对有机磷农药敏感的海鱼脑 AChE 筛选研究

朱小山[1], 孟范平[2], 朱琳[1*], 何东海[2], 杨瑶[1]
(1. 南开大学环境科学与工程学院, 天津 300071; 2. 中国海洋大学海洋生命学院, 青岛 266003)

摘要: 以 10 种海洋鱼类: 鲅鱼、黄花鱼、鲈鱼、黄鱼、美国红鱼、真鲷、黑鲷、面包鱼、黑头鱼和鳗鲡为实验材料, 采用半抑制浓度(IC_{50})和双分子速率常数(K_i)为指标, 通过体外抑制作用比较了这 10 种海鱼脑 AChE 对马拉硫磷和甲基对硫磷的敏感性, 并分析了海鱼脑 AChE 作为监测海水中有机磷农药指示酶的可行性, 由此筛选出适于制备海水有机磷农药酶传感器的指示酶. 实验表明: 10 种海鱼脑 AChE 的基础活性在 4.62~ 35.65 μmol/(min•g)之间, 面包鱼的酶活性最高, 黄花鱼的酶活性最低. 对马拉硫磷, 由 IC_{50}所得到的 AChE 敏感性为: 鲅鱼、黄鱼、鲈鱼、真鲷> 黑鲷> 黑头鱼、鳗鲡> 美国红鱼、黄花鱼> 面包鱼; 由 K_i 所得到的 AChE 敏感性为: 鲅鱼> 黄鱼、鲈鱼、真鲷> 黑鲷、黑头鱼、鳗鲡> 美国红鱼、黄花鱼> 面包鱼. 对甲基对硫磷, 由 IC_{50} 所得到的 AChE 敏感性为: 鲅鱼> 鲈鱼> 黄鱼、黄花鱼、真鲷、黑鲷、黑头鱼、鳗鲡> 美国红鱼> 面包鱼; 由 K_i所得到的 AChE 敏感性为: 鲅鱼> 鲈鱼、黄鱼、黄花鱼、黑鲷、黑头鱼、鳗鲡> 真鲷> 美国红鱼> 面包鱼. 鲅鱼脑 AChE 对 2 种有机磷农药都较为敏感. 影响鱼脑 AChE 对有机磷农药敏感性的主要因素为生物来源、农药种类和抑制方式, 而与酶的基础活性无关. 海鱼脑 AChE 活力抑制作用与水体中的有机磷农药具有良好的剂量-效应关系, 在 1~ 50mg/L 浓度范围内, 两者间呈现较好的线性相关性($r^2 \geqslant 0.93$). 根据 AChE 的敏感性及其对有机磷农药的线性响应程度, 鲅鱼脑 AChE 适于作为监测马拉硫磷和甲基对硫磷酶传感器的指示酶.

关键词: 海洋鱼类; 乙酰胆碱酯酶; 有机磷农药; 敏感性
中图分类号: X503.225 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2006)03-0567-05

Selection Study on the Sensitivity of Marine Fishes Brain Acetylcholinesterase to Organophosphorus Pesticides

