

杀虫双对小白鼠的致畸试验

何素云 杜卓民 覃国芳 牟肇龄

(贵阳医学院组织胚胎教研组)

许多资料表明胚胎对化学毒物的感受性比成年动物高。由于外来物质如病毒、药物、化学农药、放射性物质和某些金属对母体的影响,干扰了正常的胚胎发育,造成先天性畸形。凡能引起畸胎的物质称致畸原,化学农药是否为致畸原,必须经过致畸试验来鉴定,其致畸作用的大小随胚胎的发育阶段而不同,一般认为器官发生期是致畸最敏感期,但不同化合物可能有不同的敏感期^{[1][2]}。杀虫双是否为致畸原,它对小白鼠有无致畸作用及致畸敏感期的确定,这是本实验的目的。

材料与 方法

杀虫双是杀蚕毒素衍生物,为杀螟丹的中间体。由贵州化工研究所提供。剂量按雌性小白鼠经口急性毒性试验结果的半数致死量 $LD_{50} = 271$ 毫克/公斤折算。

一、器官发生期给药

采用体重为 28—35 克未交配过的 2—3 月龄雌鼠与 35—40 克成年雄鼠按 2:1 交配,发现阴栓后分离为以下 6 组:

发现阴栓日定妊娠 0 天,于第 6—14 天连续 9 天灌胃,给药体积为 2 毫升/公斤,并三天称重一次,调整给药量。妊娠第 18 天施颈椎脱臼术处死母鼠,剖腹检查子宫内胚胎植

本相似,而且绝大程度上显著优于生物转盘。pH 值 7—8 时效果最好。

2. 利用藻类转盘进行深度处理时,在进水 pH 值 8—14 的情况下, COD 去除率的 95% 置信范围为 64.77—80.05%; BOD₅ 去除率的 95% 置信范围为 82—90%。

分组	药 物	剂量(毫克/公斤)	备注
阴性对照组	蒸馏水	0	
杀虫双低组	30% 杀虫双工业品	6	用蒸馏水稀释
杀虫双中组	30% 杀虫双工业品	30	用蒸馏水稀释
杀虫双高组	30% 杀虫双工业品	150	用蒸馏水稀释
阳性对照组	水杨酸钠 (西安制药厂)	200	溶于蒸馏水
阳性对照组	六六六 (遵义碱厂)	40	溶于鱼肝油 (维生素 A 5000IU)

入情况及胎鼠外形和性别。记录胎重、胎长(CR)后,将部分胎鼠固定于 Bouin 氏液,按 Wilson 氏徒手切片法^[3]观察内脏。大部胎鼠固定于 95% 酒精,茜素红染色后观察骨骼发育^[4]。

灌杀虫双各组及阴性对照组,每组留母鼠 2 只让其自然分娩,养至断乳时观察哺乳期发育情况及外观畸形。

二、妊娠早期(即着床前和着床期)给药

动物同前,按 2:1 交配,发现阴栓后分阴性对照组、杀虫双低组、中组、高组和六六六阳性对照组共五组,用药剂量同前,于 0—5 天连续 6 天灌胃给药,给药体积为 2 毫升/公斤,一周称重一次,观察孕期体重变化,于妊

彭清超老师协助统计处理特此致谢。

3. 藻类转盘出水溶解氧含量较高,氨氮完全去除。出水透光率 95% 的置信范围为 86—93%。

这只是初步试验的结果,在试验中还有许多问题有待于进一步研究与探讨。

娠第 18 天将母鼠颈椎脱臼处死,检查母鼠及仔鼠方法同前。

三、统计处理

各组孕鼠体重、胎重、着床数、活胎数用 t 测验处理,死胎和吸收胎、骨化迟缓数用卡方处理^[5]。

结 果

一、器官发生期给药

实验过程中杀虫双高组母鼠死亡 2 只,均于妊娠第 13 天死亡,解剖死鼠子宫内各有活胎 7 只,1 母鼠有吸收胎 3 只,另 1 母鼠有死胎 1 只,肉眼观察未发现畸形胎。

