

# 利用微生物系統篩選農藥之誘變性

## (二) 加肝臟酵素行活化作用

Screening of Pesticides for Mutagenicity in the  
Microbial System

II. With Mammalian Microsomal Activation

蔣 啓 玲

Chii-Ling Jeang

李 國 欽

Gwo-Chen Li

科學發展月刊第八卷第六期抽印本

中華民國六十九年六月一日出版

*Reprinted from*

**National Science Council Monthly**

**Vol. VIII. No. 6, June 1, 1980**

# 利用微生物系統篩選農藥之誘變性\*

## (二) 加肝臟酵素行活化作用

### Screening of Pesticides for Mutagenicity in the Microbial System

#### II. With Mammalian Microsomal Activation

蔣 啓 玲 李 國 欽

臺灣植物保護中心

(接受刊載日期：69年4月16日)

### 摘 要

本研究採用 Ames氏等人<sup>(2)</sup>所發展之腸炎菌 (*Salmonella typhimurium*) 突變菌種 TA100 及 TA98 為回復突變偵測法之供試菌種，加入由大白鼠肝臟均質汁與產生輔酵素 NADPH 之物質混合成之 S-9 mix 行酵素活化作用，在受試之 80 種農藥及三種農藥代謝物中，77種未顯出有誘變性質，而除草劑 Surflan, TOK, X-52 及殺菌劑 Terrazole 使 TA100 產生突變，此種性質並不因加入 S-9 mix 而有增強或減弱之趨勢，殺線蟲劑 DBCP 使 TA100 及 TA98 都產生突變，當劑量在 50  $\mu$ g 以下，若將之先與 S-9 mix 及 TA100 混合保溫，則造成 TA100 突變之現象有增強之趨勢，另外殺菌劑 Zincofol 於 TA100 上也顯出誘變性，此種性質因加入 S-9 mix 而消失。

上面所採用之偵測法，據 Ames 氏等的報告指稱，其測得致癌物之誘變性的機率可達 95%，因為微生物系統所偵測到的僅是基因突變，若再配合以測定其他類型遺傳物質變異的簡單偵測法，則對一化合物之誘變性及致癌性的慢性毒理評估將更為可靠，配合這類費用低，偵測期短，而準確度頗大的簡易偵測法，作為政府對農藥慢性毒理評估之參考，乃是可行之道。

### 一、前 言

Millers<sup>(8)</sup> 研究中指出大部份的化學致癌物質 (Chemical carcinogen) 其本身的化性並不活潑，只能說是致癌物之前身 (Procarcinogen)，必須經過新陳代謝作用轉化成活潑親電性之終極致癌物

(Ultimate carcinogens) 與細胞中的大分子結合，再經過一連串尚未明瞭之機制才能引起癌症，活化這些致癌物的酵素也就是體內負責使外來物質解毒之藥物轉化酵素 (Drug-metabolizing enzymes)，這種酵素系統在各組織中都有，而以肝臟中的含量最高，此種酵素蛋白質附在粒腺體上，作用時需要

\* 臺灣植物保護中心農藥殘量組研究報告第 23 號。

NADPH 及氧，它們所催化的反應有氧化 (Oxidation)、還原 (Reduction)、去烷基 (Dealkylation) 和去氫 (Dehydrogenation)作用。

由於化合物之致癌性與基因誘變性具有關連<sup>(7)</sup>，所以許多簡易致基因突變性之偵測系統，紛紛發展。雖然利用微生物突變現象，以初步鑑定化合物致癌性之準確度頗高，然而一般微生物缺乏哺乳動物體內可活化作用之酵素系統，Ames 氏等將老鼠肝臟抽取汁及產生 NADPH 之物質 (合稱：S-9 mix) 一併加入以 *Salmonella typhimurium* 變種為供試菌種之回復突變偵測系統中，結果發現許多原為不活化形式之致癌物如 Aflatoxins, Polychlorinated hydrocarbons, Aromatic amines 受了轉化而表現出誘變性<sup>(8)</sup>。由於這種哺乳動物活化系統之加入，彌補微生物作用之不足，使得這偵測系統之可靠性更為提高。

本中心曾以回復突變偵測法，篩選58種臺灣新引進農藥之誘變性，作為致癌性之初步鑑定，如今又完成其他25種新引進農藥之鑑定，並加 S-9 mix 於上面之偵測系統內，以明瞭加入哺乳動物的活化系統後，是否引起農藥誘變性之改變。

