

五種農藥對大鼠子代外觀與骨骼之影響

* 呂水淵 王順成

臺灣省農業藥物毒物試驗所應用毒理系 臺中縣霧峰鄉

The effect of five pesticides on external and skeletal changes of fetuses in rats

* Shui-Yuan LU and Shun-Cheng WANG

Department of Applied Toxicology, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Taiwan 431, ROC

抽印自中華民國獸醫學會雜誌第22卷第6期
中華民國85年12月

Reprinted from Journal of the Chinese Society of Veterinary Science

Taipei, Taiwan, ROC

Vol. 22 No. 6, December 1996

五種農藥對大鼠子代外觀與骨骼之影響

*呂水淵 王順成

臺灣省農業藥物毒物試驗所應用毒理系 臺中縣霧峰鄉

摘要 以免賴得 (benomyl)、貝芬替 (carbendazim)、三苯醋錫 (TPTA)、大滅松 (dimethoate)、甲基多保淨 (topsin-M) 等五種本省常用農藥為供試藥劑，以胃管法投予雌鼠後，探討其可能造成子鼠外觀及其骨骼之影響。試驗結果顯示，免賴得與貝芬替兩藥劑對大鼠子代不僅造成外觀畸形 (external malformation)，亦造成其細部骨骼異常，其比率與劑量分別呈負與正相關反應。三苯醋錫、大滅松及甲基多保淨各藥劑對子鼠外觀與其細部骨骼均無影響。免賴得與貝芬替外觀畸形分別為露腦、裂腹與露腦、頭狀鼻、無尾、尾巴彎曲、全身浮腫、無嘴及死亡等；而二藥劑細部骨骼異常主要為頸椎數少於 7、分叉弓之頸椎、多餘骨化頸椎、頸椎或頸椎中心融合、頸椎或頸椎中心發育不全、頸椎形態變異、肋骨少於 13、第 13 肋過小、二肋骨融合、啞鈴狀之胸腰椎中心、浮肋及肋骨形狀變異。[*呂水淵、王順成。五種農藥對大鼠子代外觀與骨骼之影響。中華獸醫誌 22(6): 402-412, 1996. *聯絡人 TEL: 04-330 2101 轉 505, FAX: 04-332 3073]

關鍵詞：農藥，大鼠，外觀畸形，細部骨骼異常

緒言

免賴得、貝芬替、甲基多保淨、大滅松及三苯醋錫等五種農藥均為 1970 年間發展之舊農藥，唯屬目前本省仍廣泛使用於田間之殺菌劑、殺蟲劑及殺螺劑，往昔研究已知免賴得與貝芬替可造成子鼠外觀畸形 [1, 2, 3, 4, 5, 6]，如露腦與裂腹畸形，至於其致胚胎畸形機制尚不清楚，許多研究以生體內 (in vivo) 與生體外 (in vitro) 方式共同進行探討，以瞭解其機制。生體內致畸胎試驗為傳統研究方式，評估項目包括供試動物子代外觀畸形、內臟與骨骼異常等。其畸形評估標準分為嚴重畸形 (malformation)、輕微畸形 (anomaly) 與骨骼異常 (variation) 3 種，其定義列於方法中。國內有關農藥對動物畸形性之探討 [1, 2]，往昔均著重於外觀畸形變化，細部骨骼異常雖不致危及仔鼠生命，但其對生理現象有一定影響，對藥劑安全評估

自不可忽視。為使國內藥劑之致畸胎安全評估系統完整化，本試驗探討免賴得、貝芬替、三苯醋錫、大滅松及甲基多保淨等供試藥劑所造成之子鼠外觀畸形與細部骨骼異常間之關係，希冀能建立初步系統化致畸胎性之安全評估系統，以為日後安全評估致畸胎性之參考。

材料與方法

供試藥劑 免賴得 (Benomyl) 95% 原體。

貝芬替 (Carbendazim) 99% 原體。

三苯醋錫 (TPTA) 94% 原體。

大滅松 (Dimethoate) 96% 原體。

甲基多保淨 (Topsin-M) 95% 原體。

均由本國農藥公司提供。

溶劑 聚乙烯甘醇 (polyethylene glycol 200, PEG 200) 購自臺灣默克公司。

供試動物 Wistar 品系大鼠 (*Rattus norvegicus*)，購自行政院國科會實驗動物中心 SPF 動物房之 4 週齡雌、雄大鼠 (雌，70 ± 8 g；雄，80 ± 10 g) 於本系 SPF 動物房飼養至 10 週齡 (雌，255 ± 16 g；雄，326 ± 24 g)，再進行相關試驗。

動物房環境 飼育室為本所 SPF 動物房，溫度 22 ± 2°C，光照 12 小時，飼料為粒狀 (Purina Laboratory Chow[®]，No. 5001, U.S.A.)，飲水任食。

