

◆ 环境与残留 ◆

98%呋虫胺原药对大鼠两代繁殖毒性研究

卢昊^{1,2}, 付少华^{1,2*}

(1. 湖北省疾病预防控制中心, 武汉 430079 2. 应用毒理湖北省重点实验室, 武汉 430074)

摘要:为探讨98%呋虫胺原药对大鼠亲代生殖与子代早期发育的影响,采用饲喂法进行亲代(F_0)和子一代(F_1)染毒,剂量分别为0、8、40和200 mg/(kg·d),连续饲喂8周,观察亲代和子代大鼠的毒性表现,对生殖器官进行病理检查,计算繁殖指数和脏器系数。结果表明,与阴性对照组相比, F_1 代高剂量组雌性大鼠第2~7周的摄食量及总摄食量降低($P<0.01$; $P<0.05$);高剂量组仔鼠出生存活率偏低($P<0.05$)。供试药剂对两代大鼠的最大无作用剂量为40 mg/(kg·d),最小有害作用剂量为200 mg/(kg·d)。

关键词:呋虫胺;繁殖毒性;繁殖指数;最大无作用剂量;最小有害作用剂量

中图分类号:TQ 453.6 ;X 503.22 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2019.05.012

Study on the Two-generation Reproductive Toxicity of Dinotefuran in SD rats

Lu Hao^{1,2}, Fu Shao-hua^{1,2*}

(1. Hubei Center for Disease Control and Prevention, Wuhan 430079, China; 2. Hubei Key Laboratory of Toxicology Applications, Wuhan 430074, China)

Abstract: To investigate the reproductive and development effects of dinotefuran in rats over multiple generations. Parental generation (F_0) and Filia 1 generation (F_1) parent rats were fed to dinotefuran at dose of 0, 8, 40, and 200 mg/(kg·d) for 8 weeks prebreed. The weighs of main organs, breeding indexes and pathological changes were observed in F_0 and F_1 parents. The reproductive indexes of the offspring were measured. Compared with negative control group, in the high-dose group, female food intake and total food intake decreased at week 2-7 ($P<0.01$, $P<0.05$). The neonatal survival rate of F_1 generation was lower in the high-dose group ($P<0.05$). In this experiment condition, no observe adverse effect level (NOAEL) of two generation reproductive effects was 40 mg/(kg·d), and lowest observed adverse effect level (LOAEL) of two generation reproductive effects was 200 mg/(kg·d).

Key words: dinotefuran; reproductive toxicity; reproductive index; NOAEL; LOAEL

呋虫胺(dinotefuran),化学名称为(*RS*)-1-甲基-2-硝基-3-(四氢-3-呋喃甲基)胍,是日本三井化学AGRO株式会社研究开发的新烟碱类杀虫剂,因含有四氢呋喃,也将其称为“呋喃烟碱”^[1-2]。它作用于昆虫神经传递系统中的乙酰胆碱受体,使昆虫麻痹而死,对半翅目、鳞翅目、直翅目等多种害虫均具有良好的防治作用^[3-4]。农药作为一种常见的环境化学污染物,其安全问题一直备受关注。目前已有呋虫胺对家蚕、蜜蜂、蚯蚓、甲壳纲生物的毒性及大鼠免

疫毒性的研究报道^[5-9]。本研究探讨了98%呋虫胺原药对大鼠繁殖的毒性,以期对呋虫胺的安全性评价提供科学依据,预防其对人类的潜在影响。

1 材料与方法

1.1 供试药剂与动物

98%呋虫胺原药为白色至浅黄色粉末,由北京科发伟业农药技术中心提供。SPF级SD大鼠由上海西普尔-必凯实验动物有限公司[许可证号:SCXK

收稿日期:2019-04-02

作者简介:卢昊(1984—)女,湖北省通城县人,硕士,畜牧师,主要从事食品、药品等相关产品安全性评价工作。E-mail:70581347@qq.com
通信作者:付少华(1971—)男,湖北省洪湖市人,硕士,高级兽医师,主要从事农药毒性安全评价工作。E-mail:594457334@qq.com