## 二、材料與方法

### (一) 供試農藥之種類

本研究所測定之農藥，共83種(詳見表二所列)，其中58種曾以基因重組鑑定法及回復突變鑑定法偵測其誘變性，結果曾發表於科學發展月刊<sup>(14)</sup>。

### (二) 農藥之處理

將農藥原體溶解於 Dimethyl Sulfoxide (DMSO) 中，配成 2 μg/μl 之濃度，不易溶解於 DMSO 之藥劑，則以 Ethyl acetate 為溶劑。

### (三) 菌種之來源與培養

腸炎菌的突變系統 TA100 及 TA98 得自 Dr. B. N. Ames (Department of Biochemistry, University of California, Berkeley)，都是對組胺酸具有需求性之突變菌種，與母系 TA1535 及 TA1538 同樣地失去剪補 (Excision Repair) 之能力，細胞壁上還缺乏含脂多醣類 (Lipopolysaccharide)，因此對周圍之化學藥品較具敏感性與滲透性<sup>(1)</sup>，此外較母系多了 R-質體 (plasmid)，表型是對抗生素

Ampicillin 具抗性，而對誘變物質的反應較母系更為敏感。

試驗時，取出貯存於 -80°C 冷凍庫中之菌種瓶，內含 0.8 ml 完全生長之菌種培養液及 0.07 ml 之 DMSO，解凍後移入 15 ml 之肉汁培養液，於 37°C 恒溫水槽內振盪培養四小時至完全生長後使用 (1 ml 培養液中細菌數  $\approx 10^9$ )。

## (四) 酵素活化體系 (S-9 mix) 之配製

### 1. 大白鼠肝臟藥物轉化酵素之誘發

本研究採用 Matsushima<sup>(12)</sup> 的方法來誘發肝臟產生酵素，成熟的雄性大白鼠 (Sprague-Dawley 種，體重 250~500 gm 之間) 為肝臟之來源，在取肝前第四天由腹腔注射 Sodium Phenbarobital 溶液 (配成 20 毫克/毫升生理食鹽水)，劑量為 30 毫克/每公斤體重，以後連續三天各注射一針，劑量提高至 60 毫克/每公斤體重，其間在取肝前第二天，另外注射一針 5, 6-benzoflavone 溶液 (配成 10 毫克/每毫升玉米油)，其劑量為 80 毫克/每公斤體重。

### 2. 肝臟均質汁之製取

經過藥物刺激之大白鼠，以刀砍下頭部並放血，剪開腹部取出肝臟，於冰冷之 0.15 M KCl 溶液中浸洗一次，放在已知重量之燒杯中稱重、剪碎，並加三倍體積之 0.15 M KCl 溶液 (即每公克肝重加 3 毫升 KCl 溶液)，於均質機中磨細，將均質汁放超高速冷凍離心機中於 9,000 × g 下離心 10 分鐘，取上層懸浮液 (此稱 S-9 fraction) 分裝小瓶內，每瓶約 1~2 ml，冷藏於 -80°C 冷凍箱中，上面操作中，使用之解剖用具、玻璃器皿、溶液等須先以高壓釜殺菌，並於使用前放碎冰中冷卻之。

### 3. S-9 mix 之成份

每於試驗前，自冷凍箱中取出 S-9 fraction，加入產生輔酵素 NADPH 之物質及緩衝液，製成 S-9mix，在 1 ml 混合液(S-9 mix) 中包含成分如下：S-9 fraction (0.04 ml~0.1 ml)，MgCl<sub>2</sub> (8 μmoles)，KCl (33 μmoles)，Glucose-6-phosphate (5 μmoles)，NADP (4 μmoles)，Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>，pH 7.4 (100 μ moles)。NADP 配成 0.1 M，G-6-P 配成 1.0 M 之溶液，貯放於 -20°C，磷酸鹽緩衝液配成 0.2 M，KCl 配成 1.65 M，MgCl<sub>2</sub> 配成 0.4 M 之溶

液，貯放於冰箱中，配好之 S-9 mix 維持在冰水中可供數小時使用。

### (五) 試驗之步驟

採用 Ames 等使用的方法<sup>(2)</sup>，並參照 Sugimura *et al.*<sup>(12)</sup>的方法略加修改。

#### 1. 未加酵素活化體系者

依次將定量的農藥與 0.1 ml 之菌種培養液加入混有 0.1  $\mu$  mole 的組胺酸 (Histidine) 與生物素 (Biotin) 的軟性瓊脂 (Soft agar) 中，均勻混合，倒在 Minimal Glucose (最少葡萄糖培養基) 的固體培養基上。

#### 2. 加酵素活化體系 (S-9 mix) 者

依次將定量的農藥與 0.1 ml 的菌種培養液及 0.1 ml 的 S-9 mix 加入混有 0.1  $\mu$  mole 的組胺酸與生物素的軟性瓊脂中，均勻混合，倒在 Minimal Glucose 固體培養基上。

