

# 用环境毒物对草鱼组织 ATPase 的影响 作为生态毒理学指标的初步研究

徐立红 张甬元 王德铭

(中国科学院水生生物研究所, 武汉)

## 提 要

不同季节捕获的草鱼在实验室 ( $16 \pm 4^{\circ}\text{C}$ ) 驯化 3—7 天, 其鳃 ATPase 活力在显著性水平为 0.05 时, 不同批鱼无显著差异。

离体实验条件下, 汞、三氯联苯、直链烷基苯磺酸钠对草鱼组织 ATPase 的半抑制浓度分别为 1.8 ppm (肾), 1.84 ppm (鳃), 3.9 ppm (鳃);  $\text{Hg}^{2+}$  对肾的作用大于对鳃的作用。

草鱼组织 ATPase 可作为一项指标用于毒理学研究。

**关键词** 草鱼, 三磷酸腺苷酶, 生态毒理学指标

在环境毒理学的研究领域里, 国外正越来越多地用各种生物化学试验来评价污染物的毒性和进行环境化学品的快速筛选。生物化学试验还可以用来预测污染物亚致死剂量的生态效应以及探讨毒物的作用机制。

较早的生物化学试验用乙酰胆碱酯酶来反映有机磷农药对水体的污染, 随后, 又发展了许多指标用于环境毒理学的研究, 如脱氢酶活力, 腺三磷 (ATP) 含量等生化参数。近十多年来, 国外在研究毒物对腺三磷酶的作用方面做了许多工作。

腺三磷酶 (简写为 ATPase) 是一族水解酶, 它在生物体内的作用是水解高能化合物 ATP 而释放出供生命活动所用的能量, 因而它有着重要的生物学意义。现已发现, 有机氯农药、工业品聚氯联苯和邻苯二甲酸二乙基己二酯、重金属汞、银、镉、铬、铜等、表面活性剂以及苯、X-射线和石油精炼废水等污染物对 ATPase 有影响, 它们的作用已得到实验证实, 包括以不同生物、或生物的不同组织及不同类型的 ATPase 为酶源的离体、活体实验<sup>[1,4,5,9,10,12,14-17]</sup>。这些研究结果为解释毒物的作用机制, 以及了解污染物对生物体在生化水平上的影响提供了依据, 并且已有人提出用水生生物的 ATPase 活力作为反映污染物亚致死效应的生化指标<sup>[5]</sup>。

关于环境污染物对 ATPase 作用的研究, 国内尚未见报道。本实验研究了离体条件下几种常见的环境污染物对草鱼组织 ATPase 的作用, 对用 ATPase 活力作为生态毒理学指标的可行性进行了探讨。

## 材料和方法

选用常见的经济鱼类——草鱼,体长在10—14.5厘米,均取自水生所鱼池。用静置24小时脱氯的自来水( $\text{pH}8.0$ )在实验室暂养3—7天后用于实验。

**1. 酶制备** 酶制剂I由组织匀浆(匀浆缓冲液含40mmol咪唑、250mmol蔗糖和5mmol EDTA  $\text{pH}7.1$ )(匀浆比(W/V)为:鳃1:60,肾1:80)后经低速离心5分钟(3000r/min)取上清液所得。酶制剂II系按Koch方法<sup>[8]</sup>制备的B组分。

**2. ATPase 活力测定** 根据Paxton<sup>[11]</sup>的方法,反应系统包括:100mmol  $\text{Na}^+$ 、20mmol  $\text{K}^+$ 、2mmol  $\text{Mg}^{2+}$ 、40mmol咪唑- $\text{HCl}$ 缓冲液( $\text{pH}7.1, 25^\circ\text{C}$ )、0.2ml酶制剂和0.3ml供试毒物溶液(对照中加0.3ml重蒸水),在 $25^\circ\text{C}$ 水浴中预保温20分钟后,加入0.1ml  $\text{Na}_2\text{ATP}$ 溶液(终浓度为2mmol)反应15分钟后,用30%冷TCA终止反应,离心(3,000r/min, 5分钟)取上清液,用钼蓝法<sup>[13]</sup>测定无机磷。用Folin-酚法<sup>[13]</sup>测定酶制剂的蛋白浓度。酶活力用毫微摩尔无机磷/毫克蛋白/小时( $\text{nMmol Pi/mg/h}$ )表示。