(沪)2013—0016]提供,共4组,每组48只,雌雄比例2:1。实验动物使用许可证号为SYXK(鄂)2012—0065。实验动物质量合格证号为2008001639726、2008001639727。

1.2 实验方法

前期实验表明,98%呋虫胺原药对雌雄大鼠LD₅₀值均大于5 000 mg/kg;亚慢性毒性试验雌性LOAEL值为250 mg/kg,NOAEL值为50 mg/kg,雄性LOAEL值为1 666 mg/kg,NOAEL值为333 mg/kg。故本实验设1个阴性对照组和3个剂量组,各组饲料中的原药含量分别为0、100、500、2 500 mg/kg。根据大鼠实际摄食量与体重的比值计算染毒剂量,阴性对照、低、中、高剂量组的染毒剂量分别为0、8、40、200 mg/(kg·d),阴性对照组饲喂不含原药的标准饲料。亲代(F₀)和子一代(F₁)均染毒8周后,雌雄大鼠按2:1进行非同窝交配。计算繁殖指数(交配成功率、受孕率、活产率、出生存活率、生存率、哺乳成活率)和体重等指标,每阶段实验结束时解剖该阶段实验动物,对子宫、卵巢、睾丸、附睾、前列腺、脑、肝、肾、脾和已知的靶器官进行称重,计算主要脏器系数并进行常规病理检查。F₁代每组留取56只大鼠,雌雄各半。持续经口喂养给药,连续喂养8周后交配繁殖,测定F₁代成年鼠和子二代(F₂代)仔鼠的出生指标和生长指标。

1.3 饲养环境

饲养条件:实验在本单位SPF级屏障系统内进行。实验动物饲养于塑料饲养盒内,笼具、食盒每周更换1次并进行清洗消毒。

环境条件:温度23±3℃,湿度40%~70%,明暗交替12h,噪音在60 dB以下,换气次数为10~18次/h。

1.4 数据处理

计量资料如体重、进食量、血液常规检验、血液生化检验、脏器重量等指标采用 T 检验,动物的临床症状观察、动物死亡率等计数资料的统计采用卡方检验,病理解剖所见、组织学所见、肿瘤性病变采用Fisher确切概率检验,数据采用SPSS17.0软件分析。

2 结果与分析

2.1 一般表现

繁殖期间,F₀代和F₁代大鼠进食、饮水和活动基本正常,未见明显异常表现。

2.2 F₀代和F₁代大鼠体重变化情况

F₀代:与阴性对照组相比,雌性中剂量组14 d的体重偏高($P<0.05$),雌性高剂量组7 d体重下降

($P<0.05$),雄性中剂量组7 d的体重偏高($P<0.05$),其他各剂量组雌雄大鼠每周体重及总增重均无差异($P>0.05$)。因此认为这一改变无剂量反应和时间效应关系。

F₁代:与阴性对照组相比,雌性大鼠低剂量组初重、7 d的体重偏低($P<0.05$, $P<0.01$),雌性大鼠高剂量组初重、7 d的体重偏低($P<0.05$, $P<0.01$),雄性大鼠高剂量组初重、第5~8周体重降低($P<0.05$, $P<0.01$)。综合分析,各差异主要是由初重分组造成,且各剂量组雌雄大鼠总增重与阴性对照组相对,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 F₀代和F₁代大鼠摄食量

F₀代:与阴性对照组相比,雌性大鼠低剂量组第6~7周每日每只进食量减少($P<0.05$),中剂量第2周每日每只进食量增加($P<0.05$),雄性中剂量、高剂量组第1周每日每只进食量增加($P<0.05$),雄性中剂量组第4~5周每日每只进食量减少($P<0.05$);但各剂量组雌雄大鼠总摄食量没有差异($P>0.05$)。