#### 3. 預先保溫 (Pre-incubation) 者

將 0.1 ml S-9 mix, 0.1 ml 的菌種培養液以及定量的農藥依次加入殺菌過的試管中，混合均勻，放在 37°C 的恆溫水槽內，振盪保溫 20 分鐘，然後加內含 0.1  $\mu$  mole 組胺酸和生物素之熔融態的軟性瓊脂 2.5 ml，均勻混合後，倒在 Minimal Glucose 固體培養基上。

倒好之培養皿，放在 37°C 之恆溫箱中，培養二天後，取出，計算菌落數。

## 三、結果與討論

殺菌劑 Captan 能造成供試菌種之母系 TA1535 及 TA1538 之突變，然而加入 S-9 mix 後 Captan 受其中酵素之作用，誘變性降低，黴菌毒素 Sterigmatocystin 受 S-9 mix 之活化後，對 TA100 及 TA98 產生誘變性，均已由文獻指出<sup>(3,9)</sup>，本試驗於每次操作時，皆以 Captan, Sterigmatocystin 為正反應之對照，以確定供試菌種及 S-9 mix 之作用，結果都相符 (見表一)。

80 種受試農藥及 3 種農藥代謝物 (見表二) 皆分別以 2  $\mu$ g, 20  $\mu$ g, 200  $\mu$ g 之劑量加入上述試驗系統中，如果對細菌有殺傷現象<sup>(2)</sup>則將劑量降低，以避免藥劑對細菌之殺傷現象，影響誘變反應之觀

表一 回復突變測定法例行之控制及正反應對照試驗結果

Table 1. Results of Spontaneous and Positive Controls of the Salmonella/mammalian microsomal test on TA100 & TA98

化 合 物 Chemical	S-9 mix	回復突變菌落數 No. of Revertant	
		TA100	TA98
—	—	138	25
—	+	134	37
—	+(P) <sup>2</sup>	131	46
DMSO <sup>1</sup>	—	140	25
DMSO	+	125	33
DMSO	+(P) <sup>2</sup>	121	30
Sterigmatocystin <sup>3</sup>	—	160	35
Sterigmatocystin	+	489	308
Captan <sup>4</sup>	—	1489	263
Captan	+	635	87

1. DMSO：作為溶劑用，填加量為 100  $\mu$ l。

2. P：即 Pre-incubation，經過預先保溫者。

3. Sterigmatocystin：為具致癌性之物質，為 S-9 mix 所活化，作正反應之對照，用藥量為 0.5  $\mu$ g。

4. Captan：為本身即具誘變性之農藥，S-9 mix 可使其性質減弱，也是作正反應之對照，用藥量為 10  $\mu$ g。

察，而受試農藥在以上三種劑量下，造成供試菌種之回復突變菌落數大於自然發生回復突變菌落數之半數以上時 (參照表一)，則視為正反應，即被認為具有誘變性，將劑量範圍加大，以得一藥量反應曲線 (Dose Response Curve)。

在 83 種受試農藥中，殺線蟲劑 DBCP、殺草劑 Surflan, TOK, X-52，以及殺菌劑 Terrazole, Zincofol 都顯出正反應 (見圖一及表三)。

DBCP 使 TA100 及 TA98 都產生突變 (見表三及圖二、圖三)，TA100 對造成鹽基取代 (Base-substitution) 之誘變物質敏感，而 TA98 對造成鹽基移位 (frame-shift) 之誘變物質敏感<sup>(1)</sup>，由此可知 DBCP 作用於遺傳物質 DNA 之機制必不只一種，當 DBCP 與 S-9 mix 混合保溫時，所造成 TA100 回復突變菌落數在 10  $\mu$ g 到 50  $\mu$ g 之間有增加之趨勢 (見圖二)，這可能是預先保溫時，菌體與藥劑之接觸完全 (亦即相對濃度較高)，因此造成之回復突變菌落數增多，而當濃

表二 供試農藥之名稱

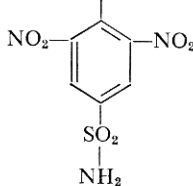
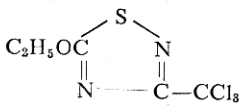
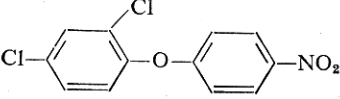
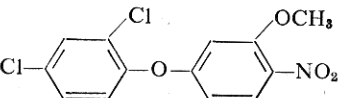
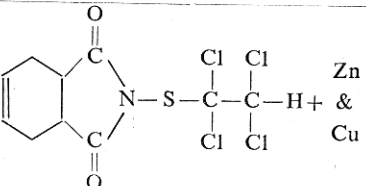
Table 2. The Name of Tested Pesticides

