

• 研究简报 •

乙烯利体内致突变性研究

于文辉, 高永泉, 赵文*, 齐小菊, 杨静

(河北农业大学 食品科学技术学院, 河北 保定 071000)

摘要:为测定乙烯利对人体健康的影响,采用小鼠骨髓细胞微核试验和小鼠精子畸形试验分别检测了乙烯利对小鼠体细胞和生殖细胞的致突变性。3个实验组的微核发生率(6.13%、9.13%、11.25%)与阴性对照组(2.88%)比较,差异极显著($P < 0.01$),且存在一定的剂量-反应关系。各剂量组精子畸形率(39.6%、50.4%、49.6%)与对照组(38.6%)比较,中、高剂量组存在明显差异($P < 0.05$)。表明乙烯利对体细胞和生殖细胞有致突变性。

关键词:乙烯利;致突变性;微核;精子畸形

中图分类号: R994.4

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2006)02-0184-03

Study on Mutation of Ethephon in Mice

YU Wen-hui, GAO Yong-quan, ZHAO Wen*, QI Xiao-ju, YANG Jing

(College of Food Science and Technology, Hebei Agricultural University, Baoding 071000 China)

Abstract The mutation potential of ethephon was investigated by micronucleus test of bone marrow polychromatic erythroblasts (PCE) cells and sperm shape abnormality test in mice. The results showed that the micronucleus rate of bone marrow PCE cells in the experimental groups (6.13%, 9.13%, 11.25%) increased obviously as compared with that of control group (2.88%). And the rate of sperm shape abnormality in two experimental groups with higher dosage levels (50.4%, 49.6%) increased obviously as compared with that of control group (38.6%). Ethephon is a potential mutagen for somatic cell and germ cell.

Key words ethephon; mutation; micronucleus; sperm abnormality

乙烯利 (ethephon) 作为植物生长调节剂广泛用于蔬菜、水果等农作物中,在植物体内可分解产生乙烯,促进果实成熟。近年来,由于存在乙烯利的滥用及随意提高使用浓度、盲目改变使用时间等现象,导致乙烯利在果蔬中的残留已经成为影响果蔬食用安全的因素之一。关于乙烯利急性毒性和亚慢性毒性方面已有相关研究报道^[1-3],但其遗传毒性,特别是在动物活体内进行毒性研究的报

道还相对较少。赵肃等人的研究表明,乙烯利能导致小鼠体细胞和性细胞产生遗传损伤^[4];而 Song 等人的研究结果则相反,显示乙烯利对小鼠体细胞无明显的遗传毒性^[5]。两份研究报告有明显矛盾之处。因此,作者拟通过小鼠微核实验和小鼠精子畸形实验等动物体内试验方法,对乙烯利的致突变性进行初步探讨,为明确乙烯利对人体健康是否存在潜在的危害提供依据。

收稿日期: 2005-09-19; 修回日期: 2006-04-11.

作者简介: 于文辉 (1984-), 男, 本科生; * 通讯作者: 赵文 (1964-), 女, 上海市人, 医学硕士, 教授, 主要从事食品安全方面的研究. 联系电话: 0312-7528195 E-mail: zwgy@yahoo.com.cn

基金项目: 河北农业大学新兴学科科研发展基金资助.

1 材料与方法

1.1 受试物

质量分数为 40% 的乙烯利 (ethephon) 水溶液, 上海赛格农药有限公司产品。试验设 3 个剂量: 536 1 072 2 145 mg/kg bw。以蒸馏水为溶剂, 现用现配。

1.2 实验动物

清洁级昆明种小鼠, 体重 25~35 g 由河北医科大学实验动物学部提供 (合格证号: DK0504-0073)。

1.3 试剂

环磷酰胺 (注射用, 批号 041110), 上海华联制药有限公司出品, 蒸馏水配制。其余试剂均为分析纯。

1.4 实验方法

1.4.1 小鼠骨髓细胞微核实验 参照文献 [6] 方法。选用体重 25~30 g 的小鼠 40 只, 雌雄各半, 随机分为 5 组, 每组 8 只。其中包括 3 个乙烯利剂量组、一个阴性对照组 (蒸馏水) 和一个阳性对照组 (环磷酰胺 40 mg/kg bw)。采用等体积灌胃法 (0.2 mL/10 g bw), 间隔 24 h 给药两次, 第二次

