

# 氨基甲酸鹽農藥免賴得 (Benomyl) 對大鼠胚胎畸形性之探討

\* 呂水淵 林宏偉 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

## Studies on teratogenicity of Benomyl in rats

\* Suei-Yen LU, Hong-Wei LIN, 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20卷第4期  
中華民國83年12月

Reprinted from Journal of the Chinese Society of Veterinary Science  
Taipei, Taiwan, ROC

Vol. 20 No. 4, December 1994

# 氨基甲酸鹽農藥免賴得(Benomyl)對大鼠胚胎畸形性之探討

\*呂水淵 林宏偉 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** 以氨基甲酸鹽類農藥免賴得(Benomyl)為供試藥劑,試驗劑量分別為 0、50、100、200、300、400 及 500mg/kg,除對照組外,均以聚乙烷甘醇(polyethylen glycol 200, PEG 200)為溶劑。試驗動物為 10 週齡之 Wistar 品系大鼠(*Rattus norvegicus*, Wistar strain),分別以胃管法投予,投予時間為懷孕第 7 至 16 天。結果顯示,免賴得 100 mg/kg 的處理組著床數、胎仔數較對照組高,其他劑量則沒有顯著差異。對黃體數,各處理組均沒有顯著影響;胎仔死亡數除了對照組 1 隻、500 mg/kg 2 隻及 300 mg/kg 6 隻外,其餘劑量均無死亡胎仔;對母鼠於埋植前,胚未進入子宮埋植之數目無明顯之影響,著床後的胚胎死亡或被重吸收數隨劑量增加而增加。處理組之母鼠肝臟/體重比和子鼠性比率均無顯著不同。母鼠體重之增重隨劑量增加而下降,以 500 mg/kg 最顯著。免賴得處理組子鼠的出生體重在各組均顯著( $P < 0.05$ )降低,同時造成出生子鼠外觀異常,以 200 至 500 mg/kg 產生露腦畸形(exencephaly),200 和 300 mg/kg 最嚴重。[\*呂水淵、林宏偉、王順成。免賴得(Benomyl)對大鼠胚胎畸形性之探討。中華獸醫誌 20(4) : 348-356, 1994。\*聯絡人 TEL 04-330 2101 轉 512, FAX 04-332 3073]

**關鍵詞** : 免賴得, 大鼠, 胚胎畸形性

## 緒言

免賴得是一種廣效性氨基甲酸鹽類殺菌劑,1968 年由杜邦公司開發生產,目前廣泛使用於國內外田間之病害防治, Gardiner 等 [7] 研究免賴得及其代謝產物在狗和大鼠之 2 年慢毒性餵飼試驗,利用標幟 C-14 放射性元素之免賴得配合含免賴得之飼糧(2500ppm)探討免賴得在動物體內的堆積情形,發現此等物質並不會累積於動物體內, Sherman 等 [19] 以免賴得進行大鼠連續 3 代之生殖毒性(reproductive toxicity)、致畸形性(teratogenicity)及顯性致死(dominant lethal)等試驗,其中生殖毒性試驗以 0.01、0.05、0.25 及 0.50% 免賴得餵飼大鼠,3 代生殖毒

性達 13 週,致畸形試驗自母鼠懷孕第 6 至 15 天,以 0.01、0.05、0.25 及 0.50% 免賴得餵予大鼠,而顯性致死試驗則以 0.025、0.125 及 0.25% 免賴得僅餵予 ChR-CD 大鼠(雄),雄鼠體重  $450 \pm 50g$ ,雌鼠  $280 \pm 20g$ ,雌雄共籠達 7 天,配種期間雌雄均餵予對照(0% 免賴得)飼糧。結果均無副作用產生, Kavlock 等(1982)探討懷孕母鼠(Wistar)於第 7 至 16 天時以胃管法投予以免賴得,發現在 62.5mg/kg/day 開始出現輕微畸形(椎體異常)情形 [12],而 Zeman 等(1986)也針對大鼠(Sprague-Dawley)以胃管法將免賴得投予懷孕第 7 至 16 天之母鼠以探討致畸形性,母鼠平均體重  $190 \pm 10g$ ,發現在 31.2mg/kg/day 時出現無眼畸形(ano-