ZHU Xiao-shan[1], MENG Fan-ping[2], ZHU Lin[1], HE Dong-hai[2], YANG Yao[1]
(1. College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China; 2. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Adopting the bimolecular rate constant (K_i) and 50% inhibition concentration (IC_{50}) values as indexes, a comparative study on the sensitivity of brain acetylcholinesterase (AChE) to two organophosphorus pesticides(Ops), malathion and parathion-methyl, was conducted in 10 marine fishes such as *Lateolabrax japonicus*, *Hexagrammosolakii*, *Sciaenops ocellatus*, *Pagrosomus major*, *Sparus macrocephalus*, *Scomberomorus niphonius*(Curier), *Navodon septenlrionalis* (Günther), *Anguilla japonica* (Temminek et Schlegel), *Sebastodes fuscescens* (Houttuyn) and *Pseudosciaena polyactis* (Bleeker), through in vitro inhibition experiment. The feasibility was analyzed that marine fish brain AChE was used as indicator enzyme to monitor the Ops in seawater, and then the indicator enzyme suitable to prepare seawater Ops enzyme biosensor was selected. Brain AChE activities vary among these 10 fishes, ranging from 4.62 μmol•(min•g)$^{-1}$(*N. septenlrionalis*) to 35.65 μmol•(min•g)$^{-1}$(*P. polyactis*). The sensitivity of fishes brain AChE to malathion is in the order: *S. niphonius*, *H. otakii*, *L. japonicus*, *P. major*> *S. macrocephalus*> *A. japonica*, *S. fuscescens*> *S. ocellalus*, *P. polyactis*> *N. septentrionalis*, according to IC_{50}; and in the order: *S. niphonius*> *H. otakii*, *L. japonicus*, *P. major* > *S. macrocephalus*, *A. japonica*, *S. fuscescens* > *S. ocellatus*, *P. polyactis*, *N. septentrionalis*, according to K_i. Whereas, for the sensitivity to parathion-methyl, there is another order: *S. niphonius*> *L. japonicas*> *H. otakii*, *P. polyactis*, *P. major*, *S. macrocephalus*, *A. japonica*, *S. fuscescens*> *S. ocellatus*> *N. septenlrionalis* according to IC_{50}; and in the order: *S. niphonius*> *L. japonicas*, *H. otakii*, *P. polyactis*, *S. macrocephalus*, *A. japonica*, *S. fuscescens* > *Pagrosomus major*> *S. ocellalus*> *N. septentrionalis* according to K_i. The brain AChE from *S. niphonius* is more sensitive to both malathion and parathion-methyl than others. The main factors affecting the sensitivity of fish brain AChE to Ops are enzyme source, the category of Ops and the inhibition mode rather than enzyme activities. Furthermore, there is an obvious dose-effect relationship between the activity inhibition and the concentration of Ops. The correlation coefficients (r^2), more than 0.93, could be found while the concentration of pesticides ranges from 1 to 50mg•L^{-1}. Based on the sensitivity of AChE and its linear correlation to Ops, the AChE from *S. niphonius* is suitable to be used as the indicator enzyme of enzyme biosensor to monitor malathion and parathion-methyl.

Key words: marine fishes; acetylcholinesterase(AChE); organophosphorus pesticides; sensitivity

收稿日期: 2005-03-05; **修订日期**: 2005-06-04
基金项目: 国家高技术研究发展计划(863)项目(2001AA635130)
作者简介: 朱小山(1977~), 男, 博士研究生, 从事环境生物与生态毒理学研究.
* 通讯联系人

鱼类是水生生态系统中对有机磷农药较为敏感的一类动物[1]. 目前, 已有许多报道以鱼脑乙酰胆碱酯酶[acetylcholinesterase, AChE(EC 3.1.1.7)]作为指示酶或敏感材料[2,3], 或制成相应的酶传感器监测陆域水体有机磷农药污染[4]. 但是有关酶传感器监测海水有机磷农药的报道尚不多见. 为避免海水高盐度的干扰, 制备监测海水有机磷农药的酶传感器应以海洋动物 AChE 为指示酶. 生态毒理学研究中, 常采用半抑制浓度 IC_{50}或双分子速率常数(bimolecular rate constant, K_i)来评价 AChE 对有机磷农药的敏感性[5]. IC_{50}值越小, 表示农药的抑制作用越强, 即酶的敏感性越强. 双分子速率常数 K_i 值越大, 表明农药的抑制作用越强, 或酶的敏感性越高[5]. 由于马拉硫磷和甲基对硫磷是我国《海水水质标准》(GB3097-1997)中明确规定的海水监测指标, 所以本文拟通过同步测定这 2 种农药对海洋鱼类脑组织 AChE 的 IC_{50}和 K_i, 来比较 10 种海鱼脑 AChE 对有机磷农药的敏感性, 并分析其监测海水中有机磷农药的可行性, 由此筛选出适于制备海水有机磷农药酶传感器的指示酶.

