

草甘膦生殖发育毒性的研究进展

杨治峰^{1,2}, 张振玲¹

摘要: 草甘膦是全球用量最大的除草剂。随着转基因抗草甘膦大豆和玉米作物的大量种植,使草甘膦的用量大增,这是否会对人类生殖发育构成潜在影响,已引起广泛关注。现就国内外学者在草甘膦的生殖发育毒性及其机制方面的相关研究作一综述报道,为进一步研究探讨草甘膦对人类生殖发育毒性的影响提供导向依据。

关键词: 草甘膦; 生殖毒性; 发育毒性

Research Progress on Reproductive and Developmental Toxicity of Glyphosate YANG Zhi-feng^{1,2}, ZHANG Zhen-ling¹ (1.Shandong Academy of Occupational Health and Occupational Medicine, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan, Shandong 250062, China; 2.School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan, Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan, Shandong 250062, China). Address correspondence to ZHANG Zhen-ling, E-mail: zhenling788@yahoo.com.cn • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

Abstract: Glyphosate is one of the most commonly used herbicides all around the world. Since transgenic plants with glyphosate-resistance such as soybeans and maize are introduced, the use of glyphosate have vastly increased and stirred up public concerns over potential adverse health effects on human exposed to glyphosate in agricultural practices. The present paper summerized studies on the reporductive and developmetnal toxicities of glyphosate and related mechanisms on both human and mammals, with the aim of providing suggestions for further research.

Key Words: glyphosate; reproductive toxicity; developmental toxicity

草甘膦是 20 世纪 70 年代初期由美国孟山都公司开发生产的一类叶面喷施非选择性内吸传导型灭生性除草剂。从 20 世纪 90 年代以来,转基因抗草甘膦作物如大豆、玉米、棉花等作物得到了大面积的推广种植,其中转基因抗草甘膦大豆(商品名: Roundup Ready Soybean)在美国、阿根廷、巴西等美洲国家已占大豆总种植面积的 50% 左右^[1]。近年来随着这些转基因抗草甘膦作物的迅速推广,草甘膦的用量逐年增加,且每年以约 20% 的速度递增,2010 年全球需求量达 100 万 t,已成为世界上产量和用量最大的农药品种,也是我国发展最快、产量最高、出口量最大的农药品种^[2]。

草甘膦具有高效、低毒、广谱等优点,它的使用给农业带来了巨大效益,但由于大面积甚至无节制的使用,加之使用方法和用后药剂处理等工作的不规范,对土壤、水体及生物等造成了较大的污染,从而增加了侵入人体造成危害的机会。经过多年使用后,发现其对动物及人类存在生殖发育毒性问题。作为低毒类农药的草甘膦是否会对人类生殖发育构成潜在的影响,已引起广泛关注。本文就国内外对于草甘膦的生殖发育毒性及其毒性作用机制方面的研究进展作一综述报道。

[作者简介] 杨治峰(1981—),女,硕士生;研究方向:毒理学;E-mail: yangzhifengys@163.com

[通信作者] 张振玲研究员, E-mail: zhenling788@yahoo.com.cn

[作者单位] 1. 山东省医学科学院,山东省职业卫生与职业病防治研究院,山东 济南 250062; 2. 济南大学,山东省医学科学院医学与生命科学学院,山东 济南 250062

1 草甘膦概述

1.1 理化特性

草甘膦(glyphosate),又称膦甘酸,学名 N-(膦酰基甲基)甘氨酸,商品名为镇草宁、农达(Roundup),分子式为 C₃H₈NO₃P,纯品为非挥发性白色固体,熔点为 230℃,并伴随分解。25℃时在水中的溶解度为 1.2%,不易溶于一般有机溶剂,其异丙胺盐完全溶解于水。

目前,市场销售的草甘膦必须配合活性剂使用,才能取得最佳的除草效果。农达(41% 草甘膦水剂)是世界上单一品种销量最大而且运用最广的农化产品,使用惰性成分聚乙氧基牛脂胺(POEA)作为其表面活性剂。草甘膦的表面活性剂可以显著影响叶面角质层对草甘膦的吸收,从而增强草甘膦的活性效力^[3]。

1.2 代谢特点

草甘膦在环境中经微生物降解后的代谢产物是氨甲基膦酸(AMPA)和肌氨酸。实验动物经口摄入草甘膦后部分经胃肠道吸收,经皮接触约 24 h 后,吸收 ≤ 5.5%。吸收后广泛分布于体内各组织,一次经口摄入后 62%~69% 随粪便排出,14%~29% 随尿液排出,在呼气中排出量 ≤ 0.2%^[2]。

