

二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼和 鲮体内 AChE 酶活性的影响

马光明^{1,2}, 顾党恩¹, 罗渡¹, 牟希东¹, 罗建仁¹, 胡隐昌^{1*}

(1.中国水产科学研究院珠江水产研究所农业部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室, 广东 广州 510380;
2.上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘 要:为探明二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)的特异性毒性机理,以尼罗罗非鱼和土鲮(*Cirrhinus molitorella*)为试验对象,研究暴露在不同药物质量浓度(0.05、0.1 mg/L)和不同时间下2种鱼的生存状况以及体内乙酰胆碱酯酶(AChE)活性的变化。结果表明:在急性毒性试验及清水恢复的整个过程中,暴露在0.05、0.1 mg/L药液中的尼罗罗非鱼和鲮的死亡率分别为100%和0;尼罗罗非鱼和鲮的脑及肝脏中的AChE酶活性呈现出随药物暴露浓度和时间的增加而显著降低的趋势,但尼罗罗非鱼体内AChE酶活性的下降幅度显著高于鲮($P < 0.05$),且呈现不可逆的趋势;在10 d清水恢复后,暴露在0.05、0.1 mg/L药液中的鲮脑中的AChE酶活性恢复原度高达96.25%、79.33%。由此得出,低剂量的二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼具有高毒性,而对鲮的毒害作用较小,其特异性的毒杀机制可能源于2种鱼体内AChE酶活性对二硫代磷酸酯类敏感性的显著性差异。

关 键 词: 尼罗罗非鱼; 鲮; 二硫代磷酸酯类; 乙酰胆碱酯酶; 特异性毒性

中图分类号: S948 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2015)01-0075-07

Effects of exposure to phosphorodithioate on the activity of acetylcholinesterase in tissues of Nile tilapia and Mud carp

Ma Guangming^{1,2}, Gu Dangen¹, Luo du¹, Mu Xidong¹, Luo Jianren¹, Hu Yinchang^{1*}

(1. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation, Ministry of Agriculture, Guangzhou, Guangdong 510380, China;
2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to explore the special mechanism of phosphorodithioate, an organophosphorus pesticide, on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), Nile tilapia and Mud carp (*Cirrhinus molitorella*) were selected as materials to study their living conditions and activity change of AChE under various concentration poison exposure and duration. The results showed that, in acute toxicity test and recovery in water test, the mortality of Nile tilapia and Mud carp exposed to 0.05 and 0.1 mg/L solution were 100% and 0 respectively, and the activity of AChE in brain of Nile tilapia and Mud carp were significantly decreased with the increase of concentration and exposure time ($P < 0.05$), but the drop rate in Nile tilapia was much greater than that in Mud carp, and this kind of decrease was irreversible; The activity of AChE in brain of Mud carp, however, renewed to 96.25% and 79.33% after ten days recovery in clean water. Hence, it could be concluded that the phosphorodithioate had high toxicity on Nile tilapia and had no obvious toxicity on Mud carp at a lower concentration; the selective poison mechanism of two species might be related with the different sensitivities of the activity of AChE on phosphorodithioate.

Keywords: Nile tilapia; Mud carp; phosphorodithioate; acetylcholinesterase (AChE); specific toxicity

生物入侵是当前全球面临的严重生态和经济问题之一^[1-2]。生物入侵会导致入侵地生态系统的组成和结构发生变化,进而影响入侵地的生物多样性,改变入侵地的生态性质和功能^[3]。尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)隶属于鲈形目(Perciformes), 丽鱼科(Cichlidae), 原产于非洲和中东, 是目前全球分布最广泛的养殖品种。随着养殖的推广和扩散, 罗非鱼已进入到美国、巴西、澳大利亚、南非等全球多个国家和地区的自然水域^[4-8]。在中国华南地区, 尼罗罗非鱼已成为大部分水系的常见种, 尤其是在广东省境内的珠江水系中已建立了自然种群^[9]。尼罗罗非鱼种群数量的激增, 与土著鱼类争夺有限的资源, 致使多种土著鱼类的数量显著下降, 甚至濒临灭绝, 进而打破了生态系统原有的平衡^[10-11]。

