

久效磷对真鲷幼体中枢神经系统中乙酰胆碱酯酶活性的影响研究*

EFFECT OF MONOCROTOPHOS ON THE ACETYLCHOLINESTERASE (AChE) OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN LARVAL *Pagrosomus major*

贾翠红 汝少国 李永祺 姜明 刘云 黄泽锦

(青岛海洋大学 266003)

我国从70年代开始对真鲷(*Pagrosomus major*)进行人工育苗研究,近几年来,真鲷养殖发展迅速,成为我国主要海水养殖鱼类之一。但是,随着养殖环境的恶化,各种病害的发生,真鲷的养殖也受到潜在的威胁。孙耀等1993年报道了合成洗涤剂中十二烷基磺酸钠对真鲷胚胎发育的毒性效应。而有机磷农药是一种应用很广的农用杀虫剂,可随地下水和地表水进入海水中。因此它也是近岸海域的主要污染物之一,1986年在青岛胶州湾曾发生有机磷农药污染使几百公顷对虾死亡的事故。有机磷农药主要降低动物体内的乙酰胆碱酯酶的活性,阻碍神经冲动的传递,从而导致肌肉震颤僵直,丧失正常的生理功能。目前,有关有机磷农药对各种养殖动物的毒性效应的研究已有不少报道^[1],但未见对真鲷毒性的报道。本文从生理生化角度探讨久效磷对真鲷中枢神经系统的毒性效应。

1 材料与方 法

1.1 材 料

真鲷取自中国水产科学研究院黄海水产研究所小麦岛养殖场,后驯养于青岛海洋大学生态实验室,饲养水槽大小为长60 cm、宽25 cm、高35 cm,放养10~15尾,水温控制在20℃左右。真鲷体长5 cm,驯化2周后,根据处理时间的长短和处理剂量的大小分为急性实验和亚急性实验两组,用7 mg/L的久效磷

进行急性毒性实验,用0.5 mg/L和1 mg/L进行亚急性毒性实验。于48 h和96 h后取7 mg/L久效磷处理的真鲷的脑和脊髓;7 d后取1 mg/L久效磷处理的真鲷的脑和脊髓;14 d后取0.5 mg/L久效磷处理的真鲷的脑和脊髓以及上述条件下对照组中真鲷的脑和脊髓。

实验用久效磷(Monocrotophos)为青岛农药厂生产出品的40%水溶性制剂,其化学名称为0,0-二甲基-0-[1-甲基-2-(甲基氨基甲酰)]乙烯基磷酸酯,其分子式为 $C_7H_{14}O_5NP$ 。

1.2 方 法

1.2.1 酶溶液制备 取一定量鱼脑和脊髓,用刀切成小块,加4倍磷酸缓冲液,冰浴条件下匀浆后离心,取上清液备用。

1.2.2 酶活力测定 基本按Ellman 1961年的比色法,它系由胆碱酯酶水解乙酰胆碱的硫醇同类物(碘化硫代丁酰胆碱)而产生硫醇,硫醇与双二硫代硝基苯甲酸(DTNB)起反应,生成一种深黄色络合物,可于412 nm处测量光吸收值。乙酰胆碱酯酶活性越高,水解碘化硫代丁酰胆碱而产生的硫醇越多,生成的深黄色络合物越多,反应液的颜色越深,则光吸收值越大,因此,光吸收值与酶活力的大小呈正比,可用

* 国家攀登计划B资助项目 PDB-6-7-1号;

收稿日期:1998-07-23;修回日期:1998-11-12

A412 吸收值的大小代表酶活力的大小。具体作法,稍加改进。首先 3.0 ml 缓冲液和 250 μ l 酶溶液与 100 μ l DTNB(5,5,-联硫-2,2,-硝基苯甲酸)在 37 $^{\circ}$ C 保温 3 min,之后加入 20 μ l 碘化硫代丁酰胆碱,继续保温 5 min 之后加入 0.8 ml SDS(十二烷基硫酸钠)终止反应,于 412 nm 处测定光吸收值。

2 结果与讨论

2.1 急性毒性

将真鲷饲养于含 7 mg/L 久效磷的海水中 48 h 和 96 h 后,观察其中枢神经系统中乙酰胆碱酯酶活性的变化,结果见表 1。

表 1 7 mg/L 久效磷分别处理 48 h 和 96 h 后反应液的光吸收值

组别	光吸收值			
	样品 1	样品 2	样品 3	平均值
对照组	0.520	0.524	0.506	0.517
处理 48 h	0.1152	0.144	0.110	0.113
处理 96 h	0.114	0.108	0.109	0.110

从表 1 中可以看到,对照组真鲷中枢神经系统乙酰胆碱酯酶反应液的光吸收值明显大于经久效磷处理后的真鲷中枢神经系统乙酰胆碱酯酶反应液的光吸收值;处理 48 h 与处理 96 h 相比,后者的光吸收值略微小于前者的光吸收值。这表明,久效磷对真鲷中枢神经系统中乙酰胆碱酯酶的活性有抑制作用,且随着处理时间的延长,抑制作用逐渐加大。

2.2 亚急性毒性

经 0.5 mg/L 和 1 mg/L 久效磷亚急性毒性处理后,其中枢神经系统中乙酰胆碱酯酶活性的变化如表 2 所示。

由表 2 可知,0.5 mg/L 久效磷处理 14 d 的光吸收值小于 1 mg/L 处理 7 d 的光吸收值,说明前者脑和脊髓中的乙酰胆碱酯酶活性小于后者。因此,真鲷

中枢神经系统中乙酰胆碱酯酶活性随久效磷处理时间的延长而逐渐减小。

表 2 0.5 mg/L 久效磷处理 14 d 和 1 mg/L 处理 7 d 后反应液的光吸收值

组别	光吸收值			
	样品 1	样品 2	样品 3	平均值
对照组	0.520	0.524	0.506	0.517
1 mg/L 处理 7d	0.142	0.120	0.132	0.131
0.5 mg/L 处理 14 d	0.119	0.105	0.116	0.113

2.3 讨论

久效磷是一类高效、低毒、低残留的有机磷农药,广泛应用于农业和渔业,它虽然分解快,但在分解前毒性很大,不仅对靶生物有效杀灭,对非靶生物的影响也很大。在体内各种组织中,脑内的乙酰胆碱酯酶对有机磷农药作用的敏感性最高。例如:鲤鱼,引起死亡的脑乙酰胆碱酯酶抑制率在急性暴露中为 95 %^[2]。最新研究表明,有机磷农药对体内 ATP 酶也有抑制作用,但其敏感性远远低于乙酰胆碱酯酶,因此,动物体内,尤其中枢神经系统乙酰胆碱酯酶活性的大小是衡量生存环境中有机磷污染程度的重要指标。

随着有机磷农药的长期使用,靶生物的抗药性也逐步提高,已由敏感型向有一定的抗性转化,从而导致农药的投放量增加,直接威胁非靶生物的生命,与此同时,非靶生物是否已由受影响型向敏感型转化,或由敏感型向有一定的抗性转化,这有待于进一步实验证实。

参考文献

- 1 汝少国等.水产学报,1996,20(1):1~5
- 2 刘洁生等.环境科学研究,1997,10(3):21~25