Comman name	Use*	Chemical name	Purity (%)
Acricid	I & F	2-sec-butyl-4,6-dinitrophenyl-3-methyl-2-butenote	100
Aldicarb	I	2-methyl-2-(methythio) propyl ideneamino methyl-carbamate	100
Aldicarb sulfone		metabolite of aldicarb	100
Aldicarb sulfoxide		metabolite of aldicarb	100
Amiben	H	3-amino-2,5-dichloroben-zoic acid	92.2
Antracol	F	zinc ( <i>N,N'</i> -propylene-1,2-bisdithiocarbamate)	87.3
Bavistin	F	methyl-benzimidazol-2-yl-carmate	96.9
Bayrusil	I	<i>O,O</i> -diethyl- <i>O</i> -quinoxalin-2-yl phosphorothioate	99.6
Bendiocarb	I	2,3-isopropylidene-dioxyphenyl methylcarbamate	100
Benomyl	F	methyl-1-(butylcarbamoil) benzimidazol-2-ylcarbamate	99
Bentazon	H	3-isopropyl-(H)-benzo-2,1,3-thiadiazin-4-one 2,2-dioxide	99.9
Bidrin	I	dimethyl cis-2-dimethyl-carbamoyl-1-methylvinyl phosphate	24 EC
Blazer	H	sodium 5-(2-chloro-4-(trifluoromethyl)-phenoxy)-2-nitrobenzoate	94
BPMC	I	2-sec-butylphenyl <i>N</i> -methylcarbamate	99
Bux	I	<i>m</i> -(ethylpropyl) phenyl methylcarbamate & <i>m</i> -(1-methylbutyl) phenyl methylcarbamate	97.8
Calixin	F	<i>N</i> -tridecyl-2,6-dimethylmorpholine	99.7
Counter	I	<i>S</i> -((1,1-dimethylethyl) thio) methyl) <i>O,O</i> -diethyl phosphorodithioate	98
CL-94302		metabolite of counter	95
Curzate	F	2-cyano- <i>N</i> -((ethylamine)-carbomyl)-2-(methoxyimino) acetamide	99
Cytrplane	I	diethyl-4-methyl-1,3-dithiolan-2-ylidenephoaphoroamidate	98.2
Daconil	F	tetrachloroisophthalonitrile	98
DBCP	I	dibromochloropropane	99.4
2,4-DCP	F	2,4-dichlorophenol	97.9
Decis	I	$\alpha$ -1-cyano 3 phenoxybenzyl <i>d</i> cis dibromochrysanthemate	98
Delan	F	2,3-dicyano-1,4-dithia-anthraquinone	99.5
Denmert	F	<i>S-n</i> -butyl <i>S-p</i> -tert-butyl benzyl <i>N</i> -3-pyridyldithio carbonimide	100
Diazinon	I	<i>O,O</i> -diethyl- <i>O</i> -2-isopropyp-6-methyl pyrimidin 4-yl phosphorothioate	99.8
Dicloran	F	2,6-dichloro-4-nitroaniline	99.5
Disyston	I	<i>O,O</i> -diethyl <i>S</i> -2-ethylsulphanyl ethyl phosphorodithioate	98.6
Dyfonate	I	<i>O</i> -ethyl <i>S</i> Phenyl ethyl phosphonodithioate	95
Diuron	H	3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dime thylurea	99
Drawin	I	2-mercaptomethyl-3-( <i>N</i> -methyl-carbamoyl) butanoroxim	99
EL-291	F	<i>S</i> -methyl- <i>S</i> -triazole (3,4,6) benzothiazole	96.3
Elsan	I	<i>S</i> - $\alpha$ -ethoxycarbonylbenzyl <i>O,O</i> -dimethyl phosphorodithioate	93
Endosulfan	I	6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,3,4-benzo (e) dioxathiepin 3-oxide	99