为了降低尼罗罗非鱼对小面积封闭的自然水域, 如池塘等地的生态系统带来的经济损失和生态灾难, 农业部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室筛选了一种特异性防控药物——二硫代磷酸酯类, 并已通过多种常见鱼, 如草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、鲤(*Cyprinus carpio*)、鲫(*Carassius auratus*)、泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)、克氏原螯虾(*Procambarus clarkia*)和小型实验动物斑马鱼(*Danio rerio*)、唐鱼(*Tanichthys albonubes*)进行的急性毒性试验。试验结果验证了二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼具有选择性毒杀作用^[12]。二硫代磷酸酯类为有机磷酸酯类化合物。该类物质能够作用于神经突触中的乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE), 使其活性部位的丝氨酸磷酸化, 并生成不可逆的磷酸化酶, 从而阻碍AChE对乙酰胆碱的水解作用, 造成神经递质乙酰胆碱在突触中的积累, 导致神经传导功能的紊乱, 使生物个体丧失正常的生理功能, 甚至死亡^[13-14]。相关研究表明, 有机磷农药对同种鱼类不同组织和不同鱼类同种组织中AChE酶活性的抑制作用不同^[15]。鱼类AChE主要存在于神经组织和血细胞中, 在摄入有机磷农药后, 对其肝脏、胰脏、鳃、肠、肌肉等实质性脏器均有毒性效应, 而肝脏往往是影响最为严重的器官^[16-17]。为此, 笔者选择测定试验鱼脑

和肝脏组织中的AChE酶活性。

鲮(*Cirrhinus molitorella*), 隶属于鲤形目(Cypriniformes), 鲤科(Cyprinidae), 鲮属(*Cirrhinus*), 是华南地区重要的经济鱼类之一, 其产量约占珠江流域淡水渔业产量的1/3, 在尼罗罗非鱼的所有分布区, 鲮的分布最为广泛, 数量也最多^[18-19], 最适合作为土著鱼类的代表。为了探索二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼的选择性毒杀机制, 笔者通过观察暴露在不同药物浓度和不同时间内尼罗罗非鱼和鲮的生存状况以及检测鱼体内AChE酶活性, 研究二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼和鲮体内AChE酶活性的影响差异, 旨在为二硫代磷酸酯类在小面积封闭水域中的应急防控提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1) 试验鱼。尼罗罗非鱼取自于珠江水产研究所高要水产良种基地, 体长(9.86±0.93) cm, 湿重(34.65±5.69) g; 鲮购买于广州市花地湾花鸟虫鱼市场, 体长(9.12±0.89) cm, 湿重(13.81±1.61) g。试验鱼均为体型健壮的个体, 大小基本一致。具体选择标准为: 体型正常, 鳞片完整, 体色光亮, 各鳍舒展无缺陷, 行动敏捷, 食欲好, 逆水性强, 无明显的疾病和肉眼可见的畸形。

2) 试验容器。有机玻璃缸, 其规格为30 cm×30 cm×35 cm, 总体积30 L, 盛水20 L。为减少试验容器对药物的吸附, 试验前用相应浓度的药物浸泡12 h以上。

3) 试验仪器。水质分析仪(PRO 20型, YSI美国维塞仪器公司), 组织匀浆器(PRO 200, 美国Oxford. CT.); 低温高速离心机(5415R, 德国EPPENDORF); 紫外可见分光光度计(UV-8000S, 上海元析仪器有限公司)。

4) 试验药品及试剂。药品为40%的乳油, 可直接按剂量加入水中, 其有效成分为二甲基二硫代磷酸酯, 上海艾科思生物药业有限公司产品。纯品为无色结晶, 熔点39~40℃(1.33 Pa), 相对密度1.495(20℃), 蒸汽压 1.87×10^{-4} Pa, 易溶于丙酮、苯和甲醇。该药物具有较强的刺激性味道, 吸入过多,

会引起头晕恶心,接触该药时应戴上口罩和手套。AChE 酶活性测定试剂盒、考马斯亮蓝总蛋白试剂盒和标准蛋白均由南京建成生物工程研究所提供。其他试剂均为分析纯,由上海化学试剂厂生产。

5) 试验用水。采用空气泵充分曝气 72 h 以上的除氯自来水,使用水质分析仪测定水质指数,确保水质达到溶解氧 6.5 mg/L 以上,水温约(25.0±1.0) °C, pH 8.1~8.4。

