

· 实验研究 ·

吡氟酰草胺对大鼠致畸毒性研究

Study on teratogenicity of diflufenican in rats

程秀荣, 王海华, 陈巍, 薛春霄

(中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 北京 100050)

摘要: 选用 8 周龄的 Wistar 大鼠交配受孕, 每组 18~20 只孕鼠。于妊娠第 6~15 天, 染毒组以吡氟酰草胺灌胃染毒, 剂量分别为 100、300 和 1 000 mg/kg; 阴性对照组用等量玉米油灌胃; 阳性对照组于妊娠第 12 天腹腔注射环磷酰胺 8 mg/kg。妊娠第 20 天处死孕鼠, 记录黄体数、死胎数、活胎数、活胎重量等, 并检查胎鼠外观、内脏、骨骼的畸形、变异及功能状况。结果表明, 在试验剂量下吡氟酰草胺未对胚胎形成、胎鼠生长以及外观、内脏和骨骼造成影响。吡氟酰草胺对大鼠母体无明显毒性作用剂量为 1 000 mg/(kg·d), 且该剂量对子代亦不具有胚胎毒性和致畸作用。

关键词: 吡氟酰草胺; 致畸性; 母体毒性; 胚胎毒性

中图分类号: R994.3 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2017)06-0437-02

DOI: 10.13631/j.cnki.zgggyx.2017.06.011

吡氟酰草胺属于取代吡啶基酰胺类除草剂, 主要用于玉米、大豆及麦田防除多种一年生禾本科杂草和阔叶杂草。该品种为选择性接触和残留除草剂, 作用机制通过对八氢番茄红素脱氢酶的抑制, 阻碍类胡萝卜素生物合成^[1]。酰胺类除草剂具有优良的除草活性, 由于该类药剂具有杀草谱广、效果突出、价格低廉、使用方便、易于降解等优点, 在生产中推广应用面积逐渐扩大。而有关该药致畸作用的研究尚未见报道, 为此进行了本试验研究。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

吡氟酰草胺, 白色固体粉末, 略有异味, 某化工有限公司提供。环磷酰胺由某医院药房提供。JS-A 型大视场野工作仪 (浙江瓯海机电工艺厂)。

1.2 动物

清洁级健康成年 Wistar 大鼠, 雌性 100 只、雄性 100 只, 雌鼠体重 230~282 g, 雄鼠体重 250~350 g, 购于斯贝福 (北京) 实验动物科技有限公司 [SCXK-(京) 2011-0004 号]。饲养于中国疾病预防控制中心动物实验室 [SYXK-(京) 2009-0032 号], 室内温度 20~23℃, 相对湿度 40%~55%, 喂饲北京科奥协力饲料有限公司 [SCXK(京) 2009-0012 号] 清洁级繁殖鼠料。

收稿日期: 2017-07-06

作者简介: 程秀荣 (1970—), 女, 副主任技师, 研究方向: 生殖毒理学及皮肤毒理学。

通信作者: 王海华, 副研究员, 研究方向: 卫生毒理与职业病, E-mail: oisea@sina.com。

1.3 方法

1.3.1 动物分组 将雄、雌性大鼠按 1:1 配对同笼, 次日早晨检查底盘内有无脱落的阴栓, 将每日见有阴栓的雌鼠随机分在 3 个染毒剂量组、阴性对照组及阳性对照组中, 每组 18~20 只孕鼠。

1.3.2 剂量及染毒方法 设低、中、高 3 个染毒剂量组, 染毒剂量分别为 100、300 和 1000 mg/(kg·d), 于妊娠第 6~15 天灌胃染毒, 每天 1 次, 连续 10 d, 每 3 天称体重 1 次, 并根据体重调整染毒量。阴性对照组孕鼠于妊娠 6~15 天用等量玉米油灌胃。阳性对照组于妊娠第 12 天腹腔注射环磷酰胺 8 mg/kg。

1.3.3 样品配制 将吡氟酰草胺用玉米油配制成不同浓度 (0、50、150、500 mg/ml) 溶液。阳性对照组 (环磷酰胺) 浓度为 8 mg/ml。

1.4 观察指标

染毒期间观察各剂量组孕鼠的一般状况、体重及中毒症状。妊娠 20 d 处死孕鼠并解剖, 取出子宫称重, 记录吸收胎数、黄体数、活胎数、死胎数, 测量胎鼠窝重及每只胎鼠的体重、身长和尾长。观察胎鼠有无外观畸形。每窝取 1/2 活胎鼠用茜素红染液染色, 检查胎鼠骨骼。另取 1/2 活胎鼠浸入波恩氏液中 1 周以上做内脏检查。

1.5 统计分析

吸收胎数、死胎数、外观畸形率、内脏畸形率和骨骼畸形率采用 χ^2 检验进行数据分析, 其余数据采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 动物一般状况

试验期间各组孕鼠进食、饮水、活动、外观等未见异常表现, 各剂量组平均体重与阴性对照组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

2.2 对胚胎形成的影响

各染毒剂量组和阳性对照组妊娠动物的黄体数、着床数、活胎数、吸收胎数和死胎数与阴性对照组比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

2.3 对胎鼠生长发育的影响

低、中、高染毒剂量组胎鼠的平均体重、身长、尾长与阴性对照组比较差异均无统计学意义, 阳性对照组胎鼠的平均体重、身长、尾长均显著低于阴性对照组 ($P<0.01$)。见表 3。

