

농약 상호간의 협력작용에 의한 잉어의 독성과 해독효소 활성의 비교

양광록 · 심재한 · 서용택
전남대학교 농과대학 농화학과

초록 : 이스라엘 잉어와 참잉어에 대한 농약의 독성 및 glycogen의 함량변화, 효소활성을 조사하고 농약 상호간의 협력작용의 여부를 조사하였다. LC₅₀치의 측정결과는 공시약제 중 endosulfan이 0.0079 ppm으로 가장 독성이 강했고 metalaxyl이 40 ppm 이상으로 가장 낮았다. 농약 상호간의 협력작용은 IBP+isoprothiolane과 cartap+isoprothiolane 처리구에서 나타났으며 그 ratio(SR)는 각각 1.85, 1.53이었다. 효소활성의 경우 carboxylesterase와 glutathione S-transferase 모두 증가되었다. Esterase의 활성은 IBP 처리구에서 가장 높았고 isoprothiolane 처리구에서 제일 낮았으며, glutathione의 CDNB conjugation은 isoprothiolane 처리구에서 가장 높았고 isoprothiolane+cartap 처리구에서 가장 낮았다. LDH의 경우 isoprothiolane 처리구에서 활성이 가장 높았고 isoprothiolane+cartap 처리구에서는 가장 낮았다. Glycogen의 함량은 공시약제의 처리구 모두에서 감소를 보였으며 IBP 처리구에서 감소정도가 가장 높았다 (1992년 4월 14일 접수, 1992년 9월 14일 수리).

병해충 및 잡초방제에 사용되는 농약은 방제 후에도 일부는 약제성분 그대로 또는 이로부터 전환된 화합물의 형태로 작물, 토양 및 호수나 하천같은 수계 등 환경구성 성분에 잔류함으로써 환경을 오염시킬 가능성이 있다. 특히 이들 농약들은 상호간의 협력작용에 의해 독성이 증가되어 강이나 하천 등에서 수생생물의 피해를 크게 할 것으로 생각된다.

우리나라에서도 많이 사용되고 있는 유기인계와 카바메이트계 및 유기유황계 농약 등은 과거에 사용했던 유기염소계 농약에 비해 잔류기간이 짧으나 어독성이 큰 화합물이 상당수 있으며 단순한 환경오염 문제뿐만 아니라 담수 및 연안해역에서의 어류양식에도 영향을 줄 것으로 생각된다. 이런 농약들은 어류뿐만 아니라 어류로 제조된 식품에까지 영향을 미친다고 볼 수 있다. Todd¹⁾에 의하면 독성물로 인한 식품의 오염은 인간의 건강에 치명적인 위협을 주고 경제적으로도 그 피해가 막대하다고 한다. Dragomirescu 등²⁾은 농약이 어류의 해당작용력에 미치는 영향을 조사하여 그 능력의 저해를 밝힌 바 있으며 Anee³⁾는 어류에 대한 농약이 혈액의 hemoglobin에 미치는 영향을 조사하여 그 양의 감소를 밝힌 바 있다. 또 Srivasthawa 등⁴⁾은 유기인계 약제의 어류에 대한 탄수화물 합성 저해를 밝힌 바 있다. 이같이 농약에

의한 수생생물의 피해 및 수계의 오염은 어류의 성장과 생존에 불리한 영향을 미친다고 알려져 있다. 이에 본 실험에서는 잉어 2종을 공시하여 각 농약들에 대해서 1차적으로 급성독성(LC₅₀)을 구하고 2차적으로 2종류의 농약들을 서로 교호적으로 혼합하여 이들에 대한 LC₅₀을 구하였으며, 이들의 준치사 농도에 따른 glutathione S-transferase, carboxylesterase, lactate dehydrogenase의 활성변화와 아울러 glycogen의 함량변화도 조사하여 농약의 어류에 대한 안전성 평가기준 마련에 기초자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

공시약제 및 시약

IBP, isoprothiolane, cartap, metalaxyl, chlorothalonil, captafol, endosulfan은 농약연구소에서 분양받은 95% 이상의 표준품을 사용하였으며 화학명과 구조식은 Table 1과 같다. 사용시약은 bovine serum albumin(BSA), Folin-phenol reagent, glutathione, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB), α -naphthol, α -naphthylacetate(α -NA), *p*-hydroxymercuribenzoate(PHMB), eserine, *o*-dianisidine tetrazotized, glucose pyruvate, β -nicotinamide adenine

Key words : Sublethal dose, LC₅₀, detoxifying enzyme activity, synergism
Corresponding author : Y. T. Suh

dinucleotide(NADH), lauryl sulfate 등으로 Sigma 제품을 사용하였다.