三氯联苯(TCB)用乙醇配成贮液。加到反应系统中的乙醇的量对酶活力没有影响。

数据均由3次重复实验的平均值和标准差表示;两个平均值的差异的比较用t检验;不同批鱼酶活力的比较用单因素方差分析;线性关系的显著性检验用t检验。

**3. 试剂** 三氯联苯和直链烷基苯磺酸钠均为环境分析标准品;ATP二钠盐为上海东风生化试剂厂产品和Sigma产品;其它试剂均为分析纯级。

## 结 果

### (一) 正常情况下不同批鱼鳃组织ATPase活力

将不同时间捕获的鱼在实验室暂养3—7天,实验室温度在 $16\pm4^\circ\text{C}$ ,对鳃组织ATPase活力进行测定(表1)。

对不同批鱼酶比活的值进行单因素方差分析表明,在显著性水平为0.05时,不同批鱼

表1 不同批鱼鳃组织ATPase比活

Tab. 1 Specific activity of gill ATPase in different groups of fish

Catch date	驯化温度( $^\circ\text{C}$ ) Acclimation temperature	ATPase 比活(平均值±标准差)* Specific activity of ATPase
84.11.26	19.3—20.5	18.69±1.09
85.1.11	13.0—13.5	19.69±1.00
85.3.4	13	17.41±3.15
85.3.11	12.2—14.0	15.44±1.12
85.3.26	14.5	15.57±1.07
85.4.20	17.2—19.0	16.25±2.33
85.5.7	19.2—20.2	18.28±1.95

\*  $n=3$   $p=0.05$

表3 ICB 对应 ATCPair 力的映射(括号中数字为相对值/目标分數)

TCB 浓度 ATPase 比活性*(相对活力百分数)	Concentration of TCB (ppm) Specific activity of TCB (44.97)
0	7.83±1.78(44.97)
1.0	17.41±3.15
2.0	16.47±2.10(94.60)
5.0	15.42±1.85(88.57)
10	13.10±3.06(75.24)
15.0	10.09±1.44(57.96)
20	9.19±2.62(52.79)
30	8.53±2.42(48.99)

Tab. 3. Effects of ICB on GM A1 phase activity (data in parentheses indicate the percentage decrease per centage

表 3 TCB 对尾 ATPase 活力的影响(括号中数字为相对活力百分数)

从在加入不同浓度的 TCB 时所测定的酶 ATPase 活力(表 3)可以看 出: 随着 TCB 浓度的增加, 酶活力逐渐下降; 在 TCB 浓度为 10 ppm 时即对酶有显著抑制( $p < 0.05$ ); 当 TCB 浓度达到 15 ppm 后, 酶活力下降不明显, 即抑制作用达到了

\*  $\alpha = 3\%$ ; ②  $P < 0.05$ ; ③  $P < 0.01$

Percentage of relative activity

Effects of  $Hg^{2+}$  on gill and kidney ATPase activity (Data in parentheses)

从在反应系统中加入不同浓度的  $Hg^{2+}$  所测得的酶、管 ATPase 比值(表 1)可以看  
出:随着  $Hg^{2+}$  浓度的增加,ATPase 活力逐渐下降;在同样浓度下,管 ATPase 活力的  
降低程度比酶 ATPase 的要大,  $Hg^{2+}$  浓度为 0.5ppm 时,  $Hg^{2+}$  对管 ATPase 有显著作  
用 ( $p < 0.05$ );而对酶 ATPase 则在浓度为 1ppm 时才有显著作用 ( $p < 0.05$ )。

勸學

(三) 錦 (Hg<sup>+</sup>)、三氯銀素、直鏈烷基苯磺酸鈉 (LAS) 對草魚組織 ATPase 的

之间的距离没有显著差异。

一个稳态。

从在不同 LAS 浓度下, 测定鳃的 ATPase 活力(表 4)可以看出:

表 4 LAS 对鳃 ATPase 活力的影响(括号中数字为相对活力百分数)

Tab. 4 Effects of LAS on gill ATPase activity (data in parentheses indicating percentage of relative activity)

LAS 浓度 Concentration of LAS (ppm)	鳃 ATPase 比活*(相对活力百分数) Specific activity of gill ATPase
0	19.69±1.00
0.1	19.29±0.73 (97.97)
0.5	18.31±1.27 (92.99)
1.0	17.14±1.67 (87.05)
2	13.23±1.27 <sup>b</sup> (67.19)
4	9.27±1.01 <sup>b</sup> (47.08)
6	7.53±1.08 <sup>b</sup> (38.24)
10	4.56±0.64 <sup>b</sup> (23.16)
30	2.27±0.89 <sup>b</sup> (11.53)