Comman name	Use*	Chemical name	Purity (%)
Ethirimol	F	5-butyl-2-ethylamono-4-hydroxy-6-methylpyrimidine	99.2
Ethofumesate	H	(±)-2-ethoxy-2,3-dihydro-3,3-dimethyl benzofuran-5-yl methanesulphonate	100
Fuji-1	F	di-isopropyl-1,3-dithiolame-2-yl idenemalonate	99.8
Furadan	I	2,3-dihydro-2,2-dimethylbenzofuran-7-yl methylcarbamate	99.2
Geofos	I	diethyl-1,3-dithietan-2-ylidenephosphoroimidate	95.9
Goal	H	2-chloro-1-(3-ethoxy-4-nitrophenoxy)-4-(trifluoromethyl) benzene	98
Guthion	I	<i>O, O</i> -dimethyl <i>S</i> -((4-oxo-1,2,3-benzothiazine-3(4H)-yl) methyl) phosphorodithioate	99.4
Hexachlorophene	I	2,2-methylene bis (3,4,6-trichlorophenyl)	99
Karphos	I	<i>O, O</i> -diethyl- <i>O, 5</i> -phenylisoxazolyl phosphorothioate	96.1
Kestrel	I	3-phenoxybenzyl (±) cis, trans-2,2-dimethyl-3-(2,2-dichlorovinyl) cyclopropane carboxylate	100
MIPC	I	2-isopropyl-phenyl- <i>N</i> -methyl carbamate	99
Morestan	F	6-methyl-2-oxo-1,3-dithiolo (4,5,6)-quinoxaline	100
MO-338	H	2,4,6-trichlorophenyl-4-nitrophenylether	100
MTMC	I	<i>m</i> -totyl- <i>N</i> -methylcarbamate	100
Nemacus	I	ethyl-3-methyl-4-(methylthio)-phenyl (1-methylethyl) phosphoramidate	97.9
Neo-pynamin	I	3,4,5,6-tetrahydrophthalimidomethyl-(±)-cis, trans-chrysanthemate	—
Nimrod	F	5-butyl-2-ethylamino-methylphrimidine-4-yl-dimethylsulfamate	100
Ofunack	F	<i>N</i> -(3,5-dichlorophenyl) succinimide	97.8
Orthene	I	<i>O, S</i> -dimethylacetylphosphoramidothioate	99.8
Ortho-dimethoate	I	<i>O, O</i> -dimethyl <i>S</i> -methylcarbamoylmethyl phosphorodithioate	95
Oryzemat	I	3-allyloxy-1,2-benzisothiazole-1,1-dioxide	99.1
Padan	I	1,3-di(carbamoylthio)-2-dimethylaminopropane	100
Phosvel	I	<i>O</i> -4-brome-2,5-dichlorophenyl- <i>O</i> -methyl phenylphosphonothioate	100
Pirimiphos-ethyl	I	<i>O</i> -2-diethylamino-6-methylpyrimidin-4-yl <i>O, O</i> -diethyl phosphorothioate	97.5
Plictran	I	tricyclohexyltin hydroxide	100
Plondrel	F	<i>O, O</i> -diethyl phthalimidophosphonothioate	99
Propazine	H	2-chloro-4,6-bis (isopropylamino)-s-triazine	99.7
Sicarol	F	3,4-dihydro-6-methylpyran-5-carboxanilide	98
SK-223	H	<i>N</i> -(α,2-dimethyl benzyl)-3-(ptoyl) urea	99
SK-41	F	<i>N, N</i> -methyl benzyl <i>N'</i> -(2-benzyl-Propyl) urea	99
Spanon	I	<i>N'</i> (4-chloro- <i>O</i> -totyl)- <i>N, N</i> -dimethyl formamidine	99.9
Sumicidm	I	α-cyano- <i>m</i> -phenoxybenzyl 2-(4-chlorophenyl)-isovalerate	97.6
Stomp	H	<i>N</i> -(ethylpropyl)-3,4-dimethyl-2,6-dinitrobenzenamide	93.2
Supracide	I	<i>S</i> -2,3-dihydro-5-methoxy-2-oxo-1,3,4-thiadiazole-3-yl methyl <i>O, O</i> -dimethyl-phosphorodithioate	99.9
Surecide	I	<i>O</i> -4-cyanophenyl <i>O</i> -ethyl phenylphosphonothioate	100
Surflan	H	3,5-dinitro- <i>N</i> <sup>4</sup> , <i>N</i> <sup>4</sup> -dipropyl sulfanilamide	99

