

BIODEGRADACJA I TOKSYCZNOŚĆ WYBRANYCH ŚRODKÓW OCHRONY ROŚLIN

ELŻBIETA GRABIŃSKA-SOTA¹, JOANNA KALKA¹,
EWA WIŚNIEWSKA², BEATA ŚCIERANKA¹

¹ Katedra Biotechnologii Środowiskowej, Politechnika Śląska, ul. Akademicka 2, 44-101 Gliwice

² Instytut Inżynierii Środowiska, Politechnika Częstochowska, ul. Dąbrowskiego 69, 42-200 Częstochowa

Keywords: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, OECD standards, biodegradation, plant protection products, toxicity tests.

BIODEGRADATION AND TOXICITY OF SELECTED PLANT PROTECTION PRODUCTS

Investigations were carried out in order to evaluate biodegradability of two pesticides – pure active substance 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and specific preparation created at the base of 2,4-D – Aminopielik 720. Biodegradation was carried out according to OECD standards – Method 301E and 303A. After biodegradation toxicity of intermediates was also determined. Investigated preparations were biodegradable in coupled units test. Biodegradation rate, observed at the base of COD standard analysis, was over 90%. Intermediates didn't show significant toxicity with reference to fish, algae and daphnia.

Streszczenie

Przeprowadzone badania miały na celu ocenę podatności na biodegradację dwóch pestycydów – czystej substancji aktywnej kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) oraz preparatu użytkowego sporządzonego na bazie 2,4-D – Aminopielika 720. Badania nad biodegradacją prowadzono z zastosowaniem standardowych testów zalecanych przez OECD – metod 301E i 303A. Przeprowadzono również ocenę toksyczności produktów pobiodegradacyjnych. Badane preparaty okazały się podatne na biodegradację w teście potwierdzającym. Stopień usunięcia ChZT wynosił powyżej 90%. Produkty powstałe po biodegradacji nie wykazywały znaczącego działania toksycznego w odniesieniu do ryb, glonów i rozwielitek.

WSTĘP

Wśród dziesiątków tysięcy wytwarzanych corocznie związków pestycydy zajmują szczególną pozycję, będąc jednocześnie dobrodziejstwem i niebezpieczeństwem. Pozwalają one na znaczne podwyższenie plonów i ograniczenie

chorób przenoszonych przez pasożyty, równocześnie jednak stwarzają zagrożenie na skutek swojej wysokiej aktywności fizjologicznej i dużej różnorodności budowy. Od innych związków antropogennych odróżnia je to, że są truciznami i że do środowiska wprowadzane są celowo. Liczba badań dotyczących wpływu herbicydów na środowisko jest znaczna, jakkolwiek skupiają się one przede wszystkim na zagadnieniach dotyczących podwyższenia plonów w uprawach objętych chemiczną ochroną, określaniu toksyczności pestycydów w stosunku do organizmów szkodliwych dla upraw, oznaczaniu ich trwałości w glebie i w wodzie oraz na śledzeniu dróg ich przenikania do żywności i organizmu człowieka [11]. Mniej natomiast jest prac dotyczących wpływu na organizmy metabolitów preparatów i są to w zasadzie tylko prace odnoszące się do mutagenności i kancerogenności tych związków (prowadzone m.in. na mikroorganizmach i embriionach płazów) [3–5, 19, 26]. Ich wpływ na inne organizmy jest określany znacznie rzadziej, gdyż prace tego rodzaju dotyczą raczej substancji aktywnych stosowanych w preparatach [1, 7, 10, 14, 20, 24]. Ponadto prowadzone badania toksyczności metabolitów dotyczą głównie związków wytwarzanych w glebie [5, 13, 19]. Doniesień o metabolitach powstających w procesach rozkładu w środowisku wodnym lub ściekowym praktycznie jest niewiele [6, 23]. Niewiele jest również badań dotyczących produktów powstających w procesach rozkładu chemicznego [15]. W literaturze przeważają publikacje dotyczące wpływu herbicydów na wąską tylko grupę organizmów (najczęściej jeden lub dwa gatunki) [1, 3, 4, 7, 10, 14, 18, 19, 22, 25, 26]. Prace, w których badania prowadzono na szerszej grupie organizmów, a więc uwzględniające zależności wynikające z łańcucha pokarmowego, są prowadzone bardzo rzadko i tylko w niewielu przypadkach odnoszą się do testów toksyczności ostrej (są to bowiem głównie testy w układach symulujących naturalne ekosystemy) [6, 9]. Brak jest danych o toksyczności ścieków przemysłowych zawierających herbicydy fenoksyoctowe.