F₁代:与阴性对照组相比,雌性大鼠低剂量及高剂量组第3周每日每只进食量减少($P<0.05$, $P<0.01$),总摄食量没有差异($P>0.05$),雄性低剂量组第2~4周每日每只进食量减少($P<0.05$, $P<0.01$),总摄食量没有差异($P>0.05$),雄性高剂量组第2~7周每日每只进食量减少($P<0.05$, $P<0.01$),总摄食量减少($P<0.01$)。差异有统计学意义,表明供试药剂对雄性高剂量组大鼠摄食有影响。

2.4 母鼠对仔鼠哺乳期体重的影响

2.4.1 F₀代母鼠对F₁代仔鼠哺乳期体重的影响

与阴性对照组相比,低剂量组与中剂量组仔鼠7 d的体重偏高($P<0.01$, $P<0.01$),高剂量组仔鼠7 d、21 d的体重偏高($P<0.01$, $P<0.05$),结果见表1。经比较分析,主要原因是对照组孕鼠生产的仔鼠总数偏高,造成对照组仔鼠的平均体重偏低。因此以上差异虽有统计学意义,但无毒理学意义。

表1 98%呋虫胺原药对F₀代生F₁代仔鼠哺乳期体重的影响

| 出生天数/d | 体重/g | | | |
|----------------|------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | 阴性对照组 | 低剂量组 | 中剂量组 | 高剂量组 |
| 0 [#] | 90.2±18.0 | 80.2±23.0 | 89.3±12.4 | 91.1±16.1 |
| 4 [#] | 137.9±34.8 | 133.4±36.9 | 146.7±20.1 | 143.5±22.8 |
| 7 | 18.7±2.3 | 19.8±2.4 [*] | 19.6±2.0 [*] | 19.5±2.0 [*] |
| 14 | 36.5±2.8 | 36.9±3.2 | 36.8±3.3 | 36.7±3.1 |
| 21 | 57.7±4.8 | 57.7±6.7 | 58.3±5.3 | 59.0±5.5 [*] |

注:与阴性对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$,#0、4 d的体重为窝重。

2.4.2 F₁代母鼠对F₂代仔鼠哺乳期体重的影响

与阴性对照组相比,低剂量组4 d的窝重及14 d、21 d仔鼠体重偏高($P < 0.05$),中剂量组7 d、14 d、21 d的体重偏高($P < 0.05$; $P < 0.01$),高剂量组14 d的仔鼠体重偏高($P < 0.01$),具体结果见表2。

表 2 98%呋虫胺原药对 F₁代生 F₂代仔鼠哺乳期体重的影响

| 出生天数/d | 体重/g | | | |
|----------------|--------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | 阴性对照组 | 低剂量组 | 中剂量组 | 高剂量组 |
| 0 [#] | 73.0 ± 15.4 | 84.7 ± 11.8 | 73.4 ± 20.3 | 75.9 ± 18.6 |
| 4 [#] | 120.5 ± 24.4 | 137.2 ± 14.1 [*] | 120.5 ± 29.4 | 127.6 ± 17.7 |
| 7 | 17.8 ± 2.1 | 18.3 ± 2.1 | 18.7 ± 2.4 [*] | 18.2 ± 2.3 |
| 14 | 35.3 ± 3.1 | 36.7 ± 2.8 [*] | 36.9 ± 3.9 ^{**} | 36.7 ± 4.0 ^{**} |
| 21 | 57.5 ± 5.3 | 59.6 ± 4.7 | 59.5 ± 6.8 [*] | 58.2 ± 7.3 |

注:与阴性对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ # 0、4 d的体重为窝重。

2.5 繁殖指数

F₀和F₁代各組动物繁殖指数见表3。F₀代中,与阴性对照组相比,各剂量组雌鼠交配成功率、受孕率、活产率、出生存活率、仔鼠哺乳存活率与对照组相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。F₁代中,与阴性对照组相比,高剂量组仔鼠出生存活率偏低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。低、中剂量组雌鼠交配成功率、受孕率、活产率、出生存活率、仔鼠哺乳存活率等繁殖指数均无差异($P > 0.05$)。

