

十八种农药致突变作用的研究

张 桥 王伟强 韩 涛 郑履康

(中山医学院卫生系劳动卫生教研组)

农业上所使用的各种化学农药对于人类及哺乳类动物具有不同程度的毒性。其中一部分对于细胞大分子物质,特别是去氧核糖核酸(DNA)可产生损害作用。DNA是构成细胞遗传物质的基本成份。因此,损害DNA就可能干扰遗传信息的传递,引起子代细胞突变。突变的出现可能无损于子代细胞正常生存,但有时亦会导致一系列远期损害,例如可引起体细胞的癌变。对于这类损害作用的研究日益受到重视。有些国家规定:新农药投产使用之前,必需鉴定它有无致突变作用^[1]。以考虑其使用前途及需采取的防护措施。

检查农药致突变作用的方法有多种。以Ames提出的组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌回变试验^[2](简称Ames试验)使用最为广泛。该法有快速、可靠、简便与价廉等优点,且可用之对受检物的致癌性作一初步推断。国内对于农药致突变作用的研究甚少。我们于1977年6月至1979年3月间收集了国内化工部门研制的一些农药,使用Ames法作了致突变性的检查,对这些农药的遗传毒理学作用作了初步的探讨。

一、材料与方 法

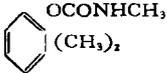
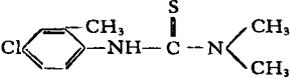
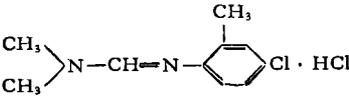
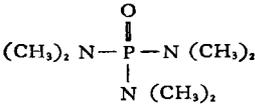
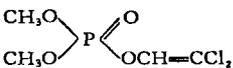
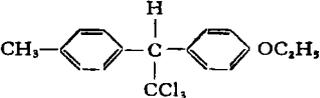
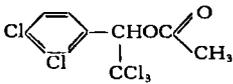
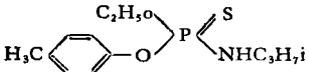
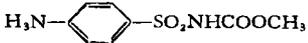
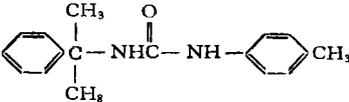
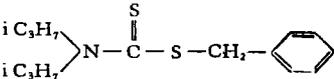
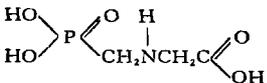
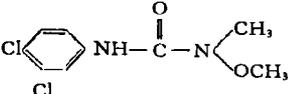
1. 农药样品的收集:共18种,其中杀虫剂7种,除草剂6种,杀菌剂4种,驱避剂1种。杀虫剂中叶飞散(混二甲基-N-氨基甲酸甲酯)由广东江门农药厂合成;螟铃畏由广东肇庆专区化工研究所合成;杀虫脒由广州珠江电化厂合成;敌敌畏为广州农药厂产品;

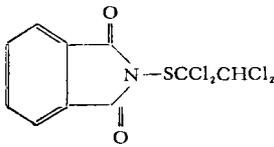
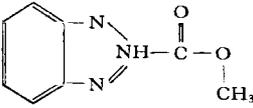
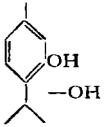
益滴涕与乙氧 DDT 为昆明工学院化学系合成样品;绝育灵由北京轻工业研究所与广州化工研究所分别提供。除草剂中K223与昆草3号由昆明师范学院化学系合成;除草剂16号及7431由天津南开大学元素研究所合成;草甘膦与利谷隆由沈阳化工院提供。杀菌剂中百菌清由湖南省劳动卫生研究所提供样品;二硫氰基甲烷由广东化工研究所合成;敌菌丹由广西化工研究所合成;多菌灵由沈阳化工研究所合成。驱蚊灵由广州香料厂提供纯试样。以上农药除草甘膦用水溶液外,其余均溶于二甲基亚砷(DMSO)中,配成5或50毫克/毫升溶液,用前按需要作不同浓度稀释。