공시어류

본 실험에 사용한 어류는 참잉어 및 이스라엘 잉어로 전라남도 내수면개발시험장과 전라북도 내수면개발시험장에서 분양받아 실험실조건으로 2주 이상 순화시킨 후 공시하였다. 순화기간 중 잉어 치어용사료를 체중당 2~4 %일로 공급하였고 실험실 조건은 온도 23±1℃, 일조

시간은 12시간으로 유지하였다. 공시어는 실험 24시간 전에 절식시켜 공시하였고 이스라엘 잉어는 lactate dehydrogenase와 glycogen 정량에 사용하였다. 이에 대한 실험조건은 Table 2와 같다.

공시용액 조제

시험용액의 조제는 예비실험을 통해 얻은 자료를 이용, 공시어에 대한 처리농도를 계산하였으며 상기 공시약제를 소량의 dimethyl sulfoxide에 녹여 계산된 농도로

Table 1. Chemical names and structures of pesticides used

Common name	Structure	Chemical name	Classification
IBP		S-benzyl O,O-di-isopropyl phosphorothioate	Organo phosphorus
Isoprothiolane		Diisopropyl 1,3-dithiolan-2-ylidenemalonate	Organo sulfur
Cartap		S,S'-(2-dimethylaminomethylene) bithiocabamate	Thiocabamate
Metalaxyl		Methyl N-(2-methoxyacetyl)-N-(2,6-xylyl)-DL-alaninate	Amide
Chlorothalonil		Tetrachloroisophthalonitrile	Organochlorine
Captafol		N-(1,1,2,2-tetrachloroethylthio)cyclohex-4-ene-1,2-dicabamate	Organochlorine
Endosulfan		(1,4,5,6,7,7-hexachloro-8,9,10-trinorborn-5-en-2,3-ylenebismethylene	Organochlorine

Table 2. Fresh water fishes and the environmental conditions

Korean name	Scientific name	Size of test fish		pH	Temp. (°C)	DO (mg/l)
		Total length (cm)	Body weight (g)			
참잉어	<i>Cyprinus carpio</i> L.	5.01±0.49	1.10±0.52	6.86±0.21	23.6±0.44	6.98±0.53
이스라엘잉어	<i>Israeli carpio</i> L.	20.0±0.82	1,000±2.30	6.86±0.21	23.6±0.44	6.98±0.53

처리한 후 분산제인 triton X-100을 2 drop/20 L 수준으로 첨가하여 약제를 고르게 분산시켰다.

희석수 및 양육용수

양육용수 및 농약을 처리한 희석수는 지하수를 받아 3일 동안 방치하여 고형물질을 침전시킨 후 맑은 물을 사용하였다. 사용수의 경도는 CaCO_3 기준으로 35.50 mg/L 이었으며, 총 알칼리도는 22.50 mg/L, 암모니아태 질소는 0.071 mg/L, 전기전도도는 0.26 mMho, 용존산소량은 7.24 mg/L 이었으며 pH는 7.13이었다.

중위치사농도(LC₅₀)와 준치사 농도

준치사 농도를 구하기 위해서 무처리구를 포함하여 7 수준 이상의 농도로 시험하고 구당 20마리씩 2반복으로 처리하였다. 공시어의 치사판정은 노출시작 후 3, 6, 9, 12, 24, 48 시간마다 관찰하여 아가미 호흡이 중지된 것이나 유리막대로 자극을 주어 반응이 없는 것은 치사어로 간주하고 그 숫자를 기록한 후에 수조에서 제거하였다. 각 농약의 LC₅₀값은 Finney⁶⁾ 법에 의한 probit 분석으로 구했으며 준치사농도는 LC₁치의 1/2로 계산하였다. 또한 각 농약들의 협력작용은 두 약제를 혼합하여 상기방법으로 처리한 후 조사하였다.

효소의 활성

1) Carboxylesterase 활성

Carboxylesterase 활성측정은 Van Asperen⁶⁾ 방법에 준하여 공시어를 각 농약의 준치사 농도인 LC₁의 1/2 값으로 48시간 노출시킨 후 이종 5마리에 대해 4℃에서 간을 채취하여 0.1 M 인산나트륨 완충용액(pH 7.0)으로 세척하고 이를 완충용액(20 ml)에 넣어 glass homogenizer로 30초간 마쇄하여 균질화시켰다. 또한 이 균질물은 이중가제로 여과한 후 105,00×g에서 1시간 동안 원심분리하여 그 상등액을 효소액으로 사용하였다.

