

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20200930006

杨嘉辉, 王安, 杨秀鸿. 除草剂对非靶标生物及人体的生殖毒性与遗传毒性研究进展[J]. 生态毒理学报, 2021, 16(4): 119-130

Yang J H, Wang A, Yang X H. Reproductive toxicity and genotoxicity of herbicides to non-target organisms and human beings [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2021, 16(4): 119-130 (in Chinese)

除草剂对非靶标生物及人体的生殖毒性与遗传毒性研究进展

杨嘉辉¹, 王安^{1,*}, 杨秀鸿^{2,#}

1. 中南大学湘雅公共卫生学院卫生毒理学系, 长沙 410078

2. 湖南省职业病防治院毒理实验室, 长沙 410007

收稿日期: 2020-09-30 录用日期: 2020-12-06

摘要: 除草剂的应用已逐渐成为农业生产中不可或缺的一环。除草剂潜在的毒性作用对生态系统及其中生存的动物和人类存在着威胁。因此, 研究除草剂的生殖和遗传毒性并选用安全的品类对于生态系统的保护是十分重要的。本文综述了多种除草剂对几种非靶标生物的生殖毒性和遗传毒性, 为新型除草剂的生殖和遗传毒性评价及实验动物的选择提供参考, 并为除草剂的生态毒理研究提供思路。

关键词: 除草剂; 非靶标生物; 生殖毒性; 遗传毒性

文章编号: 1673-5897(2021)4-119-12 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Reproductive Toxicity and Genotoxicity of Herbicides to Non-target Organisms and Human Beings

Yang Jiahui¹, Wang An^{1,*}, Yang Xiuhong^{2,#}

1. Department of Toxicology, XiangYa School of Public Health, Central South University, Changsha 410078, China

2. Toxicology Laboratory, Hunan Prevention and Treatment Institute for Occupational Diseases, Changsha 410007, China

Received 30 September 2020 accepted 6 December 2020

Abstract: The application of herbicides has gradually become an indispensable part of agricultural production. The potential toxicity of herbicides is a threat to not only the ecosystems but also to the organisms and human beings living in them. Therefore, the researches on the reproductive toxicity and genotoxicity of herbicides and the correct selection of safe herbicides are essential for protecting the ecosystem. In this review, the reproductive toxicity and genotoxicity of several herbicides to non-target organisms were introduced, which provided reference for the selection of test method and experimental animal for reproductive toxicity and genotoxicity evaluation of new herbicides, as well as the ideas for the ecotoxicological study of herbicides on environmental organisms and human beings.

Keywords: herbicide; non-target organism; reproductive toxicity; genotoxicity

第一作者: 杨嘉辉(1995—), 男, 硕士研究生, 研究方向为毒理学安全性评价, E-mail: otztoxin@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: csuwang@csu.edu.cn

共同通讯作者 (Co-corresponding author), E-mail: yxh502@sina.com

除草剂(herbicide)主要被用于农业及非农业中杂草及有害植物的杀灭或防治,已逐渐成为农业生产中至关重要的工具。而因药害、残留性、污染性、杂草抗药性及毒性等问题,一些除草剂渐渐被更加高效安全的产品取代。本文所涉及的 22 种除草剂及其主要施用场景如表 1 所示。

除草剂可随水循环及食物链在不同生态系统中的生物间传递,目标杂草以外的生物即为非靶标生物(non-target organism)。其中适宜的物种可作为除草剂生殖及遗传毒性研究的模式生物(model organism)。生殖毒性(reproductive toxicity)又称繁殖毒性,是指外源性化学物引起的亲代雌性或雄性繁殖

功能损伤或生殖能力下降;遗传毒性(genotoxicity)则是外源化学物对遗传物质的毒性作用。传统的生殖毒性研究多以大鼠和小鼠等啮齿类动物为试验对象,往往因效率、周期和成本问题而无法满足现实的研究需要;而经典的遗传毒性试验也大多无法真实地反映生态系统中生物遗传物质所受的损害。随着研究技术的发展和伦理学方面的要求,鸟类、鱼类、两栖动物、爬行动物等脊椎动物,以及节肢动物、线虫动物等无脊椎动物在生殖和遗传毒性安全评价中获得了一定的青睐。本文综述了多种常见除草剂对一些非靶标生物以及人体的生殖毒性和遗传毒性作用,希望能为除草剂的生态毒理研究提供思路,为新

表 1 文中涉及的除草剂及其施用场景
Table 1 Herbicides studied in this article and their application

分类 Classification	通用名 Common name	主要施用场景 Main application
有机磷类除草剂 Organophosphorus herbicide	草甘膦 Glyphosate	农田、果园、橡胶园、非农区域 Farmland, orchard, rubber plantation, non-agricultural area
酰胺类除草剂 Anilide herbicide	甲草胺 Alachlor; 丙草胺 Pretilachlor; 丁草胺 Butachlor; 异丙甲草胺 Metolachlor	旱田 Dry farmland; 水稻田 Paddy field; 旱田 Dry farmland; 农田、果园 Farmland, orchard
磺酰脲类除草剂 Sulfonylurea herbicide	甲磺隆 Metsulfuron-methyl; 苄嘧磺隆 Bensulfuron methyl; 烟嘧磺隆 Nicosulfuron	麦田 Wheat field; 水稻田 Paddy field; 玉米田 Corn field
嘧啶水杨酸类除草剂 Pyrimidine salicylic acid herbicide	双草醚 Bispyribac-sodium	水稻田 Paddy field
三氮苯类(三嗪类)除草剂 Triazine herbicide	阿特拉津 Atrazine; 氰草津 Cyanazine	旱田、果园 Dry farmland, orchard; 玉米田 Corn field
对羟基苯基丙酮酸酯双氧化酶 (HPPD)抑制类除草剂 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD) inhibitor herbicide	硝磺草酮 Mesotrione; 吡草酮 Benzofenap; 环磺酮 Tembotrione	玉米田 Corn field; 水稻田 Paddy field; 玉米田 Corn field
苯氧羧酸类除草剂 Phenoxy acid herbicide	2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D) 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)	农田 Farmland
苯甲酸类(安息香酸系)除草剂 Benzoic acid herbicide	麦草畏 Dicamba	麦田、玉米田 Wheat field, corn field
联吡啶类除草剂 Bipyridinium herbicide	百草枯 Paraquat 敌草快 Diquat	农田、果园、桑园、茶园、林场(已禁用) Farmland, orchard, mulberry garden, tea garden, forest farm (banned) 农田、果园、非农区域 Farmland, orchard, non-agricultural area
吡啶类除草剂 Pyridine herbicide	氨氯吡啶酸 Picloram	农田 Farmland
芳氧苯氧丙酸类除草剂 Aryloxy phenoxy propionate herbicide	恶唑禾草灵 Fenoxaprop- <i>p</i> -ethyl; 精喹禾灵 Quizalofop- <i>p</i> -ethyl; 氰氟草酯 Cyhalofop-butyl	农田 Farmland; 农田、果园、林场 Farmland, orchard, forest farm; 水稻田 Paddy field

品类除草剂毒性试验中模式生物的选择提供参考。

1 鱼类与鸟类 (Fish and birds)