phthalmia) 和小眼畸形 (microphthalmia) [22]。Ellis 等 (1987, 1988) 同樣以胃管法將免賴得投予大鼠 (Sprague-Dawley), 投予時間為母鼠懷孕第 7 至 21 天, 劑量分為 31.2、62.5 及 125.0 mg/kg/day, 母鼠平均體重  $170 \pm 10$ g, 結果顯示, 仔鼠出現露腦畸形 (exencephaly)、腦水腫 (hydrocephalus) 及腦室周圍過度增生 (periventricular overgrowth) 等胚胎畸形之現象 (5,6)。由此可知, 免賴得於適當濃度下具致胚胎畸形性。由於免賴得為十分老舊之農藥, 國內外均已開放其專利權, 因此國內外仿製 (me-too) 之產品甚多, 本研究除瞭解國內外免賴得之致胚胎畸形程度差異外, 希冀藉此建立國內致胚胎畸形性動物測試模式, 並評估早期產製農藥對胚胎是否具有安全性。本試驗重點包括母鼠之黃體數, 著床數、被重吸收數、存活胎仔數、畸形數、母鼠肝臟/體重比及畸形情形等分析項目。

## 材料與方法

**供試農藥** 免賴得 95% 原體, 由國內農藥公司提供。

**溶劑** 聚乙炔甘醇 (polyethylen glycol 200)。

**供試動物** Wistar 品系大鼠 (*Rattus norvegicus*) 購自國立成功大學動物中 SPF 動物房之 4 週齡雄、雌大鼠 (雄,  $80 \pm 10$ g; 雌,  $70 \pm 8$ g), 於本系動物房飼養至 10 週齡 (雌,  $250 \pm 18$ g; 雄,  $334 \pm 26$ g)。

**動物房環境** 溫度  $22 \pm 2$ C, 光照 12 小時, 12 小時暗, 飼料為粒狀 (Purina Laboratory chow\*, No.5001, USA.), 飲水任食。

**方法** 將免賴得溶於 100% 聚乙炔甘醇中, 試藥配製以母鼠懷孕第 7 天時開始處理鼠隻之平均體重為基準, 每隻鼠隻投予 1 mL (1 mL/270g), 往後隨每日體重增減而調整注射量, 但劑量固定。劑量為 0、50、100、200、

300、400 及 500 mg/kg, 其中對照組僅投予聚乙炔甘醇。大鼠 10 週齡, 此時雌鼠平均體重  $250 \pm 18$  g 開始配種, 每個聚碳酸鹽 (polycarbonate, clear\*, Japan) 籠子 (長 265mm × 寬 425mm × 高 200mm) 置雌、雄鼠各乙隻, 定時檢視陰道, 若出現膻栓 (vaginal plug) 時, 視為懷孕第 0 天。雌鼠依其體重逢機分配至各處理組, 懷孕第 7 天至 16 天內為藥劑投予時間。以胃管方式投予。懷孕第 21 天時以乙醚昏迷, 行帝王切開術 (cesarean section); 採血、取出子宮稱重、檢視存活胎仔數、活胎仔體重、畸形數、黃體數、被重吸收數、著床數、子鼠性別、母鼠肝重/體重比及畸形情形 [5,8,12,13,14, 17, 18,22]。

## 結果

**免賴得對母鼠生殖性狀的影響** 表 1 所列為不同劑量免賴得經由胃管法投予大鼠後, 對母鼠死亡數、膻栓檢出數、懷孕數、黃體數、著床數、活胎仔數、死胎仔數及死胎仔數中大或等於 3 胎仔之窩數等項目情形; 由表 1 結果所顯示任何劑量均無母鼠死亡產生, 膻栓數除對照組與 100 mg/kg 劑量處理組全部檢出外, 其餘劑量組均有未檢出膻栓之母鼠; 母鼠懷孕數與膻栓檢出數相符者有對照組、100、200 及 400 mg/kg 處理組, 膻栓數少於懷孕數者僅 500 mg/kg 處理組, 50 與 300 mg/kg 處理組其膻栓數較懷孕數多。各劑量對母鼠黃體數均無顯著 ( $P > 0.05$ ) 影響, 平均黃體數從  $16.5 \pm 4.2$  至  $20.4 \pm 4.3$  個/隻; 在 100 mg/kg 時的著床數 ( $15.2 \pm 1.5$  個/隻) ( $P < 0.05$ ) 高於對照組 ( $10.8 \pm 3.5$  個/隻), 其他劑量則對著床數無顯著影響 ( $P > 0.05$ ); 活胎仔數探討, 100 mg/kg 時顯著 ( $P < 0.05$ ) 高於對照組 ( $13.7 \pm 2.5$  VS  $9.0 \pm 2.9$  隻/窩), 其餘劑量則差異不顯著 ( $P > 0.05$ ); 除對照組、50 及 300 mg/kg 劑量組各有 1、2 及 6 隻胎仔於單胎中死亡外, 其他劑量均無胎仔死亡, 至於死胎大於或等於 3 隻之窩數, 除了 300 mg/kg 有 1 窩外, 其