2. 代谢活化系统:用大鼠肝细胞匀浆经 $9000\times g$ 离心后,取其上清(S_9)。大鼠在取肝前5天,用多氯联苯(500毫克/公斤)进行酶诱导。取 S_9 加入辅酶II(TPN)、6磷酸葡萄糖等辅助因子做成 S_9 混合液(简称 S_9)备用。制成的 S_9 均经细菌学检查,证实无细菌污染,并用标准致癌物苯并[a]芘或乙酰氨基芴检查其活性达到要求后,才用于实验。

3. 回变试验:参照Ames的标准方法^[2]及其他学者意见^[3,4],按照我们实验室条件,建立了试验方法^[5]。每种农药进行两类试验:(1)点试;(2)平皿掺入试验,以菌落多于自然回变数两倍以上定为阳性。每种农药初次测试所用浓度为5、50、500微克/皿,每浓度用三个平行皿,结果取其均数。若500微克/皿仍未见回变菌落数增加,自然回变数又无明显减少(抑菌现象),必要时再加高受试物浓

表 1 18 种农药致突变性检查结果

受检农药名称	化学结构式	致突变性检查结果
杀虫剂		
1. 叶飞散		-
2. 螟铃畏		-
3. 杀虫脒		-
4. 绝育灵		-
5. 敌敌畏		+
6. 益滴涕		-
7. 乙氧滴滴涕		-
除草剂		
8. 除草剂 16 号		-
9. 7431		-
10. K223		-
11. 昆草 3 号		-
12. 草甘膦		-
13. 利谷隆		+
杀菌剂		
14. 百菌清		+

受检农药名称	化 学 结 构 式	致突变性检查结果
15. 二硫氰基甲烷	$\text{CH}_2(\text{SCN})_2$	-
16. 敌菌丹		+
17. 多菌灵 驱避剂		-
18. 驱蚊灵		-

度复试。若在上述受试浓度有明显抑菌作用(自然回变数明显减少或背景菌苔生长不良)则另选合适浓度复试。每种农药取得三次重复相类似结果后,始作判断。

每次试验均有空白(溶剂)对照与标准致癌物作阳性对照。

二、结果与讨论

18种农药试验结果见表1、2。

本次试验见有致突变作用的农药有4种,占全部受检物21.8%,可见对DNA有损害作用的农药为数不少。Курицкий(1974)用多种检测系统检查农药126种,其中阳性者有90种,阳性率高达71.6%。单纯用微生物试验系统检出阳性者24种,阳性率为33.3%^[6]。Shirasu(1976)用枯草杆菌重组试验(Recombination assay)、大肠杆菌(WP₂)与鼠伤寒沙门氏菌回变试验检测了除草剂63种,杀菌剂57种,杀虫剂46种,合计166种。均未用代谢活化系统,结果见重组试验阳性者23种(13.9%),鼠伤寒沙门氏菌回变试验阳性者9种(5.4%),阳性率较低,可能是由于无代谢活化所致^[7]。Poole等(1977)用

五种微生物试验(鼠伤寒沙门氏菌,大肠杆菌WP₂,大肠杆菌相对毒性试验、啤酒酵母菌重组试验与枯草杆菌)检测14种,有致突变作用者有3种,阳性率为21.4%^[8]。Lorenzo(1978)用Ames法检测20种氨基甲酸酯农药,有三种见有致突变作用,阳性率为15.0%^[9]。以上结果表明不少农药具有程度不同的致突变活性。这一作用对于人类有何意义,亟待阐明。

敌敌畏是一种用途广泛的有机磷杀虫剂。这类化合物在体外试验中显示对大分子化合物具有烷化作用。敌有可能损及DNA而引起细胞突变。但目前不同报告的结果不一致。一般在微生物测试系统均呈现有致突变性(Shirasu 1976^[7], Garere 1978^[9])。在加入S₉后见TA₁₀₀回变菌落明显增加,可见属碱基置换型致突变物。用果蝇作性连锁隐性致死试验,所用浓度最高达0.2毫升(6.0 × 10⁻⁷ M)仍为阴性(Kramers 1978^[12], Sobel 1979^[13]),因此本品的致突变作用对高等动物的意义如何,尚属疑问。