1.1 鱼类

除草剂可通过水体由农田生态系统向水生生态系统转移,并通过食物链向上传递,对其中的鱼类造成毒害作用^[1]。研究显示,一些除草剂可影响鱼类的类固醇合成相关基因的表达,干扰睾酮及雌二醇等性激素的分泌,从而对生殖产生不利影响。Uren等^[2]以0.01、0.5和10 mg·L⁻¹的草甘膦对繁殖期的斑马鱼染毒21 d。在10 mg·L⁻¹的剂量下,雌性斑马鱼的受精率不受影响,而产卵量降低,胚胎早期死亡及早产的发生率升高。性腺基因转录表达谱显示,在10 mg·L⁻¹的剂量下,草甘膦可使雄性斑马鱼睾丸中过氧化氢酶(catalase, CAT)和超氧化物歧化酶1(superoxide dismutase 1, SOD1)、*hsd3b2*及雌性斑马鱼卵巢中*cyp19a1*和*ers1*的表达上调。Armiliato等^[3]发现,65 μg·L⁻¹草甘膦染毒15 d可诱导雌性斑马鱼的类固醇生成因子-1表达上调,并引起卵母细胞直径增大及卵巢超微结构异常。Zhu等^[4]研究发现,精喹禾灵对斑马鱼的48 h半数致死浓度(LC₅₀)为1.21 mg·L⁻¹,据此设立剂量为2、20和200 μg·L⁻¹,染毒30 d后检测发现精喹禾灵可通过调节斑马鱼体内卵黄蛋白原1(vitellogenin1, VTG1)、雌激素受体α(estrogen receptor α, ERα)、*hhex*和*pax8*等分泌相关的基因表达而影响生殖。雄鱼体内下丘脑-垂体-性腺(hypothalamic pituitary gonadal, HPG)轴的相关基因表达上调,卵黄蛋白原(vitellogenin, VTG)及雌激素水平升高;而雌鱼HPG轴相关的基因表达下调,VTG水平下降。此外,精喹禾灵可诱导斑马鱼性腺组织学损伤,引起胚胎孵化及生长抑制乃至畸形。Jiang等^[5]以50、100和200 μg·L⁻¹的丙草胺染毒斑马鱼96 h,发现丙草胺除通过HPG轴诱导芳香化酶活性及VTG表达增强外,还可引起凋亡途径中*P53*、*mdm2*、*bbc3*的表达及caspase3、caspase9活性上调,从而诱导胚胎细胞凋亡。

Richter等^[6]以0.5、5和50 g·L⁻¹的阿特拉津染毒雌性日本青鳉(*Oryzias latipes*)和黑头软口鲮(*Pimephales promelas*)30~38 d,发现染毒组的产卵量均有减少,VTG1及透明带糖蛋白3.1(zp3.1)等与卵成熟、卵巢中类固醇有关的物质、肝脏中雌激素受体(estrogen receptor, ER)以及大脑中促性腺激素的表达下调。Ahmadivand等^[7]发现,经0.39 mg·L⁻¹丁草胺染毒10 d的虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*),其血

浆睾酮水平下降,性腺指数(gonadosomatic index, GSI)无显著变化;参与减数分裂的*boule*表达下调,减数分裂进程受抑制。Papoulias等^[8]以0.5、5和50 μg·L⁻¹的阿特拉津染毒日本青鳉,所有剂量组的雌性日本青鳉总产卵量均较对照组降低(36%~42%),主要归因于雌性排卵数的减少以及雄性生殖细胞异常,而睾酮、雌二醇、芳香化酶蛋白水平以及性腺指数不受影响,这一结果与前述研究有所不同。

除草剂对鱼类生殖系统也可能存在直接毒性作用。Lopes等^[9]利用5 mg·L⁻¹和10 mg·L⁻¹的草甘膦染毒雄性斑马鱼,在24 h和96 h这2个时间点采集精子,结果显示,2个剂量组精子的线粒体膜及DNA完整性均遭到破坏,精子活性降低。

在遗传毒性评价中,常用微核试验和单细胞凝胶电泳(single cell gel electrophoresis, SCGE)评价化学物的染色体损伤作用和DNA损伤作用。Anbumani和Mohankumar^[10]以亚致死浓度(0.016、0.032和0.064 mg·L⁻¹)的丁草胺染毒卡特拉鲃(*Catla catla*)35 d,随染毒时间增加,各剂量组外周血红细胞微核率升高,并有双核细胞和无核细胞出现。Adeyemi等^[11]的研究显示,0.1 mmol·L⁻¹阿特拉津染毒96 h对斑马鱼胚胎具有致畸作用、氧化应激作用以及遗传毒性,表现为卵凝结、卵水肿、生长迟缓、脊柱侧凸、脂质过氧化水平升高、CAT活性减弱以及DNA尾矩增加。

Nwani等^[12]采用半静态法测得草甘膦和阿特拉津对翠鳉(*Channa punctatus*)的96 h-LC₅₀值分别为32.0 mg·L⁻¹和42.0 mg·L⁻¹,并以LC₅₀值的1/4、1/2和3/4作为染毒剂量,即以草甘膦(8.1、16.3和24.4 mg·L⁻¹)及阿特拉津(10.6、21.2和31.8 mg·L⁻¹)染毒翠鳉96 h,每隔24 h采集外周血,微核试验显示各剂量组外周血红细胞微核率均升高,在96 h达最高值,并出现核碎裂和双核等核异常现象。Piancini等^[13]以环境相关浓度(1.8、7、30、115和460 μg·L⁻¹)的硝磺草酮分别处理尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)和巴西珠母丽鱼(*Geophagus brasiliensis*)96 h,在各染毒组中均可观察到氧化应激和DNA损伤,尼罗罗非鱼体内谷胱甘肽(glutathione, GSH)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)水平升高;巴西珠母丽鱼体内谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性增加,SCGE结果显示肝脏、外周血淋巴细胞及腮组织存在DNA损伤。

Wang 等^[14]以环境相关浓度(1.8、18 和 180 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的硝磺草酮处理锦鲤(*Cyprinus carpio*),在 7、18 和 28 d 收集鳃、肝脏和肌肉组织,SCGE 检测显示各剂量组均出现 DNA 损伤,以肝脏最甚,仅第 28 天时 180 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 剂量组中观察到 SOD、CAT 和活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平升高,而丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量、GSH、GPx 及谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GSR)活性无显著变化。Ruiz 等^[15]以 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)和麦草畏的亚致死浓度,即 96 h-LC₅₀ 值的 2.5% 和 5% (2,4-D 为 25.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 50.4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 麦草畏为 41 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 82 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)分别染毒花鲢(*Chesterodon decemmaculatus*)28 d, 2,4-D 可在 7~28 d 时诱导原发性 DNA 损伤,而 2 种剂量的麦草畏分别在 7~14 d 和 7~28 d 内诱导原发性 DNA 损伤,损伤表现为 DNA 链的断裂。

1.2 鸟类

畜牧业与种植业同为农业的组成部分,在空间分布上较为接近,故家禽容易暴露于除草剂等农药中。Somers 等^[16]早在 1978 年便以鸡为对象进行了除草剂一代和二代繁殖试验,2,4-D、2,4,5-涕(2,4,5-T)及氨基吡啶酸的推荐田间施用量为 746 $\text{L}\cdot\text{hm}^{-2}$, 稀释后通过喷雾形式使公鸡与母鸡分别暴露于 10 倍推荐施用量(11.2 $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$),以人工授精技术得到胚胎并进行孵化,发现该剂量下交配成功率、胚胎的死亡率及畸形率无显著变化,子代的生长发育及生殖未受影响。Arias^[17]根据 8 $\text{mg}\cdot\text{胚胎}^{-1}$ 的半数致死剂量(LD₅₀)值,按 0、0.5、1、2 和 4 mg 的剂量向鸡卵壳膜内注射 2,4-D,在染毒第 4、7 和 10 天进行姐妹染色单体互换(sister-chromatid exchange, SCE)和细胞周期动力学方面的检测,除 0.5 mg 以外的剂量组中均观察到了鸡胚 SCE 率升高及细胞周期减慢,提示 2,4-D 对鸡胚具有一定的遗传毒性,其最低可观测效应浓度(lowest observed effect concentration, LOEC)为 1 $\text{mg}\cdot\text{胚胎}^{-1}$,远超过推荐田间施用量。靳生等^[18]测得阿特拉津对雏鸡的 LD₅₀ 为 451 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体质量,并以 LD₅₀ 的 1/20、1/15 和 1/10 设置剂量组,通过微核试验发现阿特拉津对雏鸡具有致突变作用,可诱导雏鸡骨髓嗜多染红细胞微核率升高,呈剂量依赖性,LOEC 为 22.55 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体质量。

de la Casa-Resino 等^[19]在第 0、5 和 10 天以阿特拉津染毒雌性欧洲鹌鹑(*Coturnix coturnix coturnix*),剂量为 25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,并在第 15、30 和