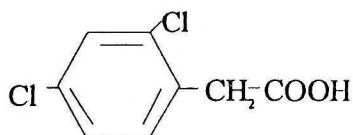
Celem podjętych badań było określenie i porównanie podatności na biodegradację czystej substancji aktywnej – kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D), oraz preparatu dostępnego w handlu (w którym jako substancja aktywna zastosowany został 2,4-D) Aminopielika 720. Celem badań było również stwierdzenie toksyczności metabolitów powstałych w wyniku biologicznego rozkładu tych preparatów oraz wpływu zastosowanych w preparacie użytkowym substancji dodatkowych, tj. wypełniaczy, emulgatorów etc. na jego biodegradację. Jako przedmiot badań wybrano fenoksykwasy, gdyż grupa tych herbicydów jest bardzo popularna w Polsce i stosowana corocznie na tysiącach hektarów upraw zbóż. Jednocześnie, ponieważ są to środki znane od wielu lat, nie ma zastosowania do nich rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej, które obliuguje badanie degradacji w wodzie jedynie tych środków ochrony roślin, które zawierają substancje aktywne nie wchodzące dotąd w skład żadnego środka dopuszczonego do obrotu i stosowania [21].

METODYKA BADAŃ

BADANE PREPARATY

Kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D)

Jest to bezbarwny proszek o temperaturze topnienia 140,5°C i rozpuszczalności w wodzie w temperaturze 25°C 900 mg/dm³. Substancja ta należy do silnych kwasów i tworzy sole z kationami metali alkalicznych, a także estry organiczne. Do badań użyto preparatu o czystości 98,3% i zawartości 0,45% chlorofenoli. Strukturę tego związku przedstawiono poniżej.



Aminopielik 720

Jest to preparat chwastobójczy w formie płynu przeznaczonego do sporządzania roztworu wodnego, powinien być stosowany nalistnie. Substancją czynną wchodzącą w skład tego preparatu jest sól amonowa kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego. Suma kwasów w przeliczeniu na kwas 2,4-D wynosi 723,5 g/dm³, gęstość w temperaturze 20°C 1,240 g/cm³, zawartość chlorofenoli 0,25%.

BADANIE BIODEGRADACJI

Badanie przesiewowe

Badania przeprowadzono na podstawie metodyki zalecanej przez wytyczne OECD (metoda 301E) do badań substancji chemicznych [2]. W pierwszym etapie przeprowadzono test podatności badanych preparatów na biodegradację pierwotną – badanie przesiewowe. Test ten prowadzony jest w warunkach ograniczonej sposobności do wystąpienia biodegradacji, gdyż badana substancja stanowi jedyne nominalne źródło węgla, a liczba mikroorganizmów biorących udział w procesie jest niewielka.

Do kolb stożkowych o pojemności 2 dm³ wprowadzono 1,5 dm³ wody destylowanej zawierającej badaną substancję w stężeniu odpowiadającym 100 mg/dm³ ChZT (30 mg/dm³ RWO). Roztwór wzbogacono pierwiastkami śladowymi w ilościach podanych poniżej:

MnSO ₄ · 4H ₂ O	39,9 mg/dm ³ ,
H ₃ BO ₃	57,2 mg/dm ³ ,
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	42,8 mg/dm ³ ,
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	34,7 mg/dm ³ ,
FeCl ₃	100 mg/dm ³ ,
wyciąg drożdżowy	15 mg/dm ³ .