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验用鱼

实验用鲅鱼 *Scomberomorus niphonius* (Curier)(36 ~ 42cm)、黄花鱼 *Pseudosciaena polyactis* (Bleeker)(22~ 24cm)、鲈鱼 *Lateolabrax japonicus* (35 ~ 38cm)、黄鱼 *Hexagrammos otakii* (20 ~ 24cm)、美国红鱼 *Sciaenops ocellatus*(36~ 40cm)、真鲷 *Pagrosomus major* (22 ~ 25cm)、黑鲷 *Sparus macrocephalus* (24 ~ 26cm)、面包鱼 *Navodon septentrionalis* (Günther)(13 ~ 15cm)、黑头鱼 *Sebastodes fuscescens* (Houttuyn)(21~ 23cm)和鳗鲡 *Anguilla japonica* (Temminck et Schlegel)(56~62cm)购自青岛市南山水产品市场. 后 8 种鱼预先驯养于实验室 3~ 4d, 驯养用天然海水取自青岛海滨鲁迅公园沿岸, 饲养体积约为 20 L, 温度 16~17 ℃, 充分曝气, 自然光照.

1.1.2 有机磷农药

马拉硫磷[二硫代磷酸 *O*, *O*-二甲基-*S*-(1, 2-二乙基)酯]和甲基对硫磷(硫化磷酸-*O*, *O*-二甲基-*O*-对硝基苯基酯)标准品从国家农药质检中心(沈阳)购得. 纯度分别大于 98% 和 99%. 用无水乙醇配成系列浓度的使用液.

1.1.3 试剂

碘化硫代乙酰胆碱(即 ATCh)购自 FLUKA 公司; 5,5-双二硫代(2-硝基苯甲酸)(即 DTNB)购自 Sigma 公司; Triton X-100 为 AMRESCO 分装; 其余试剂为国产分析纯.

1.2 试验方法

1.2.1 酶的提取

每种鱼取 6 条, 用剪刀将鱼头背面剪开, 剥去头顶骨, 用镊子取出鱼脑组织, 用滤纸吸去表面的血丝并用镊子轻轻除去非脑组织, 放入表面皿中称重. 而后, 用预冷的含 1% Triton X-100 的磷酸盐缓冲液(pH 8.0, 100 mmol·L^{-1})冰浴条件下匀浆, 匀浆比(质量: 体积)为 1∶4, 制成 50 g·L^{-1}的匀浆液. 然后, 在 4 ℃下离心(4 000 r/min) 15min, 得上清液(即为酶提取液), 记录体积, 并在 4 ℃下保存备用.

1.2.2 非抑制条件下的酶活测定

参照 Ellman 的方法[6], 稍加改进. 首先, 在 3.00mL 磷酸盐缓冲液(0.1 mol·L^{-1}, pH 8.0)中加入 20 μL 酶液, 混匀. 30 ℃保温 20min 后, 依次加入 100 μL DTNB 溶液(终浓度 1.0 mmol·L^{-1})和 20 μL ATCh 溶液(终浓度 1.0 mmol·L^{-1}), 充分混合, 反应体积为 3.14mL. 在 412nm 处用 1cm 比色皿比色, 每隔 0.5min 读数, 连续测定 3min. 酶活力定义为每 g 脑组织每 min 水解底物的 μmol 数, 酶活力单位为 μmol/(min·g).

$$\text{酶活力} = V \times A \times 10^6/(V_0 \times K \times L \times c) \quad (1)$$

式(1)中: A 表示吸光度随时间的变化率(min^{-1}); V_0 表示酶活力测定时所取酶提取液的体积(μL), V_0= 20μL; K 表示消光系数[L/(mmol·mm)], K= 1.36; c 表示匀浆液中脑组织的浓度(g·L^{-1}), c= 50 g·L^{-1}; L 表示测定酶活力时溶液的光径长度, 即比色皿光程(mm), L= 10 mm; V 表示反应体系的总体积(mL), V= 3.14 mL.

