

cell ghosts: Evidence for two ghost populations differing in susceptibility to proteolysis [J]. J Biochem, 1972, 71: 333.

[7] Reinila M, MacDonald E, Salem NJ, et al. Standardized method for the determination of human erythrocyte membrane adenosine triphosphatase [J]. Analytic Biochem, 1982, 124: 19-22.

[8] 孟东升, 刘志中. 酒精对神经系统发育的影响 [J]. 国外医学神

经病学神经外科分册, 1996, 23 (2): 89-92.

[9] Clin JH, Goldstein DB. Drug tolerance in biomembrane: a spin label study of the effects of ethanol [J]. J Science, 1979, 196(4): 684-687.

[10] Tuma DJ, Donohue TM, Medina VA, et al. Enhancement of acetate-hydro-protein adduct formation by LL-ascorbate [J]. J Anch Biochem Biophys, 1984, 234 (2): 377-381.

联苯菊酯原药致突变性实验研究

姜红, 徐颖, 左派欣, 袁树华, 扬卫超

(河北省疾病预防控制中心, 河北 石家庄 050041)

摘要: 用昆明种小鼠经口灌胃染毒, 骨髓微核实验的剂量分别为 12、6、3、0.6 mg/kg, 精子畸变实验的剂量分别为 30、15、7.5、3.8 mg/kg, 分别取胸骨、副睾组织, 常规制片, 镜下观察。鼠伤寒沙门氏菌回复突变 (Ames) 实验采用平板掺入法, 剂量分别为 0.1、0.5、1.5、4.5 mg/皿。小鼠骨髓微核、精子畸变实验显示: 联苯菊酯原药染毒组与阴性对照组相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$); Ames 实验显示各菌株的各剂量组的回变菌落数均未超过自发回变菌落数的 2 倍。在本实验条件下, 未发现联苯菊酯原药的致突变性。

关键词: 农药; 联苯菊酯; 致突变性

中图分类号: R139.3; O625.13 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2004)04-0235-02

Experimental studies on mutagenicity of raw bifenthrin

JIANG Hong, XU Ying, ZUO Pai-xin, YUAN Shu-hua, YANG Wei-chao

(Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050041, China)

Abstract: Kunming mice were gavaged with raw bifenthrin at doses of 12, 6, 3 and 0.6 mg/kg for micronucleus test of bone marrow and 30, 15, 7.5 and 3.8 mg/kg for morphology of sperm, respectively. The sternum and epididymis were excised from the mice and prepared regularly for sections and micronucleus of bone marrow and morphology of sperm were observed under microscope. Ames test for *Salmonella typhimurium* back mutation with microsome plate assay were used at doses of 0.1, 0.5, 1.5 and 4.5 mg/plate. There was no significant difference in micronucleus test of bone marrow and morphology of sperm between the mice exposed to bifenthrin and the control ones ($P < 0.05$). Results of Ames test showed that number of colony with back mutation (revertants) in varied strains of *Salmonella typhimurium* at different doses did not exceed the double of the number of those with spontaneous mutation. No mutagenic effect of raw bifenthrin was found in this study.

Key words: Pesticide; Bifenthrin; Mutagenicity

联苯菊酯, 又称天王星、虫螨灵、毕芬宁, 化学名称为 3-(2-氯-3, 3-三氟丙烯-1-基)-2, 2-二甲基环丙烷羧酸-2-甲基-3-苯基苄基酯, 有效成分 90%~96%, 属拟除虫菊酯类杀虫、刹螨剂, 具有触杀及胃毒作用, 有报道在实验剂量下对动物无致突变性^[1]。为探讨其潜在的遗传危害, 保护环境及人体健康, 本实验室受农药生产厂委托, 以小鼠骨髓嗜多染红细胞微核实验、小鼠精子畸形实验、鼠伤寒沙门氏菌回复突变 (Ames) 实验对其进行了致突变性实验研究。

1 材料与方法

1.1 材料

昆明种小鼠, 体重 25~30 g, 河北试验动物中心提供。菌种 TA97、TA98、TA100 和 TA102, 由中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所提供, 经生物学鉴定符合实验要求。联