45 天取样,在第 30 天时 2 种剂量下均可引起肝脏 ER α 表达上调,血浆雌二醇水平升高;100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量下可引起血清 VTG 浓度升高,低于美国环境保护局给出的未观察到有害作用浓度(no observed adverse effect concentration, NOAEC)225 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体质量,提示阿特拉津具有雌激素作用,可干扰雌性鹌鹑 HPG 轴的激素调节。Soni 等^[20]通过静脉注射染毒日本鹌鹑(*Coturnix coturnix japonica*)1 周,剂量为 10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 体质量,发现百草枯可作用于光感受器和 HPG 轴,使视紫红质、黑视蛋白、类固醇、雄激素受体(androgen receptor, AR)和促性腺激素释放激素-I(gonadotropin-releasing hormone-I, GnRH-I)表达下调,而使褪黑素受体(MEL-1A-R、MEL1BR、MEL1CR)和促性腺激素抑制激素(gonadotropin-inhibitory hormone, GnIH)表达上调,从而影响日本鹌鹑的生殖功能。李薇^[21]的研究显示,阿特拉津及其细胞代谢产物二氨基氯三嗪(diaminochlorotriazine, DACT)可抑制鹌鹑卵巢颗粒细胞活性,诱发氧化应激,诱导性激素合成相关蛋白及 cAMP 表达上调,从而引起卵巢颗粒细胞内分泌紊乱,阿特拉津的半数抑制浓度(IC₅₀)为(261.20 $\pm$ 1.88) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, DACT 的 IC₅₀ 为(214.17 $\pm$ 2.98) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2 两栖动物与爬行动物 (Amphibians and reptiles)

2.1 两栖动物

随着农业生产中除草剂的应用,以水稻田生态系统为栖息地的两栖动物染毒的隐患逐渐增大。Lajmanovich 等^[22]研究了草甘膦、甲磺隆、双草醚和氨基吡啶酸 4 种除草剂对蟾蜍(*Rhinella arenarum*)蝌蚪的遗传毒性,4 种除草剂均可抑制蝌蚪体内乙酰胆碱酯酶(acetyl cholinesterase, AChE)活性;除草甘膦外,甲磺隆、双草醚和氨基吡啶酸可引起蝌蚪核异常率升高。

镇海林蛙(*Rana zhenhaiensis*)、黑眶蟾蜍(*Bufo melanostictus*)和泽陆蛙(*Fejervarya multistriata*)是我国南方稻田常见蛙类,以 0.2、0.4、1.0 和 1.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 剂量的丁草胺处理镇海林蛙的蝌蚪,以 0.2、0.4、0.6 和 0.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 剂量的丁草胺处理黑眶蟾蜍和泽陆蛙的蝌蚪,染毒第 1、2、3 和 4 天收集蝌蚪血细胞。微核试验结果表明,随染毒时间增加,各剂量组蝌蚪红细胞的微核率及核异常率逐渐升高,第 3 天达峰值,第 4 天降至对照水平,0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 0.4 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的剂量下微核率及核异常率的升高不具有统计学意义。

SCGE 检测结果显示, $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 丁草胺即可引起 3 种蝌蚪的 DNA 损伤, 随浓度升高 DNA 损伤水平升高^[23]。叶圣涛^[24]以泽陆蛙和黑斑侧褶蛙(*Pelophylax nigromaculata*)为对象, 以 0.025 、 0.05 、 0.1 和 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 终浓度的乙草胺和丁草胺处理其血液, SCGE 检测结果显示, $0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙草胺和丁草胺即可引起红细胞 DNA 损伤, 损伤水平呈剂量依赖性; 以 2 、 8 和 $32 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 终浓度的乙草胺和丁草胺染毒个体, 微核试验结果显示, $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 丁草胺即可引起泽陆蛙红细胞微核率升高, 不同剂量组间无差异; 各剂量组乙草胺均不引起泽陆蛙红细胞微核率变化。 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙草胺或丁草胺即可诱导黑斑侧褶蛙的红细胞微核率升高, 表现出剂量效应关系。Liu 等^[25]发现, 丁草胺在环境浓度下对泽陆蛙蝌蚪的生存、发育及变态过程存在不利影响, 其 96 h-LC_{50} 为 $0.87 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 远低于稻田推荐施用量 $4.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 以 0.2 、 0.4 和 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的丁草胺染毒泽陆蛙蝌蚪 35 d, SCGE 检测结果显示 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组蝌蚪红细胞出现 DNA 单链断裂等 DNA 损伤。恶唑禾草酸(fenoxaprop acid, FA)和 6-氯苯并恶唑酮(6-chloro-2-benzoxazolone, CDHB)是恶唑禾草灵的 2 种主要代谢产物。Jing 等^[26]通过经口和经皮的途径给予青蛙恶唑禾草灵, 经口染毒后在其体内未检出恶唑禾草灵, 但在肝脏、肾脏、大脑、卵、皮肤、肌肉和血液组织中可检出 FA; 经皮染毒后在体内检测不到恶唑禾草灵及代谢产物。仅 CDHB 具有明显的急性毒性, 96 h-LC_{50} 为 $30.4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。蝌蚪外周血红细胞微核试验结果显示, 仅在最高剂量组($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)中, CDHB 以及 FA 的 S-异构体和 R-异构体均表现出了遗传毒性, 染毒 96 h 后微核率分别为对照组的 1.7 倍、2.4 倍和 2.8 倍。

阿特拉津作为一种内分泌干扰物, 对两栖类动物的生殖存在不利影响, 在欧洲一些国家已逐渐被其他除草剂所取代。阿特拉津可上调或下调非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)环状 RNA(circRNA)以及长链非编码 RNA(lncRNA)的表达, 受阿特拉津影响的 RNA 主要涉及 19 条通路^[27-28], 这些信号通路与 NOD 样受体、紧密连接、过氧化物酶体增殖物激活受体、黏附连接、甘油磷脂代谢和脂肪酸生物合成有关。m6A 修饰与 mRNA 丰度呈正相关, 提示 m6A 可能与两栖类睾丸发育有关^[29]; Hayes 等^[30]通过 $2.5 \times 10^{-3} \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿特拉津乙醇溶液处理 40 只雄性爪蟾, 染毒期包括了爪蟾幼体期及变态后 3 a。方差分

析显示, 与溶剂对照组相比, 阿特拉津可诱导雄性爪蟾的雌性化, 引起睾酮水平降低, 生殖腺萎缩, 精子生成减少, 交配行为抑制及生育能力下降。染毒组中 10% 的雄性爪蟾具有雄性基因和雌性功能, 可与未暴露组的雄性交配产生可存活的卵。这一剂量水平远低于美国中西部降水中检测出的水平($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。模拟环境中阿特拉津的浓度, 以 0 、 0.1 、 1 和 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的剂量对繁殖期的成年蟋蟀蛙(*Acris blanchardi*)进行染毒, 发现 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组中雄性个体比对照组分别少 51% 和 55%, 即阿特拉津可引起蟋蟀蛙的性别比例失衡, 使正常族群中偏向男性的性别比转为偏向女性, 但未发现睾丸卵等性腺结构异常情况, 染毒组繁殖率及产蝌蚪数量与对照组无显著差异^[31-32]。Gonçalves 等^[33]以 2.25 、 4.5 、 9 和 $18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的阿特拉津对金色小树蛙(*Dendropsophus minutus*)染毒 96 h, 并观察不同发育阶段的遗传毒性。SCGE 检测结果显示, 各剂量组在前变态期(Gosner 发育阶段 25 ~ 33 期)及变态后期(Gosner 发育阶段 42 ~ 43 期)均出现了 DNA 损伤, 呈剂量依赖性。 $18 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量的阿特拉津可诱导变态期(Gosner 发育阶段 36 ~ 39 期)的 DNA 损伤, 但无剂量反应关系。微核试验结果显示, 各发育阶段均出现微核率的升高, 与 DNA 损伤程度呈正相关。