他劑量則無此效應。表 2 所列之結果為免賴得對胚胎發育影響之結果，包括胚埋植前、後損失數(或被重吸收數)、胚被重吸收數大於或等於 3 之窩數、母鼠試驗期間增重、母鼠肝重/體重比及子鼠性比率等，在埋植前，胚損失方面，免賴得之影響不明顯。而埋植後胚胎死亡或被重吸收數方面有隨劑量增加而增加趨勢。被重吸收數大於或等於 3 之窩數，除對照組與 100 mg/kg 處理組僅 1 窩，其他劑量為 3 至 4 窩，其受劑量影響較明顯。母鼠試驗期間之增重，僅於 500 mg/kg 劑量組顯著 ( $P < 0.05$ ) 低於對照組 ( $28.9 \pm 17.2$  VS  $45.9 \pm 7.0$ g)，然其他各劑量之平均增重均較對照組為低 ( $P > 0.05$ )。母鼠肝臟/體重比與子鼠性比率，各處理組均影響不顯著 ( $P > 0.05$ )。

#### 免賴得對胎仔發育性狀之影響 免賴得對胎

仔發育性狀之影響包括胎仔死亡率、活胎重及外觀異常情形如表 3 所述；死亡率在對照組、50 及 300 mg/kg 等劑量中分別有 1、2 及 6 隻子鼠於單胎中死亡外，其它劑量均無子鼠死亡，而在子鼠體重方面，各處理劑量之子鼠出生重均顯著 ( $P < 0.05$ ) 低於對照組；子鼠外觀異常研究，本試驗出現露腦畸形與內臟異常(內臟暴露於體外)兩種畸形，內臟異常出現在 200 與 300 mg/kg 劑量中；為了區分露腦畸形之程度，將之分成三級，輕度(直徑小於或等於 3mm)、中度(直徑介於 3 與 5mm 之間)及重度(直徑大於或等於 5mm)，直徑測量方法以其最長直徑為準，輕度和中度露腦畸形在 200、300 及 500 mg/kg 出現，而重度露腦畸形則出現在 200、300 及 400 mg/kg。尤其在 200 和 300 mg/kg 出現重度露腦畸形比例高，200 mg/kg 劑量出現露腦畸形情形如圖 1 所示。

表 1 免賴得對懷孕大鼠其子鼠下生前之毒性

Observations	Dose (mg/kg/day)						
	0	50	100	200	300	400	500
Maternal							
No treated	4	6	6	8	8	8	7
No died	0	0	0	0	0	0	0
No plug checked	4	4	6	7	6	4	5
No pregnant	4	5	6	7	7	4	4
No of corpus lutea/litter <sup>c</sup>	$16.5 \pm 4.2^a$	$19.0 \pm 5.8^a$	$19.0 \pm 3.0^a$	$17.5 \pm 3.7^a$	$18.7 \pm 3.6^a$	$20.4 \pm 4.3^a$	$20.2 \pm 3.2^a$
(n)	(4)	(5)	(6)	(8)	(7)	(5)	(6)
No of implantations/litter <sup>c</sup>	$10.9 \pm 3.5^a$	$12.4 \pm 2.7^a$	$15.2 \pm 1.5^b$	$13.1 \pm 2.4^a$	$13.7 \pm 1.4^a$	$11.6 \pm 5.4^a$	$12.8 \pm 4.9^a$
(n)	(4)	(5)	(6)	(8)	(7)	(5)	(6)
No of fetuses/litter <sup>c</sup>	$9.0 \pm 2.9$	$9.4 \pm 4.0^a$	$13.7 \pm 2.5^b$	$9.9 \pm 4.7^a$	$9.7 \pm 4.9^a$	$9.0 \pm 6.3^a$	$8.3 \pm 6.8^a$
(n)	(4)	(5)	(6)	(8)	(7)	(5)	(6)
No of dead fetuses (No. of litters)	1 (1)	2 (1)	0	0	6 (1)	0	0
No of litters with ( $\geq$ ) 3 dead fetuses	0	0	0	0	1	0	0