Carboxylesterase는 eserine(10^{-4} M)과 PHMB(10^{-4} M)를 배양액에 첨가하여 cholinesterase(CHE)와 arylesterase를 제거한 후 3×10^{-4} M α -NA(0.04 M)를 용해한 인산 완충용액(pH 7.0)을 기질용액으로 사용하여 600 nm에서 활성을 측정하였다.

2) Glutathione S-transferase(GST) 활성

GST활성은 상기와 같이 노출시킨 공시어 5마리의 간을 채취하여 인산나트륨 완충용액(pH 8.2)으로 씻은 후 상기 완충용액 15 ml를 넣어 glass homogenizer로 30초간 완전히 마쇄하여 균질화시켰다. 균질액을 이중가제로 여과하여 10,000×g에서 20분간 원심분리하였고 다시 상등액을 초고속원심분리기에서 105,000×g로 60분간 원

심분리하여 상등액을 효소원으로 하였다. GST 활성측정은 Habig 등⁷⁾의 방법에 준하여 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB)을 기질로 하여 344 nm에서 측정하였다.

3) Lactate dehydrogenase(LDH)의 활성

Lactate dehydrogenase 활성측정은 Vassault 등⁸⁾의 방법에 준하여 공시어(이스라엘 잉어, 1 kg)의 간 0.1 g을 52 mM 인산나트륨 완충용액(pH 7.5) 10 ml와 함께 glass homogenizer로 마쇄하여 균질화시키고 이 균질액을 4℃에서 12,000×g로 15분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상등액을 효소원으로 하여 340 nm에서 활성을 측정하였다.

이상의 모든 효소시험은 4℃에서 행하였고 단백질정량은 BSA를 표준품으로 하여 Lowry⁹⁾의 방법에 의하였다.

4) Glycogen의 정량

Glycogen은 Hassid¹⁰⁾의 방법에 준하여 공시어류의 간 100 mg을 30% KOH 용액에 넣고 끓는 수조에서 20분간 반응시킨 다음, 4,500 rpm으로 원심분리하여 상등액을 버리고 침전물을 얻어 0.6 N H₂SO₄로 재 용해한 후 환류냉각시켜 0.5 N NaOH로 적정하였다. 적정된 액은 증류수를 이용하여 5 ml로 부피를 조정된 후 이에 anthrone 시약을 재빨리 가한 다음 끓는 수조에서 10분간 반응시켜 620 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

중위치사 농도 및 준치사 농도

참잉어에 대한 각종 농약의 48 hr-LC₅₀치는 Table 3에서 보는 바와 같이 공시약제간의 현저한 차이가 있었다. LC₅₀의 %에 대한 독성의 크기는 95%의 신뢰도로서 endosulfan(0.0079 ppm), captafol(0.053 ppm), chlorothalonil(0.078 ppm), cartap(0.67 ppm), isoprothiolane(9.67 ppm), IBP(10.06 ppm), metalaxyl(>40.0 ppm)순으로 IBP에 대한 endosulfan의 독성은 1000배 이상의 큰 차이를 보였으며, 공시된 약제중에서 metalaxyl은 40 ppm 이상으로 나타났다. 공시된 참잉어의 LC₅₀치는 개체당의 숫자로 계산된 것이므로 약간의 차이가 있을 것으로 생각되며, 임¹¹⁾의 자료에 의하면 endosulfan은 0.0061 ppm, captafol과 chlorothalonil은 각각 0.01 ppm, 0.073 ppm으로 본 실험의 결과와 큰 차이가 없었으며, cartap 역시 일본의 0.78 ppm¹²⁾과 비교해서 큰 차이는 없으므로 나타났고 isoprothiolane의 경우 일본의 group III 화합물(5~50 ppm)¹²⁾에 포함된 경우처럼 초기 어독성이 매우 낮은 것으로 평가되었다. 한편 준치사농도(LC_{1/2})는 endosulfan이 0.0011 ppm으로 독성이 가장 높았고 isop-

rothiolane이 3.66 ppm으로 가장 낮았다.