2.2 爬行动物

爬行动物不仅在陆地生态系统中广泛分布, 龟科和鳄科爬行动物也存在于水生生态系统中。一些除草剂可干扰爬行动物的内分泌系统, Vonier 等^[34]针对美洲短吻鳄(*Alligator mississippiensis*)的研究显示, 甲草胺及阿特拉津可与 17β -雌二醇竞争 $\text{ER}\alpha$, 从而抑制雌二醇与受体的结合, IC_{50} 分别为 $20.7 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $27.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。Bicho 等^[35]以葡萄牙西北部玉米田中捕获的 37 只雄性蜥蜴(*Podarcis bocagei*)为对象, 以协方差分析(overview of analysis of covariance, ANCOVA)法分析实验数据, 发现与甲草胺非暴露区域的蜥蜴相比, 甲草胺暴露区域蜥蜴的甲状腺激素受体表达上调, 甲状腺滤泡面积增大(ANCOVA: $F=6.9$, $P=0.02$); 睾丸生精小管直径有所增大(ANCOVA: $F=4.5$, $P=0.04$), 生精细胞层数显著减小(ANCOVA: $F=9.1$, $P=0.005$)。

也有研究利用爬行动物的卵进行遗传毒性试验。Schaumburg 等^[36]以 50 、 100 、 200 、 400 、 800 和 $1600 \mu\text{g} \cdot \text{卵}^{-1}$ 剂量的草甘膦染毒阿根廷黑盲泰加蜥

(*Salvator merianca*)的卵,未观察到致畸作用。各剂量组的微核率及核异常率与对照组相比无显著差异,剂量高于 $100 \mu\text{g} \cdot \text{卵}^{-1}$ 时 DNA 损伤作用显著增加。Burrella 等^[37]利用草甘膦染毒宽吻凯门鳄(*Caiman latirostris*)的卵。宽吻凯门鳄卵的孵化期可分为3个阶段,每个阶段约23 d,各阶段染毒剂量分别为750、1 250和1 750 $\mu\text{g} \cdot \text{卵}^{-1}$,与对照组相比,微核率及核异常率无显著变化,SCGE 检测结果显示750 $\mu\text{g} \cdot \text{卵}^{-1}$ 浓度下即出现DNA损伤,各剂量组与对照组间差异具有统计学意义,而各暴露阶段间无显著性差异。

3 节肢动物与软体动物 (Arthropoda and mollusks)

3.1 节肢动物

溞是水体食物链中关键的一环,而除草剂对溞的生殖存在不利影响。草甘膦对大型溞(*Daphnia magna*)的毒性为低毒,其48 h-LC₅₀为151.057 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。21 d慢性毒性试验结果显示,草甘膦可使大型溞产幼溞的胎数以及数量减少,21 d-LOEC为3.125 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,无可观测效应浓度(no observed effect concentration, NOEC)为1.56 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$;25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量下首次产幼溞时间延后^[38];草甘膦和氰氟草酯对隆线溞(*Daphnia carinata*)的24 h-LC₅₀分别为66.58 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和63.15 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,以LC₅₀的1/20和1/10设立剂量组进行染毒,3.33 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 草甘膦及3.16 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 氰氟草酯即可引起隆线溞初产龄延后,雄溞百分率增加,幼溞死亡率及母溞产后死亡率升高^[39]。

蟹类常被用于评价污染物对水生生态系统影响。Canosa 等^[40]通过体内实验发现,1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量的草甘膦染毒30 d可使颗粒新厚蟹(*Neohelice granulata*)体质量增量、肌肉蛋白质水平降低,并通过干扰雄激素的分泌和转导而抑制精子发生,导致输卵管的精包中精子数显著减少,精包的异常率升高。体外实验中,输精管与雄激素腺共孵育时,后者可使精子及精包数量增加,而在加入1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 草甘膦后这一趋势完全逆转。

中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)是一种在我国分布广泛的淡水蟹类,也是我国研究者选用较多的模式生物。王海玲^[41]以0.001、0.01、0.1和1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量的阿特拉津染毒中华绒螯蟹,结果显示,0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿特拉津可诱导中华绒螯蟹的精子组蛋白H3及H4表达上调,H3K79甲基转移酶基因*edot11-1*和*edot11-2*表达下调,以及乳酸脱氢酶(lactate dehy-

drogenase, LDH)和酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)活性升高;0.001 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组中即观察到DNA受损的精子,其占比随着剂量升高而增加。朱杰^[42]以0.001、0.01、0.1和1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量的阿特拉津染毒中华绒螯蟹,SCGE 检测结果显示0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组出现DNA条带弥散;经TUNEL检测发现1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组中DNA损伤程度高于对照;免疫荧光检测结果显示,各剂量组生精细胞中出现 γ -H2AX蛋白,呈剂量依赖性;经流式细胞仪检测发现,与对照组相比,1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组的活细胞比例下降58.47%,死细胞比例升高27.30%,即阿特拉津对中华绒螯蟹生精细胞具有毒性作用。刘欢^[43]同样采用了0.001、0.01、0.1和1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的剂量设计,但未观察到阿特拉津对中华绒螯蟹生精细胞的毒性作用,0.001 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿特拉津即可破坏精子染色质超微结构,导致形态异常,呈剂量依赖性。穆淑梅^[44]发现,阿特拉津对中华绒螯蟹的96 h-LC₅₀为>181 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,以0.001、0.01、0.1和1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的剂量染毒1岁龄中华绒螯蟹90 d,0.001 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组中,卵巢中可观察到闭锁卵母细胞;雄性血清睾酮水平下降,雌性血清中雌二醇及孕酮水平上升,随剂量升高而程度加剧;0.01 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组雌性血清中孕酮水平下降;0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组中精子顶体反应率受抑制,随作用时间延长程度加剧;SCGE 检测未观察到精子核DNA损伤。

此外,阿特拉津对雌性日本沼虾的24 h、48 h、72 h和96 h-LC₅₀分别为134.23、90.24、52.57和46.36 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,安全质量浓度(safe concentration, SC)为4.64 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,32.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量下卵母细胞出现细胞间隙增大及胞体变性,程度随剂量增大而加剧;阿特拉津对日本沼虾卵巢LDH具有毒物兴奋效应,在低于0.46 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量下可诱导提高LDH活性,而高于0.46 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时显著抑制LDH活性并表现出剂量效应关系^[45]。

3.2 软体动物

Druart 等^[46]测定了施用Bypass[®]和Reglone[®]-Agral[®](R-A)混合物后土壤的预测环境浓度,其中,草甘膦、敌草快和壬基酚的含量分别为3、1.3和0.6 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (土壤)。在该土壤环境以及对照土壤环境下饲养陆生蜗牛(*Cantareus aspersus*)并对蜗牛进行全生命周期(240 d)生物实验,方差分析实验数据,结果显示,R-A混合物和草甘膦均可促进蜗牛生长,抑制蜗牛繁殖。机制研究表明,R-A混合物可导致雄