1.2.3 半抑制浓度测定

在小塑料瓶中, 准确加入 20 μL 酶提取液、20 μL 农药使用液(系列浓度)和 3.0 mL 磷酸盐缓冲液(0.1 mol·L^{-1}, pH 8.0), 充分混合, 30 ℃保温反应 10min, 再加入 20μL ATCh 溶液(终浓度 1.0 mmol·L^{-1})和 100μL DTNB 溶液(1.0 mmol·L^{-1}). 混合液中有机磷农药的终浓度分别达到 0、1、5、10、50、100、200、300 mg·L^{-1}. 按照步骤 1.2.2 的方法测定吸光度, 计算酶活及其抑制率(与零浓度处理相比). 采用直线内插法[7]分别求出农药对 AChE 的 IC_{50}.

1.2.4　双分子速率常数(K_i)测定

参照 Devonshire[8] 的方法，并稍加修改：30 ℃下，在 5 组比色管中分别加入 20μL 农药使用液，和 3.00mL 的磷酸缓冲液，混匀后，准确加入 20 μL 酶液，再次混匀. 当抑制反应进行 1、2、4、6、8min 后，分别向混合液中加入 20 μL ATCh 溶液(终浓度 1.0 mmol·L^{-1}) 和 100μL DTNB 溶液(终浓度 1.0 mmol·L^{-1}). 体系中农药的浓度均控制为 100 mg·L^{-1}. 按照步骤 1.2.2 的方法测定酶活并计算剩余酶活百分率(与零浓度处理相比). 当农药浓度一定时，剩余酶活百分率与抑制时间之间存在如下关系：

$$\lg P = 2 - (K_i \times c \times t/2.303) \qquad (2)$$

式(2)中：P 表示剩余酶活百分率(%)；K_i 表示双分子速率常数[L/(mg·min)]；c 表示反应体系中农药的浓度(mg·L^{-1})，c= 100 mg·L^{-1}；t 表示抑制时间(min).

因此，根据 t-lg$P$ 曲线的斜率(k)可以求得 K_i 值，即：

$$K_i = k \times 2.303/c.$$

2　结果与分析

2.1　10 种海鱼脑 AChE 的基础活性

表 1 列出了海鱼脑组织 AChE 的基础活性. t 检验(p = 0.05)的结果表明，相同条件下，10 种海鱼脑 AChE 基础活性之间有显著差异. 面包鱼的酶活性最高，而黄花鱼的酶活性最低. 这与其不同的生物来源有关[9]. 本研究所选用的 10 种海鱼分属于不同的科，其中，黄鱼属于六线鱼科，鲈鱼属于[illegible]科，美国红鱼和黄花鱼属于石首鱼科，而黑鲷和真鲷则属于鲷科，鲅鱼属于鲅科，面包鱼属于革[illegible]科，鳗鲡属于鳗鲡科，黑头鱼属[illegible]科.

表 1　10 种海鱼脑 AChE 的基础活性[1)] **/μmoL·(min·g)$^{-1}$**

Table 1　Activities of brain AChE from 10 marine fishes/μmoL·(min·g)$^{-1}$

鱼的种类	AChE 基础活性	鱼的种类	AChE 基础活性
鲈鱼	10.18 ±0.05^{a}	鳗鲡	9.10 ±0.14^{f}
黑鲷	15.93 ±0.16^{b}	面包鱼	35.65 ±0.32^{g}
真鲷	16.59 ±0.13^{c}	黄花鱼	4.62 ±0.35^{h}
美国红鱼	18.90 ±0.36^{d}	鲅鱼	28.17 ±0.71^{i}
黄鱼	22.64 ±0.73^{e}	黑头鱼	14.31 ±0.11^{j}

1) 每种鱼的活性用 3 次平行测定同批酶提取液所得的平均值和标准差表示；a, b, c, d, e, f, g, h, i, j 字母不同者表示相互间存在显著差异，下同.