免賴得投予時間自母鼠懷孕第 7 至 16 天

<sup>a</sup> $P > 0.05$ , 相較於對照組

<sup>b</sup> $P < 0.05$ , 相較於對照組

<sup>c</sup> 試驗平均值  $\pm$  積差 (個別母鼠數)

表 2 免賴得對母鼠生長性狀之影響

Observations	Dose (mg/kg/day)						
	0	50	100	200	300	400	500
<b>Maternal</b>							
No of pre-implantation loss (No of litters)	23 (4)	34 (4)	23 (5)	35 (8)	35 (7)	42 (5)	44 (6)
No post-implantation loss (resorptions) (No of litters)							
Early	2 (1)	9 (2)	8 (2)	11 (5)	7 (4)	4 (2)	18 (2)
Middle	1 (1)	3 (1)	0	2 (1)	6 (1)	1 (1)	0
Late	4 (1)	2 (1)	1 (1)	12 (1)	15 (2)	10 (2)	9 (3)
total	7 (3)	14 (4)	9 (2)	25 (5)	28 (6)	15 (4)	27 (4)
average No of loss/litter	2.3	3.5	4.5	5.0	4.7	3.8	6.8
No. of litters with > 3 resorptions	1	3	1	3	4	3	4
Weight gain, g	45.9 ± 7.0	34.7 ± 7.8 <sup>a</sup>	39.3	± 35.8	± 31.7	± 42.5 ± 220.5 <sup>a</sup>	28.9 ±
(n)	(4)	(5)	11.7 <sup>a</sup>	12.3 <sup>a</sup>	21.9 <sup>a</sup>	(4)	17.2 <sup>b</sup>
Liver weight/ Body weight <sup>c</sup>	0.044 ± 0.001	0.044 ± 0.006 <sup>a</sup>	0.041 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.042 ± 0.007 <sup>a</sup>	0.043 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.044 ± 0.005 <sup>a</sup>	0.042 ± 0.004 <sup>a</sup>
(n)	(4)	(5)	(6)	(7)	(7)	(4)	(4)
<b>Fetal</b>							
Sex ratio of fetus (male/ female,n)	1.1	1.2 <sup>a</sup>	1.1 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a</sup>	0.8 <sup>a</sup>	1.0 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>

免賴得投予時間自母鼠懷孕第 7 至 16 天

<sup>a</sup>P > 0.05, 相較於對照組

<sup>b</sup>P < 0.05, 相較於對照組

<sup>c</sup> 試驗平均值 ± 積差 ( 個別母鼠數 )

表 3 免賴得對子鼠存活率與體形異常之影響

Observations	Dose (mg/kg/day)						
	0	50	100	200	300	400	500
<b>Fetal</b>							
Mortality, %	0.03 (1/36)	0.04 (2/47) <sup>a</sup>	0 (0/81) <sup>a</sup>	0 (0/81) <sup>a</sup>	0.09 (6/68) <sup>a</sup>	0 (0/45) <sup>a</sup>	0 (0/50) <sup>a</sup>
Weight, g <sup>c</sup>	5.68 ± 0.66	4.99 ± 5.27	± 5.27	± 4.95	± 5.00	± 5.11	± 5.09
(n)	(36)	0.91 <sup>b</sup>	0.39 <sup>b</sup>	1.03 <sup>b</sup>	0.85 <sup>b</sup>	0.51 <sup>b</sup>	1.06 <sup>b</sup>
(n)	(36)	(47)	(81)	(79)	(68)	(45)	(50)
No. of fetus with externally congenital anomalies							
<b>Exencephaly</b>							
Mild	0	0	0	1	1	0	0
Moderate	0	0	0	3	1	0	1
Severe	0	0	0	9	3	1	0
Visceral anomalies <sup>d</sup>	0	0	0	1	2	0	0
total	0	0	0	14	7	1	1

免賴得投予時間自母鼠懷孕第 7 至 16 天

<sup>a</sup>P > 0.05, 相較於對照組

<sup>b</sup>P < 0.05, 相較於對照組

<sup>c</sup> 試驗平均值 ± 積差 ( 個別母鼠數 )