Comman name	Use*	Chemical name	Purity (%)
Tamaron	I	<i>O,S</i> -dimethyl phosphoramidothioate	98.6
TBPMC	I	3-tert-butylphenyl- <i>N</i> -methylcarbamate	98
TCMTB	F	2-(thiocyanomethylthio)-benzothiazole	100
Terracur-P	I	<i>O,O</i> -diethyl <i>O</i> -4-methylsulphinyl phosphorothioate	97.4
Terrazole	F	5-ethoxy-3-trichloromethyl-1, 2, 4-thiadiazole	98.6
Theophanate-methyl	F	1,2-di-(3-methoxycarbonyl-2-thioureido) benzene	100
Thimet	I	<i>O,O</i> -diethyl <i>S</i> -ethylthiomethyl phosphorodithioate	90.6
Torak	I	<i>S</i> -2-chloro-1-phthalinidoethyl <i>O,O</i> -diethyl phosphorothioate	88.7
TOK	H	2,4-dichlorophenyl 4-nitrophenyl ether	99.9
Volaton	I	<i>O</i> - $\alpha$ -cyanobenzylideneamino <i>O,O</i> -diethyl phosphorothioate	98
X-52	H	2,4-dichlorophenyl-3-methoxy-4-nitrophenyl	99.5
Zincofol	F	cis- <i>N</i> -((1, 1, 2, 2-tetrachloroethyl) thio)-4-cyclohexane combined with zinc & copper	99.3

\* F: fungicide H: herbicide I: insecticide

Common name	Chemical name	Use	Chemical structure
DBCP	Dibromochloropropane	Fu	$\text{CH}_2\text{BrCHBrCH}_2\text{Cl}$
Surflan	3,5-dinitro- <i>N,N</i> -dipropyl sulfanilamide	H	$\text{C}_3\text{H}_7-\text{N}-\text{C}_3\text{H}_7$ 
Terrazole	5-ethoxy-3-trichloro-methyl-1, 2, 4-thiadiazole	F	
TOK	2,4-dichlorophenyl-4-nitrophenyl ether	H	
X-52	2,4-dichlorophenyl-3-methoxy-4-nitrophenyl ether	H	
Zincofol	cis- <i>N</i> -((1, 1, 2, 2-tetrachloroethyl) thio)-4-cyclohexane combined with zinc & copper	F	

圖一 在 Salmonella/mammalian microsome mutagenicity test 中顯示正反應之農藥名稱及化學結構

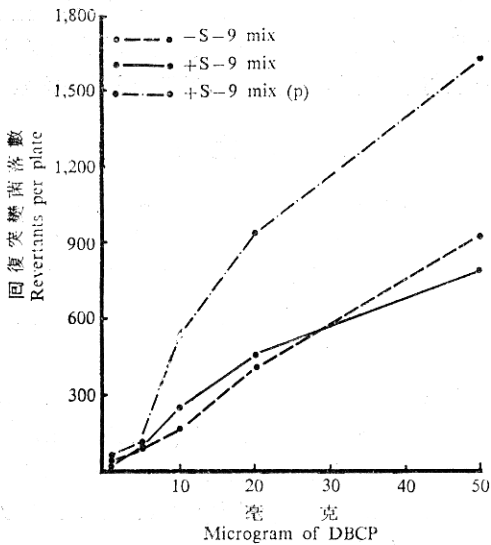
Fig. 1. Chemical structure of pesticides inciting positive reponses in the Salmonella/mammalian microsome mutagenicity test.

表三 回復突變測定法中顯示出正反應之農藥

Table 3. Pesticides in-citing positive responses in the Salmonella/mammalian microsome mutagenicity test employing *Salmonella typhimurium* TA100 & TA98 as Testr Strains

受試農藥 Resticides	回復突變菌落數*					
	TA100			TA98		
	-(S-9)	+(S-9)	+(S-9) <sub>P</sub>	-(S-9)	+(S-9)	+(S-9) <sub>P</sub>
DBCP (10 μg; 100 μg)	170	247	471	60	60	110
Surflan (300 μg)	138	103	—	—	—	—
Terrazole (400 μg)	123	177	—	—	—	—
TOK (100 μg)	230	324	288	—	—	—
X-52 (300 μg)	111	89	97	—	—	—
Zincofol (0.2 μg)	127	—	—	—	—	—

\* 藥劑試驗得到之回復突變菌落數減去控制組自然發生回復突變菌落數之淨值。

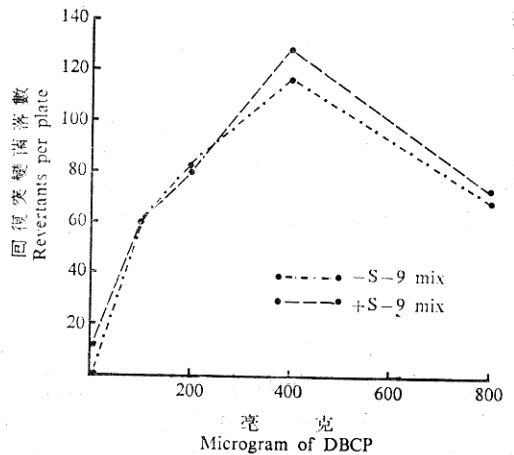


圖二 殺線蟲劑 DBCP 於三種不同處理時對供試菌種 TA100 之藥量反應曲線

Fig. 2. Mutagenic Effect of DBCP on TA100.