협력작용의 확인

공시약제에 대한 상호 협력작용의 유무를 결정하기

Table 3. Comparative toxicity of various pesticides to carp

Chemicals	Toxicity	
	LC ₅₀ (ppm)	95% confidence limits of LC ₅₀
IBP	10.06	(0.61 ~ 10.51)
Isoprothiolane	9.67	(9.38 ~ 9.96)
Cartap	0.67	(0.61 ~ 0.72)
Metalaxyl	>40.0	-
Chlorothalonil	0.078	(0.0076~ 0.081)
Captafol	0.053	(0.045 ~ 0.055)
Endosulfan	0.0079	(0.0067~ 0.0080)
Isoprothiolane	5.23	(5.229 ~ 5.231)
+ IBP ^{a)}		
Isoprothiolane ^{b)}	6.30*	(6.299 ~ 6.301)
+ cartap	0.34**	(0.339 ~ 0.340)

^{a)} 각 약제의 농도를 50 : 50으로 혼합하여 100%가 되게 하였다.

^{b)} * Cartap에 대해 isoprothiolane의 농도를 다르게 처리하여 얻은 값.

** Isoprothiolane에 대해 cartap의 농도를 다르게 처리하여 얻은 값.

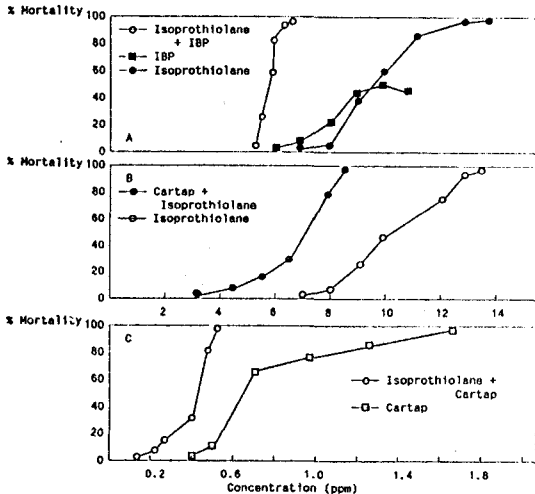


Fig. 1. Dosage probit lines for populations of fresh water fish.

(A) Isoprothiolane, Isoprothiolane+IBP, (B) Isoprothiolane, Cartap+Isoprothiolane, (C) Cartap, Isoprothiolane+Cartap as 95% confidence limits of different lines overlap.

위하여 두 약제를 혼합하여 처리, 조사한 결과 IBP+isoprothiolane, isoprothiolane+cartap에서 각각 협력작용이 있음을 알 수 있었다. Fig. 1은 두 약제간의 협력작용에 의한 % 치사율을 나타낸 것으로 결과에서 보는 바와 같이 기율기가 심하면 심할수록 독성이 높음을 알 수 있는데 이는 약제의 혼합으로 인한 협력 작용에서 더욱 뚜렷함을 볼 수 있었다. 또한 두 약제를 혼합하여 처리한 결과 LC₅₀은 IBP+isoprothiolane이 5.23 ppm, isoprothiolane+cartap이 6.30 ppm, cartap+isoprothiolane이 0.34 ppm으로 IBP와 isoprothiolane 각각의 LC₅₀치인 10.06 ppm, 9.67 ppm보다 독성이 각각 1.8~2.0배 만큼 증가함을 알 수 있었다(Table 4). Synergistic ratio(SR)은 Table 5에서 나타난 식으로 계산되었다.¹³⁻¹⁵⁾ Hemingway¹⁶⁾에 의하면 IBP는 malathion과 협력작용이 있으며 그 결과 독성이 훨씬 증가되었다고 보고하였는데 본 실험에서도 IBP는 isoprothiolane과 협력작용을 가지며 그 결과 독성이 증가되었다. Isoprothiolane과 cartap 역시 LC₅₀치는 각각 9.67 ppm, 0.67 ppm이었으나 이 두 약제를 혼합하여 처리한 결과, 독성이 1.5~2.0배 만큼 증가하였다. 결국 이 두 약제가 혼합되어 처리되었을 경우 독성이 훨씬 더 증대됨을 본 실험을 통해 알 수 있었다.

Table 4. Synergistic effects of isoprothiolane with IBP and cartap on Carp

Treatment	Toxicity		Synergism ratio (SR)*
	LC ₅₀ (ppm)	95% confidence limits of LC ₅₀	
Isoprothiolane	9.67	(9.38~ 9.96)	-
+ IBP	5.23	(5.16~ 5.30)	1.85
+ Cartap	6.30	(6.02~ 6.59)	1.53
IBP	10.06	(9.61~ 10.51)	-
+ Isoprothiolane	5.23	(5.16~ 5.30)	1.96
Cartap	0.67	(0.61~ 0.72)	-
+ Isoprothiolane	0.34	(0.32~ 0.36)	1.97

$$* \text{ Synergism ratio (SR)} = \frac{\text{one synergist}}{\text{LC}_{50} \text{ of two synergist}}$$

Table 5. Enzyme activities in control carp

Enzyme ^{a)}	Specific activity
	(nmol min ⁻¹ mg protein ⁻¹) ^{b)}
Carboxylesterase	70.37 ± 0.29
Glutathione S-transferase	49.90 ± 1.46
Lactate dehydrogenase	50.3 ± 1.02

^{a)} Livers were used as the enzyme source.