孕期母鼠体重增加数在杀虫双高组低于对照组有显著差异($\rho < 0.05$, 表 1),而水杨酸钠组与对照组差异非常显著($\rho < 0.01$)。

各组着床数均接近对照组仅水杨酸钠组偏低但差异不显著($\rho > 0.05$, 表 2)。死胎及吸收胎数在杀虫双高组与对照组差异显著($\rho < 0.05$, 表 2)。杀虫双各组活胎数与胎重均接近于对照组,但水杨酸钠组活胎数与对

照组差异非常显著($\rho < 0.05$, 表 3)。胎重与对照组差异显著($\rho < 0.01$, 表 3)。胎长也与对照组有非常显著的差异($\rho < 0.05$, 表 3)。

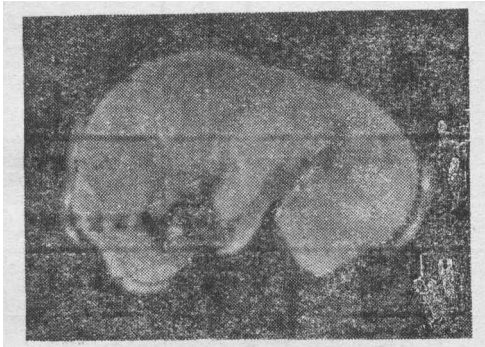


图 1 露肠畸形

第 6--14 天杀虫双 30 毫克/公斤灌胃,第 18 天胎鼠

胎鼠外形检查杀虫双中组有露肠畸形 2 例(图 1),其余各组未见畸形。内脏检查仅水杨酸钠组有肾盂扩大 1 例。骨骼检查在杀虫双中组胸骨未融合数与对照组有非常显著的差异($\rho < 0.005$, 表 4)。杀虫双高组枕骨骨化迟缓与对照组差异非常显著($\rho < 0.05$),

表 1 器官发生期给药孕鼠体重变化表

分 组	剂量(毫克/公斤)	孕 鼠 数	0 天 ($\bar{X} \pm SD$)	18 天 ($\bar{X} \pm SD$)	孕期增重 (g, $\bar{X} + SD$)
对 照 组	0	24	33.0 $\pm$ 2.39	55.0 $\pm$ 4.84	22.0 $\pm$ 4.07
杀虫双低组	6	14	36.3 $\pm$ 1.98	60.4 $\pm$ 4.25	24.1 $\pm$ 4.12
杀虫双中组	30	23	33.8 $\pm$ 2.69	53.3 $\pm$ 7.17	19.2 $\pm$ 6.41 ^a
杀虫双高组	150	22	34.0 $\pm$ 2.45	52.7 $\pm$ 7.19	18.6 $\pm$ 6.16 ^b
水杨酸钠组	200	9	33.0 $\pm$ 2.17	48.3 $\pm$ 3.46	15.3 $\pm$ 3.74 ^c
六 六 六 组	40	9	31.7 $\pm$ 2.68	52.2 $\pm$ 5.17	20.0 $\pm$ 1.56

a. 与对照组差异不显著 $\rho > 0.05$ b. 与对照组差异显著 $\rho < 0.05$ c. 与对照组差异非常显著 $\rho < 0.01$

表 2 器官发生期给药孕鼠着床数、吸收胎及死胎表

分 组	剂量(毫克/公斤)	孕 鼠 数	着床数 ($\bar{X} \pm SD$)	吸收胎(%)	死胎(%)
对 照 组	0	21	245(11.6 $\pm$ 2.72)	24(9.7)	6(2.0)
杀虫双低组	6	12	137(11.4 $\pm$ 2.39)	17(12.4)	2(1.4)
杀虫双中组	30	21	228(10.8 $\pm$ 1.96)	24(10.5)	5(2.1)
杀虫双高组	150	19	208(10.9 $\pm$ 1.86)	39(18.7) ^b	2(0.9) ^b
水杨酸钠组	200	9	90(10.1 $\pm$ 2.26) ^a	18(20.0) ^c	1(1.1) ^c
六 六 六 组	40	8	98(12.2 $\pm$ 2.05)	10(10.2)	2(2.1)

