

◆ 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》)