给药后 6 h 颈椎脱臼处死小鼠。取胸骨制片, Giemsa 染色。每只动物于油镜下计数 1 000 个骨髓噬多染红细胞 (PCE), 记录微核发生率 (MN-PCE%)。

1.4.2 小鼠精子畸形实验 参照文献 [7] 方法。选用体重 30~35 g 的雄性小鼠 25 只, 随机分为 5 组, 每组 5 只。实验剂量及分组同 1.4.1。

每天定时灌胃给药, 连续 5 d, 第 35 d 颈椎脱臼处死小鼠, 取附睾制片。用质量分数为 1% 的伊红水溶液染色, 高倍镜下计数 1 000 个成熟精子, 记录精子畸形发生率。

1.5 统计方法 双侧 t 检验。

2 结果与分析

2.1 小鼠骨髓细胞微核发生率

结果 (见表 1) 表明, 乙烯利 3 个剂量处理组的微核发生率与阴性对照组比较均有显著升高, 统计学结果差异显著 ($P < 0.01$), 而且有一定的剂量-反应关系。同时, 乙烯利 3 个剂量处理组的微核发生率均超出了正常小鼠微核发生率 (本实验室为 4% 左右) 的范畴。

Table 1 The effects of ethephon on micronuclei in mouse bone marrow PCE cells*

Dose / (mg/kg bw)	Animal number	PCE number	MN PCE number	MN PCE (%) (X ± S)	P
0	8	8 × 1 000	23	2.88 ± 1.24	
40 (C.P)	8	8 × 1 000	227	28.38 ± 7.32	
536	8	8 × 1 000	49	6.13 ± 2.01	< 0.01
1 072	8	8 × 1 000	81	10.13 ± 1.59	< 0.01
2 145	8	8 × 1 000	90	11.25 ± 2.65	< 0.01

* PCE: Polychromatophilic erythroblasts; MN PCE: Micronuclei in polychromatophilic erythroblasts

2.2 小鼠精子畸形率

结果 (表 2) 表明, 乙烯利 3 个剂量组的精子畸形率与阴性对照组比较均有升高, 且中、高剂量组

超出了正常小鼠精子自发畸变率 (本实验室为 4% 左右)。统计分析表明中、高剂量组与阴性对照组 (蒸馏水) 差异显著 ($P < 0.05$)。

Table 2 The effects of ethephon on sperm shape abnormality in mice

Dose (mg/kg bw)	Animal number	Sperm number	Abnormal sperm number	Rate of abnormality (%) (X ± S)	P
0	5	5 × 1 000	347	38.60 ± 9.38	
40 (C.P)	5	5 × 1 000	324	64.80 ± 9.26	
536	5	5 × 1 000	198	39.60 ± 4.21	> 0.05
1 072	5	5 × 1 000	252	50.40 ± 7.84	< 0.05
2 145	5	5 × 1 000	248	49.60 ± 8.18	< 0.05

3 讨论

小鼠骨髓 PCE 微核实验和小鼠精子畸形实验作为检测体细胞和生殖细胞遗传学损伤的标准实验,已广泛应用于致突变剂的检测中。本研究以该两项实验作为遗传学指标,初步研究了植物生长调节剂乙烯利的体内致突变作用。结果表明,乙烯利在 536 1 072 2 145 mg/kg 3个剂量处理条件下,均能明显升高小鼠骨髓嗜多染红细胞的微核发生率,且存在剂量-反应关系;中、高剂量处理能明显升高小鼠的精子畸形率。说明乙烯利可能具有导致小鼠体细胞染色体畸变和生殖细胞基因突变的作用。