1.2 试验用鱼的驯养

试验在珠江水产研究所外来水生生物入侵风险评估研究中心进行。光照及通风良好,室内温度为(30.0±1.0) °C。

试验之前,先将试验鱼驯养 1 周。驯养条件(如水质、温度和光照)与正式试验一致,以便尽快适应试验条件。驯养期间每天投喂少量饵料,以不影响水质为准,并每天定时清除食物残渣及粪便,检查鱼的健康状况,如有出现受伤、体色异常、行动呆滞、拒食和身体消瘦等现象则及时除去。试验前 3 d,确保驯养鱼的死亡率及发病率在 1% 以下^[20]。

1.3 对供试鱼的急性毒性试验

试验严格按照《化学品测试方法》^[21]中鱼类急性毒性试验部分设计和执行。试验采用半静态式(每隔 12 h 更换试验用液 1 次)进行。根据已有的研究结果,将尼罗罗非鱼连续 96 h 暴露在质量浓度大于 0.15 mg/L 的二硫代磷酸酯类药液中,其死亡率为 100%,故在本试验中设置暴露浓度为 0.05、0.1 mg/L,以此来研究该药对尼罗罗非鱼和鲮的急性毒性。为了消除因药物挥发对对照组的影响,在试验的过程中将对照组和处理组分别放置在相距约 5 m 的大玻璃缸中。大玻璃缸高约 1 m,容积 500 L,且不同玻璃缸内条件一致。

对尼罗罗非鱼的急性毒性试验:将 120 尾尼罗罗非鱼,分成 3 组,连续 4 d 使其分别暴露在质量浓度为 0.05、0.1 mg/L 的二硫代磷酸酯类药液及清水(对照)中,每个浓度组及对照组设置 3 个平行。试验开始后,前 4 d 不喂食,第 5 天开始停止施药,更换清水,并在不影响水质的前提下,投喂适量饵料,连续 14 d 观察,每隔 12 h 记录尼罗罗非鱼的生存状况及死亡数。试验鱼死亡(用玻璃棒触动其尾部无反应,且放在清水中 5 min 仍无反应,则判

断为死亡)之后及时清除。

对鲮的急性毒性试验设置与对尼罗罗非鱼的急性毒性试验相同。

1.4 二硫代磷酸酯类对供试鱼体内 AChE 酶活性的影响试验

试验采用半静态方式进行。试验周期为 14 d。尼罗罗非鱼和鲮各 90 尾,首先将每种鱼各分成 3 组,连续 4 d 使其分别暴露在质量浓度为 0.05、0.1 mg/L 的二硫代磷酸酯类药液及清水(对照)中,每个浓度组及对照组设置 3 个平行,第 5 天停止用药,更换清水。试验期间不喂食,每隔 24 h 从每个浓度组随机取出 3 尾鱼,断头致死,取出脑和肝脏,首先用 0.75% 的生理盐水冲洗,然后按 10 g 样本配 1 mL 生理盐水的比例,放入 2 mL 的离心管中,用眼科剪刀尽量剪碎组织,最后用小型组织匀浆机充分研磨,全过程在 0 °C 冰水浴中进行。将制备好的组织匀浆在 4 °C 下 2 600 r/min 离心 10 min,取上清液置于-20 °C 冰箱中,待用。

1.5 总蛋白含量和 AChE 酶活性的测定

采用试剂盒测定鲮体内组织中 AChE 酶活性,并用考马斯亮蓝总蛋白试剂盒和标准蛋白测定组织的蛋白质含量,测试方法均为比色法(操作按试剂盒说明书进行)。AChE 酶活性的单位为 U/mg, U 的定义为每毫克组织蛋白在 37 °C 保温 6 min,水解反应体系中 1 μmol 基质为 1 个酶活力单位。AChE 酶活性抑制率=(对照组酶活性平均值-试验组酶活性平均值)/对照组酶活性平均值×100%^[20]。

1.6 数据统计方法

采用 SPSS 20.0 统计分析软件,在 P=0.05 的置信水平对 AChE 的变化情况进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 急性毒性试验结果