現, DBCP 造成不孕症及致癌性皆有報告指出<sup>(5)</sup>, 而由此一研究結果亦知, 由大白鼠肝臟製成之 S-9 mix 中所含酵素對其並無解毒之能力。

殺菌劑 Terrazole 在高濃度時於 TA100 上表現出誘變性, 此種反應於加入 S-9 mix 時僅有些微加強之趨勢, 而 Zincofol 於低濃度時即表現出誘變性, 而劑量稍微增加即造成殺傷力, 此藥劑



圖三 殺線蟲劑 DBCP 對供試菌種之藥量反應曲線

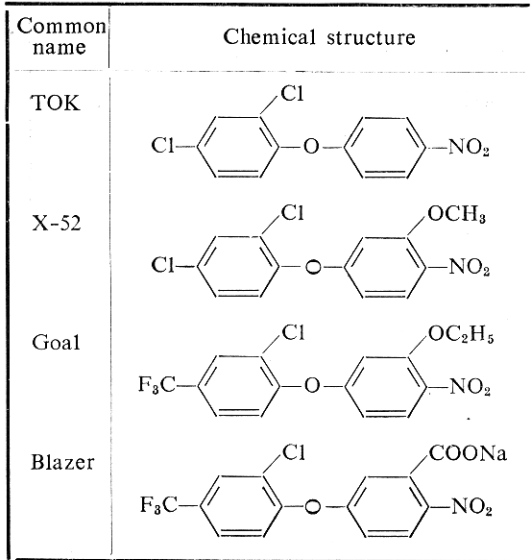
Fig. 3. Mutagenic Effect of DBCP on TA98.

度再增加時, 其於菌體之殺傷力影響其誘變性之表乃是 Difolatan 和 Zn, Cu 結合成之複合物, Difolatan 是和 Captan 同類之化合物, 其誘變性亦有報告指出<sup>(11)</sup>。

殺草劑 Surflan 當劑量到達 200 μg 時, 使 TA100 之回復突變菌落數增加一倍, 此現象並不因加入 S-9 mix 有增強或減弱之趨勢, 而劑量增至 300 μg 時, 突變菌落亦未見明顯之上升, 若劑量再增加則有殺傷之現象表現出來。

殺草劑 TOK 與 X-52 結構上相類似 (見圖

四)，而兩者都在 TA100 上顯出突變性，此種性質並不因加入 S-9 mix 有所改變，只是 TOK 所造成之突變較為明顯，TOK 及 X-52 之誘變性究竟是其本身或是合成時留下之不純物所造成，值得進一步探討。



圖四 四種化學結構相類似之殺草劑

Fig. 4. Four Herbicides with Relative Closed Chemical Structure.

DBCP 作為殺線蟲劑，功效卓著且價格低廉，故目前除美國加州一地外，仍為廣泛使用中，即使臺灣亦然。雖然 DBCP 於農作物中殘留量皆在可容許範圍內<sup>(13)</sup>，但是使用時難免意外之暴露，或製造工廠工人亦可能長期接觸些微之劑量，由於致癌物質之無毒害藥量依舊是一爭論<sup>(6)</sup>，甚至有人主張此數值是趨於零的，所以其存在之危險性是不容忽視的。另外 Captan 類之化合物如 Captan, folpet, Difolatan 之誘變性已有報告<sup>(11)</sup>，其於哺乳動物體上之慢性毒害亦被指出<sup>(4)</sup>，Zincfol 只是 Difolatan 之另外一種形式，且在很低之劑量下就表示出誘變性，其可能之慢性毒害應加以重視。

Terrazole, surflan, X-52 在此一系統上皆表現其較弱之誘變性，然而致癌物之定性才是此一系統之主要功用，更可能此一微弱之誘變性即一般動物試驗系統因受試動物之數目不足而無法顯露的，所以它們在哺乳動物上之慢性毒理反應亦須進一步

加以注意。

與 TOK, X-52 結構相類似之 Goal 及 Blazer (見圖四) 在很大的劑量範圍內，皆未顯示出誘變性，它們同作為殺草劑用，在殺草之效力與毒理之反應間，人們之使用應作一抉擇，此種由於結構上些微之差異而改變化合物之誘變性，可供新合成化合物之參考。