方法

藥劑配製、投予及解剖 將免賴得、貝芬替、三苯醋錫、大減松及甲基多保淨等 5 種藥劑分別溶於聚乙二醇中，試藥劑量配製以雌鼠懷孕第 15 天時之平均體重為基準，配製量為 1 mL。對照組僅投予等量聚乙二醇。各藥劑試驗劑量為：免賴得：50、100、200、300、400、500 mg/kg/day，貝芬替：40、50、60、70、80、90 mg/kg/day，三苯醋錫：6、7、8、9 mg/kg/day，大減松：35、38、41、44、47 mg/kg/day，甲基多保淨：600、800、1000 mg/kg/day，大鼠於 10 週齡開始配種，每個聚碳酸鹽 (polycarbonate, Clear[®]，Japan) 籠子 (長 265 mm × 寬 425 mm × 高 200 mm) 置雌、雄鼠各 2 隻，背部塗抹苦味酸 (picric acid) 作為標記，定時檢視陰道，膻栓 (vaginal plug) 出現，視為懷孕第 0 天，雌鼠依其體重逢機分配至各處理組。除免賴得外，其餘 4 組均於懷孕第 6 至 15 天為藥劑投予期，以胃管方式投予，懷孕第 20 天時解剖，免賴得則於懷孕第 7 至 16 天投予，第 21 天解剖。解剖後，取出子宮稱重、計算黃體數、重吸收數、著床數、檢視活與死胎數、胎仔體重、畸胎數及畸胎種類 [1, 2, 3, 4, 5, 6]。

透明鼠之製作 製作過程源自 Kawamura 等 (1990) 及 Kimmel 等 (1981) 所發表之方法，本試驗另增加 2% KOH 144 小時、25%

glycerol 溶於 2% KOH 48 小時、50% glycerol 溶於 2% KOH 48 小時、80% glycerol 溶於 2% KOH 48 小時等處理步驟。首先將自子宮取出之半窩子鼠保存於 10% 福馬林溶液，於進行透明鼠製作前，再將此半窩子鼠保存於 70% 酒精固定至少一天，供檢視細部骨骼用。經過 70% 酒精固定 24 小時或以上之子鼠即可進行透明鼠製作，其流程為：2% KOH 15 小時 → 0.005% Alizarin 溶於 1% KOH 5 小時 → 25% glycerol 溶於 1% KOH 30 小時 → 50% glycerol 溶於 1% KOH 45 小時 → 2% KOH 144 小時 → 25% glycerol 溶於 2% KOH 48 小時 → 50% glycerol 溶於 2% KOH 48 小時 → 80% glycerol 溶於 2% KOH 48 小時 → 最後以 100% glycerol 保存於閃爍計數瓶中 [7, 8]。利用 Varistain 24-T (Shandon Inc., Pittsburgh, Pennsylvania) 自動染色機，可自動完成透明鼠製作工作。

外觀或內部骨骼異常等級分類 嚴重畸形 (Malformation)：子鼠骨骼結構永久性改變，而此種改變危及子鼠生長與生存，症狀為無頭 (acephaly)、無腦 (anencephaly)、露腦 (exencephaly)、腦積水 (hydrocephalus)、小腦 (microcephaly)、裂顎 (cleft palate)。輕微畸形 (Anomaly)：輕至中等程度之永久性可復原之骨骼結構變化，而此種改變不致影響子鼠生存，症狀為多餘之第 14 肋骨骨化 (supernumary ossification center of 14th rib)、兩肋骨融合 (fusion of the basis of two ribs)、腎盂擴張 (dilatation of renal pelvis)、橫隔膜赫尼亞 (herniation of diaphragm)、組織或器官囊腫 (cyst)、血腫 (haematoma)。骨骼異常 (Variation)：暫時性骨骼結構變化，此一改變不致傷害子鼠生命，且此異常經常出現於對照組，症狀為骨骼骨化不完全或骨化缺失 [9]。

統計方法 子代外觀畸形與內部骨骼異常各項觀測值以百分率表示，以卡方分佈 (χ^2 distribution) 檢定各觀測值之顯著性 [10]。

結果

藥劑對大鼠子代外觀之影響 解剖懷孕第 20 天 (免賴得為 21 天) 雌鼠並檢視整窩子鼠外觀, 各藥劑試驗劑量 (雌鼠處理隻數) 為: 免賴得: 0 (6 隻)、50 (5 隻)、100 (6 隻)、200 (7 隻)、300 (7 隻)、400 (6 隻)、500 (6 隻) mg/kg/day, 貝芬替: 0、40、50、60、70、80、90 mg/kg/day (均為 10 隻), 三苯醋錫: 0、6、7、8、9 mg/kg/day (均為 10 隻), 大滅松: 0、35、38、41、44、47 mg/kg/day (均為 10 隻), 甲基多保淨: 0、600、800、1000 mg/kg/day (均為 10 隻), 免賴得與貝芬替隨劑量出現不同程度之外觀畸形。免賴得分別在 200、300、400、500 mg/kg/day 出現露腦與裂腹畸形 (表 1 及圖 1 之 4); 貝芬替則分別於 40、60、70、80、90 mg/kg/day 出現露腦、頭狀鼻、無尾、尾巴彎曲、全身浮腫、無嘴及死亡等畸形 (表 4 及圖 1 之 1, 2, 3)。免賴得在各試驗劑量 0、50、100、200、300、400、500 下對應畸形之平均百分率分別為 0、0、0、18、10、2、2 (表 1); 而貝芬替在各供試劑量 0、40、50、60、70、80、90 之畸形平均百分率分別為 0、5、0、4、4、20、27 (表 4)。免賴得自 200 mg/kg 起即產生露腦畸形, 其露腦