敌菌丹为氯硫化物类的杀菌剂,急性经口毒性低(LD₅₀为2.5—7.0克/公斤)。亚

表 2 四种农药引起回变菌落增加的数目

受 试 物 (微克)	TA ₉₈		TA ₁₀₀	
	S ₉ ⁻	S ₉ ⁺	S ₉ ⁻	S ₉ ⁺
敌 敌 畏				
0	18±1	16±3	76±21	90±26
5	11±4	12±4	98±3	1500±110
50	14±2	12±2	139±9	2076±240
100	17±9	14±5	118±7	2283±548
敌 菌 丹				
0	24±4	30±13	92±28	92±31
5	17±5	39±12	160±14	162±23
50	26±2	886±35	168±11	1269±362
100	0	0	0	45±2
百 菌 清				
0	18±1	16±3	76±21	90±26
5	11±1	13±2	143±25	93±40
50	14±3	96±30	125±9	715±13
100	15±2	158±40	155±4	605±21
利 谷 隆				
0	18±1	16±3	76±21	90±26
5	13±2	19±1	373±21	430±35
50	130±14	25±6	633±17	427±32
100	209±47	24±3	587±13	460±80
乙 酰 氨 基 苄				
10	14±6	72,000	99±8	72,000

急性毒性试验未见有明显特异性损害。经多种动物试验未发现致畸胎作用。已有报告氯硫类化合物(克菌丹、灭菌丹、敌菌丹)在微生物试验系统见有致突变作用^[7,9,15]。本次试验中加入 50 微克/皿左右见回变菌落数明显增加。

百菌清的有效成份是四氯间苯二腈，用作杀菌剂。本次试验见在 TA₉₈ 与 TA₁₀₀ 均引起回变增加。对于有机腈类化合物的致突变作用研究甚少。

利谷隆是取代脲类除草剂。有报告此类化合物中如敌草隆，灭草隆与伏草隆均可诱发大鼠肝脏肿瘤。利谷隆是否有同样作用未见有报告。在本次试验加入 S₉ 后，回变菌落数反见减少。可能是经代谢后，形成活性较低的代谢产物所致。

McCann^[16,17]，Purchase^[18]，Bridges^[19]，Brusick^[20] 与 Poirier^[21] 等均认为用 Ames 法可

作为致癌性检查的预筛试验。但近年发现有一定数量假阴性^[22]。本次所检查的六甲磷酰胺为阴性。但据 Zapp^[23]，Lee^[24] 报告此化合物对于啮齿动物有较强致癌性，其原料磷酰胺亦可引起小鼠白血病。Ashby^[25] 用体外细胞转化试验证实本类化合物能引起细胞产生恶性转化。

这一结果表明，用 Ames 法检测某些化合物可能不敏感。需同时使用几种检测系统始能提高检出率，避免遗漏。

三、结 论

本文报告了18种农药用 Ames 法检测致突变性的结果。见敌敌畏，敌菌丹，百菌清与利谷隆有致突变活性，这种作用对于人类的意义如何？尚有待阐明。某些已知动物致癌物在本检测系统属阴性，需研究其阴性反应的原因，并用多种检测系 (下转第 79 页)

譬如用(2)式计算的 Cd、Hg、Cr、As 的指数用(4)式进行综合时(见表 3),本已夸大的 Cd 污染会再度被夸大,使本来并不严重的 Cd 污染变得较为严重,而较重的汞污染却变得较次要了。如以表 3 第 3 区为例,该区 Hg 的最大值和平均值分别为 3.775 ppm 和 1.004 ppm, Cd 的最大值和平均值分别为 2.050 ppm 和 0.320 ppm,无论从最高值或平均值而言, Hg 的污染程度都比 Cd 明显地高。但是, Cd 的 P 值却比 Hg 大,严重歪曲了污染的现实状况。此外,(4)式算出的综合指数的大小只反映污染的程度,而无质变之区别。因此在进一步进行污染程度的分级时,没有客观标准,受到工作人员的经验 and 知识水平等人为因素的影响较大。