暴露在 0.05、0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类药液中的尼罗罗非鱼 24 h 后均出现明显的中毒症状,如呼吸变急促、受外界刺激后出现狂游、体色变黑等。0.1 mg/L 浓度组的部分尼罗罗非鱼 48 h 后侧翻死亡;0.05 mg/L 浓度组的部分尼罗罗非鱼 72 h 后侧翻死亡;96 h 后,0.1 mg/L 浓度组的尼罗罗非鱼的死亡率为 86.67%,而 0.05 mg/L 浓度组的尼罗罗非

鱼的死亡率为 66.67%(表 1)。0.1、0.05 mg/L 处理组的尼罗罗非鱼分别在清水恢复的第 2 天和第 3 天全部死亡。由此可以得出二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼具有较强的毒杀作用,且毒杀效果随着暴露药物浓度的增加和暴露时间的延长而增强。

表1 不同观察时段尼罗罗非鱼的死亡率

Table 1 The acute toxicity of phosphorodithioate on the accumulation mortality of Nile tilapia at different time intervals

药物质量 浓度/(mg·L ⁻¹)	死亡率/%			
	0~24 h	0~48 h	0~72 h	0~96 h
0	0	0	0	0
0.05	0	0	63.33±5.77	66.67±5.77
0.10	0	26.67±5.77	76.67±5.77	86.67±5.77

暴露在 0.05、0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类药液及清水中的鲮,4 d 后死亡率为 0,且无明显的中毒症状;在之后的 10 d 清水恢复中,药物组和对照组仍无死亡,且在后期的观察中处理组与对照组的鲮无明显差异。由此可以说明二硫代磷酸酯类对鲮的毒杀效果不显著($P > 0.05$),对鲮鱼无明显危害。

表2 暴露在不同药物浓度中的尼罗罗非鱼和鲮脑组织中的AChE酶活性

Table 2 The activity of AChE in the brain of Nile tilapia and Mud carp at different concentrations of phosphorodithioate exposure

时间/d	尼罗罗非鱼脑中 AChE 酶活性/(U·mg ⁻¹)			鲮鱼脑中 AChE 酶活性/(U·mg ⁻¹)		
	0 mg/L	0.05 mg/L	0.1 mg/L	0 mg/L	0.05 mg/L	0.1 mg/L
1	1.34±0.05	(1.21±0.03)a	(0.78±0.05)b	2.16±0.04	(1.93±0.09)a	(1.88±0.03)a
2	1.39±0.02	(1.29±0.04)a	(0.87±0.01)a	2.06±0.06	(1.76±0.07)b	(1.54±0.07)c
3	1.31±0.06	(0.47±0.06)b	(0.23±0.02)c	2.02±0.04	(1.11±0.03)d	(0.86±0.05)e
4	1.40±0.01	(0.24±0.02)c	(0.22±0.01)c	2.06±0.10	(1.09±0.12)d	(0.54±0.06)f
8	×	×	×	2.09±0.07	(1.00±0.09)d	(0.62±0.09)f
10	×	×	×	2.16±0.11	(1.09±0.08)d	(0.85±0.05)e
12	×	×	×	2.08±0.04	(1.59±0.07)c	(1.11±0.09)d
14	×	×	×	2.09±0.04	(2.00±0.03)a	(1.65±0.05)b

同一列中不同小写字母表示存在显著性差异($P < 0.05$, $n = 3$);“×”表示尼罗罗非鱼在试验过程中死亡。

2.3 供试药对尼罗罗非鱼和鲮肝脏组织 AChE 酶活性的影响

对照组尼罗罗非鱼肝脏组织中 AChE 酶活性约为 0.35 U/mg,连续 4 d 暴露在 0.05、0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类中的尼罗罗非鱼,其肝脏组织中的 AChE 酶活性随着暴露时间的延长而显著降低($P < 0.05$),最低至 0.20、0.09 U/mg。24 h 后,暴露在 0.05 mg/L 的尼罗罗非鱼肝脏中 AChE 酶活性急剧下降,但随着用药时间的延长并没有继续下降;暴露在 0.1 mg/L 药液中的尼罗罗非鱼肝脏中 AChE 酶