2.2　有机磷农药对鱼脑 AChE 的半数抑制浓度(IC_{50})

图 1 和图 2 显示，当有机磷农药浓度在 1~ 200 mg·L^{-1}时，鱼脑 AChE 的抑制率随着农药浓度的提高而明显上升. 农药对 10 种鱼脑 AChE 的 IC_{50}见表 2. 根据 t 检验(p = 0.05)可知，马拉硫磷对 10 种海鱼的 IC_{50}由大到小依次为：面包鱼> 美国红鱼、黄花鱼> 黑头鱼、鳗鲡> 黑鲷> 真鲷、鲈鱼、黄鱼、鲅鱼，其中，后 4 种鱼不存在显著差异；而甲基对硫磷对 10 种海鱼的 IC_{50}顺序为：面包鱼> 美国红鱼> 黄鱼、黄花鱼、黑头鱼、鳗鲡、真鲷、黑鲷> 鲈鱼> 鲅鱼，其中，黄鱼、黄花鱼、黑头鱼、鳗鲡、真鲷、黑鲷 6 种鱼的 IC_{50}之间无显著差异，而鲅鱼的 IC_{50}则显著高于其他海鱼. 表明鲅鱼脑 AChE 的敏感性相对最好.

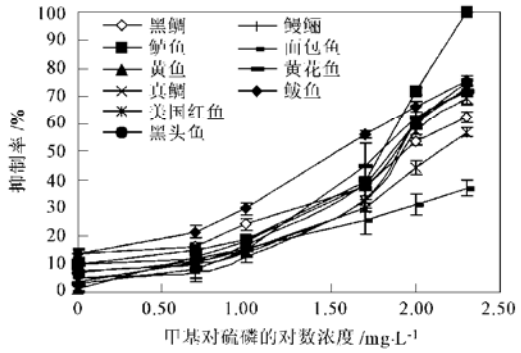

图 1　甲基对硫磷对 10 种海鱼脑 AChE 活性的抑制率

Fig. 1　Inhibitory rate of brain AChE from 10 marine fishes exposed to methyl-parathion

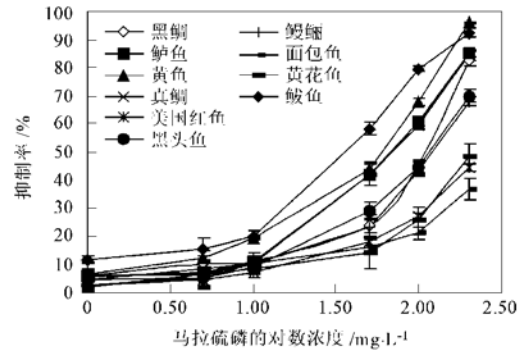

图 2　马拉硫磷对 10 种海鱼脑 AChE 活性的抑制率

Fig. 2　Inhibitory rate of brain AChE from 10 marine fishes exposed to malathion

2.3　有机磷农药对鱼脑 AChE 的双分子速率常数(K_i)

图 3 和图 4 反映了有机磷农药浓度为 100 mg·L^{-1}时，鱼脑 AChE 剩余酶活力百分率的对数值(lg$P$)随着抑制时间 t 的变化情况，由图中各直线的

斜率可以分别计算得到农药对各种海鱼 AChE 的 K_i 值(表 2). 对马拉硫磷, 鲅鱼的 K_i 值最大, 但在黄鱼与鲈鱼之间、鲈鱼与真鲷, 以及黑鲷、黑头鱼、鳗鲡还有美国红鱼、黄花鱼、面包鱼之间的 K_i 值差异不明显, 而黄花鱼、面包鱼和美国红鱼的 K_i 值则要低很多. 结果表明, 鲅鱼、黄鱼、鲈鱼和真鲷的 AChE 对马拉硫磷比较敏感. 甲基对硫磷对黄鱼、鲈鱼、黄花鱼、黑鲷、黑头鱼、鳗鲡 AChE 的 K_i 值差异不明显, 但都显著低于鲅鱼 AChE 的 K_i 值, 而高于真鲷、美国红鱼和面包鱼. 结果再次表明鲅鱼对 2 种有机磷农药都具有相当的敏感性.