2.4 对胎鼠外观、内脏和骨骼畸形的影响

各染毒剂量组胎鼠均未发现外观畸形。阳性对照组部分

表 1 吡氟酰草胺染毒前后各组孕鼠平均体重 ($\bar{x}\pm s$)									g
组别	妊娠天数								
	0	3	6	9	12	15	18	20	
阴性对照组	256. 6±14. 0	276. 5±12. 1	288. 9±11. 0	301. 4±16. 7	312. 1±20. 0	335. 1±18. 8	368. 0±29. 0	403. 2±32. 3	
低剂量染毒组	270. 6±36. 9	274. 1±10. 4	286. 4±15. 6	295. 3±15. 2	311. 0±17. 6	332. 8±19. 8	377. 6±21. 1	409. 3±23. 8	
中剂量染毒组	258. 7±13. 0	281. 3±12. 1	294. 0±14. 5	299. 6±18. 4	317. 6±15. 7	341. 5±15. 8	386. 7±19. 4	420. 0±21. 4	
高剂量染毒组	256. 4±10. 9	273. 1±10. 8	285. 4±14. 5	290. 9±19. 1	305. 8±19. 6	332. 2±17. 7	377. 6±20. 6	412. 7±21. 2	
阳性对照组	258. 9±13. 8	276. 8±13. 2	291. 2±14. 4	303. 4±17. 6	316. 4±20. 3	335. 0±18. 4	371. 4±22. 4	403. 0±22. 2	

表 2 染毒各组胚胎形成情况									
组别	受孕鼠只数	黄体数 ($\bar{x}\pm s$)	着床数 ($\bar{x}\pm s$)	活胎数		吸收胎		死胎	
				<i>n</i>	$\bar{x}\pm s$	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
阴性对照组	18	15. 1±2. 4	15. 2±3. 9	244	13. 6±4. 2	28	11. 34	2	0. 81
低剂量染毒组	20	17. 0±3. 4	16. 0±2. 1	303	15. 2±2. 8	17	5. 30	1	0. 33
中剂量染毒组	20	15. 4±2. 7	15. 3±3. 0	288	14. 4±2. 8	15	4. 90	3	1. 03
高剂量染毒组	20	15. 4±2. 1	16. 5±2. 0	316	15. 8±2. 2	12	3. 64	2	0. 63
阳性对照组	20	16. 0±2. 7	15. 4±2. 1	299	15. 0±2. 0	10	3. 24	0	0

表 3 染毒后各组胎鼠生长发育情况 ($\bar{x}\pm s$)						
组别	活胎鼠只数	胎鼠均重 (g)	身长 (cm)	尾长 (cm)	窝均重 (g)	子宫重 (g)
阴性对照组	244	3. 91±0. 37	3. 65±0. 17	1. 34±0. 10	53. 00±15. 91	79. 73±22. 86
低剂量染毒组	303	3. 93±0. 34	3. 62±0. 21	1. 35±0. 09	59. 66±10. 99	88. 23±15. 19
中剂量染毒组	288	4. 12±0. 28	3. 65±0. 16	1. 36±0. 08	59. 52±11. 46	87. 37±15. 67
高剂量染毒组	316	3. 97±0. 04	3. 60±0. 17	1. 34±0. 10	63. 09±10. 20	94. 22±14. 29
阳性对照组	299	3. 49±0. 46 * *	3. 44±0. 27 * *	1. 31±0. 14 * *	53. 80±11. 76	77. 73±10. 73

注：与阴性对照组比较，* * $P<0. 01$

胎鼠出现脑膨出及短尾，外观畸形率与阴性对照组比较差异有统计学意义。各组胎鼠内脏检查均未发现畸形改变。阴性对照组和各染毒剂量组胎鼠均存在胸骨缺失和凶门增大，但其发生率差异未见统计学意义，故应与染毒无关。阳性对照组部分胎鼠枕骨、肋骨及胸骨异常，与阴性对照组比较差异有统计学意义 ($P<0. 01$)。见表 4。

表 4 各组骨骼畸形率比较

组别	畸形率 (%)
阴性对照组	2. 34 (3/128)
低剂量染毒组	1. 94 (3/155)
中剂量染毒组	2. 01 (3/149)
高剂量染毒组	1. 85 (3/162)
阳性对照组	54. 19 (84/155) * *

注：与阴性对照组比较，* * $P<0. 01$

3 讨论

目前对吡氟酰草胺毒性的研究较为全面，大鼠的急性经口、经皮试验均属低毒，对家兔的眼睛和皮肤无刺激性。大鼠急性吸入 LC_{50} (4 h) $>2. 34$ mg/L (空气)。大鼠 14 d 亚急性试验结果表明，于 1 600 mg/kg 染毒剂量下无不良影响。90

d 饲喂试验，狗的无作用剂量为 1 000 mg/ (kg · d)，大鼠为 500 mg/kg。Ames 试验无致突变性^[2]。关于吡氟酰草胺的致畸作用研究尚未见报道。

在致畸试验中，经常存在母体毒性和胎儿毒性两项观察指标。母体毒性是指外源性理化因素对孕母体产生的损害作用，包括体重减轻、中毒症状和体征，甚至死亡；胚胎毒性通常指外源性理化因素造成孕体着床前后直到器官形成期结束所有的毒性^[3]。本试验在 1 000 mg/(kg · d) 时未发现吡氟酰草胺对大鼠的母体毒性反应和胎儿毒性及致畸作用，故致畸毒性的无明显有害作用水平为 1 000 mg/(kg · d)。本研究为该农药的安全生产和使用提供了必要的科学依据。

参考文献：

[1] 贾忠建．小麦田除草剂—吡氟酰草胺 [J]．农化市场十日讯，2015，9 (27)：31.
[2] 顾群，张晓进．吡啶酰胺类除草剂——吡氟酰草胺 [J]．现代农药，2010，9 (1)：42-45.
[3] 王心如．毒理学基础 [M]．4 版．北京：人民卫生出版社，2003：8，4，156，157.