\* n = 3 b: p < 0.01

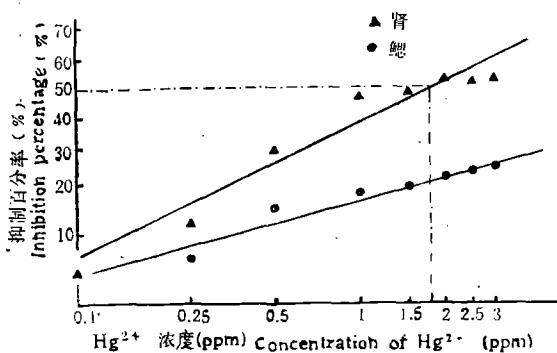


图 1  $\text{Hg}^{2+}$  对鳃和肾 ATPase 的抑制  
Fig. 1 Inhibition of gill and kidney ATPase by  $\text{Hg}^{2+}$ .

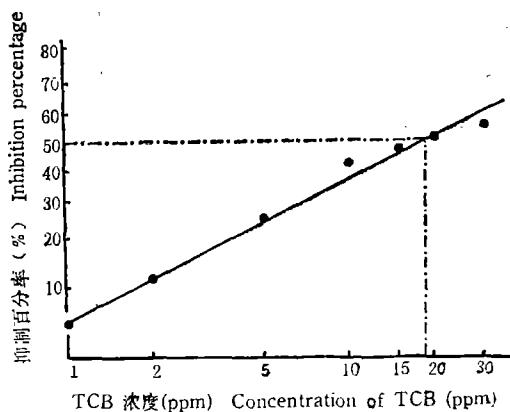


图 2 TCB 对鳃 ATPase 的抑制  
Fig. 2 Inhibition of gill ATPase by TCB.

当 LAS 浓度为 2ppm 时, LAS 对酶即有显著抑制 ( $p < 0.01$ ); 随着 LAS 浓度增加, ATPase 相对活力的下降很明显; 在浓度为 30ppm 时, 抑制作用几乎达到了百分之九十。

以毒物浓度对数对抑制百分数的概率单位作图, 可得出直线(图 1-3)

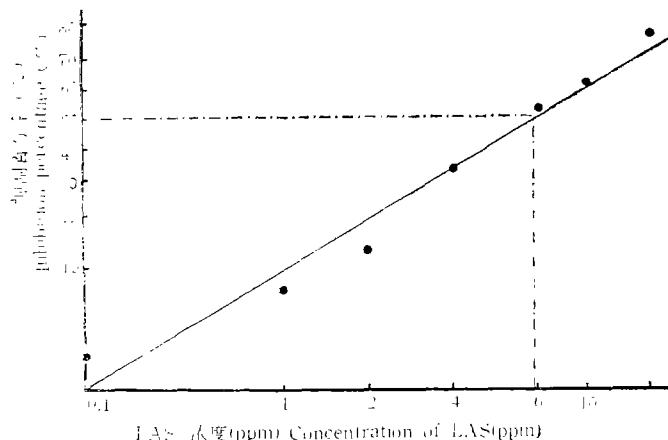


图 3 LAS 对鳃 ATPase 的抑制  
Fig. 3 Inhibition of gill ATPase by LAS.

对直线的线性回归参数及显著性进行检验的结果见表 5 从线性回归方程求出  $\text{Hg}^{2+}$  对肾 ATPase 的半抑制浓度为 1.8ppm, LAS 对鳃 ATPase 的半抑制浓度为 3.9ppm, TCB 对鳃 ATPase 的半抑制浓度为 18.4ppm。