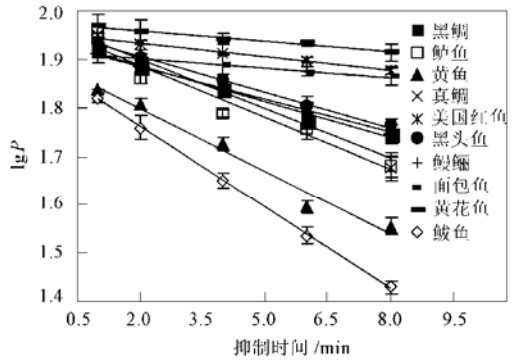

图 3 马拉硫磷浓度为 100 mg·L⁻¹时海鱼脑 AChE 剩余活力百分率 *P* 随抑制时间的变化

Fig. 3 Plot of percent residual activity of fish brain AChE vs. inhibition time (100 mg·L⁻¹ of malathion)

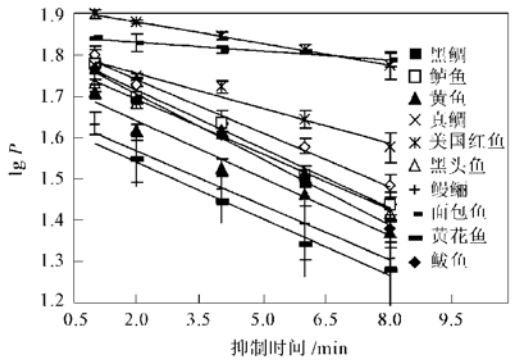

图 4 甲基对硫磷浓度为 100 mg·L⁻¹时海鱼脑 AChE 剩余活力百分率 *P* 随时间的变化

Fig. 4 Plot of percent residual activity of fish brain AChE vs inhibition time (100 mg·L⁻¹ of parathiorr methyl)

2.4 海鱼脑 AChE 对有机磷农药敏感性的影响因素

由表 1 可见, 不同生物来源的 AChE 的基础活性之间差异显著($p = 0.05$), 面包鱼最高, 黄花鱼最低. 但是, 随后的试验发现, 就 2 种供试农药而言, 面包鱼的敏感性反而最差(表 2). 表明酶的基础活性高低与其对农药的敏感性无关. 可能是不同生物来源的 AChE 在分子类型、结构和性质方面存在一定的差异, 导致酶分子对有机磷农药敏感性的不同.

除生物来源以外, AChE 对有机磷农药的敏感性还与农药的种类有关. 例如, 马拉硫磷和甲基对硫磷对鲈鱼 AChE 的 IC_{50} 分别为 57.23 mg·L⁻¹和 48.75mg·L⁻¹; 而它们对黄鱼 AChE 的 IC_{50} 分别为 42.94 mg·L⁻¹和 63.63 mg·L⁻¹. 研究指出, 有机磷农药的生物毒性受其分子组成、结构、亲脂性以及电子密度的影响[10]. 本研究所用的 2 种有机磷农药中, 甲基对硫磷属于硫酮磷酸酯型, 而马拉硫磷则属于二硫代磷酸酯型, 二者的结构差异影响到它们对酶分子的亲合程度.

不同的抑制方式也是影响鱼脑 AChE 对有机磷农药敏感性的重要因素. 资料表明, 马拉硫磷和甲基对硫磷在体内抑制条件下(*in vivo*), 可经生物转化变成毒性更强的氧化类似物(oxon analogue)[11].

