

化学除草剂利谷隆动物毒性实验研究

哈尔滨医科大学营养与食品卫生教研室 陈炳卿 孙智湧* 吴 坤

哈尔滨市卫生防疫站 孙志军 赵淑媛 张桂荃

摘 要 国产化学除草剂利谷隆的毒性试验结果表明96.7%纯度利谷隆工业品急性毒性属低毒性,弱蓄积作用,无致畸性,但有胚胎毒性。有致突变性。最小有作用剂量雄性125ppm,雌性625ppm,最大无作用剂量雄性25ppm,雌性125ppm。

利谷隆(Linuron),商品名称(Afalon)化学名称3-(3,4-二氯苯基)-1-甲氧基-1-甲基脲,系美国杜邦公司(Dupont)和西德的Hoechst公司研制^{1 2}。我国70年代开始合成并试用于大田等作物,是一种杀虫谱广,效果明显的优良旱田除草剂。为了为我国生产和使用利谷隆除草剂提供科学

依据,我进行了系列的动物毒性实验研究。

1 试验方法

1.1 急性毒性试验

利谷隆工业品的大小鼠急性毒性试验:样品为沈阳化工研究所提供的96.7%纯度利谷隆工业品,动物为本校动物室提供的Wistar大鼠及昆明种小鼠。用寇氏法测定

(上接36页)

式中: X—样品中农药的含量 mg/kg
 E_s —标样中农药的含量 ng
 V_1 —样品进样体积 μl
 V_2 —最后定容体积 ml
 h_1 —标准样品峰高 mm
 h_2 —样品峰高 mm
 m —样品质量 g

2 结果和讨论

亚胺硫磷在上述气相色谱条件下,最小检出量为 $1.5 \times 10^{-11}\text{g}$,在大米、面粉上最低检测浓度为7.5ppb,在蔬菜上最低检测浓度为0.30ppb,标准,样品和空白气相色谱图见图1,由图可知,样品中无杂质峰的干扰,在这三种样品中添加0.1ppm和1.0ppm两个浓度的回收率见表1,样品中亚胺硫磷的回收率和变异系数均符合农药残留的要求。

本文提供的方法能够快速、简便地检测亚胺硫磷在大米,面粉和蔬菜上的残留。通过空白试验,样品经有机溶剂提取后,直接

用气相色谱检测,对亚胺硫磷的色谱峰无干扰,因此本文的前处理方法比Bowman方法更加简便。

在蔬菜上进行回收率试验时,样品用无水硫酸钠研磨,直接用有机溶剂提取效果不佳,其回收率在70%左右,后改用组织捣碎法提取回收率达到了残留分析的要求。

表1,在大米、面粉和蔬菜中添加亚胺硫磷的回收率和变异系数。

	添加浓度 (ppm)					
	面 粉		大 米		蔬 菜	
	0.1	1.0	0.1	1.0	0.1	1.0
添加回收率(%)	96.05	97.14	91.17	87.99	96.45	93.65
变异系数(%)	5.58	2.62	4.62	3.83	3.89	0.99

注:每个添加浓度重复五次

参考文献

- (1) Malcolm C. Bowman and Morton Beroza J, AOAC 1966, 49(6).
- (2) G. Zweig and J. Sherma etc Analytical Methods for Pesticide and Plant Growth Regulation SVO VI 1972, 6: 408—413.

* 现在黑龙江省乳品开发中心

LD₅₀, 本品用熟豆油配制, 一次灌胃后观察两周。

1.2 蓄积性毒性试验: 选用180—210g的大鼠30只, 雌雄各半, 以利谷隆豆油溶液每天灌胃一次。起始剂量为 $1/10$ LD₅₀, 每4天剂量递增1.5倍。计算蓄积系数, $K = \frac{\sum LD_{50}}{LD_{50}}$ 。

1.3 亚慢性毒性试验: 用断乳后一个月Wistar大鼠体重为100—140g, 随机分五组, 分别每天给以含0、25、125、625、2500ppm的利谷隆饲料。每组20只, 雌雄各半。利谷隆先溶于熟豆油中, 再混入饲料, 共喂饲六个月。每周称体重, 记录每日进食量, 计算食物利用率。给农药后, 每月取尾血测血常规、全血胆碱酯酶(ChE)活性、谷丙转氨酶^[3]。试验终期作组织病理检查, 称肝、脾、肾、心、肺、胃、睾丸、子宫重, 计算脏器/体重比值。

1.4 Ames试验: 指示菌为TA98、TA100, 点试法利谷隆浓度为0、4、10、20、100、500、2500μg/皿。平皿掺入法为0、4、10、20、100、500、2500μg/皿, 加或不加S-9。阳性对照为亚硝基胍(MNNG)黄曲霉毒素B₁。阴性对照为二甲基亚砜^[4]。点试与掺入试验至少重复进行二次, 每次均为平行测定。

1.5 显性致死致突变试验: 用体重35—39g的昆明种小鼠, 雄鼠设94和470mg/kg剂量组和蒸馏水对照组, 每组10只, 每日以受试物灌胃一次, 并连续交配5周。按同笼后第18天处死母鼠, 剖腹检查活胎数与死胎数, 然后按Simon和Embree等提出的指标进行分析^[5]、^[6]。

1.6 传统致畸试验: 按常规方法进行, 对照及实验组分别灌0、50、100、200mg/kg利谷隆, 阳性对照灌胃敌枯双0.4mg/kg。所有胎鼠检查大体畸形, 及内脏骨骼畸形。