a. c. 与对照组差异不显著 $\rho > 0.05$ b. 与对照组差异显著 $\rho < 0.05$

表3 器官发生期给药活胎数、胎重及胎长表

分 组	剂 量 (毫克/公斤)	孕鼠数	活胎数 ($\bar{x} \pm SD$)	胎重 (g, $\bar{x} \pm SD$)	胎 长 (mm $\bar{x} \pm SD$)	性 别 ♂:♀
对 照 组	0	21	215(10.2±2.52)	1.33±0.16	24.8±0.97	109:106
杀虫双低组	6	12	118(9.8±2.61)	1.50±0.22	26.0±1.50	64:54
杀虫双中组	30	21	199(9.4±2.40)	1.33±0.13	25.1±1.78	95:104
杀虫双高组	150	18	160(8.9±1.74) ^a	1.38±0.16	24.0±1.47	70:90
水杨酸钠组	200	9	71(7.8±2.20) ^b	1.29±0.02 ^c	23.5±0.86 ^d	37:34
六六六组	40	8	86(10.8±1.28)	1.37±0.14	24.0±1.48	42:44

a. 与对照组差异不显著 $\rho > 0.05$ c. 与对照组差异显著 $\rho < 0.01$ b, d. 与对照组差异非常显著 $\rho < 0.005$

表4 器官发生期给药胎鼠外形、内脏及骨化异常表

分 组	对照组	杀虫双低组	杀虫双中组	杀虫双高组	水杨酸钠组	六六六组
剂量(毫克/公斤)	0	6	30	150	200	40
孕鼠数	21	12	21	18	9	8
外形检查数	215	118	199	160	71	86
露肠畸胎	0	0	2(2)	0	0	0
内脏检查数	19	—	22	20	19	20
肾盂扩大	0	—	0	0	1(1)	0
骨髓检查数	196	96	177	137	51	66
枕骨骨化迟缓	9(6)	0	17(6) ^a	24(8) ^c	13(4) ^c	12(7) ^a
胸骨未融合	97(16)	39(7)	115(18) ^b	81(14) ^d	49(9) ^f	56(8) ^h
缺第5胸骨	5(5)	0	5(4)	7(5)	2(2)	3(2)
多肋(14对)	1(1)	0	0	0	0	0
少肋(12对)	7(4)	0	2(2)	8(4)	5(3)	0
短 肋	0	0	0	0	0	1(1)
趾骨骨化迟缓	0	0	0	0	0	1(1)
趾骨骨化迟缓	6(6)	3(1)	9(3)	9(6)	3(2)	5(3)

a. 与对照组差异不显著 $\rho > 0.05$

()内数字代表母鼠

d. 与对照组差异不显著 $\rho > 0.25$

b, c, e, f, g, h. 与对照组差异非常显著 $\rho < 0.005$

胸骨与对照组差异不显著。但水杨酸钠组及六六六组枕骨及胸骨的发育与对照组均有非常显著的差异($\rho < 0.005$, 表4)。杀虫双低组外形及骨骼检查均无异常。