在分指数的综合中,(3)式也曾得到较广泛的应用。但是(3)式具有一个缺点,在一定情况下,它会掩盖某些污染物质的飞跃特征。譬如当一种污染物含量超过标准,其它几种污染物的指数都很低时,算出的综合质量指数不仅小于 1,而且还相当地低。在土壤重金属污染中,这种状况是不允许的。因为土壤重金属污染不像水体污染存在瞬时性一样,一旦被污染就不易自然消失。实际上,在

重金属污染中,当某种重金属的指数超过 1 时,这种土壤已被被污染的量变过程发展到质的飞跃,构成需要采取严厉措施的程度。从这种意义上来说,这种质的飞跃特征,已代表了土壤的污染属性。如果我们用算出的较低的综合指数来表示它的质量,既不符合它的质变状况,也不能恰当的作为防治途径的依据。为此,我们把这种情况下的综合指数由小于 1 提高到 1。即当某点

$$P = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n I_i$$

中某一污染物的 $I_i > 1, P < 1$ 时,令 $P=1$ 。至计算的 $P=1$ 后,再按(3)式进行综合。这样,我们提出的指数系统,既以无量纲的属性表示了污染的量变过程,也表达了污染的质变特征,弥补了(1)式和(2)式的不足。

参 考 文 献

- [1] 北京西郊环境质量评价协作组,北京西郊环境质量评价研究,13 页,1977 年。
- [2] 熊广政等,环境科学,6,6(1979)。
- [3] 唐永奎,环境科学,2,71(1979)。
- [4] 曹洪法等,环境科学,4,32(1979)。
- [5] Nemerow, N. L., Scientific Stream Pollution Analysis, McGraw-Hill, New York, 1974.
- [6] 关伯仁,环境科学,4,67(1979)。

(上接第 61 页)

统一起检查,相互补充,以免漏筛。

参 考 文 献

- [1] Kolata, G. B., *Science*, **192**, 1215 (1976).
- [2] Ames, B. N. *et al.*, *Mutation Res.*, **31**, 547 (1975).
- [3] 矢作多贵江,蛋白质、核酸、酵素, **20**, 1178(1975)
- [4] Frantz, C. N. *et al.*, *Mutation Res.*, **31**, 365 (1975).
- [5] 张桥、李雅观,环境科学, **4**, 44(1978)
- [6] Куринный, А. П., *Цит. и Генит*, **8**, 342(1974).
- [7] Shirasu, Y. *et al.*, *Mutation Res.*, **40**, 19 (1976).
- [8] Poole, D. C. *et al.*, *Toxicol. Appl. Pharm.*, **41**, 196 (1977).
- [9] Garere, A. *et al.*, *Mutation Res.*, **57**, 277(1978).
- [10] Lorenzo, F. *et al.*, *Cancer Res.*, **38**, 13 (1978).
- [11] 赵寿元等,自然杂志, **8**, 214 (1978)
- [12] Kramers, P. G. N. *et al.*, *Mutation Res.*, **57**, 103 (1978),
- [13] Sobels, F. H. *et al.*, *ibid.*, **67**, 89 (1979).
- [14] Flora, S. D. *et al.*, *Nature*, **271**, 455, (1978).
- [15] MacCann, J. *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **72**, 5138 (1975).
- [16] MacCann, J. *et al.*, *ibid.*, **73**, 950 (1976).
- [17] Purchase, I. H. *et al.*, *Nature*, **264**, 624 (1976).
- [18] Bridges, B. A. *et al.*, *ibid.*, **262**, 195 (1976)
- [19] Brusick, D. J., *Clin. Toxicol.*, **10**, 79 (1977).
- [20] Poirier, L. A. *et al.*, *ibid.*, **9**, 761 (1976).
- [21] Ashby, J., *Nature*, **274**, 20 (1978).
- [22] Zapp, J. A., *Amer. Indust. Hyg. Ass. J.*, **36**, 916 (1975).
- [23] Lee, K. P. *et al.*, *Lab. Investig.*, **36**, 344 (1978).
- [24] Ashby J. *et al.*, *Brit. J. Cancer*, **36**, 564 (1977).