2 结果与讨论

2.1 急性毒性试验, 动物在给农药30分钟后出现四肢无力, 步态蹒跚, 结膜充血, 肌肉松弛中毒症状, 多数动物在给农药后6小时因呼吸衰竭死亡, 工业品利谷隆LD₅₀大鼠油剂为993mg/kg, 以1.5%羧甲基纤维素为溶媒为4917mg/kg; 小鼠油剂为2350mg/kg, 急性毒性属低毒性取代脲类除草剂, 大鼠较小鼠敏感, 并且以羧甲基纤维素为溶媒的急性毒性低于油剂。

2.2 蓄积性毒性试验: 在20天观察期间, 试验动物仅出现个别死亡, 在试验中利谷隆剂量达5倍LD₅₀时, 动物死亡率仅为20%, 按蓄积程度分类标准, 属弱蓄积性。

2.3 亚慢性试验

2.3.1 一般状况: 实验开始后3周在2500ppm试验组相继有5只动物中毒死亡, 多数动物于试验中期曾出现眼分泌物增多, 并伴有轻度血性分泌物。其余各试验组与对照组均未发现异常表现。

2.3.2 体重增长与饲料利用率: 对食物利用率的影响主要表现在试验的前九周, 实验组明显低于对照组($p < 0.01$), 2500ppm剂量组食物利用率仅为3.25(雌)和4.99(雄)。对大鼠体重影响, 同样在试验的前九周有明显的影 响。无论食物利用率与体重增长的影响, 至试验的二十七周, 除2500ppm剂量组外, 各组与对照组比较均无显著差别。

2.3.3 血液与生化指标: 血红蛋白、血球比积的结果表明, 试验组在125ppm以上各剂量组与对照组之间在实验第三月开始均明显低于对照组有显著差异($p < 0.05$)或非常显著差异($p < 0.01$)。利谷隆对大鼠全血ChE活性的影响除2500ppm组无改变外, 其它各组从试验第二个月起酶的活性增高与对照组差异显著或非常显著($P < 0.05$ 、 $P < 0.01$); 从第五个月后高剂量组的酶活性开始下降, 至试验第六个月125ppm以上各组ChE活性均降低, 与对照组比较差异显著或

非常显著 ($p < 0.05$, $p < 0.01$)。

各组动物的谷丙转氨酶含量, 含硫血红蛋白及白细胞分类均未见异常。

2.3.4 脏体比: 六个月时, 雌性大鼠625

ppm组除脾脏增大外, 无异常所见; 雄性大鼠脾体、肝体、胃体比值均明显增大, 2500 ppm剂量组阶有脏体比值均显著或非常显著高于对照。

表 1 六个月时各组脏器系数比较

剂量组 ppm	肝/体		肾/体		脾/体		胃/体		辜/体
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
0	3.28*	3.271	0.623	0.665	0.281	0.286	0.451	0.481	0.759
25	3.287	3.540	0.600	0.693	0.290	0.311	0.484	0.491	0.779
125	3.247	3.569	0.608	0.757	0.250	0.305	0.500	0.500	0.823
625	3.916*	3.622	0.664	0.699	0.396*	0.429*	0.531*	0.510	0.811
2500	4.172**	3.830*	0.799*	0.837*	0.413*	0.425*	0.575**	0.512*	1.134*

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

2.4 致突变试验

2.4.1 Ames实验结果: 利谷隆对TA98和TA100有明显的致突变活性, 并存在剂量—反应关系(表2)。

2.4.2 显性致死试验: 实验中发现470 mg/kg试验组所有雄性鼠在给予利谷隆三天后便出现精神萎靡, 活动减少, 竖毛的现象, 但在停给受试物后恢复正常。阴性对照组和94 mg/kg组的试验组雄鼠未见异常所见。

表 2 利谷隆对鼠伤寒沙门氏菌的致突变性

剂 量 ug/皿	诱发回变菌落数			
	TA100		TA98	
	-S9	+S9	-S9	+S9
0	102	105	18	24
4	32	28	1	8
10	55	30	10	27
20	151	140	19	101
100	237	280	175	274
500	800	1490	633	764
2500	1090		929	
MNNG 5	2132		5580	
AFT-B1 0.2		283		77

比较显性致死各组试验结果, 仅在头五周交配的动物有显著差异, 在后二周交配者未见显著变化。470 mg/kg组与阴性对照组比较, 受孕指数(妊娠雌鼠数/交配雌鼠数)第2、3、4、5周交配者显著减少 ($p < 0.05$),

平均着床胚胎数(总着床数/妊娠雌鼠数)第1、3、4周也显著减少 ($p < 0.05$), 胚胎平均死亡数(着床死亡数/妊娠雌鼠数)第1、2、3、4、5周和突变指数(着床死亡数/总着床数 $\times 100$)第1、2、3、4、5周显著增加。94 mg/kg组与阴性对照组比较, 上述各指标均未见显著差异。在实验中着床后的早期胚胎死亡现象显著增加的原因可能是遗传物质改变所致, 它说明在受精作用之前配子已经受到损害。

根据着床后的早期胚胎死亡数和突变指数显著增加的实验结果, 证明利谷隆在470 mg/kg剂量下, 小鼠经口能够诱发其显性致死突变。由于此作用仅发生于头5批交配的动物, 说明作用限于雄鼠的精子在减数分裂后接触利谷隆的阶段。在接触利谷隆后的2、3、4周交配的雌鼠中受孕指数显著减少, 可能是雄鼠的性机能下降, 还是利谷隆杀灭了精细胞, 或其它原因所致, 尚有待进一步研究。

2.5 传统致畸试验: 利谷隆对孕鼠体重增长的影响。

从给受试物到处死共14天, 试验动物体重与给受试物前相比, 除50 mg/kg组增加以外, 其余两个剂量组, 孕鼠体重均下降至给受试物前水平。虽在停给受试物后, 体重有