畸形程度如依嚴重程度可分成 3 級以利辨識, 即輕度 (露腦直徑小於或等於 3 mm)、中度 (露腦直徑介於 3 與 5 mm 之間) 及重度 (露腦直徑大於或等於 5 mm)。免賴得在露腦畸形上輕、中、重度比率分別為 2、7、16%; 而貝芬替在露腦畸形上, 輕、中、重度比率分別為 1、15、19%。貝芬替於 70、80、90 mg/kg 劑量具劑量-反應關係。故兩藥劑均具致畸胎性。三苯醋錫、大滅松、甲基多保淨各組及其對照組之子鼠外觀均正常, 純就子鼠外觀畸形考量, 三苯醋錫、大滅松及甲基多保淨並不具致畸胎性。

藥劑對大鼠子代細部骨骼之影響 供試藥劑處理後, 子鼠半窩經 70% 酒精固定後, 以 Varistain 24-T 製作完成之透明鼠, 於解剖顯微鏡下檢視子鼠細部骨骼。三苯醋錫、大滅松及甲基多保淨等藥劑處理之子鼠, 除極少數 (1%) 三苯醋錫處理者發生薦、尾椎發育不全 (sacral-caudal vertebrae hypoplastic) 外, 其餘子鼠細部骨骼均屬正常。反之, 免賴得與貝芬替處理之子鼠, 其細部骨骼則隨劑量出現不同程度之異常 (表 2、3、5、6)。免賴得處理之子鼠細部骨骼異常主要在頸椎及肋骨上 (圖 2 之 1, 2), 頸椎異常現象包括頸椎數少於 7、分叉弓之頸椎、多餘骨化頸椎、

表 1 免賴得誘發子鼠外觀畸形種類與頻率

畸形種類 (Malformations)	Dose (mg/kg)						
	0	50	100	200	300	400	500
子鼠受檢數 (No. examined)	36	47	81	79	68	45	50
露腦 (Exencephaly) *	0	0	0	13(16)	5(7)	1(2)	1(2)
輕度 (Mild)	0	0	0	1	1	0	0
中度 (Moderate)	0	0	0	3	1	0	1
重度 (Severe)	0	0	0	9	3	1	0
裂腹 (Gastroschisis) *	0	0	0	1(1)	2(3)	0	0
總計 (Total) *	0	0	0	14(18)	7(10)	1(2)	1(2)

測定值表示: 受影響隻數 (百分率)

頻率 (%) = 劑量處理組之外觀異常子鼠數 / 劑量處理組之受檢子鼠總數

* : 處理組與對照組差異不顯著 ($P > 0.05$)

頸椎或頸椎中心融合、頸椎或頸椎中心發育不全及頸椎形態變異等，其比率自 3 至 18% 不等 (表 2、3)；而肋骨異常包括肋骨少於 13、第 13 肋過小、二肋骨融合、啞鈴狀之胸腰椎中心、浮肋及肋骨形狀變異等，比率從 0 至 21% 不等。貝芬替產生細部骨骼異常則以發生於胸骨發育不全、肋骨異常及頸椎發育不全出現較高比率 (圖 2 之 3, 4)，其中貝芬替於頸椎與肋骨異常佔大部份，頸椎發生率從 0 至 57% 不等，而肋骨則自 14 至

59% 不等 (表 5、6)。

討論

藥劑對大鼠子代外觀之影響 試驗結果顯示，免賴得殺菌劑 (氨基甲酸鹽類) 於 200 mg/kg 劑量與貝芬替殺菌劑 (氨基甲酸鹽類) 於 40 mg/kg 劑量下可造成子代外觀畸形。三苯醋錫 (有機錫劑)、大滅松 (有機磷劑) 及甲基多保淨 (有機氮劑及雜環化合物) 3