性蜗牛生殖器外翻,大幅减少交配次数,并延迟雌性蜗牛产卵期 20 d;草甘膦可阻碍外环境中蜗牛卵的受精过程,导致生育率的降低。Wilson 等^[47]利用吡草酮(浓度为 $1.2 \sim 60 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)染毒水生蜗牛(*Isidorella newcombi*)24 h,并在之后的 21 d 内监测产卵量和粪便量,发现各剂量组的蜗牛产卵量和粪便量均较对照组有所下降,但差异无统计学意义。Baurand 等^[48]的研究显示,草甘膦对陆生蜗牛胚胎孵化的半数效应浓度(EC_{50})为 $29.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。通过随机扩增多态 DNA(PARD)和高分辨率毛细管电泳系统(HRS)检测了陆生蜗牛胚胎的基因,30 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 草甘膦染毒的胚胎中观察到了谱带的消失及新扩增产物的出现,提示胚胎出现了 DNA 损伤和寡核苷酸启动位点的变化,该剂量远低于推荐葡萄园田间施用量(5 140 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。

Mai 等^[49]以法国西南部阿卡洪湾的太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)为对象,以 0.01、0.1、1 和 10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的异丙甲草胺染毒 24 h,以海水为对照,DNA 损伤本底值为 $(9.56 \pm 0.59)\%$,非畸胎率为 $(79.03 \pm 2.6)\%$,0.01 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量组中,幼体的畸形率及 DNA 单链断裂率即显著高于对照,并随剂量增大而升高,10 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时分别达到 47.4% 和 18.3%,且二者存在正相关关系($r^2 = 0.71$);精异丙甲草胺(S-metolachlor)及其代谢产物异丙甲草胺乙烷磺酸(metolachlor ethane sulfonic acid, MESA)和异丙甲草胺苯甲酸(metolachlor oxanilic acid, MOA)染毒 24 h 后,0.01 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的精异丙甲草胺及 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MESA 和 MOA 可引起太平洋牡蛎幼体畸形率及 DNA 损伤率升高,代谢产物的胚胎毒性和遗传毒性较原药弱;0.01 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的精异丙甲草胺、0.01 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MOA 及 1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MOA 可引起雄性牡蛎的精子损伤,其机制与异丙甲草胺和 MESA 引起氧化应激反应相关蛋白(线粒体 SOD 和 CAT)基因转录水平的变化有关^[50]。Mantecca 等^[51]发现百草枯对斑马贻贝(*Dreissena polymorpha*)具有细胞毒性和遗传毒性,以 0.125、0.25 和 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的百草枯染毒斑马贻贝,0.25 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量下可观察到睾丸细胞空泡化、细胞溶解及生发上皮变薄等组织病理学变化,微核试验结果显示,贻贝红细胞的微核自发率为 2.75% ~ 0.425%,而染毒组的微核率升高,为 3.5% ~ 1.25%。

4 环节动物与线虫(Annelida and nematoda)

4.1 环节动物

蚯蚓在土壤生态系统中的生物量占比最大,具

有位于食物链底端以及对于毒物敏感的特点,适合作为检测土壤污染的指示生物^[52]。除草剂可通过皮肤及消化系统进入蚯蚓体内。Li 等^[53]的研究显示,10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的硝磺草酮可诱导赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*)体内的氧化应激,SOD、CAT 及过氧化物酶(peroxidase, POD)的活性降低,MDA 含量显著增加;SCGE 检测结果显示 10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的硝磺草酮可引起赤子爱胜蚓的 DNA 损伤,程度随时间和剂量增加而加剧。Hackenberger 等^[54]研究了草甘膦、环磺酮和烟嘧磺隆对蚯蚓(*Dendrobaena veneta*)的影响。草甘膦、环磺酮和烟嘧磺隆的环境浓度为 2 160、66 和 30 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土壤干重,剂量设置为环境浓度、1/10 环境浓度及 1/100 环境浓度。试验观察到了 3 种除草剂对蚯蚓体内氧化应激状态的影响。环境浓度下的草甘膦在染毒 7 d 时可显著增加蚯蚓 AChE 活性;环境浓度下烟嘧磺隆对 AChE 活性无影响,而在较低的剂量(1/10 环境浓度)下染毒 28 d 可显著增加 AChE 活性;6.6 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 66 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量的环磺酮染毒 7 d 可诱导蚯蚓的氧化应激和神经毒性,染毒 28 d 时 66 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组 AChE 活性恢复至对照水平,而 6.6 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组保持不变。暴露 28 d 后,烟嘧磺隆 3 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 30 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量组中蚯蚓的繁殖量显著高于对照组;暴露 56 d 后,3 种除草剂各剂量组中未孵化茧数均显著低于对照组。Muanphra 等^[55]的研究显示,草甘膦和百草枯对蚯蚓(*Pheretima peguana*)的 48 h- LC_{50} 分别为 251.45 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 和 3.9 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$,以 LC_{50} 及其 1/10、1/100、1/1 000 和 1/10 000 设立剂量组,微核试验结果显示,在 $\geq 0.25 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的草甘膦剂量组和 $\geq 39 \times 10^{-5} \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的百草枯剂量组中,蚯蚓体腔细胞的微核率、双核率及三核率总数较对照组显著升高,核异常细胞数与草甘膦或百草枯剂量的相关系数分别为 0.69 和 0.66;SCGE 检测结果显示,草甘膦无 DNA 损伤作用,而在 $\geq 39 \times 10^{-2} \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 上的百草枯剂量组中,尾部 DNA 百分比(TD%)和尾部长度的(TL)显著高于对照组,在 3.9 $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 组中,尾矩也显著增大。

4.2 线虫

秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)具有子代数多、发育过程简单以及生殖系统易于观察等特点,已在生殖毒性研究中得到广泛应用^[56]。Wang 等^[57]的研究显示,草甘膦、铜和砷对秀丽隐杆线虫的 24 h- LC_{50} 分别为 18.5、85.1 和 130.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,以 LC_{50} 的 1/1 000、1/100 和 1/10 设立剂量组,各剂量

下,草甘膦在单独应用及分别与砷或铜联合应用时均可抑制秀丽隐杆线虫的繁殖,表现出协同作用和剂量反应关系。*Pristionchus pacificus* (*P. pacificus*)线虫已作为秀丽隐杆线虫的卫星生物应用于毒理学评价中,Zhang 等^[58]的研究显示,乙草胺对秀丽隐杆线虫和 *P. pacificus* 的 24 h-LC₅₀ 及 48 h-LC₅₀ 分别为 1 296 mg·L⁻¹ 及 5 400 mg·L⁻¹、2.107 mg·L⁻¹ 及 1.264 mg·L⁻¹,据此设立乙草胺剂量为 0、2.5、5、10、20、40、80 和 160 mg·L⁻¹,乙草胺对秀丽隐杆线虫的繁殖几乎没有抑制作用;40 ~ 160 mg·L⁻¹ 剂量下 *P. pacificus* 的三代繁殖量较对照组降低。对于繁殖能力的检测,*P. pacificus* 比秀丽隐杆线虫更为敏感。

5 人体 (Human beings)

在工业生产及农业施用过程中接触除草剂的人员可能会发生职业暴露,通过分析暴露者的生物样本及暴露史资料可评价暴露与生殖遗传之间的联系。厄瓜多尔北部的农业生产者使用空中喷洒草甘膦的方式控制杂草,Paz-Y-miño 等^[59]通过 SCGE 检测了该区域内 24 名暴露者和 21 名对照者,结果显示,暴露组(彗星尾长 35.5 μm)的 DNA 损伤程度高于对照组(彗星尾长 25.94 μm)。Garaj-Vrhovac 和 Zeljezic^[60]研究了多种除草剂的混合物(阿特拉津、甲草胺、氰草津、2,4-D)在生产过程中对工人的遗传毒性作用,以 10 名暴露者和 20 名未暴露者为对象,染色体畸变分析结果显示,暴露组染色单体和染色体断裂、双着丝粒染色体、SCE 发生的频率较高;微核试验结果显示,暴露组微核率较高;SCGE 检测发现染毒组的 DNA 迁移率较高。Barrón Cuenca 等^[61]对玻利维亚农业人群的调查显示,暴露于以 2,4-D 为主的农药混合物是 DNA 链断裂的危险因素(比值比 (OR)=1.99)。单精子卵胞浆显微注射(ICSI)是一种人工授精技术,Al-Hussaini 等^[62]收集了 94 对接受 ICSI 治疗的夫妇的卵泡液样本,并检测其中农药的含量,丙草胺含量与子宫内膜厚度、获卵数、受精率及早期胚胎分裂率呈负相关,提示除草剂对 ICSI 产生不利影响的可能性。