表 2 2 种有机磷农药对 10 种海鱼脑 AChE 的 IC_{50} 值和 K_i 值

Table 2 IC_{50} and K_i of brain AChE from 10 marine fishes exposed to malathion and parathiorr methyl

鱼的种类	IC_{50}/ mg·L⁻¹		K_i/ L·(mg·min)⁻¹	
	马拉硫磷	甲基对硫磷	马拉硫磷	甲基对硫磷
黄鱼	42.94 ±1.58^{a}	63.63 ±4.27^{B}	9.99 ±0.46^{d}	10.56 ±0.64^{C}
鲈鱼	57.23 ±5.44^{a}	48.75 ±2.39^{A}	8.21 ±0.58^{cd}	10.90 ±0.36^{C}
真鲷	58.56 ±1.80^{a}	79.60 ±6.23^{B}	7.91 ±0.33^{c}	6.71 ±0.39^{B}
黑鲷	99.13 ±6.07^{b}	87.31 ±6.85^{B}	5.79 ±0.17^{b}	9.92 ±0.36^{C}
美国红鱼	259.42 ±10.31^{e}	137.65 ±12.09^{C}	2.19 ±0.06^{a}	4.04 ±0.78^{A}
黑头鱼	121.88 ±4.89^{d}	77.59 ±2.79^{B}	5.63 ±1.08^{b}	10.19 ±0.96^{C}
鳗鲡	127.87 ±5.88^{d}	80.71 ±3.13^{B}	5.21 ±0.94^{b}	10.09 ±1.34^{C}
黄花鱼	207.38 ±6.78^{e}	61.06 ±8.98^{B}	1.67 ±0.56^{a}	10.5 ±1.87^{C}
鲅鱼	41.32 ±1.57^{a}	40.56 ±1.68^{D}	12.86 ±0.79^{e}	12.15 ±0.88^{D}
面包鱼	> 300	> 200	1.52 ±0.88^{a}	1.65 ±0.78^{E}

2.5 海鱼脑 AChE 作为海水有机磷农药指示酶的可行性分析

AChE 活力的变化能灵敏显示水中微量有机磷农药的存在. 由图 1 和图 2 可见, 水中有机磷农药浓度为 1mg•L^{-1}时, 鱼脑 AChE 活力就受到明显的抑制. 资料显示, 鱼的脑组织中除 AChE 外, 还有其它酯酶存在(如羧酸酯酶)[12], 其中有些酯酶还可作为有机磷的替代靶标, 对真正的靶标 AChE 起到一定的保护作用[13]. 如果对粗酶液进一步分离纯化, 去除这些干扰成分, 那么 AChE 对有机磷农药的敏感性还会提高, 从而对水体中更低水平的有机磷农药产生响应.

鱼脑 AChE 活性抑制率与水体中的有机磷农药具有良好的剂量-效应关系. 对有机磷农药浓度与 AChE 活性抑制率进行相关性分析发现, 在浓度范围为 1~ 50mg•L^{-1}时, 两者之间的相关系数都在 0.93 以上, 达到显著相关水平(p = 0.01). 表明在一定浓度范围内, 海鱼 AChE 活性变化能够比较准确地反映水体中有机磷农药的浓度, 可以作为海水有机磷农药的指示酶. 10 种海鱼中鲅鱼脑 AChE 对 2 种有机磷农药的敏感性最好(表 2), 而且鲅鱼脑 AChE 活性抑制率与马拉硫磷和甲基对硫磷浓度之间具有良好的相关性(相关系数分别为 1.00 和 0.980), 所以, 开发监测海水马拉硫磷和甲基对硫磷的酶传感器时, 以鲅鱼的脑 AChE 作为指示酶比较理想.

3　结论

(1) 10 种海鱼脑 AChE 的基础活性在 4.62~ 35.65μmol/(min•g) 之间, 面包鱼的酶活性最高, 黄花鱼的酶活性最低. 但是鱼脑 AChE 对 2 种有机磷农药的敏感性与其基础活性无关, 而与酶的生物来源、农药的种类和抑制方式有关.