^{b)} Mean ± SE of triplicates

Table 6. Carboxyl esterase, GST and LDH activities for sublethal level of pesticide in the carp

Chemicals ^{a)}	Specific activity (% of control) ^{b)}		
	Enzymes		
	Carboxylesterase ^{c)}	Glutathione S-transferase ^{d)}	Lactate dehydrogenase ^{e)}
Isoprothiolane	131.30 ± 0.23	135.38 ± 3.98	54.75 ± 0.96
IBP	194.28 ± 0.13	121.80 ± 10.32	118.20 ± 4.68
Cartap	179.35 ± 1.14	107.01 ± 16.31	88.85 ± 2.35
Isoprothiolane + IBP	164.77 ± 0.47	144.06 ± 10.45	126.17 ± 3.54
Isoprothiolane + cartap	135.16 ± 0.15	106.39 ± 2.22	68.76 ± 3.63

^{a)} Groups of carp were fed in diluted water containing corresponding chemicals at the sublethal level for 48 hr prior to enzyme assays.

^{b)} Mean ± SE of triplicates

^{c)} Groups of five liverse in carp were used as the enzyme source.

^{d)} Groups of ten livers in carp were used as the enzyme source.

^{e)} 100 mg carp liver weights was used as the enzyme source.

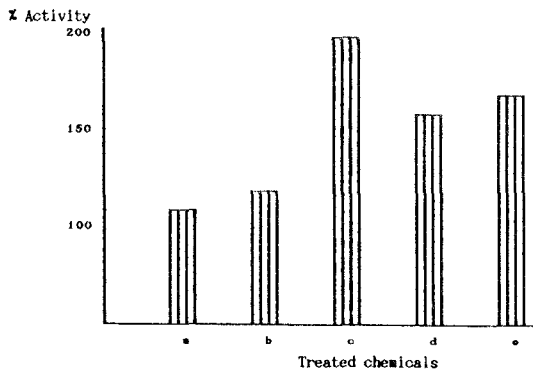


Fig. 2. Effects of sublethal level treatment of pesticides on carboxylesterase activity in the carp liver. a: Isoprothiolane, b: Isoprothiolane + cartap, c: IBP, d: Isoprothiolane + IBP, e: Cartap

효소활성의 측정 및 glycogen의 정량

본 실험에서 조사된 3가지 해독효소의 효소활성은 Table 8과 9에 나타냈으며 효소활성의 저해율은 다음식과 같이 계산하였다.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A : 대조구의 효소활성

B : 공시약제 처리구의 효소활성

1) Carboxylesterase의 활성

PHMB와 eserine을 사용하여 ChE와 arylesterase의 활성을 제거한 다음 측정된 준치사농도에 대한 carboxylesterase 활성의 조사결과는 Table 5, 6 및 Fig.2와 같다.

결과에서 보는 바와 같이 carboxylesterase 활성은 약제가 처리된 공시어류의 경우 처리되지 않은 경우보다 1.8~2.7 배 증가됨을 알 수 있었는데 carboxylesterase가 이들 약제에 대한 상당한 해독활성을 지니고 있는 것으로 생각되었다. 한편 Casida 등¹⁷⁾은 쥐의 간에서 유기인계 농약은 esterase의 가수분해력을 저해한다고 보고하였으나 본 실험에서는 유기인계 농약인 IBP의 경우 오히려 esterase 활성을 크게 증가시켰다. Sakai 등¹⁸⁾에 의하면 IBP가 malathion의 esterase 분해를 저해한다고 보고하였는데, 본 실험에서 IBP는 isoprothiolane을 처리한 잉어의 esterase 활성을 협력작용을 통해 증가시킨 것으로 나타났다.

