122-124.
- 金廣植(1969) 水稻根의 Amino酸 代謝에 관한 研究. 第1報 水稻根의 生長과 Transaminase活性에 미치는 各種 窒素.
- 小林 純·森井ふし·村本茂樹·中島 進(1970) 群馬縣安中市の製鍊所に因る農作物などの重金属(Cd, Pb, Zn)汚染について日衛誌 25, 364-375.
- 李鍾哲 外 3名(1979) 大氣公害가 養蠶에 미치는 影響에 관한 研究(原蠶種飼育에 있어서 亞黃酸가스 및 카드뮴의 해를 中心으로. 韓蠶學誌 21(1), 36-45.
- 李鍾哲·崔震浹·裴啓宣·孫興大·鄭元福(1980) 카드뮴의 處理가 상수의 生長에 미치는 影響. 東亞大 農技研 1, 21-28.
- 松原藤好·木村由起雄(1974) 數種重金属およびそれら化合物が無菌蠶に及ぼす影響. 京工織大, 纖維學術報 7, 213-234.
- 松原藤好·増井博之·桑原秀樹(1977) 重金属が無菌蠶に及ぼす影響. II. Cd毒性に及ぼす亞鉛, 鉛の影響, 京工織大 纖維學術報 8, 25-32.
- 松原藤好·増井博之·吉田一夫(1978) 重金属が無菌蠶に及ぼす影響. 無菌蠶の Cd取り込みに及ぼす亞鉛 鉛の影響. 京工織大 纖維學術報, 8, 46-53.

16. 松原藤好・中山康博(1981) 重金屬が無菌蠶に及ぼす影響. (Ⅱ) Cdおよび EDTAの毒性. 生物環境調節 19(4), 115-120.
17. 松原藤好(1985) 日蠶雜 55(1), 5-9.
18. 三好健勝・宮澤福壽・清水 治(1971) 重金屬類の蠶桑に及ぼす影響(1), 飼料中の Cdおよび亜鉛が家蠶におよぼす發育段階別の影響. 日蠶雜 40(4), 323-329.
19. Reitman, S. and Frankel, (1957) Colorimetric method for the determination of Serum transaminase Amer. J. of Clin. Path. 28, 56-63.
20. 成敏雄(1979) 發芽種子의 呼吸作用에 미치는 Cd, Hg 및 Pb의 影響. Korean Jour. Botany Vol. 22(1-2), 15-20.
21. 成洙一(1986) 누에 體液主蛋白質에 관한 生化學的 研究. 韓蠶學誌 28(1), 30-36.
22. 藤井博・河口豊(1983) 카이코의 體液タンパク質의 發育經過によもたら變化, 特に主要タンパク質成分(MP5)의 消長. 日蠶雜 52(6), 529-536.