(2) 采用 2 种指标对 AChE 的农药敏感性评价结果基本一致. 对马拉硫磷而言, 由 IC_{50}所得到的 AChE 敏感性为: 鲅鱼、黄鱼、鲈鱼、真鲷> 黑鲷> 黑头鱼、鳗鲡> 美国红鱼、黄花鱼> 面包鱼; 由 K_i 所得到的 AChE 敏感性为: 鲅鱼> 黄鱼、鲈鱼、真鲷> 黑鲷、黑头鱼、鳗鲡> 美国红鱼、黄花鱼、面包鱼. 对甲基对硫磷而言, 由 IC_{50}所得到的 AChE 敏感性为: 鲅鱼> 鲈鱼> 黄鱼、黄花鱼、真鲷、黑鲷、黑头鱼、鳗鲡> 美国红鱼> 面包鱼; 由 K_i 所得到的 AChE 敏感性为: 鲅鱼> 鲈鱼、黄鱼、黄花鱼、黑鲷、黑头鱼、鳗鲡> 真鲷> 美国红鱼> 面包鱼. 10 种海鱼中鲅鱼脑 AChE 对 2 种有机磷农药的敏感性最好.

(3) 根据 AChE 的敏感性及其对有机磷农药的线性响应程度, 鲅鱼脑 AChE 是开发监测海水马拉硫磷和甲基对硫磷酶传感器的理想指示酶.

参考文献:

[1] Shannon A L, Michael H F, Peter B K. The sensitivity of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*, embryos to organophosphate pesticide induced acetylcholinesterase inhibition[J]. Aquatic Toxicology, 2000, **48**: 127~ 134.

[2] Rodriguez-Fuentes G, Gold-Bouchot G. Environmental monitoring using acetylcholinesterase inhibition *in vitro*: A case study in two Mexican Lagoons[J]. Marine Environmental Research, 2000, **50**: 357~ 360.

[3] Montesinos T, Perez-Munguia S, Valdez, *et al*. Disposal cholinesterase biosensor for the detection of pesticides in water-miscible organic solvents[J]. Anal. Chim. Acta, 2001, **431**: 231~ 237.

[4] 余孝颖, 雷晟, 陈贵春. 胆碱酯酶场效应管传感器[J]. 分析化学, 1996, **24**(5): 521~ 524.

[5] 钱芸, 朱琳, 刘广良. 几种农药对鲤鱼脑 AChE 的联合毒性效应[J]. 环境污染治理技术与设备, 2000, **1**(4): 27~ 32.

[6] Ellman G L, Courney K D, Nadres J V, *et al*. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterease activity[J]. Biochem. Pharmaco., 1961, **7**: 88~ 95.

[7] 周永欣, 张宗涉. 水生生物毒性试验方法[M]. 北京: 农业出版社, 1989.

[8] Devonshire, A L. Studies of the acetylcholinesterase from housefile (*Musca domestic* L.) resistant and susceptible to organophosphorous insecticides[J]. Biochem. J., 1975, **149**: 463~ 469.

[9] 余孝颖. 有机磷农药对不同生物来源的胆碱酯酶选择性抑制的研究[J]. 环境科学, 1996, **17**(4): 41~ 43.

[10] 邹立. QSARs 在有机磷农药结构与其对海洋微藻致毒效应相关分析中的应用[D]. 青岛: 青岛海洋大学, 1997.

[11] Main A R. Structure and Inhibitors of Cholinesterases[A]. In: Goldberg M, Hanin I. Biology of Cholinergic Function[C]. New York: Raven Press, 1976. 269.

[12] Yamada T, Kawaguchi N, Hosokawa M, *et al*. Localization of an isoform of carboxylesterase in rat brain differs from that in human brain[J]. Brain Research, 1995, **674**(l): 175~ 179.

[13] 李少南, 樊德方. 几种淡水鱼脑乙酰胆碱酯酶的动力学特征[J]. 中国环境科学, 1997, **17**(2): 163~ 165.