表 2 免賴得誘發子鼠細部骨骼異常種類與頻率

畸形種類 (Malformations)	Dose (mg/kg)						
	0	50	100	200	300	400	500
子鼠受檢數 (No. examined)	18	23	40	38	33	22	24
頭顱 (Skull) *							
頭顱骨化不完 (Incomplete ossification)	0	0	0	3(8)	3(9)	2(9)	2(8)
頭顱窗門張大 (Large open anterior fontanelle)	0	0	0	2(5)	1(3)	2(9)	1(4)
頭顱骨骼裂縫 (Sutural bone)	0	0	0	1(3)	1(3)	1(5)	1(4)
頸椎 (Cervical vertebrae) *							
頸椎少於 7 (Absent < 7 arch)	0	0	0	1(3)	1(3)	1(5)	1(4)
分叉弓頸椎 (Bifurcated arches)	0	0	0	3(8)	3(9)	2(9)	2(8)
增發性頸椎骨化 (Extra ossification on an arch)	0	0	0	3(8)	3(9)	4(18)	2(21)
頸椎或頸椎中心融合 (Fused arches/centers)	0	0	0	5(13)	6(18)	3(14)	3(13)
頸椎或頸椎中心發育不全 (Hypoplastic arches/centers)	0	0	0	6(16)	5(15)	3(14)	3(13)
頸椎大小或形態變異 (Variation in shape/size)	0	0	0	3(8)	3(9)	4(18)	3(13)
胸腰椎 (Thoracic-lumbar vertebrae) *							
胸腰椎缺失 (Absent arch)	0	0	0	1(3)	1(3)	1(5)	1(4)
分叉弓之胸腰椎 (Bifurcated arches)	0	0	0	1(3)	1(3)	1(5)	1(4)
胸腰椎或胸腰椎中心融合 (Fused arches/centers)	0	0	0	2(5)	2(6)	1(5)	1(4)
薦尾椎 (Sacral-caudal vertebrae) *							
薦尾椎融合 (Fused/disorganized)	0	0	0	3(8)	4(12)	2(9)	2(8)

測定值表示：受影響隻數 (百分率)

頻率 (%) = 劑量處理組之外觀異常子鼠數 / 劑量處理組之受檢子鼠總數

*：處理組與對照組差異不顯著 ($P > 0.05$)

表 3 免賴得誘發子鼠細部骨骼異常種類與頻率 (續)

畸形種類 (Malformations)	Dose (mg/kg)						
	0	50	100	200	300	400	500
子鼠受檢數 (No. examined)	18	23	40	38	33	22	24
薦尾椎 (Sacral-caudal vertebrae) *							
薦尾椎發育不全 (Hypoplastic)	0	0	0	2(5)	3(9)	1(5)	1(4)
胸骨 (Sternal centers) *							
胸骨大於 6 (> 6)	0	0	0	0	0	0	0
胸骨小於 6 (< 6)	0	0	0	0	0	0	0
胸骨融合 (Fused)	0	0	0	0	0	0	0
胸骨發育不全 (Hypoplastic)	0	0	0	3(8)	3(9)	2(9)	2(8)
肋骨 (Ribs) *							
肋骨數少於 13 (< 13 ribs)	0	0	0	0	0	0	0
第 13 肋發育不全 (13th rib, small)	0	0	0	3(8)	3(9)	4(18)	5(21)
肋骨融合 (Fused ribs)	0	0	0	5(13)	6(18)	3(14)	3(13)
啞鈴狀之胸椎中心 (Dumbbell-shaped center)	0	0	0	6(16)	5(15)	3(14)	3(13)
浮肋或肋骨異 (Wavy and variation in shape)	0	0	0	3(8)	3(9)	4(18)	3(13)
指骨 (Phalanges) *							
骨或掌骨小於 4 (Metacarpals, < 4)	0	0	2(5)	2(6)	1(5)	1(4)	1(4)
指骨或趾骨小於 5 (Metacarpals, < 5)	0	0	0	1(3)	1(3)	1(5)	1(4)
恥骨發育不全 (Pubis hypoplastic)	0	0	0	2(5)	2(6)	1(5)	1(4)
長骨彎曲 (Short/bent long bones)	0	0	0	3(8)	4(12)	2(9)	2(8)

測定值表示：受影響隻數 (百分率)

頻率 (%) = 劑量處理組之外觀異常子鼠數 / 劑量處理組之受檢子鼠總數

* : 處理組與對照組差異不顯著 ($P > 0.05$)

種農藥於任何測試劑量下則均未有影響。就免賴得而言，本試驗於劑量 200 mg/kg 開始產生子代外觀畸形，但 Ellis 等 (1987, 1988)、Kavlock 等 (1982)、Zeman 等 (1986) 學者分別指出免賴得在 31.2、15.6、31.2 mg/kg 時即出現露腦、小眼、露腦等畸形。造成此一差異實際原因未詳。本試驗免賴得除產生露腦畸形外，在 200 與 300 mg/kg 均出現裂腹畸形，而最近本實驗室改以免賴得劑量 0、200、300、400、500、600、700、800、900、1000 mg/kg/day 從新評估其潛在致畸形性 (未發表)，結果發現劑量 200 與 300 mg/kg/day 畸形比率高，因而