### (三) $\text{Hg}^{2+}$ , LAS 对酶制剂 I、II 抑制作用的比较

在研究毒物对 ATPase 作用的实验中, 多是采用酶 II 作酶源, 为证明本实验所采用

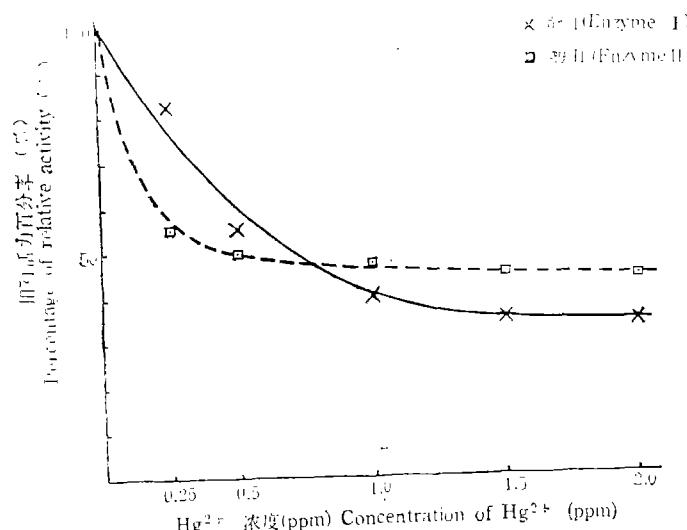


图 4  $\text{Hg}^{2+}$  对肾酶 I 和酶 II 的抑制作用  
Fig. 4 Inhibition of kidney enzyme I and enzyme II. Percentage of relative activity vs. concentration of  $\text{Hg}^{2+}$

表 5 线性回归参数及显著性检验 (I 抑制百分数的概率单位; C 毒物浓度; a, b 线性回归参数)

Tab. 5 Parameters of linear regression and test of their significance

I percentage of inhibition(probits); C concentration of toxicant; a,b parameters of linear regression

Toxicants	Hg <sup>2+</sup>	TCB	LAS
组织 Tissues	肾 Kidney	鳃 Gill	鳃 Gill
回归方程 Regressive equation	$I = 4.70 + 0.51\ln C$	$I = 3.39 + 0.55\ln C$	$I = 4.14 + 0.63\ln C$
回归系数 Regression coefficient	$r = 0.95$	$r = 0.99$	$r = 0.98$
显著性检验 Significance test	a $a \neq 0 (p < 0.05)$ $a \pm 95\% CL$ $= 4.70 \pm 0.046$	a $a \neq 0 (p < 0.05)$ $a \pm 95\% CL$ $= 3.39 \pm 0.025$	a $a \neq 0 (p < 0.05)$ $a \pm 95\% CL$ $= 4.14 \pm 0.035$
	b $b \neq 0 (p < 0.05)$ $b \pm 95\% CL$ $= 0.51 \pm 0.041$	b $b \neq 0 (p < 0.05)$ $b \pm 95\% CL$ $= 0.55 \pm 0.011$	b $b \neq 0 (p < 0.05)$ $b \pm 95\% CL$ $= 0.63 \pm 0.023$

的酶 I 的可用性, 在毒物作用水平上, 比较了酶 I 与酶 II。从  $Hg^{2+}$ 、LAS 对两种酶制剂抑制作用的比较(图 4, 5)可以看出:

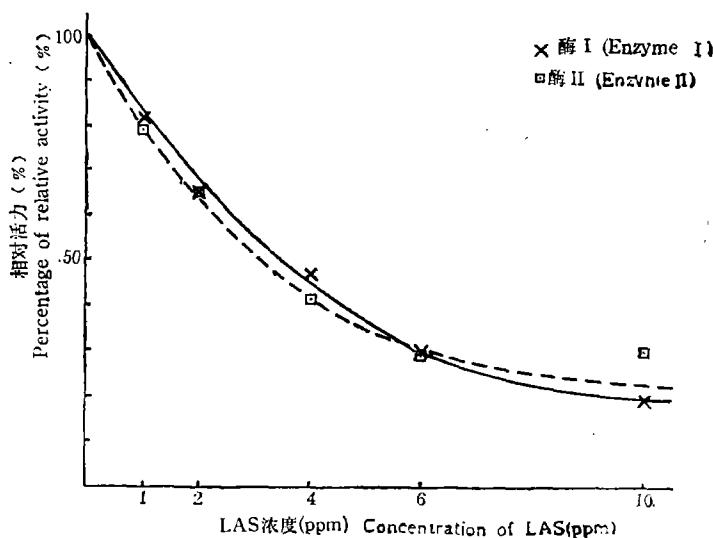


图 5 LAS 对鳃酶 I 和酶 II 的抑制作用

Fig. 5 Inhibition of gill enzyme I and enzyme II. Percentage of relative activity vs. concentration of LAS

酶 I 与酶 II 在不同  $Hg^{2+}$  浓度存在时其相对活力的变化趋势与程度是很相似的, 对 LAS 来说, 这种相似程度就更大一些。说明这两种酶在对毒物的反应上是很相近的。