留自然分娩鼠8只, 生仔63只, 给药各组仔鼠哺乳期发育正常, 存活率85.7%, 所有仔鼠未见畸形。

二、妊娠早期给药

给杀虫双各组孕鼠的体重变化与对照组无显著差异($\rho > 0.1$, 表5)。给药后的受孕率及着床数略高于或低于对照组, 无剂量依

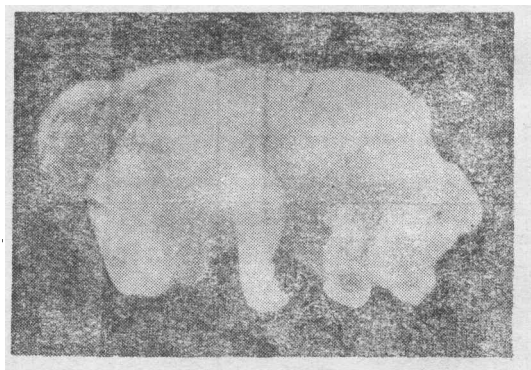


图2 露脑露肠畸胎

第0—5天六六六40毫克/公斤灌胃, 第18天胎鼠

表5 0—5天给药孕鼠体重变化表

分 组	剂量(毫克/公斤)	孕 鼠 数	0 天 ($\bar{x} \pm SD$)	18 天 ($\bar{x} \pm SD$)	孕期增重 ($\bar{x} \pm SD$)
对 照 组	0	15	32.4 $\pm$ 2.23	45.1 $\pm$ 7.52	12.8 $\pm$ 6.92*
杀虫双低组	6	11	30.1 $\pm$ 3.18	38.1 $\pm$ 9.35	7.9 $\pm$ 8.35*
杀虫双中组	30	17	33.1 $\pm$ 3.29	45.4 $\pm$ 34.6	12.3 $\pm$ 7.52
杀虫双高组	150	16	31.5 $\pm$ 2.02	41.4 $\pm$ 34.4	10.3 $\pm$ 8.06
六六六组	40	16	32.2 $\pm$ 2.64	45.3 $\pm$ 9.65	13.0 $\pm$ 7.13

* 与对照组差异不显著 $\rho > 0.1$

表6 0—5天给药后母鼠生殖情况表

分 组	剂 量 (毫克/公斤)	孕鼠数	受孕率 (%)	着床数 ($\bar{x}$)	吸收胎(%)	死胎(%)	母鼠肝重	
							绝对肝重 (克)	a 相对肝重 (毫克)
对照组	0	16	75	110(9.2)	14(12.8)	2(1.8)	2.3	50.3
杀虫双低组	6	11	64 ^b	56(8.0)	5(8.9)	0	2.0	53.0
杀虫双中组	30	17	82	140(10.0)	28(20.0) ^c	0	2.3	50.2
杀虫双高组	150	16	69	107(9.7)	12(11.2)	2(1.9)	2.2	52.9
六六六组	40	16	81	126(9.7)	18(14.0)	2(1.6)	2.4	52.1

a. 相对肝重(毫克)=绝对肝重(毫克)/体重(克)

b, c. 与对照组差异不显著 $\rho > 0.5$

表7 0—5天给药后活胎数及胎重、胎长表

分 组	剂量(毫克/公斤)	活胎数 ($\bar{x}$)	胎重(克)	胎长 (CR,毫米)	性 别 ♂:♀
对 照 组	0	94(7.8)	1.32*	24.3	55:39
杀虫双低组	6	51(7.3)	1.21*	24.0	31:20
杀虫双中组	30	113(8.7)	1.26	24.1	48:65
杀虫双高组	150	93(8.4)	1.33	23.6	61:32
六六六组	40	105(8.1)	1.31	23.6	54:51

* 与对照组差异不显著 $\rho > 0.5$

赖关系(表6),仅中剂量组的吸收胎高于对照组,但卡方处理后无显著差异($\rho > 0.5$,表6).给药各组活胎数均接近于或高于对照组,胎重亦无显著差异($\rho > 0.5$,表7).

检查活胎外形在杀虫双高剂量组出现露肠畸胎1例,畸胎率为10.6‰.阳性对照组(六六六)露肠畸胎1例;露脑、脊髓裂、并露肠、环形尾1例(图2),畸胎率为19‰.各组胎仔内脏未见畸形.骨骼检查低剂量组枕骨骨化迟缓数与阴性对照组差异非常显著($\rho < 0.005$),但中剂量组差异不显著($\rho > 0.05$,表8).

讨 论

在胚胎发育过程中,由于外来农药的影响可使胚胎发育停止而形成吸收胎或死胎;或使胚胎生长发育迟缓出现畸胎;或影响胎鼠的体重下降.