推測 200-300 mg/kg 劑量應為免賴得造成大鼠子代畸形的適合劑量，此為畸胎試驗之劑量專一性 (specificity)。貝芬替於測試劑量 40、60、70、80、90 mg/kg 下出現露腦、頭狀鼻、無尾、尾巴彎曲、全身浮腫、無嘴及死亡等畸形，其中仍以露腦畸形最為普遍。就露腦或總畸形率而言，貝芬替自 70、80 至 90 mg/kg 呈劑量-反應關係，在貝芬替的預備試驗中以 50、100、200、300、400 及 500 mg/kg 等劑量進行測試，結果顯示，大於或等於 100 mg/kg 之劑量均造成胚胎死亡。Cummings 等 (1991) 利用胃管法探討貝芬替對懷孕第 1 至 8 天之雌鼠其子代畸

表 4 貝芬替誘發子鼠外觀畸形種類與頻率

畸形種類 (Malformations)	Dose (mg/kg)						
	0	40	50	60	70	80	90
子鼠受檢數 (No. examined)	131	120	114	92	95	66	75
露腦 (Exencephaly) *	0	3(3)	0	4(4)	1(1)	10(15)	14(19)
輕度 (Mild)	0	1	0	3	0	0	1
中度 (Moderate)	0	0	0	1	0	3	2
重度 (Severe)	0	2	0	0	1	7	11
頭狀鼻 (Rhinocephaly) *	0	0	0	0	0	0	1(1)
無尾 (Anury) *	0	0	0	0	0	2(3)	0
尾巴捲曲或彎曲 (Kinky tail/bent tail) *	0	0	0	0	0	0	4(5)
全身浮腫 (Edema) *	0	1(1)	0	0	3(3)	1(2)	0
無口 (Astomia) *	0	0	0	0	0	0	1(1)
死亡 (Dead) *	0	2(2)	0	0	0	0	0
總計 (Total) *	0	6(5)	0	4(4)	4(4)	13(20)	20(27)

測定值表示：受影響隻數（百分率）

頻率（%）= 劑量處理組之外觀異常子鼠數 / 劑量處理組之受檢子鼠總數

*：處理組與對照組差異不顯著（ $P > 0.05$ ）

形潛在危險性，所採用之劑量高達 100、200、400 及 600 mg/kg，其結果產生小眼、腎盂積水畸形。由於該試驗的投藥期間為懷孕第 1 至 8 天，其中只含蓋約 3 至 4 天之胚胎器官發生期（一般大鼠於懷孕第 4 至 5 天時輸卵管進入子宮著床），此種投藥方式，在懷孕第 11 天解剖的胚胎存活率及懷孕第 20 天解剖，每窩子鼠存活率之存活率在劑量 0、100、200、400、600 mg/kg 下分別為 86.7、62.0、17.7、23.3、21.0% 與 89、35、26、7、15%。此結果與本試驗之預備試驗結果（劑量 0、100、200、300、400、500 mg/kg/day，除對照組外，各處理組幾乎 100% 胚胎早期死亡。）頗為相近，顯然劑量選擇為畸胎試驗重要關鍵。致畸胎試驗中，劑量-反應關係主要受胚胎器官形成期 (organogenesis) 的影響最明顯，致畸胎之劑量-反應並非連續藥劑反應，亦即致畸胎現象之劑量-反應關係只存在於某一範圍內，尤其高劑量可引發胚胎死亡，這點是值得注意的。

藥劑對大鼠子代細部骨骼之影響 本試驗免賴得處理之子鼠細部骨骼異常主要在頸椎及肋骨上。頸椎包括頸椎數少於 7、分叉弓之頸椎、多餘骨化頸椎、頸椎或頸椎中心融合、頸椎或頸椎中心發育不全及頸椎形態變異等，其比率自 3 至 18% 不等（表 2, 3）；而肋骨異常包括肋骨少於 13、第 13 肋過小、二肋骨融合、啞鈴狀之胸腰椎中心、浮肋及肋骨形狀變異等，比率從 0 至 21% 不等。Kavlock 等 (1982) 探討免賴得對子鼠細部骨骼造成異常的項目，其中包括頭顱枕骨上部骨化程度 (supraoccipital ossification score)、胸骨數 (No. of sternbrae)、尾椎骨化數 (No. of caudal ossification)、椎骨中心異常 (subnormal centrums)、多餘肋骨 (supernumerary ribs)、浮肋 (wavy ribs)、側腦室擴張 (enlarged lateral ventricles)、腎盂擴張 (enlarged renal pelves)。其中以枕骨上骨化程度、胸骨缺失、尾椎骨化、椎骨中心異常、側腦室擴張等 4 項較為嚴重。其結果與本試驗類似。本試驗中貝芬替處理