本研究中的小鼠骨髓细胞微核实验结果表明,乙烯利可能引起体细胞染色体断裂,导致断片或无着丝点染色体在细胞分裂后期不能定向移动,而留在细胞质中形成微核,提示乙烯利可能是体细胞有丝分裂毒剂,对人体具有潜在威胁;小鼠精子畸形实验结果证实,乙烯利对雄性小鼠的生殖细胞具有一定的损伤作用,可诱发控制精子正常形态的基因突变,干扰精子的正常生成与成熟,导致动物机体产生生殖细胞非致死性突变。

体细胞突变的后果是会出现肿瘤、衰老、动脉粥样硬化及致畸等,而目前最受关注的问题是其与肿瘤发生的关系。分子生物学研究^[8-9]表明,由体细胞突变所导致的肿瘤的发生与癌基因和抑癌基因有关,当原癌基因突变为癌基因后,可刺激细胞异常增殖;而抑癌基因的突变,可导致失去对细胞异常增殖的抑制作用,结果使机体产生肿瘤。如果诱变剂通过胎盘,还会引起胚胎体细胞突变,导致无遗传性的胎儿畸形。而生殖细胞一旦发生非致死性突变,则会使后代产生可遗传的先天畸形,或导致其遗传易感性发生改变。因此,本实验结果表明,乙烯利对人类可能具有潜在的诱癌和致畸作用危险。该结果与赵肃^[4]等的研究结果一致,但本研究在实验设计上适当提高了受试物的剂量,达到了其 LD₅₀值(4 289 mg/kg)的 1/2、1/4 和 1/8,证实了乙烯利的致突变作用具有一定的剂量-反应关系。此外,文献[5]显示乙烯利微核试验结果为阴性,作者认为可能是由于其剂量偏低

(200 mg/kg),仅为乙烯利 LD₅₀值的 1/20 还有文献显示乙烯利无诱癌作用,甚至能对抗环境中的致癌物质^[10]。因此最终的结论还有待后续试验进一步证实。

参考文献:

- [1] Haux J E. Phosphorylation of the esteratic site of butyrylcholinesterase by diethylphosphonic acid dianion [J]. *Chem Res Toxicol* 2000 13: 646-651
- [2] Haux J E, Lockridge O, Casida J E. Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro [J]. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002 15: 179(1): 1-12
- [3] CHEN Yu-sheng(陈裕盛). 植物刺激剂乙烯利急性中毒三例报告 [J]. *Chin J Prev Med* (中华预防医学杂志), 1989 14(2): 113
- [4] ZHAO Su(赵肃), DUAN Zhi-wen(段志文), JIN Huan-rong(金焕荣), et al 乙烯利的致突变作用研究 [J]. *Carcinogenesis, Teratogenesis and Mutagenesis* (癌变·畸变·突变), 1999 11(2): 91-93
- [5] Sorg R M, Naisith R W, Matthews R J. Genetic Toxicology Micronucleus Test (MNT) [R]. Unpublished report No. PH 309A-UC-001-81 from Pharnakon Laboratories Waverly, Pennsylvania 18471, USA. Submitted to WHO by Rhône-Poulenc, Secteur Agric, Lyon, France 1981
- [6] HUANG Xing-shu(黄幸纾), CHEN Xing-ruo(陈星若). 环境化学物致突变、致畸、致癌实验方法 [M]. Hangzhou(杭州): Zhejiang Science and Technology Press(浙江科学技术出版社), 1985. 264
- [7] GAO Qing(高青). 一种改进的小鼠精子畸形检测方法 [J]. *J Hygiene Res*(卫生研究), 1989 18(1): 13
- [8] WANG Xin-ru(王心如). *Foundations of Toxicology* (2nd) [毒理学基础(第二版)] [M]. Beijing(北京): People's Medical Publishing House(人民卫生出版社), 2004 129-131
- [9] ZHOU Zong-can(周宗灿). *Foundations of Toxicology* (2nd) [毒理学基础(第二版)] [M]. Beijing(北京): Beijing Medical University Press(北京医科大学出版社), 2000 96-97
- [10] PAN Rui-zhi(潘瑞熾). 重视植物生长调节剂的残毒问题 [J]. *Chin J Biol Bull*(生物学通报), 2002 (4): 4-7

(Ed. JIN S H)