除草剂对男性生殖细胞的影响也受到了研究者的关注。Swan 等^[63]采集了美国密苏里州和明尼苏达州农业区生育年龄男性的尿液和精子,以精液参数较低男性为病例组,以精液参数在正常范围内的男性为对照组,分析比较尿样中的除草剂浓度,发现精液参数较低者尿液中甲草胺含量较高(OR=30.0),阿特拉津含量超出检出限(OR=11.3),提示除草剂与

男性精液质量降低有关。Lerda 和 Rizzi^[64]对农场中 32 名施用除草剂的男性进行研究,与正常人群相比,其弱精子症、死精症及精子畸形症水平与尿中 2,4-D 代谢物水平显著升高。随暴露时间的增加,暴露者的弱精子症和死精症的水平逐渐降低,而精子畸形症的水平仍较高。Tan 等^[65]发现 2,4-D 可降低体外人类精子的总活力、前向运动力、穿透粘性介质的能力及顶体反应速率,并可阻碍孕酮诱导的获能,阻碍作用随剂量增大而增强,即 2,4-D 的在精浆和卵泡液的积累可能增加不育的风险。孙雪照等^[66]针对农药厂男性工人的研究显示,乙草胺职业暴露对精液质量存在不利影响,与正常人群相比,职业暴露者精液量减少、精子活力减弱、精子平均路径速度(VAP)降低,精液 pH 值下降。Tomenson 等^[67]收集了美国 3 家工厂 272 名除草剂生产工人的精液样本及相关资料,分析显示禾草敌的职业暴露与工人精子水平或血清激素水平不存在相关关系,也未观察到其对生殖结局的影响。

病例对照研究可用于探索子代畸形的可疑危险因素。Uecker 等^[68]以巴西马托格罗索州一家医院 5 岁以下患儿为对象开展病例对照研究,结果显示,母亲受教育水平低(OR=8.40,95% 置信区间(CI)为 2.17 ~ 32.52)、父亲务农(OR=4.65,95% CI 为 1.03 ~ 20.98)及草甘膦等农药接触史(OR=4.15,95% CI 为 1.24 ~ 13.66)是子代畸形的危险因素。Meyer 等^[69]基于地理信息系统(geographic information system, GIS)暴露模式评估尿道下裂与施用农药之间的关系,以美国阿肯色州 354 例尿道下裂患儿为病例组,以 727 例非患儿为对照组,对妊娠 6 ~ 16 周期间受试者家庭 500 m 范围内施用农药剂量进行分类,发现孕期暴露于禾草灵与后代尿道下裂的发生呈正相关(OR=1.08,95% CI 为 1.01 ~ 1.15);而孕期暴露于甲草胺则与后代尿道下裂的发生呈负相关(OR=1.08,95% CI 为 1.01 ~ 1.15)。Arbuckle 等^[70]对加拿大安大略省农场的人群研究显示,孕前的草甘膦(OR=1.7,95% CI 为 1.0 ~ 2.9)及硫代氨基甲酸酯类除草剂(OR=1.8,95% CI 为 1.1 ~ 3.0)的暴露史是孕晚期自然流产的危险因素。Weselak 等^[71]收集了加拿大安大略省农场家庭的数据,logistic 二次回归分析结果显示,母亲孕前暴露于氰草津(OR=4.99,95% CI 为 1.63 ~ 15.27)和麦草畏(OR=2.42,95% CI 为 1.06 ~ 5.53)与男性后代出生缺陷的风险增加有关。

6 展望 (Prospects)

模式生物的定义已不再局限于遗传学和发育生物学研究中所采用的物种,随着模式生物所涵盖的范围逐渐扩大,自然界中越来越多的物种被用于毒理学研究中。除草剂的生殖和遗传毒性研究所采用的模式生物,往往也是自然界中受到除草剂影响的非靶标生物,它们在生态系统中的分布以及在食物链中的地位有所区别,接触除草剂的机会及程度也有所不同。现有的研究多是采用点评估法(point-estimate approaches),通过前期试验获得的急性毒性资料设立染毒剂量,往往不能真实反映生态系统中该生物的除草剂暴露水平,所得的结果也不能直接说明所研究的除草剂对该生物的风险。而采用假设法(hypothesis approaches)开展的试验,虽然可以直接得出该除草剂的风险,但不能获得生殖或遗传毒性的阈值。今后的生殖和遗传毒性研究设计可以考虑将急性毒性资料与环境资料相结合,试验动物既是毒理学研究中的模式生物,也是生态系统中的非靶标生物,所得的结果将具有一定的生态毒理学意义。而与生态系统中的动物相比,人类的暴露途径更为多样,在除草剂的生产及使用过程中有发生职业暴露的可能,暴露的危害可能更大,而针对人的研究时效性较差。研究者可对稻田、麦田或林场等不同除草剂应用场景中的非靶标生物予以更多关注,以这些动物为模式生物开展生殖或遗传毒性研究,其结果对于人类的生殖遗传健康有一定的参考价值。

通讯作者简介:王安(1964—),男,博士,副教授,主要研究方向为重金属肝肾毒理学。

共同通讯作者简介:杨秀鸿(1973—),女,主任医师,主要研究方向为农药的毒理学安全性评价。

参考文献 (References):

- [1] Harris K A, Dangerfield N, Woudneh M, et al. Partitioning of current-use and legacy pesticides in salmon habitat in British Columbia, Canada [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27(11): 2253-2262
- [2] Uren Webster T M, Laing L V, Florance H, et al. Effects of glyphosate and its formulation, roundup, on reproduction in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(2): 1271-1279
- [3] Armiliato N, Ammar D, Nezzi L, et al. Changes in ultrastructure and expression of steroidogenic factor-1 in ovaries of zebrafish *Danio rerio* exposed to glyphosate [J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 2014, 77(7): 405-414
- [4] Zhu L Z, Qi S Z, Cao F J, et al. Quizalofop-*P*-ethyl exposure increases estrogen axis activity in male and slightly decreases estrogen axis activity in female zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 183: 76-84
- [5] Jiang J H, Chen Y H, Yu R X, et al. Pretilachlor has the potential to induce endocrine disruption, oxidative stress, apoptosis and immunotoxicity during zebrafish embryo development [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2016, 42: 125-134
- [6] Richter C A, Papoulias D M, Whyte J J, et al. Evaluation of potential mechanisms of atrazine-induced reproductive impairment in fathead minnow (*Pimephales promelas*) and Japanese medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2016, 35(9): 2230-2238
- [7] Ahmadvand S, Farahmand H, Teimoori-Toolabi L, et al. Boule gene expression underpins the meiotic arrest in spermatogenesis in male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to DEHP and butachlor [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2016, 225: 235-241
- [8] Papoulias D M, Tillitt D E, Talykina M G, et al. Atrazine reduces reproduction in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Aquatic Toxicology*, 2014, 154: 230-239
- [9] Lopes F M, Varela Junior A S, Corcini C D, et al. Effect of glyphosate on the sperm quality of zebrafish *Danio rerio* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2014, 155: 322-326
- [10] Anbumani S, Mohankumar M N. Cytogenotoxicity assessment of monocrotophos and butachlor at single and combined chronic exposures in the fish *Catla catla* (Hamilton) [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, 22(7): 4964-4976
- [11] Adeyemi J A, da Cunha Martins-Junior A, Barbosa F Jr. Teratogenicity, genotoxicity and oxidative stress in zebrafish embryos (*Danio rerio*) co-exposed to arsenic and atrazine [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology & Pharmacology*, 2015, 172-173: 7-12
- [12] Nwani C D, Nagpure N S, Kumar R, et al. Induction of micronuclei and nuclear lesions in *Channa punctatus* following exposure to carbosulfan, glyphosate and atrazine [J]. *Drug and Chemical Toxicology*, 2014, 37(4): 370-377
- [13] Piancini L D S, Guiloski I C, de Assis H C S, et al. Mesotrione herbicide promotes biochemical changes and DNA damage in two fish species [J]. *Toxicology Reports*, 2015, 2: 1157-1163
- [14] Wang C X, Harwood J D, Zhang Q M. Oxidative stress and DNA damage in common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to the herbicide mesotrione [J]. *Chemosphere*,