## 讨 论

### (一) $Hg^{2+}$ 、TCB、LAS 对 ATPase 的作用及规律

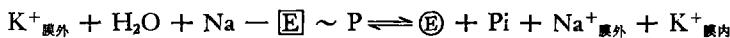
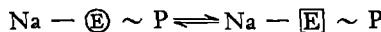
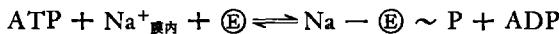
$Hg^{2+}$  对鳃、肾 ATPase 有明显的抑制作用。Bouquegneau<sup>[2]</sup> 用鳗进行实验, 在  $Hg^{2+}$  浓度为 2.0 ppm 时, 对鳃 ATPase 的抑制作用约为 60%, 表 2 中的数据表明,  $Hg^{2+}$  在 2.0 ppm 时对肾 ATPase 的抑制作用在 48%, 可见这两个结果具可比性。

在本实验中, 随着  $Hg^{2+}$  浓度增大到 2.5 ppm 以后, 鳃 ATPase 活力没有明显的变化, 并且即使在  $Hg^{2+}$  浓度达到 30 ppm 后, 酶活力所受抑制也不到 25%。这种鳃、肾 ATPase 对  $Hg^{2+}$  反应的差别可能是淡水鱼与海水鱼的鳃、肾组织中 ATPase 组成有所不同之故。Jampol<sup>[7]</sup> 的研究表明, 淡水鱼肾中的 NaK-ATPase 所占的比例较大, 海水鱼则是鳃中 NaK-ATPase 比例较高。我们在实验中发现  $Hg^{2+}$  对 NaK-ATPase 作用比对 Mg-ATPase 的强, Bouquegneau 的研究也发现  $Hg^{2+}$  对 NaK-ATPase 有较强的抑制, 因此, 用总 ATPase 活力的变化来反映  $Hg^{2+}$  的作用时, 对淡水鱼来说肾 ATPase 显然就要敏感一些。这种不同组织对同一毒物的酶反应上的差异在许多其它同类研究结果中也曾有报道<sup>[9, 17]</sup>。

聚氯联苯对不同生物的不同组织中的不同类型的 ATPase 有作用<sup>[4, 17]</sup>。对于多氯联苯作用的 ATPase 类型, 各学者看法不一; 有的认为多氯联苯对 NaK-ATPase、Mg-ATPase、NaKMg-ATPase 具有普遍作用; 有的认为只作用于其中的一种。本研究证明了环境分析标准品三氯联苯对草鱼鳃组织 ATPase 有影响, 并从实验结果看, 三氯联苯对草鱼鳃 NaKMg-ATPase 有明显抑制作用。这与 Davis<sup>[4]</sup> Yap<sup>[17]</sup> 等人的报道是一致的。

Verma 等人<sup>[15, 16]</sup>用鱼进行离体和活体实验时, 各种表面活性剂对 ATPase 有明显的抑制作用, 并且对鳃、肾、脑、肝等组织的 ATPase 的作用程度相近, 对 NaK-ATPase 和 Mg-ATPase 均有明显作用。本实验用阴离子型的表面活性剂直链烷基苯磺酸钠对草鱼进行离体实验, 证明对鳃 ATPase 有明显的抑制作用。本实验还表明 NaKMg-ATPase 受抑制尤为明显, 可见 NaK-ATPase、Mg-ATPase 二者都受到较显著的影响。这与 Verma 等人的研究结果是一致的。

本实验所测定的主要膜 ATPase。这类 ATPase 是膜上的镶嵌蛋白, 其构象的维持依赖于膜上的磷脂。目前, NaK-ATPase 催化机制的研究已得出了一些肯定的结论。一般认为, NaK-ATPase 催化的反应步骤为:



其中  $\textcircled{E}$  与  $\textcircled{E}$  分别代表酶分子的两种构象。在酶的活性中心有门冬氨酸, 其侧链羧基对 ATP 的  $\gamma$ -P 进行亲核进攻使酶磷酸化; 在磷酸化反应中,  $Mg^{2+}$  与  $Na^{2+}$  对活性中心的构象维持起一定作用。