2.6 对雄鼠精子活力的影响

F₀代和F₁代,高剂量组与阴性对照组相比,精子活力和精子百分比均没有差异($P > 0.05$)。

表 3 F₀代和 F₁代各組动物繁殖指数

| 代别 | 组别 | 交配成功率/% | 受孕率/% | 活产率/% | 出生存活率/% | 哺乳成活率/% |
|----------------|-------|---------|-------|-------|-------------------|---------|
| F ₀ | 阴性对照组 | 90.6 | 87.5 | 100 | 99.4 | 100 |
| | 低剂量组 | 84.4 | 81.3 | 100 | 97.6 | 100 |
| | 中剂量组 | 81.2 | 75.0 | 100 | 97.8 | 100 |
| | 高剂量组 | 81.2 | 87.5 | 100 | 98.3 | 100 |
| F ₁ | 阴性对照组 | 85.7 | 75.0 | 100 | 98.3 | 99.4 |
| | 低剂量组 | 89.3 | 82.1 | 100 | 99.7 | 99.5 |
| | 中剂量组 | 85.7 | 82.1 | 100 | 98.1 | 98.8 |
| | 高剂量组 | 92.9 | 85.7 | 100 | 94.8 [*] | 98.4 |

注:与阴性对照组相比,* $P < 0.05$ 。

2.7 脏器系数

F₀代中,与阴性对照组相比,雌性大鼠低剂量组肾脏质量偏高($P < 0.05$);中剂量组脾脏质量偏高($P < 0.01$),肾脏质量及肾脏系数偏高($P < 0.05$, $P < 0.01$),卵巢质量偏高($P < 0.01$);雌性大鼠高剂量组解剖质量偏高($P < 0.01$),脾脏质量偏高($P < 0.05$),肾脏质量偏高($P < 0.01$),卵巢质量偏高($P < 0.01$);雄性大鼠中剂量组肾脏系数偏高($P < 0.01$),具体结果见表4。

综合分析,与阴性对照组相比,雌性大鼠脏器质量及系数主要表现为脏器质量偏高,但脏器系数正常,此结果主要与解剖的雌性大鼠剖杀体重差异有关,也与解剖时实验员的熟练程度或放血程度有关;其余个别脏器系数出现显著性差异,但无明显剂量反应关系,且生殖系统组织病理学无实质性改变,无毒理学意义。