- 2018, 193: 1080-1086
- [15] Ruiz de Arcaute C, Larramendy M L, Soloneski S. Genotoxicity by long-term exposure to the auxinic herbicides 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid and dicamba on *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces: Poeciliidae) [J]. Environmental Pollution, 2018, 243(Pt A): 670-678
- [16] Somers J D, Moran E T, Reinhart B S. Reproductive success of hens and cockerels originating from eggs sprayed with 2,4-D, 2,4-5-T and picloram followed by early performance of their progeny after a comparable *in ovo* exposure [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1978, 20(1): 111-119
- [17] Arias E. Cytogenetic effects of short- and long-term exposure of chick embryos to the phenoxyherbicide 2,4-D [J]. Environmental and Molecular Mutagenesis, 2007, 48(6): 462-466
- [18] 靳生, 王冠颖, 杜强, 等. 阿特拉津对雏鸡的急性毒性作用和骨髓微核率的影响[J]. 中国兽医杂志, 2013, 49(4): 72-74
- Jin S, Wang G Y, Du Q, et al. The acute toxicity of atrazine and its effect on micronuclear rate for bone marrow cells of chicks [J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2013, 49(4): 72-74 (in Chinese)
- [19] de la Casa-Resino I, Valdehita A, Soler F, et al. Endocrine disruption caused by oral administration of atrazine in European quail (*Coturnix coturnix coturnix*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology & Pharmacology, 2012, 156(3-4): 159-165
- [20] Soni R, Halder C, Chaturvedi C M. Paraquat induced impaired reproductive function and modulation of retinal and extra-retinal photoreceptors in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2019, 224: 108568
- [21] 李薇. 阿特拉津致鹌鹑卵巢颗粒细胞毒性机制的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2019: 31-53
- Li W. Study on the mechanism of atrazine-induced cytotoxicity in quail ovarian granulosa cells [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019: 31-53 (in Chinese)
- [22] Lajmanovich R C, Junges C M, Attademo A M, et al. Individual and mixture toxicity of commercial formulations containing glyphosate, metsulfuron-methyl, bispyribac-sodium, and picloram on *Rhinella arenarum* tadpoles [J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2013, 224(3): 1-13
- [23] 林玲. 丁草胺对三种无尾两栖类蝌蚪毒理学效应的研究[D]. 福州: 福建师范大学, 2010: 43-61
- Lin L. Toxic effects of butachlor on tadpoles of three anuran species [D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2010: 43-61 (in Chinese)
- [24] 叶圣涛. 几种农药对黑斑侧褶蛙和泽陆蛙的遗传毒理效应研究[D]. 金华: 浙江师范大学, 2013: 24-40
- Ye S T. Genetic toxicological effect on *Pelophylax nigromaculata* and *Fejervarya multistriata* exposed to several pesticides [D]. Jinhua: Zhejiang Normal University, 2013: 24-40 (in Chinese)
- [25] Liu W Y, Wang C Y, Wang T S, et al. Impacts of the herbicide butachlor on the larvae of a paddy field breeding frog (*Fejervarya limnocharis*) in subtropical Taiwan [J]. Ecotoxicology, 2011, 20(2): 377-384
- [26] Jing X, Yao G J, Liu D H, et al. Exposure of frogs and tadpoles to chiral herbicide fenoxaprop-ethyl [J]. Chemosphere, 2017, 186: 832-838
- [27] Sai L L, Qu B P, Zhang J, et al. Analysis of long non-coding RNA involved in atrazine-induced testicular degeneration of *Xenopus laevis* [J]. Environmental Toxicology, 2019, 34(4): 505-512
- [28] Sai L L, Li L, Hu C Y, et al. Identification of circular RNAs and their alterations involved in developing male *Xenopus laevis* chronically exposed to atrazine [J]. Chemosphere, 2018, 200: 295-301
- [29] Sai L L, Li Y, Zhang Y C, et al. Distinct m6A methylome profiles in poly(A) RNA from *Xenopus laevis* testis and that treated with atrazine [J]. Chemosphere, 2020, 245: 125631
- [30] Hayes T B, Khoury V, Narayan A, et al. Atrazine induces complete feminization and chemical castration in male African clawed frogs (*Xenopus laevis*) [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(10): 4612-4617
- [31] Hoskins T D, Boone M D. Atrazine feminizes sex ratio in Blanchard's cricket frogs (*Acris blanchardi*) at concentrations as low as 0.1 $\mu\text{g/L}$ [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2018, 37(2): 427-435
- [32] Hoskins T D, Dellapina M, Boone M D. Short-term atrazine exposure at breeding has no impact on Blanchard's cricket frog (*Acris blanchardi*) reproductive success [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2017, 36(12): 3284-3288
- [33] Gonçalves M W, Marins de Campos C B, Batista V G, et al. Genotoxic and mutagenic effects of atrazine Atanor 50 SC on *Dendropsophus minutus* Peters, 1872 (Anura: Hylidae) developmental larval stages [J]. Chemosphere, 2017, 182: 730-737
- [34] Vonier P M, Crain D A, McLachlan J A, et al. Interaction of environmental chemicals with the estrogen and proges-