苯菊酯原药由河北省某农药厂提供, 纯度 93.9%, 实验时用植物油配制。

1.2 方法

1.2.1 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核实验 健康小鼠 60 只, 雌雄各半, 按体重随机分为 6 组, 每组 10 只。其中实验组分为染毒 12、6、3、0.6 mg/kg 4 个剂量组, 相当于经口 LD_{50} 的 1/5、1/10、1/20、1/100。阴性对照组用植物油等体积灌胃, 阳性对照组小鼠腹腔注射环磷酰胺 (CP) 50 mg/kg。实验小鼠每日经口染毒 1 次, 连续 2 d, 第 2 次染毒后 6 h 处死动物, 取胸骨骨髓制片^[2], Giemsa 染色, 油镜下每只动物镜检 1 000 个嗜多染红细胞, 计算微核率。

1.2.2 小鼠精子畸形实验 健康雄性小鼠 30 只, 按体重随机分为 6 组, 每组 5 只。其中实验组分为染毒 30、15、7.5、3.8 mg/kg 4 个剂量组, 相当于经口 LD_{50} 的 1/2、1/4、1/8、1/16。阴性对照组用植物油等体积灌胃, 阳性对照组小鼠腹腔注射环磷酰胺 (CP) 50 mg/kg。实验小鼠每日经口染毒 1 次, 连续

收稿日期: 2003-10-24; 修回日期: 2003-12-01

作者简介: 姜红 (1963-), 女, 副主任医师, 主要从事化学药品毒性鉴定工作。

5 d 第一次染毒后 35 d 处死动物, 取两侧附睾制成精子悬液, 涂片^[3]。1%伊红染色, 高倍镜下每只动物计数 1 000 个精子, 计算精子畸形率。

1.2.3 Ames 实验 根据 GB15670—1995《农药登记毒理学实验方法》^[2], 确定实验浓度为 0.1、0.5、1.5、4.5 mg/皿, 每个剂量设 3 个平行样品, 同时设自发回变和阳性对照。阳性对照组: 9-苄酮 (0.2 μg/皿)、2-氨基苄 (20 μg/皿)、叠氮钠 (2.5 μg/皿)、MMC (4.0 μg/皿)、1, 8-二羟基蒽醌 (50 μg/皿)。采用经鉴定符合要求的 4 株 (TA97、TA98、TA100 和 TA102) 标准突变型菌株, 用多氯联苯 (PCB) 诱导的大鼠肝匀浆制备的 S-9 混合液作为代谢活化系统; 向溶化并保温在 45℃ 的 0.2 ml 顶层培养基试管中依次加入实验样品、0.1 ml 增菌液和 0.5 ml S-9 混合液 (或不加 S-9 混合液) 混匀, 迅速倾入底层培养基上, 使其均匀分布, 待上层培养基凝固后, 将平板反转, 37℃ 培养 48 h 后, 计数每皿回变菌落数。

1.3 统计学分析

小鼠骨髓嗜多染红细胞微核实验所得各组微核率按二项分布检验法统计处理。小鼠精子畸形实验所得各组精子畸变率用 χ^2 检验进行统计学处理。

2 结果

2.1 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核实验及小鼠精子畸变实验

实验结果表明, 联苯菊酯原药染毒组与阴性对照组比较,

差异无显著性 ($P > 0.05$), 阴性对照组与阳性对照组 (环磷酰胺) 之间差异有显著性, 见表 1 和表 2。

表 1 联苯菊酯原药骨髓嗜多染红细胞微核实验结果

| 剂量组 (mg/kg) | 动物数 (只) | 观察细胞数 (个) | 畸变率 ($\bar{x} \pm s$) % |
|-------------|---------|-----------|---------------------------|
| 12 | 10 | 10 000 | 1.2 ± 0.8 |
| 6 | 10 | 10 000 | 1.3 ± 1.0 |
| 3 | 10 | 10 000 | 1.0 ± 0.9 |
| 0.6 | 10 | 10 000 | 1.0 ± 0.9 |
| 阴性对照组 | 10 | 10 000 | 1.0 ± 0.7 |
| 阳性对照组 | 10 | 10 000 | 18.5 ± 5.2 * |