<sup>d</sup> 內臟異常乃指初生子鼠之肝臟、腸及胃等器官暴露於外

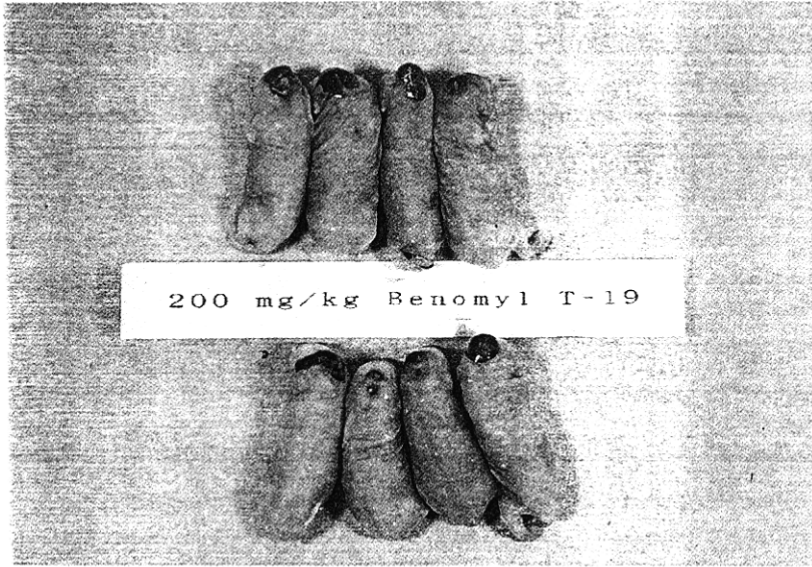


圖 1 200mg/kg 劑量出現露腦畸形

## 討論

**免賴得對母鼠生殖性狀之影響** 表 1 所列各劑量中，均未引起母鼠死亡，可知本試驗所使用之劑量屬非致死範圍；腔栓之檢查固然很方便，但仍有母鼠之腔栓很難或無法檢出，其原因可能腔栓不明顯或在陰道深處不易檢出或母鼠生殖內分泌素如雌二醇 (estradiol-17 $\beta$ , E<sub>2</sub>)、孕酮 (progesterone, P<sub>4</sub>)、泡促素 (follicular stimulating hormone, FSH) 及黃體促素 (luteinizing hormone, LH) 等失調導致乏情 (anoestrus)，有些作者檢查陰道腔栓會使用陰道抹片 (vaginal smear)，對於一些不易用肉眼自母鼠陰道中檢出之情形應有幫助，至於其他原因如雄鼠精子或性慾正常與否問題不列入考慮，因為每當某一雄鼠與母鼠相處一週仍未見腔栓時，則由另一已檢出母鼠腔栓之雄鼠取代。本試驗中未正確檢出腔栓者在 50 與 300 mg/kg 各有 1 隻，可能因內分泌素失調致未出現腔栓者在 50、200、300、400 及 500 mg/kg 各分別有 1、1、1、4 及 2 隻；腔栓檢出僅為檢驗受精與否之根據，並未確切肯定該母鼠胚之埋植與懷孕之關係，此乃因為若卵未受精或精卵未結合成胚，或胚在埋植前全部或部份死亡，或埋植

後全部或部份死亡，或埋植後發育中途死亡而被重吸收或晚期死亡成早死胎均可造成埋植失敗，或者埋植成功但並未懷孕。免賴得在各劑量中對黃體數均無顯著影響，平均數自 17.5  $\pm$  3.7 至 20.4  $\pm$  4.3 個/隻，由於黃體形成早在劑量處理前一週，故藥劑不易影響，地諾殺 (Dinoseb) 之大鼠致畸形性試驗及以 Hexachlorobenzene [12] 探討大鼠畸形之試驗即可說明，黃體存在的意義為其具有分泌孕酮 (progesterone, P<sub>4</sub>) 可協助母鼠懷孕的功能，在懷孕後黃體不再增加，因而藥劑此時對黃體形成不造成影響，至於藥劑對於已形成的黃體不具影響之真正原因目前仍不明瞭。在著床數和子鼠出生數方面，在 100 mg/kg 時均顯著高於對照組，其餘劑量與對照組差異不顯著，推測此種結果可能係個體上差異所致。Ruddick 和 Newsome (1977)、Kimmel (1977)、Kavlock 等 (1982)、Ellis 等 (1987, 1988) 及 Givavini 等 (1989) 等作者亦認為藥劑對著床數和子鼠出生數應無影響 [18,14,12,5,6,8]；死胎數方面，0 與 50 mg/kg 劑量中出現 1 與 2 隻死胎應屬個體差異造成之結果，300 mg/kg 出現單胎中 6 隻全部死亡情形則應與劑量效應相關。至於藥劑造成子鼠體重減輕、早死胎 (埋植後死亡) 及露腦畸形等效應應亦是藥劑之毒害作用。