2.2 供试药对尼罗罗非鱼和鲮脑组织中 AChE 酶活性的影响

对照组尼罗罗非鱼脑组织中 AChE 酶活性约为 1.4 U/mg,连续 4 d 暴露在 0.05、0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类中的尼罗罗非鱼,其脑组织中 AChE 酶活性随着暴露时间的延长和药物浓度的增加而显著降低($P < 0.05$)。暴露 48 h 后,0.1 mg/L 组的尼罗罗非鱼脑中的 AChE 酶活性略微有所上升,但是 72 h 后 0.05、0.1 mg/L 组的 AChE 酶活性均急剧下降(表 2)。对照组鲮的脑组织中 AChE 酶活性约为 2.0 U/mg,连续 4 d 暴露在 0.05、0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类中的鲮,其脑组织中的 AChE 酶活性随着暴露时间的延长和药物浓度的增加而显著降低($P < 0.05$),连续 4 d 清水恢复后,其脑组织中的 AChE 酶活性随着恢复时间的延长而逐渐升高。上述结果显示,在正常条件下,尼罗罗非鱼脑组织的酶活性显著低于鲮鱼的($P < 0.05$),尼罗罗非鱼和鲮脑中的 AChE 酶活性随着暴露药物浓度和时间的增加而显著降低($P < 0.05$),但前者的 AChE 酶活性下降幅度显著高于后者。

活性,在 24 h 急剧下降后,随着用药时间的延长继续显著下降(表 3)。对照组鲮肝脏中 AChE 酶活性约为 0.75 U/mg,连续 4 d 暴露在 0.05、0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类中的鲮,其肝脏组织中的 AChE 酶活性随着暴露时间的延长而逐渐降低,最低至 0.43、0.33 U/mg。连续 4 d 清水恢复后,0.05 mg/L 组鲮鱼肝脏组织中的 AChE 酶活性随着恢复时间的延长而逐渐升高,最高至 0.47 U/mg,而暴露在 0.1 mg/L 中的 AChE 酶活性随着恢复时间的延长无显著变化(表 3)。上述结果显示,在正常条件下尼罗罗非鱼肝

脏组织的 AChE 酶活性显著低于鲮鱼的($P < 0.05$), 和时间的增加而显著降低, 但前者的 AChE 酶活性尼罗罗非鱼和鲮肝脏中 AChE 酶活性随着暴露浓度 下降幅度显著高于后者($P < 0.05$)。

表3 暴露在不同药物浓度中的尼罗罗非鱼和鲮肝脏组织中的AChE酶活性

Table 3 The activity of AChE in the liver of Nile tilapia and Mud carp at different concentrations of phosphorodithioate exposure

时间/d	尼罗罗非鱼肝脏 AChE 酶活性/(U·mg ⁻¹)			鲮鱼肝脏 AChE 酶活性/(U·mg ⁻¹)		
	0 mg/L	0.05 mg/L	0.1 mg/L	0 mg/L	0.05 mg/L	0.1 mg/L
1	0.34±0.02	0.22±0.01	(0.14±0.01)a	0.79±0.03	(0.57±0.03)a	(0.47±0.04)a
2	0.36±0.01	0.21±0.03	(0.14±0.03)a	0.77±0.05	(0.49±0.05)b	(0.40±0.03)b
3	0.35±0.04	0.20±0.01	(0.11±0.01)b	0.76±0.05	(0.43±0.03)c	(0.35±0.03)b
4	0.35±0.03	0.21±0.03	(0.09±0.02)c	0.74±0.03	(0.47±0.02)b	(0.33±0.02)b
8	×	×	×	0.75±0.04	(0.40±0.03)c	(0.35±0.04)b
10	×	×	×	0.73±0.01	(0.35±0.04)c	(0.31±0.02)b
12	×	×	×	0.75±0.04	(0.45±0.04)b	(0.34±0.03)b
14	×	×	×	0.77±0.04	(0.47±0.03)b	(0.38±0.03)b

同一列中不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$, $n = 3$); “×”表示尼罗罗非鱼在试验过程中死亡。