器官发生期给杀虫双后,高组孕期体重增长与对照组有显著差异;实验过程中母鼠有死亡;吸收胎与死胎总数与对照组差异显著;枕骨骨化迟缓;但活胎数不低,胎鼠体重无下降现象,外观未发现畸胎.杀虫双中组出现露肠畸胎2例,畸胎率为10‰,高于1‰

表 8 0—5 天给药胎仔外形、内脏及骨骼异常表

分 组	对照组	杀虫双 低组	杀虫双 中组	杀虫双 高组	六六六
剂量(毫克/公斤)	0	6	30	150	40
外形检查数	94	56	144	93	105
露肠畸胎	0	0	0	1	1
露脑畸胎	0	0	0	0	1
内脏检查数	32	18	45	33	32
肝上-血肿	0	0	1	0	0
骨髓检查数	57	33	66	56	66
多肋	0	0	0	0	1
少肋	0	1	3	3	1
短肋	0	1	0	0	0
缺第 5 胸骨节	0	0	1	0	1
额外胸骨	0	0	0	0	1
枕骨骨化迟缓	9	18 ^a	20 ^b	11	16
缺枕骨	1	0	1	0	0
趾骨骨化迟缓	2	0	1	0	3

a. 与对照组差异非常显著 $\rho < 0.005$ b. 与对照组差异不显著 $\rho > 0.05$

正常畸胎率,按浙医大农药研究室对致畸强度的评价,算出致畸指数=母鼠 LD₅₀/致畸最小剂量=271/30=9,致畸指数小于 10 则属不致畸范围。Larsson K. S^[6]指出:一般公认致畸作用应有三方面的改变:(1)、畸形模型的建立以及畸形率的增加;(2)胎鼠死亡率增加;(3)、作为胎鼠发育迟缓指数的胎鼠体重降低等。我们的结果是高组吸收胎增加,中组出现畸胎但胎重均正常。

妊娠早期给杀虫双后,高剂量组出现 1 例露肠畸胎,畸胎率为 10.6‰,致畸指数为 1.8 小于器官发生期的致畸指数。且吸收胎和死胎均低于对照组,活胎数与胎重均高于对照组;胎鼠内脏无畸形;骨化异常数不高。妊娠早期给药其受孕率和胚胎着床数是重点注意的项目,因 0—4 天孕卵在输卵管内,4—5 天着床于子宫内膜^[7]。我们的结果:中剂量组受孕率高于对照组,而高、低剂量组虽低于对照组但无显著差异($\rho > 0.5$ 表 2)。其着床数在高、中剂量组均大于对照组。此结果说明杀虫双对孕卵在输卵管内的发育影响不

大,对小白鼠亦无抗着床作用。

虽低剂量组枕骨骨化迟缓,但无剂量依赖关系。Schwetz^[8]认为颅骨骨化迟缓属胚胎毒作用。由于骨化变异常出现,Wilson 建议不列入畸形范围。

Keplmiger^[9]等曾用水杨酸钠 200 毫克/公斤引起大鼠畸胎率为 19‰—62‰。小鼠器官发生期给水杨酸钠 200 毫克/公斤未出现畸胎,但孕期母鼠体重增长数及活胎数与对照组有非常显著的差异;胎重及胎长均明显降低,枕骨与胸骨骨化迟缓均与对照组有非常显著的差异,故水杨酸钠对小白鼠的胚胎毒作用强于杀虫双。我们曾用同样剂量给大白鼠后畸胎率高达 114‰,我们认为水杨酸钠的致畸作用对大白鼠较敏感。小白鼠器官发生期给六六六未见畸胎,胎重不降低,吸收胎及死胎数不高,但骨化迟缓与对照组有非常显著的差异。妊娠早期给相同剂量则出现露肠、露脑畸胎,畸胎率为 19‰。可能在早期较器官发生期敏感,但本实验所用阳性对照药物尚不够理想。