2 生殖发育毒性的研究状况

2.1 对低等生物的生殖发育毒性

近年来,国内外关于草甘膦生殖发育毒性的研究报道逐渐增多,且多以低等生物为研究对象。MARC 等^[4]发现草甘膦

在海胆发育过程中,可以抑制其胚胎发育,致使延迟 2 h。蚯蚓 (*Eisenia foetida*) 在含不同浓度草甘膦土壤中培养 56 d, 表现为体重逐渐降低^[5]。草甘膦对蜘蛛有亚致死作用,并对蜘蛛的捕猎能力、织网、生育能力及子代发育时间上都有负面影响^[6]。OLIVEIRA 等^[7]对鸟类的研究发现,草甘膦对绿头鸭的附睾有影响。HOWE 等^[8]研究了美洲豹蛙 (*Rana pipiens*) 的蝌蚪暴露于含表面活性剂 POEA 的草甘膦,出现变形期身长缩短、变形时间延长、尾巴受损、性腺发育异常等表现。BRAUSCH 等^[9]发现草甘膦活化剂 POEA 可引起动物呼吸系统表面活性改变,对于水生无脊椎动物存在潜在的毒性作用。南旭阳等^[10]研究发现,草甘膦对鲫鱼外周血红细胞存在微核及核异常的影响。

2.2 对哺乳动物的生殖发育毒性

虽然草甘膦对低等生物已表现出生殖发育毒性,但对哺乳动物的研究结果却存在较大争议。WILLIAMS 等^[11]通过体内和体外实验发现,草甘膦及其代谢产物 AMPA 和表面活性剂 POEA 对大鼠均无致畸作用,也无生殖发育毒性和内分泌调节作用。CHAN 等^[12]以 *F344/N* 大鼠和 *B6C3F1* 小鼠为实验对象分别给予 0、3 125、6 250、12 500、25 000 和 50 000 ppm 的草甘膦,染毒 13 周,发现大鼠的经口毒性最大无作用剂量 (NOAEL) 为 3 125 ppm,高于此剂量能引起大鼠血清中胆汁酸、碱性磷酸酶、谷丙氨基转移酶的升高,但未观察到大、小鼠生殖系统异常,也不能诱导小鼠微核率增高,对沙门氏菌也无致突变作用。相反的, DALLEGRAVE 等^[13]研究发现,大鼠在 21~23 d 的怀孕期内和在 21 d 的哺乳期内暴露于剂量为 50、150、450 mg/kg 的草甘膦,雄性后代生殖系统受到损害,子鼠附睾精子数减少,成年期每天产生的精子数、异常精子数增加,青春期和成年期的精子退化;对雌性后代可引起阴道开口日龄延迟。DARUICH 等^[14]发现怀孕母鼠暴露于 0.5% W/V、1% W/V 的草甘膦农药化学产品中,可以诱导母体及其胎儿体内细胞溶质酶、异柠檬酸盐脱氢酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶等酶功能活性的异常。大鼠母体孕期的第 6~15 天,暴露于 500、750 和 1 000 mg/kg 的 41% 草甘膦水剂,其胎儿骨骼发育迟缓^[15]。通过灌胃的方式每天给予不同剂量 (5、50、250 mg/kg) 商业配方的草甘膦,发现大鼠的类固醇激素合成急性调节蛋白 (StAR)、芳香酶的表达和活性受到影响,并通过影响雄性和雌性激素的合成引起大鼠生殖发育紊乱,各剂量组睾丸酮的含量与对照组相比差异均有统计学意义,并呈剂量-反应关系^[16]。康菊芳等^[17]研究草甘膦对小鼠的致突变作用,发现 2 320 mg/kg 剂量组小鼠微核率明显高于阴性对照组,染毒剂量与骨髓微核率呈剂量反应关系。肖永红等^[18]的研究结果表明,亚致死剂量的草甘膦溶液对中华大蟾蜍蝌蚪的生长发育具有明显的抑制作用,蝌蚪体长、体宽、尾长、尾宽和体质量的增长率均与草甘膦浓度呈负相关。

国内外关于草甘膦生殖发育毒性作用机制的研究较少。BEURET 等^[19]发现,1% 草甘膦诱导怀孕母鼠及其胎儿肝脂质过氧化水平增高,对机体抗氧化防御系统造成损害。WALSH 等^[20]报道,41% 草甘膦通过扰乱 StAR 蛋白的表达,抑制小鼠 MA-10 间质细胞生成类固醇激素。通过 GC-1 小鼠精原细胞体外实验及小鼠精子畸形体内实验证实了 41% 草甘膦使 GC-1 细