3 结论与讨论

1) 二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼和鲮的毒杀效果。有机磷农药对尼罗罗非鱼的毒性效果研究已有大量的报道, 如久效磷^[22]、杀螟硫磷^[23]和甲基对硫磷^[24]对尼罗罗非鱼均有较高的毒性作用。三唑磷和乙酰甲胺磷对鲮的 96 h LC_{50} 分别为 0.05、113.2 mg/L^[25], 表明不同的有机磷农药对鲮的毒杀效果具有显著差异性($P < 0.05$)。在本研究中, 将尼罗罗非鱼和鲮分别暴露在 0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类药液中, 96 h 后尼罗罗非鱼的死亡率高达 86.7%, 而鲮的死亡率为 0, 且未观察到明显的中毒症状, 因此该浓度试验不仅证明了不同有机磷农药作用的特异性, 也证明了二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼的毒杀特异性, 且毒杀效果显著, 而对鲮的危害较小, 为该药应用于生产实际提供了基础参数依据。

2) 二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼和鲮脑组织中 AChE 酶活性的影响。相关文献^[15-16]表明, 不同种类的药物对同种鱼类乙酰胆碱酯酶活性的抑制作用有很大的区别, 而同种农药对不同鱼类的乙酰胆碱酯酶活性的抑制强度也有所不同。Coppage^[26]通过检测暴露在多种有机磷农药中的鳊科鱼类红鲮(*Cyprinodon variegates*)脑组织中的 AChE 酶活性, 得出当鱼类脑组织中的 AChE 酶活性的抑制率在 20%~70% 可基本诊断为有机磷农药暴露所致。本研究发现, 尼罗罗非鱼和鲮脑组织的 AChE 酶活性均随着暴露时间的延长和暴露药物浓度的提高而显著降低, 连续 4 d 暴露在二硫代磷酸酯类药液

中, 其脑组织 AChE 酶活性抑制率分别为 11.97%~83.50%和 10.65%~73.91%, 这与陈家长等^[18]对尼罗罗非鱼和 Dolah 等^[27]对美国红鱼(*Sciaenops ocellatus*)的研究结果基本一致。已有的研究^[28-29]表明, 不同鱼类脑组织中 AChE 酶活性抑制率的耐受程度有很大的区别, 一般认为当其在 70%~80% 时可能会导致鱼类出现明显的中毒症状, 甚至昏迷死亡。本试验中将尼罗罗非鱼和鲮分别暴露在 0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类药液中, 96 h 后尼罗罗非鱼和鲮的脑组织中 AChE 酶活性的抑制率达到 83.15% 和 47.09%, 尼罗罗非鱼处于濒临死亡的状态, 而鲮活动正常。由此可以得出, 在低浓度二硫代磷酸酯类暴露时, 尼罗罗非鱼脑组织中的 AChE 酶活性的抑制程度显著强于鲮的, 这或许是造成尼罗罗非鱼全部死亡而对鲮的毒害作用较小的原因之一。

3) 二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼和鲮肝脏组织中 AChE 酶活性的影响。针对有机磷农药对鱼体内 AChE 酶活性影响的研究, 大多数都集中在鱼的脑、鳃、肌肉和血清中^[30-31], 对于肝脏组织内 AChE 酶活性的研究却少有报道。本研究发现二硫代磷酸酯类对尼罗罗非鱼和鲮肝脏中的 AChE 酶活性有显著的抑制作用。如尼罗罗非鱼和鲮在 0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类药液中暴露 96 h 后, 其肝脏组织中 AChE 酶活性的抑制率达 74.29%和 36.49%, 尼罗罗非鱼处于濒临死亡的状态, 而鲮活动正常, 尼罗罗非鱼肝脏组织内的 AChE 酶活性抑制率显著高于鲮的, 这也可能是造成尼罗罗非鱼快速死亡, 且在高浓度暴露后在清水中仍不能恢复的原因之一。李少南等^[32]

以 3 种硫代磷酸酯类杀虫剂为受试药剂, 研究结果表明鱼肝脏微粒体在活化硫代磷酸酯杀虫剂作用下具有明显的种间差异, 这或许也是鲮对二硫代磷酸酯类敏感性较低的一个原因, 但仍需进一步的研究, 如解剖鱼体、观察鱼脑和肝脏组织是否病变、检测有机磷农药在鱼脑和肝脏中的残留、检测鲮肝脏内 CYP 活性等来确定。