2) Glutathion S-transferase의 활성

준치사농도에서 공시어류의 glutathione S-transferase가 CDNB conjugation에 미치는 영향을 Table 5와 6에 나타냈다. Glutathione S-transferase는 외부 도입독성물질의 분해 및 대사에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으나 본 실험에서는 Table 6과 Fig.3에서 보는 바와 같이 공시약제중에서 cartap를 제외하고는 모두 CNDB conjugation에 그렇게 큰 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. Isoprothioiane은 IBP와의 협력작용으로 뿐만 아니라 cartap만으로도 다른 약제에 비해 어느정도 영향을 미친 것으로 나타났으나 그다지 큰 차이는 없었다. Glutathione S-transferase 활성이 증가된 경우는 약제의 구조가 효소활성 억제분자와 결합이 용이하기 때문이라고 생각되며, 실제로 몇몇 화합물들이 GST의 합성에 관여하는 유전자를 활성화시키는 작용을 한다는 보고도 있다.¹⁹⁾

3) Lactate dehydrogenase의 활성

Lactate dehydrogenase는 해당과정에서 매우 중요한 역할을 하는 효소로서 lactate-pyruvate간의 가역반응을 촉매한다고 알려져 있다.^{14,20)} Table 6과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 isoprothiolane의 경우 높은 활성을 보인 반면 cartap은 활성에 큰 변화를 야기시키지 못했다. 그러나 cartap은 isoprothiolane과의 협력작용으로 단독약제 각각보다 LDH의 활성을 강력히 저해함을 알 수 있었다. LDH에 대한 저해도는 LC₅₀을 기준으로 독성 정도가 강할수록 높았으며, cartap은 isoprothiolane보다 1.7배 정도 저해력이 강했고 isoprothiolane과의 협력작용으로 LDH 활성을 2.2배까지 저해하였다. 이러한 결과는 Dragomilkescu 등²¹⁾의 경우처럼 효소와 저해물질간의 복합체를 이루는 결과가 아닌가 생각되었다. Codd 등⁴⁾에 의하면 LDH의 활성은 조직이 손상된 경우에 증가된다고 하였고, 또 Anderson 등²²⁾은 유기인계와 유기염소계 농

약의 LDH 활성에 대한 조사에서 활성이 감소함을 보고하였는데 이는 해당과정의 저해를 나타낸다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 IBP의 경우 LDH 활성이 2배 이상 증가됨을 보였다. LDH에 대한 조사는 간에서 뿐만이 아니라 어류에 대한 모든 조직에서 수행될 필요성이 있으리라 생각되며 각 부위에서의 동위효소의 확인 및 분리 등이 더욱 확대되어 조사되어야 할 것이다.

4) Glycogen의 정량

Glycogen은 체내에서 에너지 보존작용에 관여하는 것으로 알려져 있으며 stress나 외부물질의 도입에 의해 쉽게 분해되는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서는 이들 약제들에 의한 잉어 체내에서의 glycogen 함량변화를 관찰하고자 하였다. Singh 등²³⁾이 어류의 간에서 glycogen의 함량이 약제처리 직후에는 감소를 보이나 48시간 이후에는 증가한다고 보고하고, Stimpsom 등²⁴⁾이 독성 물질은 glycogen을 파괴한다고 보고했던 것처럼 본 실

Table 7. Variation of glycogen contents for sublethal level of pesticides in carp liver

Chemicals ^{a)}	Glycogen contents (mg/g liver) ^{b)}
Control	1.28 ± 0.03
Isoprothilane	0.67 ± 0.03
IBP	0.33 ± 0.03
Cartap	0.51 ± 0.05
Isoprothiolane + IBP	0.52 ± 0.02
Isoprothiolane + Cartap	0.62 ± 0.03

^{a)} Groups of carp were fed in diluted water containing corresponding chemicals at the sublethal concentrations for 48 hr prior to assay.

^{b)} Mean ± SE of triplicates.

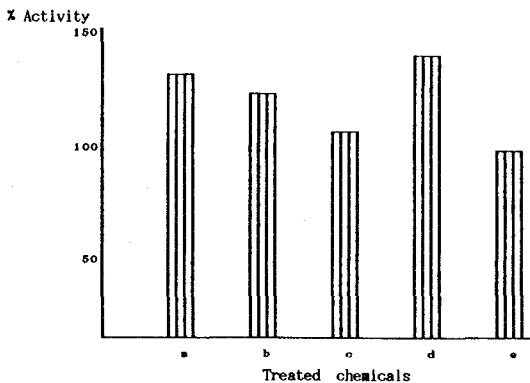


Fig. 3. Effects of sublethal level treated of pesticides on the glutathione S-transferase activity in the carp liver.

a: Isoprothiloane, b: IBP, c: Cartap, d: Isoprothiolane + IBP, e: Isoprothiolane + cartap.