表 5 貝芬替誘發子鼠細部骨骼異常種類與頻率

畸形種類 (Malformations)	Dose (mg/kg)						
	0	40	50	60	70	80	90
子鼠受檢數 (No. examined)	65	58	56	45	46	32	37
頭顱 (Skull) *							
頭顱骨化不完 (Incomplete ossification)	1(2)	3(5)	2(4)	3(7)	4(9)	3(10)	6(16)
頭顱窗門張大 (Large open anterior fontanelle)	0	2(3)	3(5)	3(7)	4(9)	4(13)	5(14)
頭顱骨骼裂縫 (Sutural bone)	0	2(3)	1(2)	1(2)	2(4)	3(9)	3(8)
頸椎 (Cervical vertebrae) *							
頸椎少於 7(Absent < 7 arch)	0	0	0	0	0	0	0
分叉弓頸椎 (Bifurcated arches)	0	0	0	0	0	0	0
增發性頸椎骨化 (Extra ossification on an arch)	0	5(9)	4(7)	5(11)	3(7)	6(19)	6(22)
頸椎或頸椎中心融合 (Fused arches/centers)	0	0	0	0	0	0	0
頸椎或頸椎中心發育不全 (Hypoplastic arches/centers)	0	12(21)	11(20)	14(31)	15(33)	18(56)	21(57)
頸椎大小或形態變異 (Variation in shape/size)	0	4(7)	3(5)	5(11)	3(7)	7(22)	6(16)
胸腰椎 (Thoracic-lumbar vertebrae) *							
胸腰椎缺失 (Absent arch)	0	1(2)	1(2)	2(4)	2(4)	3(9)	3(8)
分叉弓之胸腰椎 (Bifurcated arches)	0	1(2)	1(2)	1(2)	2(4)	2(6)	3(8)
胸腰椎或胸腰椎中心融合 (Fused arches/centers)	0	2(3)	1(2)	1(2)	2(4)	2(6)	3(8)
薦尾椎 (Sacral-caudal vertebrae) *							
薦尾椎融合 (Fused/disorganized)	0	5(9)	3(5)	2(4)	4(9)	4(13)	5(14)

測定值表示：受影響隻數 (百分率)

頻率 (%) = 劑量處理組之外觀異常子鼠數 / 劑量處理組之受檢子鼠總數

* : 處理組與對照組差異不顯著 ($P > 0.05$)

組在頸椎與肋骨產生異常佔大部份，其中頸椎發生率從 0 至 57% 不等，而肋骨則自 14 至 59% 不等。Cummings 等 (1991) 將貝芬替授予懷孕第 1 至 8 天雌鼠試驗結果顯示，細部骨骼異常含胸骨骨化數 (No. of ossified sternebrae)、尾椎骨化數 (No. of ossified caudal vertebrae)、前肢指骨骨化數 (No. of ossified phalanges of forelimb)、後肢指骨骨化數 (No. of ossified phalanges of hindlimb)、掌骨骨化數 (No. of ossified

metacarpals)、蹠骨骨化數 (No. of ossified metatarsals)、胸骨裂開 (split/offset sternebrae)、二裂片椎體中心 (bilobed vertebral centra)、頸肋 (cervical ribs)、坐骨缺失 (missing ischium) 及頸椎融合 (fused cervical vertebrae) 等，大致上，與本試驗結果相近。至於三苯醋錫、大減松及甲基多保淨對細部骨骼影響則除三苯醋錫處理組有極少數 (1%) 薦、尾椎發育不全外，其餘二藥劑則無作用。綜上所述，致畸性乃受藥劑

表 6 貝芬替誘發子鼠細部骨骼異常種類與頻率 (續)

畸形種類 (Malformations)	Dose (mg/kg)						
	0	40	50	60	70	80	90
子鼠受檢數 (No. examined)	65	58	56	45	46	32	37
薦尾椎 (Sacral-caudal vertebrae) *							
薦尾椎發育不全 (Hypoplastic)	0	2(3)	3(5)	1(2)	2(4)	3(9)	5(14)
胸骨 (Sternal centers) *							
胸骨大於 6 (> 6)	0	0	0	0	0	0	0
胸骨小於 6 (< 6)	0	0	0	0	0	0	0
胸骨融合 (Fused)	0	0	0	0	0	0	0
胸骨發育不全 (Hypoplastic)	0	13(22)	10(18)	15(33)	11(24)	17(53)	20(54)
肋骨 (Ribs) *							
肋骨數少於 13 (< 13 ribs)	0	8(14)	13(23)	11(24)	14(30)	17(53)	18(49)
第 13 肋發育不全 (13th rib, small)	0	15(26)	17(30)	12(27)	15(33)	19(59)	23(62)
肋骨融合 (Fused ribs)	0	12(21)	11(20)	14(31)	15(33)	18(56)	21(57)
啞鈴狀之胸椎中心 (Dumbbell-shaped center)	0	9(16)	6(11)	16(36)	12(26)	17(53)	22(59)
浮肋或肋骨異 (Wavy and variation in shape)	0	12(21)	11(20)	14(31)	15(33)	18(56)	21(57)
指骨 (Phalanges) *							
骨或掌骨小於 4 (Metacarpals, < 4)	0	5(9)	4(7)	4(9)	3(7)	3(9)	4(11)
指骨或趾骨小於 5 (Metacarpals, < 5)	0	2(3)	1(2)	1(2)	2(4)	3(9)	3(8)
恥骨發育不全 (Pubis hypoplastic)	0	2(3)	1(2)	1(2)	2(4)	3(9)	3(8)
長骨彎曲 (Short/bent long bones)	0	2(3)	1(2)	1(2)	2(4)	1(3)	1(3)