4) 清水恢复对鲮体内 AChE 酶活性的影响。一般来说, 大部分鱼类在有机磷农药中暴露之后, 脑组织中 AChE 酶活性通常需要几周时间才能恢复^[33], 但暴露在 0.05、0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类中的鲮, 经过 10 d 的清水恢复, 鲮脑 AChE 酶活性恢复率已达到 96.25% 和 79.33%, 这与其他农药相比有很大的区别, 从而也说明了二硫代磷酸酯类对鲮的毒害作用轻微, 并能迅速恢复。经过 10 d 的清水恢复, 暴露在 0.05、0.1 mg/L 二硫代磷酸酯类中的鲮鱼肝脏的 AChE 酶活性恢复率仅 62.67% 和 50.67%, 这可能与肝脏是有毒物质积聚和转化的重要场所有关, 也有可能与恢复时间过短有关。Capkin 和 Altinok^[34]研究发现, 暴露在丁硫克百威(carbosulfan) 中的虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*), 经 21 d 清水恢复之后, 肝脏中多种抗氧化酶活性均恢复至对照组的水平, 且未发现肝脏组织损伤。恢复能力与最初暴露浓度存在一定的关系, 最初暴露浓度越低, 其酶活性的恢复能力越强, 反之亦然, 这与 Rao^[23]对罗非鱼脑组织中的 AChE 酶活性的研究结果基本一致。

参考文献:

- [1] Davies K F, Cavender-Bares J, Deacon N. Native communities determine the identity of exotic invaders even at scales at which communities are unsaturated[J]. *Diversity and Distributions*, 2010, 17(1): 35–42.
- [2] Lowe M R, Wu W, Peterson M S, et al. Survival, growth and reproduction of non-native Nile tilapia II: Fundamental niche projections and invasion potential in the Northern Gulf of Mexico[J]. *Plos One*, 2012, 7(7): 41580.
- [3] Mark R N, Simberloff D, Lonsdale W M, et al. Biotic invasions: Causes, epidemiology, global consequences, and control[J]. *Ecological Applications*, 2000, 10(3): 689–710.
- [4] Costa-Pierce B A. Rapid Evolution of an Established Feral Tilapia(*Oreochromis*): The Need to Incorporate Invasion Science into Regulatory Structures[M]. *Marine Bioinvasions: Patterns, Processes and Perspectives*, 2003: 71–84.
- [5] Gretchen L G, Willam T S, Mark S P, et al. Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) establishment in temperate Mississippi, USA: Multi-year survival confirmed by otolith ages[J]. *Aquatic Invasions*, 2012, 7(3): 367–376.
- [6] Peterson M S, Slack W T, Brown-peterson N J, et al. Reproduction in nonnative environments: Establishment of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in coastal Mississippi watersheds[J]. *Copeia*, 2004, 4: 842–849.
- [7] Peterson M S, Slack W T, Waggy G L, et al. Foraging in non-native environments: Comparison of Nile tilapia and three co-occurring native centrarchids in invaded coastal Mississippi watersheds[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2006, 76(2/4): 283–301.
- [8] Russell D J, Thuesen P A, Thomson F E. A review of the biology, ecology, distribution and control of Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) (Pisces: Cichlidae) with particular emphasis on invasive Australian populations[J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2012, 22(3): 533–554.
- [9] 顾党恩, 牟希东, 胡隐昌, 等. 广东省主要水系罗非鱼的建群状况[J]. *生物安全学报*, 2012, 21(4): 277–282.
- [10] 顾党恩, 牟希东, 胡隐昌, 等. 广东省主要水系外来水生生物初步调查[J]. *生物安全学报*, 2012, 21(4): 272–276.
- [11] Doupe R G, Knott M J, Schaffer J, et al. Experimental herbivory of native Australian macrophytes by the introduced Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [J]. *Austral Ecology*, 2010, 35(1): 24–30.
- [12] 马光明, 顾党恩, 牟希东, 等. “灭非灵”对外来鱼类尼罗罗非鱼的毒杀效果[J]. *生态学杂志*, 2014, 33(9): 2442–2447.
- [13] Forget J, Bocquene G. Partial purification and enzymatic characterization of acetylcholinesterase from the intertidal marine copepod *Tigriopus brevicornis*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1999, 123(4): 345–350.
- [14] Mllesoki B E, Chambers J E, Chen W L, et al. Common mechanism of toxicity: A cause study of organophosphorus pesticides[J]. *Toxicological Sciences*, 1998, 41(1): 8–20.
- [15] 周辉明, 吴志强, 袁乐洋, 等. 有机磷农药对鱼类的毒性效应[J]. *江西水产科技*, 2005(1): 19–22.
- [16] 魏渣辉, 汝少国, 姜明, 等. 有机磷农药对鱼类的毒性效应及内分泌扰乱作用[J]. *海洋科学*, 2002, 26(9): 27–31.
- [17] Barbieri E, Ferreira L A. Effects of the organophosphate pesticide Folidol 600 on the freshwater fish, Nile tilapia