根据这一原理,  $Hg^{2+}$  可能通过以下各途径影响 ATPase。首先,  $Hg^{2+}$  可能与酶蛋

白中的巯基结合,或可能与磷酰基、氨基结合,影响酶的活性构象;第二,  $Hg^{2+}$  可能与活性中心的羧基形成不溶性盐,影响活性中心的亲核催化作用;第三,  $Hg^{2+}$  还可能取代  $Na^{2+}$ ,使酶构象受到影响,从而影响了磷酸化步骤后的反应;第四,许多研究者认为底物 ATP 是与  $Mg^{2+}$  形成复合物  $Mg$ -ATP 而被酶作用的,因此,对于所有的  $Mg^{2+}$  依赖性的 ATPase 来说,  $Hg^{2+}$  还可能取代  $Mg^{2+}$  而形成对酶来说是低效的  $Hg^{2+}$ -ATP 底物。虽然以上 4 种可能的作用方式尚需进一步用实验来证实,但从  $Hg^{2+}$  对  $NaK$ -ATPase 作用较强这一结果来看,第二、三种解释可能与实际情况更相符。

TCB 与 LAS 都具有疏水性或疏水基,因此它们都可能与膜的磷脂结合或与酶蛋白的疏水区结合,影响酶的构象,而 LAS 由于它的表面活性剂的作用,对膜构象的改变更明显。所以,对 TCB 来说,它对构象的改变只能使酶活力减少到一定程度,而 LAS 对酶构象的影响在较高浓度时几乎可使酶活力完全丧失。

## (二) 所选材料及酶源的可用性

用单因素方差分析可以看出,不同季节捕获的鱼,在实验室条件下驯化一定时间后,其酶的比活均在一定的范围内,同一批鱼之间的个体差异与不同批鱼之间的差异相比,二者没有明显不同 ( $p>0.05$ ),因此用草鱼鳃作为酶源就具有材料方便易得的优点,不受季节限制,而且酶实验对材料的需求量不大。由于酶用量少,一尾体长 10cm 左右草鱼的鳃就可以用于一次完整的实验,这样可以保证实验组与对照组在同一水平上进行比较,排除了个体差异所带来的影响。

## (三) 用 ATPase 作为指标的可行性

尽管毒物作用的 ATPase 类型不同,但都可以从总 ATPase 活力上反映出来。从我们的实验结果证明,当用酶作参数来反映毒物的作用时,可发现与许多生物实验中相同的规律,即毒物浓度对数对抑制百分数的概率单位作图呈线性关系,这也说明了酶的离体实验可以较准确地反映毒物作用的某些特性。从线性方程求出了各种毒物对 ATPase 的半抑制浓度,它作为一种特定的参数,反映了毒物对 ATPase 的作用情况,是有其重要意义的。而且这种指标的获得较为简单、方便、耗时少。还可以用这种参数从生化机制方面对毒物的毒性作出评价。

目前,人们在努力寻求能对污染物的毒性作出全面评价的指标,因此,任何一项能反映毒物的一定特性的指标都是有着重要意义的。酶指标是从生化水平上来说说明毒物对生物的影响,生物受到亚致死剂量毒物的暴露时,不仅可借助于酶指标来对毒物进行生化水平上的评价,还可用来探讨毒物的作用机制,如从不同组织酶的敏感性的差异来决定毒物的作用“靶”,或用于环境化学品的快速筛选。

## 参 考 文 献

- [1] Boese, B. L., Johnson, V. G., Cheopman, D. E. and Ridlington, J. W. 1982. Effects of petroleum refinery wastewater exposure on gill ATPase and selected blood parameters in the Pacific Staghorn sculpin (*Leptocottus armatus*). *Comp. Biochem. Physiol.* 71C(1): 63—67.
- [2] Bouquegneau, J. M. 1977. ATPase activity in mercury intoxicated eels. *Experimentia*, 33(7): 941—946.