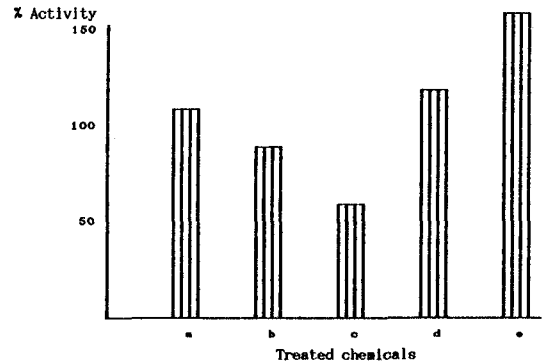


Fig. 4. Effects of sublethal level treated of pesticides on the lactate dehydrogenase in the carp liver.

a: IBP, b: Cartap, c: Isoprothiolane + cartap, d: Isoprothiolane + IBP, e: Isoprothiolane.

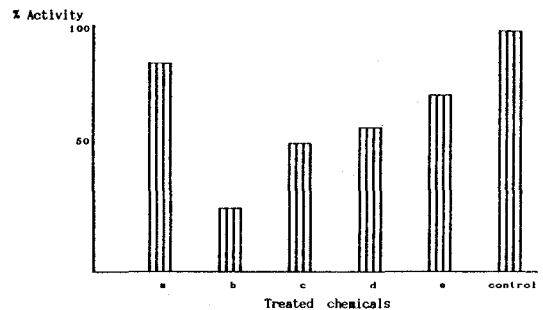


Fig. 5. Effects of sublethal level treated of pesticides on the glycogen contents in the carp liver.

a: Isoprothiloane, b: IBP, c: Cartap, d: Isoprothiolane + IBP, e: Isoprothiolane + cartap.

형에서는 Table 7과 Fig. 5에서 보는 바와같이 각 약제에 의해 glycogen의 함량이 현저히 감소되었으며 이 중에서도 IBP에 의한 glycogen의 함량감소가 가장 컸다. 이로 말미암아 이들 약제는 공시어의 체내에서 glycogen의 합성을 저해하거나 파괴를 유도한다고 생각할 수 있었다. 한편으로 isoprothiolane과 IBP, cartap 등의 혼합처리에서는 이들 각각의 처리에 비해 큰 차이가 없었는데 이는 glycogen 함량이 농약의 협력작용에 의해서는 영향을 받지 않은 것으로 추정되었다.

이상의 연구는 어류의 준 치사농도에 대해서 수행되었으며 계속해서 효소활성의 조건변화와 glycogen의 함량감소에 대한 연구가 그 이상의 농도에서 수행되어야 할 것이다. 이는 이들 효소들이 각각의 약제에 대한 해독작용에 중요한 역할을 한다고 볼 때 치사어에 대한 1차적인 독성평가가 가능할 것으로 기대되기 때문이다. 또 어류의 각 부위별로 연구가 수행되어 어류체내에 대한 대사적인 면과 농약의 다양한 종류에 따라 독성실험을 통해 급성독성현상과 효소활성의 저해요인과의 관계를 연구할 필요가 있다고 본다.

끝으로 본 실험에서 조사된 결과는 일부 농약에 대한 것이며 앞으로는 농약에 대한 급성독성연구만이 아니라 실제로 많이 이용되고 있는 어류의 항생제에 대한 급성독성 실험도 아울러 수행되어 인류와 환경에 미칠지 모를 최소한의 피해를 막도록 해야 할 것이다.

요 약

본 실험에서는 참잉어와 이스라엘 잉어에 공시약제를 처리하여 48시간 후 LC₅₀를 구하였으며 준치사농도인 LC₁의 1/2 농도를 처리한 다음 48시간 후 효소활성측정 및 농약 상호간의 협력작용의 정도를 알아보았다. 공시어류에 대한 LC₅₀는 endosulfan이 가장 낮았고 IBP가 가장 높았다. Endosulfan의 경우 IBP에 비해 무려 1000배 이상의 높은 독성을 보여 공시어류에 대해 endosulfan은 급성, 맹독성인 것으로 나타났다. 농약 상호간의 협력작용은 7개의 공시약제중 2개 약제에서 보였는데 그것은 IBP+isoprothiolane, cartap+isoprothiolane에서 나타났으며 그 ratio(SR)은 각각 1.85, 1.53이었다. 효소활성의 경우 carboxylesterase와 glutathione S-transferase 모두 활성이 증가되었으며, lactate dehydrogenase의 경우 cartap에서 현저한 감소를 보였다. Glycogen의 함량은 공시약제 모두에서 현저한 감소를 보였는데, 그 감소율은 IBP에 대해서 가장 크게 나타나 무처리 어류에 비해 3.8 배 정도 저해를 했다.