胞氧化与抗氧化失衡、细胞膜通透性遭到破坏,而导致细胞氧化损伤和 DNA 损害,引起小鼠精子数目减少、精子畸形率增加、附睾和睾丸重量及其系数下降^[21]。曾有学者报道,使用 POEA 为表面助剂的孟山都草甘膦除草剂可潜在地破坏内分泌系统,对胎盘细胞产生生殖毒性^[22]。草甘膦可使新西兰家兔的性欲、射精量、精子浓度等下降,可能是由于草甘膦对精子发生的直接细胞毒效应或间接通过下丘脑-脑垂体-睾丸轴的作用^[23]所致。

3 流行病学研究和人类证据

草甘膦对人群研究的资料尚不多见。BENACHOUR 等^[24]对人类胚胎和胎盘细胞的研究发现,210 mmol/L 草甘膦能破坏芳香化酶 (aromatase)。JEG3 胎盘细胞培养发现,草甘膦助剂 POEA 能改变人类细胞膜通透性并能增强草甘膦的毒性,引起细胞的程序性死亡和坏死^[25]。ARBUCKLE 等^[26]对加拿大安大略农场人群进行问卷调查 (关于喷洒农药对自然流产风险的探索性调查),问卷中涉及 2 110 名妇女的 3 936 次受孕 (其中包括 395 次自然流产过程),暴露期分别为孕前 3 个月的受孕期、妊娠期内前 3 个月、早期流产 (妊娠早期 <12 周)、晚期流产 (妊娠 12~19 周),调查资料数据分析表明孕前暴露于草甘膦能适度增加晚期自然流产的风险 ($OR=1.7$; 95% CI , 1.0~2.9),孕后暴露于草甘膦也能增加晚期自然流产的机会。

4 讨论

草甘膦急性经口虽然是低毒,但是实验资料中均表现出其毒性效应,其中对低等生物的生殖发育毒性效应较明显,对哺乳动物和人类的生殖发育毒性研究不足。对人体的研究缺乏流行病学资料。

已有的研究资料也表明,草甘膦混剂的毒性效应比草甘膦纯品毒性更大,这是否表明草甘膦及其表面活性剂有协同作用,还需要进一步探讨。对于草甘膦的毒性,特别是长期或慢性毒性效应,应重新评估。

目前大面积使用的草甘膦是否会在 30 年甚至更长时间内产生不可逆转的影响,这应引起足够重视。美国环境保护署 (EPA) 已决定将草甘膦列入可疑环境内分泌干扰物名单。与此同时,我国政府管理部门应对草甘膦登记资料进行系统全面的评估,重新确定草甘膦的 ADI 值 (安全系数),逐步限制使用草甘膦,降低公众健康所面临的风险。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

参考文献:

- [1] 信乃谕. 国外转基因作物发展现状及其对策建议 [J]. 农学通报, 2001, 17 (4): 1-5.
- [2] 顾友多, 范宾, 董学胜. 草甘膦的危险性分类研究 [J]. 职业卫生与应急救援, 2008, 26 (2): 80-83.
- [3] 刘支前, ZABKIEWICZ JA. 表面活性剂对草甘膦叶面吸收的影响 [J]. 农药, 1998, 37 (4): 31-34.
- [4] MARC J, LE BRETON M, CORMIER P, et al. A glyphosate-based pesticide impinges on transcription [J]. Toxicol Appl Pharmacol,