使用於環境中化合物之誘變性與致癌性，對人類的健康有極大的影響，而農藥無論是使用時或殘留於作物中，都可能經由各種途徑進入人體，影響到人類。Ames 氏所發展混合腸炎菌回復突變與大白鼠肝臟均質汁之簡易偵測系統，對化合物致癌性之鑑定有極高之準確度，在我們無法負擔需時長且耗資鉅之慢性毒理動物試驗前，採用這種方法來篩選農藥之誘變性，作為農藥註冊時慢性毒理評估之參考，是十分可行的；自然若能加上鑑定其他類型遺傳物質變異之簡易偵測系統，成一串連式之偵測，則更能收得嚴密考核農藥毒性與保障國人健康之效。

### 參 考 文 獻

1. Ames, B. N., F. D. Lee and W. E. Durstons. 1973. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, **72**, 782-786.
2. Ames, B. N., J. McCann and E. Yamasaki. 1975. Method for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mut. Res.*, **31**, 347-365.
3. Ames, B. N., W. E. Durstons, E. Yamasaki and F. D. Lee. 1973. Carcinogens are mutagens: A simple test system combining liver homogenates for activation and bacterial for detection. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **70**, 2281-2285.
4. Bridge, B. A. 1975. The mutagenicity of captan and related fungicides. *Mut. Res.*, **32**, 3.
5. Marshall, S., D. Whorton, R. M. Krauss and W. S. Palmer. 1978. Effect of pesticides on

- testicular function. *Urology*, **11**, 257-259.
6. Maugh II, T. H. 1978. Chemical carcinogens: how dangerous are low doses? *Science*, **202**, 37-41.
  7. Miller, E. C. and J. A. Miller. 1972. The mutagenicity of chemical carcinogens: correlation, problem and interpretations. In *Chemical Mutagens: Principle and Methods for Their Detection* (A. Hollender), Vol. **2**, pp. 83-119.
  8. Miller, E. C. and J. A. Miller. 1976. The metabolism of chemical carcinogens to reactive electrophiles and their possible mechanisms of action in carcinogenesis. In *Chemical Carcinogens* (C. E. Searle), p. 737.
  9. Moriga, M., K. Kato, Y. Shirasu and T. Kada. 1976. Mutagenicity screening of pesticides in microbial systems III: Fate of mutagenicity. *Mut. Res.*, **38**, 342.
  10. Olsen, W. A., R. T. Habermann, E. K. Weisburger, J. M. Ward and J. H. Weisburger. 1973. Induction of stomach cancer in rats and mice by halogenated aliphatic fumigants. *J. Natl. Cancer Inst.*, **51**, 1993-1995.
  11. Shirasu, Y., M. Moriya, K. Kato, A. Furuhashi and T. Kada. 1976. Mutagenicity screening of pesticides in the microbial systems. *Mut. Res.*, **40**, 19-30.
  12. Sugimura, T., T. Yahagi, M. Nagao, M. Takeuchi, T. Kawachi, K. Hara, E. Yamasaki, T. Matsushima, T. Hashimoto and M. Okada. 1976. Validity of mutagenicity tests using microbes as a rapid screening method for environmental carcinogens. In *Screening Test in Chemical Carcinogen* (R. Montesano, H. Bartsch and L. Tomatis), No. 12, pp. 81-101, IARC scientific publication.
  13. 李國欽、梁麗、史賢聰、林浩潭，1979。38種農藥在不同作物中之殘留量及分析。農藥殘留量分析報告，Vol. II，植物保護中心技術專刊第五號，21。
  14. 蔣啓玲、李國欽，1978。利用微生物體系篩選農藥的誘變性。科學發展月刊，6，780~788。

## Screening of Pesticides for Mutagenicity in the Microbial System

### II. With Mammalian Microsomal Activation

Chii-Ling Jeang and Gwo-Chen Li

*Plant Protection Center*

#### Abstract

80 pesticides (including 23 fungicides, 13 herbicides and 44 insecticides) and 3 pesticide metabolites were studied to determine their capacity for inducing mutation with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test as developed by Ames *et al.*

Results indicated that: (1) three herbicides-surfan, TOK, X-52 and one fungicide-terrazole were mutagenic on strain TA100, and their mutagenic capacity was not changed in the presence of liver microsomal fraction; (2) the ne-

matocide-DBCP was mutagenic on both strain TA100 and TA98, and the mutagenic capacity was increased in the presence of liver microsomal fraction after pre-incubation; (3) the fungicide-zincofol was mutagenic on strain TA100, and the mutagenic capacity was decreased in the presence of liver microsomal fraction.

Further studies are underway to combine this assay with other short-term mutagenicity tests as a battery of tests to run on the pesticide applied for registration in Taiwan.