* 与阴性对照组比较 $P < 0.01$, 下同。

表 2 联苯菊酯原药小鼠精子实验结果

| 剂量组 (mg/kg) | 动物数 (只) | 观察细胞数 (个) | 畸变率 ($\bar{x} \pm s$) % |
|-------------|---------|-----------|---------------------------|
| 30 | 5 | 5 000 | 26.4 ± 14.6 |
| 15 | 5 | 5 000 | 18.0 ± 12.8 |
| 7.5 | 5 | 5 000 | 19.4 ± 12.2 |
| 3.8 | 5 | 5 000 | 21.0 ± 17.0 |
| 阴性对照组 | 5 | 5 000 | 15.0 ± 7.5 |
| 阳性对照组 | 5 | 5 000 | 60.0 ± 23.2 * |

2.2 Ames 实验

各剂量组的联苯菊酯原药的回变菌落数均未超过自发回变菌落数的 2 倍, 亦未呈剂量-反应关系, 见表 3。

表 3 联苯菊酯原药 Ames 实验结果

| 剂量组 (mg/皿) | TA97 | | TA98 | | TA100 | | TA102 | |
|----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|-------|---------|---------|
| | -S-9 | +S-9 | -S-9 | +S-9 | -S-9 | +S-9 | -S-9 | +S-9 |
| 4.5 | 12.8 | 23.2 | 12.0 | 13.0 | 5.6 | 11.2 | 120.1 | 180.0 |
| 1.5 | 28.0 | 32.3 | 5.5 | 4.2 | 7.2 | 12.1 | 150.0 | 135.2 |
| 0.5 | 32.6 | 38.2 | 6.0 | 8.3 | 20.2 | 31.0 | 270.3 | 256.6 |
| 0.1 | 50.5 | 70.0 | 48.0 | 11.2 | 35.0 | 34.0 | 272.3 | 240.3 |
| DMSO (0.1 ml/皿) | 126.0 | 151.0 | 29.0 | 31.0 | 155.0 | 162.0 | 257.0 | 270.0 |
| 9-苄酮 (0.2 μg/皿) | 1 910 * | | 3 953 * | | | | | |
| 2-氨基苄 (20 μg/皿) | | 1 420 * | | 2 210 * | | | | |
| 叠氮钠 (2.5 μg/皿) | | | | | 2 116 * | | | |
| MMC (4.0 μg/皿) | | | | | | | 1 375 * | |
| 1, 8-二羟基蒽醌 (50 μg/皿) | | | | | | | | 1 253 * |

* 为阳性对照组

3 讨论

随着农药的大量使用, 对环境、人体的影响也日益得到人们的关注。目前高毒、剧毒农药的限制使用, 促进了高效、低毒、低残留农药大量开发、研制、生产, 其急性毒性小于高毒农药, 远期危害性研究成为关注的重点。

本研究利用致突变性实验鉴定生殖细胞、体细胞的致突变性以及潜在致癌性, 探讨高效低毒农药联苯菊酯原药的潜在危害。其中, 鼠伤寒沙门氏菌突变实验是应用最广泛的检测基因突变的方法, 在 Ames 实验中的 4 株标准突变型菌株中, TA97、TA98 可检测各种移码型的致突变物, TA100 可检测碱基对置换的致突变物, TA102 可检测氧化型的致突变物。通过对观察小鼠骨髓微核及精子畸变, 可推测其对人的体细胞及生殖细胞的损害, 从而预测该农药的致癌可能性。结果显示,

本实验条件下, 联苯菊酯原药的小鼠骨髓细胞微核实验, 精子畸变实验以及 Ames 实验均为阴性结果, 表明在上述实验系统未显示致突变性, 与国内报道一致^[1]。但 Ames 实验出现抑菌作用, 建议适当降低 Ames 实验的实验浓度。

联苯菊酯除适用于农作物外, 目前还用于家庭白蚁防治及羊毛防虫蛀等, 是使用广泛、安全性较高的杀虫剂。

参考文献:

- [1] 张焕民, 张子民. 新编农药手册 [M]. 北京: 农业出版社, 1999. 145.
- [2] GB15670—1995 农药登记毒理学试验方法 [S].
- [3] 纪云晶. 实用毒理学手册 [M]. 北京: 中国环境学出版社, 1991. 113.