測定值表示：受影響隻數 (百分率)

頻率 (%) = 劑量處理組之外觀異常子鼠數 / 劑量處理組之受檢子鼠總數

*：處理組與對照組差異不顯著 ($P > 0.05$)

特一性、胚胎器官發生期及劑量特一性等因素影響，畸形性包括子代外觀畸形、內臟與細部骨骼異常等，而三者互為關聯。因此在從事子代外觀畸形與細部骨骼異常研究時，應特別注意上述三者之特殊性，如此才能正確評估藥劑和畸胎間之關係。

致謝 本研究承蒙農委會經費補助 [85 科技-2.4-糧-30 (10)]，始得完成，謹此致謝。

參考文獻

1 呂水淵、林宏偉、王順成。氨基甲酸鹽農藥免賴得 (Benomyl) 對大鼠胚胎畸形

性之探討。中華獸醫誌 20: 348-356, 1994

- 呂水淵、林宏偉、王順成。殺菌劑貝芬替 (Carbendazim) 對鼠致胚胎畸形性估。植保會刊 37: 331-338, 1995
- Cummings AM, Ebron-McCoy MT, Rogers JM, Barbee BD, Harris ST. Developmental effects of methyl benzimidazolecarbamate following exposure during early pregnancy. Fund Appl Toxicol 18: 288-293, 1992
- Ellis WG, Semple JL, Hoogenboom ER, Kavlock RJ, Zeman FJ. Benomyl-induced craniocerebral anomalies in

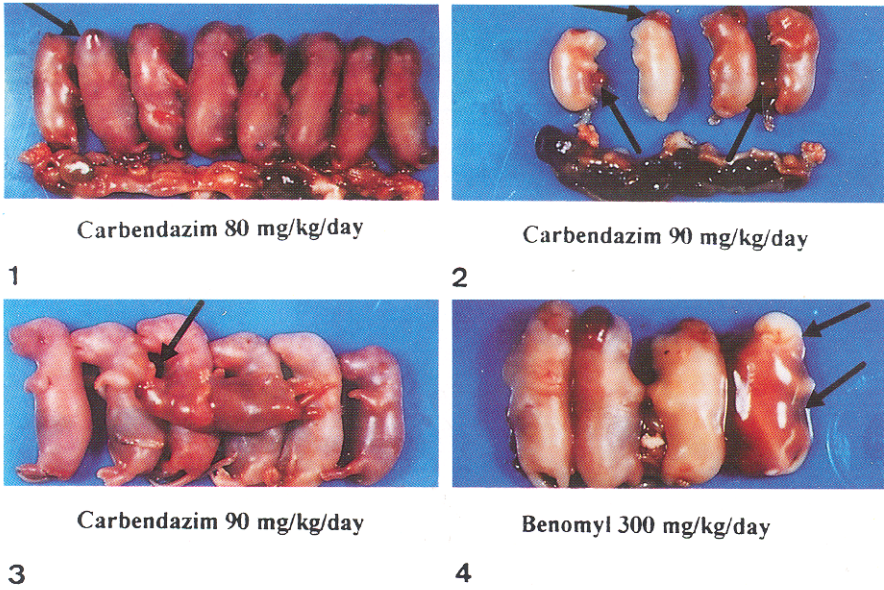


圖 1 圖中箭頭所指分別為 (1) 貝芬替 80 mg/kg 誘發露腦畸形。(2) 貝芬替 90 mg/kg 產生嚴重露腦、裂腹畸形。(3) 貝芬替 90 mg/kg 產生頭狀鼻畸形。(4) 免賴得劑量 300 mg/kg 誘發嚴重露腦及全身浮腫畸形。