但此結果與 Kavlock 等 (1982) 以胃管法處理大鼠探討免賴得對子鼠出生死亡率結果有很大出入 [12]，該試驗結果顯示，子鼠出生死亡率在劑量 125 mg/kg 時即具顯著高死亡率 ( $7.4 \pm 1.9$  VS  $75.8 \pm 10.65\%$ ，對照組 VS 處理組)，分析可能原因之一為試驗動物的年齡、品系、試驗動物樣本數足夠與否。Staples 和 Goulding (1979) 以雙特松 (Dipterex) 探討大鼠畸形性試驗，在 480 mg/kg 也具接近顯著之子鼠出生死亡率 [20]，推測本試驗中所使用之免賴得藥劑，欲造成子鼠出生死亡率之顯著上升的劑量應該大於 500 mg/kg。而在死胎數大於或等於 3 之胎數方面，除了 300 mg/kg 劑量有 1 胎外，其餘劑量均無此一情形，由此推測 300 mg/kg 可能屬於大鼠致畸形性之劑量特殊效應 (dose specificity) 之劑量，雖然個體的差異亦無法完全排除。表 2 所列母鼠埋植前胚損失或其他原因遺失者，在各劑量中無明顯不同，可能係因藥劑處理的時間在於腔栓檢出後第 7 天，因而未受藥劑的影響之故。一般大鼠在腔栓檢出後第 4、5 天胚即進入子宮埋植 [11]，所以除了少數未按時進入子宮埋植者外，埋植後胚死亡或被重吸收數，不分早、中及晚期，均顯現出隨劑量增加而增加之趨勢。此一結果與往昔之 Kimmel (1977) 所做結論相似 [14]，但與 Giavini 等 (1989) 結果不同 [8]，分析劑量及投予方式可能為探討差異之重點，Kavlock 等 (1982) 報告顯示，將免賴得以胃管法投予大、小鼠，分別在 62.5、100 mg/kg/day 產生畸形；但以餵飼法飼予大鼠時則在 6760ppm 時只具生殖毒性而無致畸形性。本試驗對照組與 100mg/kg 只有 1 窩被重吸收數大於或等於 3 然其他劑量均有 3 至 4 窩，表示藥劑對胚著床後的負面作用很明顯。試驗期間母鼠增重，各處理組均有較對照組減少之趨勢，其中以 500mg/kg 最顯著，早期之研究中 Ruddick 和 Newsome (1977)、Kimmel (1977)、Chernoff 等 (1979)、Kavlock 等 (1982)、Zeman and Hoogenboom (1986)、Sherman 等 (1975) 及 Giavini 等 (1989) 已證

實此論點 [18,14,3,12,22,19,8]。母鼠肝臟/體重比，免賴得在各劑量均無顯著作用，許多研究如 Chernoff 等 (1979)、Rogers 等 (1975) 及 Zeman 和 Hoogenboom (1986) 亦曾說明此作用 [3,17,22]。

**免賴得對子鼠生長性狀之影響** 免賴得對子鼠性比率無影響之原因可能為對性染色體無作用之故 (如表 2)；表 3 可知死胎數在對照組、50 及 300 mg/kg 中各有 1、2 及 6 隻死胎，其中對照組與 50 mg/kg 者可推論其在合理範圍，屬於母鼠個體感受性差異之原因 [10]，至於 300 mg/kg 有全窩 6 隻死亡，而且體重減輕、早死胎及畸形胎等情形，推測應和免賴得劑量有關。而在子鼠出生體重上，本試驗各處理組之子鼠出生重均顯著較對照組輕，但此變化並未與劑量成線性關係，Ruddick 和 Newsome (1977)，Staples 和 Goulding (1979)，Chernoff 等 (1979)，Stone 和 Manson (1981)，Gray 等 (1983)，Ellis 等 (1987) 及 Rogers 等 (1975) 等作者也有相似之報導 [18,20,3,21,9,5,17]，但 Zeman 和 Hoogenboom (1986) 則有相反之結果 [22]，分析兩者原因可能 Zeman 和 Hoogenboom 使用免賴得劑量為 31.2 mg/kg 較低劑量，毒性效應未足以降低子鼠出生體重所致。在子鼠外觀異常方面，本試驗在免賴得 200 mg/kg 劑量時，開始出現畸形子鼠，自 200 至 500 mg/g 均有露腦畸形子鼠出現，其中又以 200 和 300 mg/kg 比較嚴重，此種性質或許亦和劑量特一性有關 [10]，唯致畸形性試驗中母鼠中毒和死胎則可能和劑量反應 (dose response) 有關，至於畸形性對劑量之非劑量反應關係，是致畸胎效應評估中最重要之特質，研究者應特別注意此特性，此特性包括劑量特一性 (dose specificity)、藥劑特一性 (drug specificity) 及階段特一性 (phase specificity) 等 [10]。Kavlock 等 (1982) 研究免賴得之致畸胎影響評估對子鼠骨骼骨化不全現象 [12] 及 Ellis 等 (1987, 1988) 的類似試驗中均出現子鼠嚴重露腦畸形、腦水腫及腦室周圍過度增生等