表 4 F₀代和 F₁代各組雌性与雄性大鼠脏器系数

| 性别 | 脏器 | F ₀ 代系数 | | | | F ₁ 代系数 | | | |
|-----|-------------|--------------------|-------------|---------------------------|---------------|--------------------|---------------------------|-------------|--------------------------|
| | | 对照组 | 低剂量组 | 中剂量组 | 高剂量组 | 对照组 | 低剂量组 | 中剂量组 | 高剂量组 |
| 雌性 | 脑 | 0.65 ± 0.09 | 0.63 ± 0.07 | 0.61 ± 0.07 | 0.59 ± 0.07 | 0.64 ± 0.06 | 0.63 ± 0.06 | 0.63 ± 0.06 | 0.62 ± 0.04 |
| | 肝脏 | 3.94 ± 0.76 | 3.78 ± 0.52 | 3.65 ± 0.39 | 3.69 ± 0.49 | 3.27 ± 0.43 | 3.18 ± 0.31 | 3.19 ± 0.48 | 3.17 ± 0.37 |
| | 脾脏 | 0.21 ± 0.03 | 0.21 ± 0.02 | 0.23 ± 0.04 | 0.21 ± 0.04 | 0.21 ± 0.03 | 0.20 ± 0.03 | 0.21 ± 0.04 | 0.20 ± 0.02 |
| | 肾脏 | 0.66 ± 0.07 | 0.67 ± 0.06 | 0.72 ± 0.08 ^{**} | 0.69 ± 0.07 | 0.78 ± 0.08 | 0.81 ± 0.06 | 0.81 ± 0.10 | 0.78 ± 0.08 |
| | 卵巢 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.02 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.02 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 | 0.07 ± 0.01 |
| | 子宫 | 0.29 ± 0.11 | 0.25 ± 0.10 | 0.26 ± 0.06 | 0.254 ± 0.080 | 0.21 ± 0.06 | 0.17 ± 0.05 [*] | 0.18 ± 0.06 | 0.20 ± 0.07 |
| 雄性 | 脑 | 0.40 ± 0.04 | 0.40 ± 0.04 | 0.41 ± 0.03 | 0.39 ± 0.03 | 0.45 ± 0.03 | 0.43 ± 0.04 | 0.45 ± 0.06 | 0.45 ± 0.03 |
| | 肝脏 | 3.10 ± 0.19 | 3.18 ± 0.28 | 3.12 ± 0.17 | 3.24 ± 0.19 | 3.03 ± 0.39 | 3.30 ± 0.47 [*] | 3.13 ± 0.64 | 3.30 ± 0.46 [*] |
| | 脾脏 | 0.18 ± 0.02 | 0.19 ± 0.03 | 0.19 ± 0.03 | 0.18 ± 0.02 | 0.20 ± 0.03 | 0.20 ± 0.03 | 0.21 ± 0.03 | 0.21 ± 0.03 |
| | 肾脏 | 0.61 ± 0.04 | 0.64 ± 0.06 | 0.65 ± 0.04 ^{**} | 0.62 ± 0.03 | 0.73 ± 0.14 | 0.71 ± 0.09 | 0.74 ± 0.10 | 0.72 ± 0.06 |
| | 睾丸 | 0.61 ± 0.06 | 0.62 ± 0.07 | 0.61 ± 0.08 | 0.57 ± 0.08 | 0.73 ± 0.05 | 0.69 ± 0.09 [*] | 0.74 ± 0.10 | 0.73 ± 0.08 |
| | 附睾 | 0.28 ± 0.03 | 0.28 ± 0.03 | 0.28 ± 0.04 | 0.27 ± 0.03 | 0.31 ± 0.04 | 0.28 ± 0.03 ^{**} | 0.29 ± 0.05 | 0.32 ± 0.04 |
| 前列腺 | 0.18 ± 0.05 | 0.19 ± 0.04 | 0.19 ± 0.06 | 0.17 ± 0.04 | 0.19 ± 0.05 | 0.18 ± 0.03 | 0.19 ± 0.07 | 0.20 ± 0.04 | |

注:与阴性对照组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

与阴性对照组相比,F₁代中雌性大鼠低剂量组肾脏质量偏高($P < 0.05$)、子宫质量及其脏器系数偏

低($P < 0.05$);中剂量组肾脏质量偏高($P < 0.05$);雄性大鼠低剂量组解剖体重偏高($P < 0.05$)、肝脏质量

及肝脏系数偏高($P < 0.01$; $P < 0.05$)、睾丸脏器系数偏低($P < 0.05$)、附睾质量及其脏器系数偏低($P < 0.05$; $P < 0.01$) ; 雄性大鼠高剂量组肝脏脏器系数偏高($P < 0.05$)。

以上差异主要是由于剂量组动物禁食不够彻底,导致解剖体重有差异进而引起脏器系数的差异,部分数据差异较小且无明显剂量反应关系。

2.8 生殖系统组织病理学检查

F_0 代和 F_1 代中,高剂量组和对照组(F_0 代)的少量雄性大鼠前列腺出现病理改变,主要表现为局部间质细胞增生,炎性细胞浸润,前列腺间质内炎性细胞浸润,其他大鼠各生殖系统均未见明显异常,应为动物自发性病理变化,表明该供试品未引起亲代生殖能力改变。