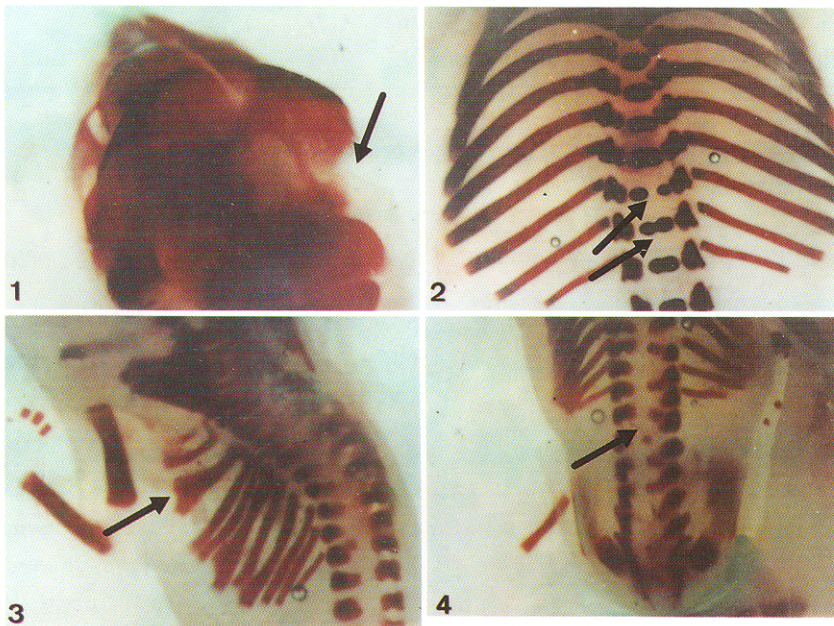


圖 2 圖中箭頭所指分別為 (1) 免賴得 200 mg/kg 誘發頭顱後窗發育不全 (posterior fontanelle hypoplastic)。(2) 免賴得 300 mg/kg 產生啞鈴狀胸腰椎中心。(3) 貝芬替劑量 80 mg/kg 產生肋骨融合。(4) 貝芬替 90 mg/kg 誘發胸腰椎中心異常 (解剖顯微鏡, 8×)。

- fetuses of adequately nourished and protein-deprived rats. *Terato Carcino Muta* 7: 357-375, 1987
- 5 Ellis WG, De Roos F, Kavlock DJ, Zeman FJ. Relationship of periventricular overgrowth to hydrocephalus in brains of fetal rats exposed to Benomyl. *Terato Carcino Muta* 8: 377-391, 1988
 - 6 Kavlock RJ, Chernoff N, Gray LE Jr, Gray JA, Whitehouse D. Teratogenic effects of Benomyl in the Wistar rat and CD-1 mouse with emphasis on the route of administration. *Toxicol Appl Pharmacol* 62: 44-54, 1982
 - 7 Kawamura S, Hirohashi A, Kato T, Yasuda M. Bone-staining technique for fetal rat specimens without skinning and removing adipose tissue. *Cong Anom* 30: 93-95, 1990
 - 8 Kimmel CA, Trammell C. A rapid procedure for routine double staining of cartilage and bone in fetal and adult animals. *Stain Technol* 56: 271-273, 1981
 - 9 Manson JM, Kang YJ. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. In: *Principles and methods of toxicology*. edited by A. W. Hayes pp. 1034. Raven Press, New York, 1994
 - 10 Steel RGD, Torrie JH. *Principles and procedures of statistics*. McGraw-Hill Book Company, New York, U.S.A., 1980
 - 11 Zeman FJ, Hoogenboom ER, Kavlock RJ, Semple JL. Effects on the fetus of maternal Benomyl exposure in the protein-deprived rat. *J Toxicol Environ Health* 34: 323-336, 1986

The effect of five pesticides on external and skeletal changes of fetuses in rats

* Shui-Yuan LU and Shun-Cheng WANG

Department of Applied Toxicology, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Taiwan 431, ROC

SUMMARY This study was conducted to evaluate the relationship between Benomyl, Carbendazim, Topsin-M, Dimethoate, and TPTA administered by gavage, and the external and skeletal changes of fetuses in rats. Results showed that Benomyl and Carbendazim could cause external malformations and skeletal malformations, anomalies, and variations, but similar changes were not found in Topsin-M, Dimethoate, and TPTA. The Carbendazim-inducing skeletal changes in rats had a dose-response relationship. The external malformations observed in Benomyl-treated fetuses induced exencephaly and gastroschisis. Exencephaly, rhinocephaly, anury, kinky or bent tail, edema, astomia, and fetal death occurred in Carbendazim-treated fetuses. The skeletal anomalies revealed in Benomyl and Carbendazim-treated rats were absence (< 7) of arch, bifurcated arches, extra ossification on an arch, fused arches/centers, hypoplastic arches/centers, variation in shapes/size, reduction in the number (< 13) of ribs, small 13th rib, fused ribs, dumbbell-shaped center, wavy and variations in shape. [*Lu SY and Wang SC. The effect of five pesticides on external and skeletal changes of fetuses in rats. *J Chin Soc Vet Sci* 22(6): 402-412, 1996. *Corresponding author TEL: 04-330 2101 ext 505, FAX: 04-332 3073]

Keywords: *Pesticides, Rats, External malformations, Skeletal anomalies*