- terone receptors from the oviduct of the American alligator [J]. *Environmental Health Perspectives*, 1996, 104(12): 1318-1322
- [35] Bicho R C, Amaral M J, Faustino A M, et al. Thyroid disruption in the lizard *Podarcis bocagei* exposed to a mixture of herbicides: A field study [J]. *Ecotoxicology*, 2013, 22(1): 156-165
- [36] Schaumburg L G, Siroski P A, Poletta G L, et al. Genotoxicity induced by Roundup®(glyphosate) in tegu lizard (*Salvator merianae*) embryos [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2016, 130: 71-78
- [37] Burella P M, Simoniello M F, Poletta G L. Evaluation of stage-dependent genotoxic effect of roundup®(glyphosate) on *Caiman latirostris* embryos [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2017, 72(1): 50-57
- [38] 蔡小宇, 姜锦林, 单正军, 等. 草甘膦对大型溞的急性和慢性毒性效应研究[J]. *农业环境科学学报*, 2016, 35(10): 1903-1908
Cai X Y, Jiang J L, Shan Z J, et al. Acute and chronic toxicity of glyphosate to *Daphnia magna* [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2016, 35(10): 1903-1908 (in Chinese)
- [39] 彭微, 李佳, 袁玲. 草甘膦与氟氯草酯对隆线溞的慢性生殖毒性研究[J]. *环境科学与技术*, 2019, 42(7): 57-63
Peng W, Li J, Yuan L. Chronic toxicity of glyphosate and cyhalofop-butyl to reproduction of *Daphnia carinata* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 42(7): 57-63 (in Chinese)
- [40] Canosa I S, Zanitti M, Lonné N, et al. Imbalances in the male reproductive function of the estuarine crab *Neohelice granulata*, caused by glyphosate [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 182: 109405
- [41] 王海玲. 莠去津对河蟹精子酶活性、DNA 完整性及组蛋白表达的影响[D]. 保定: 河北大学, 2015: 18-43
Wang H L. Effects on the sperm enzyme activity, DNA integrity and histone expression of *Eriocheir sinensis* by atrazine exposure [D]. Baoding: Hebei University, 2015: 18-43 (in Chinese)
- [42] 朱杰. 莠去津对中华绒螯蟹生精细胞 DNA 和减数分裂的影响[D]. 保定: 河北大学, 2018: 22-59
Zhu J. Effect of atrazine on DNA and meiosis in spermatogenic cells of *Eriocheir sinensis* [D]. Baoding: Hebei University, 2018: 22-59 (in Chinese)
- [43] 刘欢. 莠去津对中华绒螯蟹生精细胞的影响[D]. 保定: 河北大学, 2016: 19-52
Liu H. Effects on the spermatogenic cells of *Eriocheir sinensis* by atrazine exposure [D]. Baoding: Hebei University, 2016: 19-52 (in Chinese)
- [44] 穆淑梅. 莠去津对中华绒螯蟹生长发育的毒性影响[D]. 保定: 河北大学, 2011: 35-76
Mu S M. Adverse effects of atrazine on the growth and development of *Eriocheir sinensis* [D]. Baoding: Hebei University, 2011: 35-76 (in Chinese)
- [45] 张晗, 沈丹丹, 穆淑梅, 等. 莠去津对雌性日本沼虾的毒性作用[J]. *河北大学学报: 自然科学版*, 2010, 30(6): 701-705
Zhang H, Shen D D, Mu S M, et al. Toxic effect of atrazine on female *Macrobrachium nipponense* [J]. *Journal of Hebei University: Natural Science Edition*, 2010, 30(6): 701-705 (in Chinese)
- [46] Druart C, Gimbert F, Scheifler R, et al. A full life-cycle bioassay with *Cantareus aspersus* shows reproductive effects of a glyphosate-based herbicide suggesting potential endocrine disruption [J]. *Environmental Pollution*, 2017, 226: 240-249
- [47] Wilson A L, Stevens M M, Watts R J. Acute and chronic toxicity of the herbicide benzofenap (Taipan 300) to *Chironomus tepperi* Skuse (Diptera: Chironomidae) and *Isidorella newcombi* (Adams and Angas) (Gastropoda: Planorbidae) [J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2000, 38(2): 176-181
- [48] Baurand P E, Capelli N, de Vaufléury A. Genotoxicity assessment of pesticides on terrestrial snail embryos by analysis of random amplified polymorphic DNA profiles [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 298: 320-327
- [49] Mai H, Cachot J, Brune J, et al. Embryotoxic and genotoxic effects of heavy metals and pesticides on early life stages of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2012, 64(12): 2663-2670
- [50] Mai H, Gonzalez P, Pardon P, et al. Comparative responses of sperm cells and embryos of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) to exposure to metolachlor and its degradation products [J]. *Aquatic Toxicology*, 2014, 147: 48-56
- [51] Mantecchia P, Vailati G, Bacchetta R. Histological changes and micronucleus induction in the zebra mussel *Dreissena polymorpha* after paraquat exposure [J]. *Histology and Histopathology*, 2006, 21(8): 829-840
- [52] Thakuria D, Schmidt O, Finan D, et al. Gut wall bacteria of earthworms: A natural selection process [J]. *The ISME Journal*, 2010, 4(3): 357-366
- [53] Li X Y, Zhu L S, Du Z K, et al. Mesotrione-induced oxidative stress and DNA damage in earthworms (*Eisenia fetida*) [J]. *Ecological Indicators*, 2018, 95: 436-443
- [54] Hackenberger D K, Stjepanović N, Lončarić Ž, et al. Acute and subchronic effects of three herbicides on biomarkers and reproduction in earthworm *Dendrobaena veneta*

- [J]. Chemosphere, 2018, 208: 722-730
- [55] Muangphra P, Kwankua W, Gooneratne R. Genotoxic effects of glyphosate or paraquat on earthworm coelomocytes [J]. Environmental Toxicology, 2014, 29(6): 612-620
- [56] Huguier P, Manier N, Méline C, et al. Improvement of the *Caenorhabditis elegans* growth and reproduction test to assess the ecotoxicity of soils and complex matrices [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2013, 32 (9): 2100-2108
- [57] Wang Y B, Ezemaduka A N, Li Z H, et al. Joint toxicity of arsenic, copper and glyphosate on behavior, reproduction and heat shock protein response in *Caenorhabditis elegans* [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2017, 98(4): 465-471
- [58] Zhang J N, Liang W J, Wu X, et al. Toxic effects of acetochlor on mortality, reproduction and growth of *Caenorhabditis elegans* and *Pristionchus pacificus* [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2013, 90(3): 364-368
- [59] Paz-Y-miño C, Sánchez M E, Arévalo M, et al. Evaluation of DNA damage in an Ecuadorian population exposed to glyphosate [J]. Genetics and Molecular Biology, 2007, 30(2): 456-460
- [60] Garaj-Vrhovac V, Zeljezic D. Assessment of genome damage in a population of Croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay and Comet assay [J]. Journal of Applied Toxicology, 2002, 22(4): 249-255
- [61] Barrón Cuenca J, Tirado N, Barral J, et al. Increased levels of genotoxic damage in a Bolivian agricultural population exposed to mixtures of pesticides [J]. Science of the Total Environment, 2019, 695: 133942
- [62] Al-Hussaini T K, Abdelaleem A A, Elnashar I, et al. The effect of follicular fluid pesticides and polychlorinated biphenyls concentrations on intracytoplasmic sperm injection (ICSI) embryological and clinical outcome [J]. European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology, 2018, 220: 39-43
- [63] Swan S H, Kruse R L, Liu F, et al. Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure [J]. Environmental Health Perspectives, 2003, 111(12): 1478-1484
- [64] Lerda D, Rizzi R. Study of reproductive function in persons occupationally exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) [J]. Mutation Research, 1991, 262(1): 47-50
- [65] Tan Z Y, Zhou J, Chen H Y, et al. Toxic effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human sperm function *in vitro* [J]. The Journal of Toxicological Sciences, 2016, 41 (4): 543-549
- [66] 孙雪照, 谈立峰, 李燕南, 等. 职业性接触乙草胺农药对男工精液质量的影响 [J]. 中国工业医学杂志, 2006, 19(1): 1-3, 6
- Sun X Z, Tan L F, Li Y N, et al. Effects of acetochlor exposure on the semen quality of occupational workers [J]. Chinese Journal of Industrial Medicine, 2006, 19(1): 1-3, 6 (in Chinese)
- [67] Tomenson J A, Taves D R, Cockett A T, et al. An assessment of fertility in male workers exposed to molinate [J]. Journal of Occupational and Environmental Medicine, 1999, 41(9): 771-787
- [68] Ueker M E, Silva V M, Moi G P, et al. Parenteral exposure to pesticides and occurrence of congenital malformations: Hospital-based case-control study [J]. BMC Pediatrics, 2016, 16(1): 125
- [69] Meyer K J, Reif J S, Veeramachaneni D N, et al. Agricultural pesticide use and hypospadias in eastern Arkansas [J]. Environmental Health Perspectives, 2006, 114 (10): 1589-1595
- [70] Arbuckle T E, Lin Z, Mery L S. An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population [J]. Environmental Health Perspectives, 2001, 109(8): 851-857
- [71] Weselak M, Arbuckle T E, Wigle D T, et al. Pre- and post-conception pesticide exposure and the risk of birth defects in an Ontario farm population [J]. Reproductive Toxicology, 2008, 25(4): 472-480 ◆