사 사

본 연구는 한국과학재단의 연구비지원으로 수행된 연

구결과와 일부로 당 재단에 깊은 사의를 드립니다.

참 고 문 헌

1. Todd, E. C. O.: J. Food Proc., 52 : 595(1989)
2. Dragomilkescu, A., Raileanu, L. and Ababe, L.: Res., 9 : 397(1979)
3. Anees, M. A.: Int. J. Ecol. Environ., 4 : 53(1978)
4. Srivasthawa, A. K. and Singh, N. N.: Pestic. Biochem. Physiol., 15 : 257(1981)
5. Finney, D. J.: Probit Analysis, 19(1971)
6. Van Asperen, K.: J. Insect Physiol., 8 : 401(1962)
7. Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jacoby, W. B.: J. Biol. Chem., 249 : 7130(1987)
8. Vassault, A., Maine, I., Bozon, D.: Chemical Enzymology, Salzburg(1981)
9. Lowry, O. H. and Rosebrough, N. J.: J. Biol. Chem., 193 : 265(1951)
10. Hassid, W. Z. and Abraham, S.: Enzym. Chem. Anal. Ed., 9 : 228(1937)
11. 임요섭: 전남대학교 석사학위 논문(1991)
12. 복영일부: Pesticide Handbook, 일본식물 방병 협회 (1976)
13. Abraham, R., Horovitz, Nick, L., Toscano and Roger, R. Youngman: J. of Economic Entomology, 18 : 1(1988)
14. Gerald, M. Ghidui and Carter, C.: Pestic. Sci., 28 : 259(1990)
15. Wood, E. J. and DE Villar, M. I. P.: Pestic. Biochem. Physiol., 26 : 170(1986)
16. Hemingway, J. and Georghiou, G. P.: Pestic. Biochem. Physiol., 21 : 1(1984)
17. Casida, J. E., Ishaaya, I. and Simon, K. R.: Pesti. Biochem. Physiol., 28 : 155(1987)
18. Sakai, M., Saito, T., Miyata, T. and Sasaki, Y.: Appl. Entomol. Zool., 16 : 258(1981)
19. Kanamori, S. and Yosika, K.: Proc. Assoc. Pl. Si-kogu, 10 : 49(1975)
20. Goad, J. T. L., Kadel, W.: Arch. Environ. Contam. Toxicol., 21 : 263(1991)
21. Codd, J. E., Sullivan, R. X., Weins, R. D. and Willman, V. L.: Detection by isoenzyme Analysis. Circulation 56 (Supply II), 49(1977)
22. Anderson, B. M., Kohler, S. T. and Young, R. W.: J. Agric. Food Chem., 26 : 130(1978)
23. Singh, N. N. and Srivasthawa, A. K.: Acta. Pharmacol. Toxicol., 48 : 26(1981)
24. Stimpson, J. H.: Comp. Biochem. Physiol., 15 : 187 (1965)

Comparison of toxicity and detoxifying enzyme activity in carp (*Cyprinus carpio*) treated with some synergistic pesticides

Kwang-Rok Yang, Jae-Han Shim and Yong-Tack Suh (Department of Agricultural Chemistry, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea)

Abstract : This study was performed to investigate effects of probable detoxifying enzyme activity and toxicity by pesticides and their combinations in the fresh water fish. Seven pesticides including IBP, isoprothiolane, cartap, ridomil, chlorothalonil, captafol and endosulfan were subjected to investigate for their acute toxicities and synergism possibilities. The LC_{50} value of endosulfan was the lowest at showing 0.0079 ppm and that of metalaxyl was the highest as showing 40 ppm over. The synergism effects of relative pesticides were observed in the combinations of isoprothiolane+IBP and isoprothiolane+cartap. The changes of glycogen contents in fish liver were assayed for 5 pesticides and its highest inhibition effect of glycogen showed in IBP treated fish. The activity of probable detoxifying enzymes including carboxylesterase (CE), glutathion S-transferase (GST) and lactate dehydrogenase (LDH) were assayed in carp liver at dose of sublethal concentrations. Effects of pesticides on changes in each enzyme activities were as follows: carboxylesterase (CE) activities were the highest in IBP and glutathion S-transferase (GST) activities were the highest in isoprothiolane+IBP. Both activities of carboxylesterase (CE) and glutathion S-transferase (GST) were increased by 5 chemicals. The highest LDH activity showed in isoprothiolane treated fish, while the lowest activity was observed in isoprothiolane+cartap. Sublethal exposure to cartap and isoprothiolane+cartap in carp exerted various effects on LDH activity.