現象[5,6]。

免賴得對大白鼠致畸形性之可能作用機制免賴得致胚胎畸形性機制之研究，迄今仍無定論，分析免賴得在狗與大鼠糞尿中代謝產物之結果可知免賴得與其代謝產物並未堆積於動物組織中[7]，一般相信，免賴得易與動物體內微管蛋白(tubulin)鍵結，而抑制微細微管蛋白(microtubulin)之形成，而微細微管蛋白正是子鼠腦部早期發育期間神經管形成，有絲分裂及細胞遷移的重要成分[5]，免賴得對腦部畸形效應，可能即和此有關。國內外已禁用的護谷(Nitrofen)殺草劑，其致畸形作用機制亦有甚多研究，許多作者認為護谷作用機制並非中間產物致變異性所致，而是本身(parent compound)造成胚胎被孤立於正常代謝系統外[2]，也就是護谷本身可直接鍵結至胚胎之胚核(embryonic nucleus)中之甲狀腺素(T4)的受體(receptor)，導致標的器官分化功能改變[15]，此種推論可從護谷導致大白鼠畸形和影響其甲狀腺功能試驗中得知，護谷可能至少改變母鼠和(或)子鼠甲狀腺素穩恆狀態(homeostasis)及胚胎接觸到護谷衍生物(Nitrofen-derived)或甲狀腺素(T3)活化產物(T3-active metabolite)而致畸形性[16]，由比較分析顯示不同藥物由於結構不同，代謝物不同，影響及鍵結組織作用不同，因此致畸胎作用不同。這正是目前許多藥劑均需重新評估其致畸胎之安全性之主因。本研究僅為國內藥劑對動物致畸胎模式之開端，往後一連串相關藥劑之致畸胎效應之評估應可藉此作一較深入之探討。

**誌謝** 本試驗承蒙行政院農業委員會(83科技-2.4-糧-30(10))之經費補助，始得完成，謹此誌謝。

### 參考文獻

- 1 廖龍盛。實用農藥。華成印刷廠，1984
- 2 Brown TJ, Manson JM. Further characterization of the distribution and metabolism of Nitrofen in the pregnant rat. *Teratol* 34:129-139, 1986
- 3 Chernoff N, Kavlock RJ, Hanisch RC, Whitehouse DA, Gray JA, Gray LE Jr, Sovocool GW. Prenatal toxicity of Endrin in rodents. I. Fetotoxic effects of prenatal exposure in hamsters. *Toxicol* 13:155-165, 1979
- 4 Costlow RD, Manson JM. The heart and diaphragm: Target organs in the neonatal death induced by Nitrofen (2, 4-dichlorophenyl-p-nitrophenyl ether). *Toxicol* 20:209-227, 1981
- 5 Ellis WG, Semple JL, Hoogenboom ER, Kavlock RJ, Zeman FJ. Benomyl-induced craniocerebral anomalies in fetuses of adequately nourished and protein-deprived rats. *Terato, Carcino, and Muta* 7:357-375, 1987
- 6 Ellis WG, De Roos F, Kavlock RJ, Zeman FJ. Relationship of periventricular overgrowth to hydrocephalus in brains of fetal rats exposed to Benomyl. *Terato, Carcino, and Muta* 8:377-391, 1988
- 7 Gardiner JA, Kirkland JJ, Kloppling HL, Sherman H. Fate of Benomyl in animals. *J Agri Food Chem* 22:419-427, 1974
- 8 Giavini E, Broccia ML, Prati M, Cova D, Rossini L. Teratogenicity of Dinoseb: Role of the diet. *Bulletin of Environ Contam Toxicol* 43:215-219, 1989
- 9 Gray LE Jr, Kavlock RJ, Chernoff N, Ostby J, Ferrell J. Postnatal developmental alterations following prenatal exposure to the herbicide 2,4-Dichlorophenyl-P-nitrophenyl ether: A dose response evaluation in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol* 67:1-14, 1983