- 2005, 203(1): 1-8.
- [5] CORREIA FV, MOREIRA JC. Effects of glyphosate and 2, 4-D on earthworms (*Eisenia foetida*) in laboratory tests[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2010, 85(3): 264-268.
- [6] BENAMU MA, SCHNEIDER MI, SANCHEZ NE. Effects of the herbicide glyphosate on biological attributes of *Alpaida veniliae* (Araneae, Araneidae), in laboratory[J]. Chemosphere, 2010, 78(7): 871-876.
- [7] OLIVEIRA AG, TELLES LF, HESS RA, et al. Effects of the herbicide Roundup on the epididymal region of drakes *Anas platyrhynchos*[J]. Reprod Toxicol, 2007, 23(2): 182-191.
- [8] HOWE CM, BERRILL M, PAULI BD, et al. Toxicity of glyphosate-based pesticides to four North American frog species[J]. Environ Toxicol Chem, 2004, 23(8): 1928-1938.
- [9] BRAUSCH JM, SMITH PN. Toxicity of three polyethoxylated tallowamine surfactant formulations to laboratory and field collected fairy shrimp, *Thamnocephalus platyurus*[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2007, 52(2): 217-221.
- [10] 南旭阳. 除草剂“草甘膦”对鲫鱼外周血红细胞微核及微核异常的影响[J]. 安徽师范大学学报: 自然科学版, 2001, 24(4): 329-331.
- [11] WILLIAMS GM, KROES R, MUNRO IC. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2000, 31(2pt1): 117-165.
- [12] CHAN P, MAHLER J. NTP technical report on the toxicity studies of Glyphosate(CAS No.1071-83-6)administered in dosed feed to *F344/N* rats and *B6C3F1* mice[J]. Toxic Rep Ser, 1992, 16: 1-D3.
- [13] DALLEGRAVE E, MANTESE FD, OLIVEIRA RT, et al. Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats[J]. Arch Toxicol, 2007, 81(9): 665-673.
- [14] DARUICH J, ZIRULNIK F, GIMENEZ MS. Effect of the herbicide glyphosate on enzymatic activity in pregnant rats and their fetuses[J]. Environ Res, 2001, 85(3): 226-231.
- [15] DALLEGRAVE E, MANTESE FD, COELHO RS, et al. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup in Wistar rats[J]. Toxicol Lett, 2003, 142(1-2): 45-52.
- [16] ROMANO RM, ROMANO MA, BERNARDI MM, et al. Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology[J]. Arch Toxicol, 2010, 84(4): 309-317.
- [17] 康菊芳, 曾明, 关岚, 等. 草甘膦对小鼠的致突变作用研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2008, 20(3): 227-230.
- [18] 肖永红, 廖永强, 周昌旭, 等. 除草剂草甘膦对中华大蟾蜍的慢性毒性[J]. 四川动物, 2007, 26(2): 430-433.
- [19] BEURET CJ, ZIRULNIK F, GIMENEZ MS. Effect of the herbicide glyphosate on liver lipoperoxidation in pregnant rats and their fetuses[J]. Reprod Toxicol, 2005, 19(4): 501-504.
- [20] WALSH LP, MCCORMICK C, MARTIN C, et al. Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression[J]. Environ Health Perspect, 2000, 108(8): 769-776.
- [21] 黄婷. 农达对雄性生殖细胞的毒性作用及其机制的初步研究[D]. 长沙: 中南大学, 2010.
- [22] RICHARD S, MOSLEMI S, SIPAHUTAR H, et al. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase[J]. Environ Health Perspect, 2005, 113(6): 716-720.
- [23] YOUSEF MI, SALEM MH, IBRAHIM HZ, et al. Toxic effect of carbofuran and glyphosate on semen characteristics in rabbits[J]. J Environ Sci Health B, 1995, 30(4): 513-534.
- [24] BENACHOUR N, SIPAHUTAR H, MOSLEMI S, et al. Time- and dose-dependent effects of roundup on human embryonic and placental cells[J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2007, 53(1): 126-133.
- [25] BENACHOUR N, SERALINI GE. Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic, and placental cells[J]. Chem Res Toxicol, 2009, 22(1): 97-105.
- [26] ARBUCKLE TE, LIN Z, MERY LS. An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population[J]. Environ Health Perspect, 2001, 109(8): 851-857.
- (收稿日期: 2012-07-04)
- (英文编审: 金克峙; 编辑: 张晶; 校对: 徐新春)

(上接第 153 页)

- capacities of antioxidant solutions and food extracts[J]. Anal Sci, 2012, 28(2): 159-165.
- [29] SHIMOTO H, TAI A, YOSHIMURA M, et al. Antioxidative properties of functional polyphenols and their metabolites assessed by an ORAC assay[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2012, 76(2): 395-399.
- [30] ORTIZ R, ANTILÉN M, SPEISKY H, et al. Analytical parameters of the microplate-based ORAC-pyrogallol red assay[J]. J AOAC Int, 2011, 94(5): 1562-1566.
- [31] 邵卫梁, 杭晓敏, 胡天喜, 等. 氧自由基吸收能力测定仪器及方法的考察[J]. 安徽医药, 2011, 15(4): 414-418.
- [32] USDA. USDA database for the oxygen radical Absorbance Capacity (ORAC) of selected foods, release 25 [EB/OL]. (2010-05). <http://www.ars.usda.gov/nutrientdata>.
- [33] WANG S, MECKLING KA, MARCONE MF, et al. Synergistic, additive, and antagonistic effects of food mixtures on total antioxidant capacities[J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(3): 960-968.
- [34] NINFALI P, GENNARI L, BIAGIOTTI E, et al. Improvement in botanical standardization of commercial freeze-dried herbal extracts by using the combination of antioxidant capacity and constituent marker concentrations[J]. J AOAC Int, 2009, 92(3): 797-805.
- [35] 戴卉卿, 陈承瑜, 杨滨. 22 种黄酮、酚酸类化合物和 9 种中药清除 AAPH 活性考察[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(17): 2296-2302.
- (收稿日期: 2012-04-24)
- (英文编审: 金克峙; 编辑: 张晶; 校对: 徐新春)