- [3] Chen, Jr. P. S., Toribara, T. Y. and Huber Warner, 1956. Microdetermination of phosphorus. *Analy. Chem.*, 28: 1756—1758.
- [4] Davis, P. W., Friedhoff, J. M., and G. A. Wedemeyer, 1972. Organochlorinated insecticide, herbicide and polychlorinated biphenyls (PCB) inhibition of NaK-ATPase in rainbow trout. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 8: 69—72.
- [5] Harcin, K., Antoni, K. and J. Jan, 1970. Histochemical renal change in mice during acute poisoning with benzene. *Folia Histochem. Cytochem.*, 8: 63—76.
- [6] Haya, K. and B. A. Waiwood, 1983. Adenylate energy change and ATPase activity: potential biochemical indicators of sublethal effects caused by pollutants in aquatic animals. *Adv. Environ. Sci. Technol.*, 13: 307—333.
- [7] Jampol, L. M. and F. H. Epstein, 1970. Sodium potassium-activated adenosine triphosphatase and osmotic regulation by fishes, *Am. J. Physiol.*, 218: 607—611.
- [8] Koch, R. B., Desaiah, D., Yap, H. H. and L. K. Cutkomp, 1972. Polychlorinated biphenyls: effect of long-term exposure on ATPase activity in fish, *Pimephales promelas*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 7(1): 87—92.
- [9] Kuhnert, D. M. and R. B. Kuhnert, 1976. The effect of *in vivo* chromium exposure on Na/K- and Mg-ATPase activity in several tissues of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bull. Environ. Contam. toxicol.*, 15(4): 383—390.
- [10] Li, T. and A. T. Ivashchenko, 1984. Changes in mitochondrial ATPase activity of liver cells after x-irradiation *Radiobiologia*, 24: 514.
- [11] Paxton, R. and B. L. Limminger, 1983. Altered activities of branchial and renal Na/K- and Mg-ATPase in cold-acclimated goldfish (*Carassius auratus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 74B(3): 503—506.
- [12] Riadel, B. and G. Christensen, 1979. Effects of selected water toxicants and chemical upon adenosine triphosphatase activity in vitro. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 23: 365—368.
- [13] Scope, R. K., 1982. Protein purification, pp. 265—266. N. Y.
- [14] Srivastava, S. P., Seth, P. K. and D. K. Agarwal, 1975. Biochemical effects of di-2-ethylhexyl phthalate. *Environ. Physiol. Biochem.*, 5: 178—183.
- [15] Verma, S. R., Tyagi, A. K., Pal N. and R. C. Dalela, 1979. *In vivo* effect of the syndets 1det® 5L and Swanic® 6L on ATPase activity in the teleost, *Channa punctatus*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 8: 241—246.
- [16] Verma, S. R., Mohan, P., Tyagi, A. K. and R. C., Dalela, 1979. *In vivo* response of ATPase in few tissues of the fish *Mystus vittatus* (Ham.) to the synthetic detergent Swacofix® E45 (ABS). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 22: 327—331.
- [17] Yap, H. H., Desaiah, D. and L. K. Cutkomp, 1971. Sensitivity of fish ATPase to polychlorinated biphenyls. *Nature*, 233(1): 61—62.

# USING THE EFFECTS OF ENVIRONMENTAL TOXICANTS ON THE ATPASE ACTIVITY OF GRASS CARP TISSUES AS AN ECOTOXICOLOGICAL INDEX—A PRELIMINARY STUDY

Xu Lihong Zhang Yongyuan and Wang Deming

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan)

## Abstract

Gill ATPase activities of grass carp were measured by chemical method and the result were subject to single factor analysis of variance. Under normal condition, it was proved that the differences of ATPase of gills from different groups of fish caught at different seasons and acclimated under  $16 \pm 4^\circ\text{C}$  for 3 to 7 days were not significant ( $p < 0.05$ ). Then, tests of the effects of  $\text{Hg}^{2+}$ , TCB (trichlorinated biphenyls) and LAS (linear alkyl benzylsulfonate) on ATPase of grass carp tissues *In vitro* were carried out. The results showed that  $\text{Hg}^{2+}$ , TCB and LAS caused fairly strong inhibition to ATPase of grass carp gills. Satisfactory straight lines were obtained by plotting the probits of inhibition percentage of ATPase against the logarithmic concentration of toxicants. The concentrations required to effect 50% inhibition of  $\text{Hg}^{2+}$ , TCB and LAS to ATPase of grass carp tissues were 1.8 ppm (kidney), 18.4 ppm (gill) and 3.9 ppm (gill), respectively. Enzyme tests also indicated that the sensitivity of kidney ATPase to  $\text{Hg}^{2+}$  was greater than that of the gill. The reliability of the enzyme preparation used for this experiment was verified on the level of reaction of enzyme to toxicants. The pattern of toxic action was summarized. And probable mechanism of toxicants on ATPase was also discussed. It was proposed that effects of toxicants on ATPase could be used as an index of toxicological assessment.

**Key words** Grass carp, ATPase, Ecotoxicological index