小 结

1. 小白鼠器官发生期经口给杀虫双 30 毫克/公斤,畸胎率为 10‰,致畸指数为 9。

2. 小白鼠妊娠早期经口给杀虫双 150 毫克/公斤,畸胎率为 10.6‰,致畸指数为 1.8。

3. 杀虫双对小白鼠的致畸敏感期为器官发生期。

4. 小白鼠妊娠期给杀虫双 6 毫克/公斤为无作用剂量。

5. 六六六粉剂溶于维生素 A 5000 IU 的鱼肝油内,于妊娠早期经口给小白鼠 40 毫克/公斤后畸胎率为 19‰。

主要参考文献

- [1] 黄幸舒综述,国外医学参考资料(卫生学分册) 6, (1976)。
- [2] 武汉医学院环境、营养卫生教研室编,环境污染与卫生监测(第二辑) 237—238 页,1974。

用河蚬监测 J 河汞污染的初步研究*

黄玉瑶 任淑智

(中国科学院动物研究所)

双壳类软体动物活动性小,生活史长,个体比较大,且对有机氯农药及重金属都有较强的富集能力.近年来,国外有不少人提出用此类动物作为监测有机氯农药和重金属污染的指示生物^[1,2,3,4,5].对重金属的监测报导比较多的是研究紫贻贝 (*Mytilus edulis*) 在河口、海湾和沿海地区对锌、铅、铜、汞等含量的富集情况.认为动物体内重金属的含量明显的与环境中的相应含量有关^[6,7].有人研究贻贝 (*Patella vulgata*) 对海水中镉的吸收、富集,也得出了同样的结论^[8].关于淡水双壳类动物对污染物质的富集研究报导的很少.有人在英国太晤士河测定一种河蚌 (*Anodonta anatina*) 体内锌、铅、铜、汞等的含量,发现均呈现出明显的地区差异,因而认为该种河蚌有指示污染的作用^[9].至于用河蚬作为重金属污染的指示生物的资料,我们迄今尚未见到.我们在研究 J 河的污染时,运用大型无脊椎动物多样性指数进行监测,得到了满意的效果,但是,无法确定污染物的性质,而且工作量比较大,推广有一定困难.河蚬 (*Corbicula fluminea*) 是 J 河分布十分广泛的大型底栖无脊椎动物,从淡水到咸水河段均有分布,取样方便,又易于辨认,为此我们选择河蚬作为样品,探索其作为监测 J 河汞污染指示生物的可能性.

一、工作情况与方法

J 河全长约 300 公里,流经四个区县,最后汇入 B 海湾.它是沿途各区县工农业与生活用水的主要水源,又是各种废水的收纳河道.近年来,由于下游地区化学工业迅速发展,废水未经处理即排入河道,致使下游河段河水及底泥受到汞及有机氯农药的严重污染.在枯水季节,上游来水减少,河口防潮闸关闭,工业废水不能随流下泄入海,反而向上游方向倒流,污染排污口以上河段.

1978 年 5 月间,我们在该河下游长约 60 公里的河段上设 16 个断面(如图 1),采取河蚬样品.其中,断面 I 未受工业废水的影响,水质比较清洁.样品是在各该断面河的两岸(距河岸约 2—3 米)的水底,用手抄网或采泥器采集的.样品经河水洗净后在低温冰箱中保存.三个月后,进行了汞含量的分析测定.

测定时,选取各断面同等体长的河蚬 15 个,按个体大小分成大(26—30 毫米)、中(21—25 毫米)、小(10—20 毫米)三组,每组各 5 个.对每个河蚬样品进行长、宽、高测量及称

* 许培礼、仪垂贵、佟明秀、许木启、庞苏娟同志参加野外采集,滕德兴、赵忠宪、高玉荣同志参加室内测定工作,在此一并致谢.

- [3] Wilson, J. G., Teratology Principles and Techniques, p. 262—277, 1975.
- [4] Dawson, A. B., Stain Technology, 1, 123 (1976).
- [5] 郭祖超等, 医用数理统计方法, 人民卫生出版社, 1965 年.
- [6] Larsson, K. S., 国外医学参考资料(卫生学分册),

2, (1976).

- [7] 吉林医科大学组胚教研组, 吉林医科大学学报, 4, (1975).
- [8] Schwetz, B. A. et al., Toxicol. Appl. Pharmacol., 28, 146 (1974).
- [9] Keplinger, M. L. et al., Toxicol. Appl. Pharmacol., 28, 209 (1974).