3 结论与讨论

本研究根据《农药登记毒理学试验方法》(GB 15670—1995)^[10]进行98%呋虫胺原药对大鼠两代繁殖毒性的实验。结果表明:与阴性对照组相比, F_0 代低、中、高剂量组动物的交配成功率、受孕率、活产率、出生存活率、生存率、哺育存活率等繁殖指数均无差异($P > 0.05$)。 F_1 代高剂量组雄鼠在第5~8周体重偏低,差异有统计学意义($P < 0.01$; $P < 0.05$),但总增重与阴性对照组相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$);高剂量组雌鼠第2~7周摄食量及总摄食量降低,差异有统计学意义($P < 0.01$; $P < 0.05$);高剂量组仔鼠出生存活率偏低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。低、中剂量组雌鼠交配成功率、受孕率、活产率、出生存活率、仔鼠哺乳存活率等繁殖指数均无差异($P > 0.05$)。综合上述结果,认为在本实验条件下,高剂量组98%呋虫胺原药对SD大鼠具有繁殖毒性,表现为 F_1 代成年雌性大鼠摄食量降低、 F_2 代

仔鼠出生存活率降低。98%呋虫胺原药对大鼠两代繁殖毒性最大无作用剂量为40 mg/(kg·d),最小有害作用剂量为200 mg/(kg·d)。因此在使用此农药过程中应充分做好防护工作,避免大剂量接触,尤其是孕妇及哺乳期妇女应尽量避免与该农药接触。

参考文献

- [1] 张文萍,王全胜,徐吉洋,等.呋虫胺原药及两种剂型对三种甲壳纲生物的毒性与风险评价[J].农业环境科学学报,2015,34(8):1478-1485.
- [2] 陈伟国,孙海燕,杨一平,等.第三代烟碱类杀虫剂呋虫胺对家蚕的毒性与安全性评价[J].广西蚕业,2015,52(1):19-22.
- [3] 张亦冰.新内吸杀虫剂—呋虫胺[J].世界农药,2003,25(5):46-47.
- [4] Ghosh A, Samanta A, Chatterjee M L. Dinotefuran: A Third Generation Neonicotinoid Insecticide for Management of Rice Brown Planthopper [J]. African Journal of Agricultural Research, 2014, 9 (8): 750-754.
- [5] 谭丽超,程燕,朱昱璇,等.新烟碱类杀虫剂呋虫胺对意大利蜜蜂的安全性评价[J].生态毒理学报,2017,12(4):227-233.
- [6] 苍涛,王彦华,吴长兴,等.新烟碱类杀虫剂对蜜蜂的急性毒性及风险评价[J].生态毒理学报,2017,12(4):285-292.
- [7] 冯磊,蒋红云,张兰,等.新烟碱类农药对蚯蚓的毒性及安全性评价[C]//中国植物保护学会.中国植物保护学会会议论文集,北京:中国农业科学技术出版社,2013.
- [8] 张文萍,王全胜,徐吉洋,等.呋虫胺原药及两种剂型对三种甲壳纲生物的毒性与风险评价[J].农业环境科学学报,2015,34(8):1478-1485.
- [9] 徐玉艳,刘延庆,曾奇兵.呋虫胺对SD大鼠的免疫毒性[J].湘南学院学报,2016,18(1):4-6.
- [10] 中华人民共和国农业部.GB 15670—1995 农药登记毒理学试验方法[S].北京:中国标准出版社,1995.

(责任编辑:范小燕)

卢森堡将于2021年1月1日起禁用草甘膦

卢森堡近日宣布,将于2021年1月1日起禁用除草剂草甘膦。该国农业部部长罗曼·施耐德表示,目前市场上仍然没有能够替代草甘膦的除草剂产品。有关政府部门正在制定一项草甘膦退出计划,并寻求能够替代草甘膦的除草解决方案。

2019年7月,奥地利议会投票通过了关于草甘膦的禁令,自2020年1月1日起禁止该除草剂的使用。2019年9月,德国决定将于2023年12月31日起禁用草甘膦。法国计划于2021年停止草甘膦的“大部分用途”,这是该国“生态植物II+”计划的一部分,其中包括到2020年将杀虫剂使用量减少25%,到2025年减少50%,到2022年将该国15%的农业用地转变为有机农业用地。

继奥地利、德国、法国之后,卢森堡已成为第4个制定草甘膦禁用期限的欧洲国家。

(石凌波译自《AGROW》)