- (*Oreochromis niloticus*)[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2011, 99(3): 209–214.
- [18] 林小植, 林鸿生, 李冬梅, 等. 广东韩江不同年龄鲮鱼鱼体化学组成的研究[J]. 四川动物, 2011, 30(4): 564–568.
- [19] 李跃飞, 李新辉, 谭细畅, 等. 珠江中下游鲮早期资源分布规律[J]. 中国水产科学, 2011, 18(1): 171–177.
- [20] 陈家长, 冷春梅, 胡庚东, 等. 溴氰菊酯连续暴露对罗非鱼血清乙酰胆碱酯酶活性的影响[J]. 生态学杂志, 2008, 27(5): 776–779.
- [21] 江孝绰, 尹洧. 化学品测试方法水生生物部分[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2004: 188–194.
- [22] Benli A C, Ozkul A. Acute toxicity and histopathological effects of sublethal fenitrothion on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2010, 97: 32–35.
- [23] Rao J V. Sublethal effects of an organophosphorus insecticide (RPR-II) on biochemical parameters of tilapia, *Oreochromis mossambicus*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2006, 143: 492–498.
- [24] Edison B, Leandro A, Alves F. Effects of the organophosphate pesticide Folidol 600 on the freshwater fish Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2011, 99: 209–214.
- [25] 施建军, 庄海兵, 王志铮, 等. 3 种常见有机磷农药对麦瑞加拉鲮鱼幼鱼的急性毒性[J]. 浙江海洋学院学报, 2006, 25(2): 129–132.
- [26] Coppage D L. Organophosphate pesticides: Specific level of brain AChE inhibition related to death in sheepshead minnows[J]. Transactions of the American Fisheries Society, 1972, 101(3): 534–536.
- [27] Dolah R F, Maier P P, Fulton M H, et al. Comparison of azinphosmethyl toxicity to juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) and the mummichog (*Fundulus heteroclitus*)[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1997, 16(7): 1488–1493.
- [28] Gungordu A. Comparative toxicity of methidathion and glyphosate on early life stages of three amphibian species: *Pelophylax ridibundus*, *Pseudepidalea viridis*, and *Xenopus laevis*[J]. Aquatic Toxicology, 2013, 140: 220–228.
- [29] Sancho E, Ferrando M D, Andreu E. Sublethal effects of an organophosphate insecticide on the European eel, *Anguilla anguilla*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1997, 36(1): 57–65.
- [30] Cong V N, Phuaong N T, Bayley M. Brain acetylcholinesterase response in the snakehead fish (*Channa striata*) after field exposure to diazinon[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 71(2): 314–318.
- [31] Ferrari A, Venturino A, D'Angelo A M, et al. Muscular and brain cholinesterase sensitivities to azinphos-methyl and carbaryl in the juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2007, 146(3): 308–313.
- [32] 李少南, 张莉, 边文杰, 等. 鱼类肝脏微粒体对于硫代磷酸酯类杀虫剂活化代谢率的种间差异[J]. 生态毒理学学报, 2010, 5(6): 809–816.
- [33] Ferrari A, Anguiano O L, Soleño J, et al. Time course of brain cholinesterase inhibition and recovery following acute and subacute azinphos-methyl, parathion and carbaryl exposure in the goldfish (*Carassius auratus*)[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2004, 57(3): 420–425.
- [34] Capkin E, Altinok I. Effects of chronic carbosulfan exposure on liver antioxidant enzyme activities in rainbow trout[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2013, 36: 80–87.

责任编辑: 苏爱华
英文编辑: 王 库