- 10 Hayes AW. Principles and Methods of Toxicology. Raven Press, New York 155, 1984
- 11 Hogan B, Costantini F, Lacy E. Manipulating the mouse embryo. Cold Spring Harbor Laboratory, USA. 1986
- 12 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
- 13 Khera KS. Teratogenicity and dominant lethal studies on Hexachlorobenzene in rats. Food Cosmet. Toxicol 12:471-499, 1974
- 14 Kimmel CA. Effect of route of administration on the toxicity and teratogenicity of EDTA in the rat. Toxicol Appl pharmacol 40:299-306, 1977
- 15 Manson JM. Mechanism of Nitroten teratogenesis. Environ Health Pers 70:137-147, 1986
- 16 Manson JM, Brown T, Baldwin DM. Teratogenicity of Nitrofen (nitrodiphenyl ether) and its effects on thyroid function in the rat. Toxicol Appl Pharmacol 73:323-335, 1984
- 17 Rogers JM, Barbee B, Burkhead LM, Rushin EA, Kavlock RJ. The mouse teratogen Dinocap has lower A/D ratios and is not teratogenic in the rat and hamster. Teratol 37:553-559, 1975
- 18 Ruddick JA, Newsome WH. Teratogenicity assessment of Ethylenebis (isothiocyanate) in the rat. Bull Environ Contam Toxicol 17:159-162, 1977
- 19 Sherman H, Culik R, Jackson RA. Reproduction, teratogenic, and mutagenic studies with Benomyl. Toxicol Appl Pharmacol 32:305-315, 1975
- 20 Staples RE, Goulding EH. Dipterex teratogenicity in the rat, Ramster, and mouse when given by gavage. Environ Health Pers 30:105-113, 1979
- 21 Stone LC, Manson JM. Effects of the herbicide 2,4-dichlorophenyl-P-nitrophenyl ether (Nitrofen) on fetal lung development in rats. Toxicol 20:195-207, 1981
- 22 Zeman FJ, Hoogenboom ER. Effects on the fetus of maternal Benomyl exposure in the protein-deprived rat. Toxicol Environ Health 17:405-417, 1986

## Studies on teratogenicity of Benomyl in rats

\* Suei-Yen LU, Hong-Wei LIN, Shun-Cheng WANG

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

**SUMMARY** The study was conducted with Benomyl, one kind of carbamate fungicides group, on the 10 weeks old Wistar strain rats (*Rattus norvegicus*). Benomyl was dissolved in polyethylenglycol 200 (PEG 200) excepting control. The treated doses are 0, 50, 100, 200, 300, 400 and 500 mg/kg based on dam body weight, respectively. Doses are administrated by gavage from day 7 to 16 of pregnancy rats. Results show that numbers of implantation and fetus in 100 mg/kg are higher significantly ( $P < 0.05$ ) than those of control. As far as corpus luteum is concerned, number of corpus luteum per dam of control is not different from that of any treatment significantly. Dead fetus appears obviously in treated group. There is no difference in numbers of preimplantation loss in rats between control and all treated groups. The number of postimplantation loss or resorption of treated rats tend to increase as dose increased. Liver weight Per body weight in dam and ratio of sex in fetuses of all treated groups are not significantly different from those of control. The body weight gain in dam exhibited gradually decrease as dose increased. It seems obviously in 500 mg/kg treated group. Birth weights in all treated groups are lower significantly than that of control. Exencephaly appears range from 200 to 500 mg/kg group. It is more serious in 200 and 300 mg/kg than the others. [\* Lu SY, Lin HW, Wang SC. Studies on teratogenicity of Benomyl in rats. *J Chin Soc Vet Sci* 20(4):348-356, 1994. \* Corresponding author TEL 04-330 2101 ext 512, FAX 04-332 3073]

**Keywords:** *Benomyl, Rats, Teratogenicity*