Medium zaszczerpiono inokulum w ilości 0,5 cm³/dm³. Inokulum stanowiły przesączone ścieki oczyszczone o charakterze bytowo-gospodarczym, pocho-

dzące z laboratoryjnego układu osadu czynnego. Kolby następnie zatykano luźnymi korkami z waty i umieszczano na wytrząsarce. Biodegradację prowadzono w ciemności, w temperaturze $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Próbę kontrolną stanowiło zaszczerpione medium bez dodatku substancji badanej.

W celu określenia podatności preparatu na rozkład biologiczny określano ubytek wartości ChZT w kolbach po upływie 5, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26 i 28 dni od daty rozpoczęcia doświadczenia. Oznaczenia ChZT wykonywano w próbach sączonych metodą dwuchromianową [12].

Badanie potwierdzające

Badanie biodegradacji właściwej preparatów prowadzono w warunkach symulujących pracę biologicznej oczyszczalni ścieków według metodyki podanej w [2]. W tym celu przygotowano trzy modelowe układy osadu czynnego – po jednym dla każdego preparatu i układ kontrolny. Pojedyncza instalacja do hodowli osadu czynnego składała się z pojemnika na ścieki surowe, komory napowietrzania, osadnika wtórnego, pompki dozującej ścieki, pompki napowietrzającej, zbiornika na ścieki oczyszczone. Całkowita pojemność pojedynczej instalacji wynosiła 25 dm^3 . Do badań zastosowano osad czynny pochodzący z oczyszczalni ścieków w Gliwicach-Łabędach, uprzednio adaptowany do badanych związków. Stężenie osadu czynnego w każdym z układów oscyloowało wokół wartości 2500 mg/dm^3 . Jako podłoże stosowano ścieki syntetyczne o charakterze bytowo-gospodarczym o następującym składzie:

pepton	160 mg/dm^3 ,
wyciąg mięsny	110 mg/dm^3 ,
mocznik	30 mg/dm^3 ,
NaCl	7 mg/dm^3 ,
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4 mg/dm^3 ,
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2 mg/dm^3 .

Do rozpuszczenia składników użyto wody wodociągowej. Badane preparaty dodawane były do pożywki w ilości 40 mg/dm^3 substancji aktywnej. ChZT pożywki wraz z badanymi substancjami miało wartość $287 \pm 33 \text{ g/m}^3$ w układzie z kwasem 2,4-D oraz $301 \pm 21 \text{ g/m}^3$ w układzie z Aminopielikiem. Stężenie ChZT w dopływie do układu kontrolnego wynosiło $297 \pm 25 \text{ g/m}^3$. Obciążenie osadu czynnego było równe $0,65 \pm 0,11 \text{ gBZT}_5/\text{g}_{\text{s.m.o.}} \cdot \text{d}$, $0,30 \pm 0,13 \text{ gBZT}_5/\text{g}_{\text{s.m.o.}} \cdot \text{d}$ i $0,43 \pm 0,10 \text{ gBZT}_5/\text{g}_{\text{s.m.o.}} \cdot \text{d}$ odpowiednio dla układu kontrolnego, układu, w którym badano biodegradację kwasu 2,4-D, oraz układu z Aminopielikiem. Biodegradację prowadzono więc w warunkach osadu konwencjonalnego.

W celu oceny podatności pestycydów na biodegradację wykonywano następujące oznaczenia:

- pH – potencjometrycznie;
 - oznaczenie ChZT – metodą dwuchromianową z prób sączonych [12];
 - zawiesinę osadu czynnego – wagowo [12];
 - stężenie tlenu w komorze napowietrzania – sondą tlenową.
- Oznaczenia wykonywano w próbach średniodobowych.

BADANIE TOKSYCZNOŚCI

Dane na temat toksyczności badanych preparatów w stosunku do rozwielitek i ryb są dostępne w literaturze, i pozwalają na zaliczenie ich do III klasy toksyczności [22]. W pracy ograniczono się więc do zbadania toksyczności produktów powstałych w wyniku biodegradacji preparatów w środowisku wodnym.

W celu oceny toksyczności produktów powstałych po biodegradacji badanych związków wykonano następujące testy:

- badanie zahamowania wzrostu glonów *Scenedesmus quadricauda*;
- test toksyczności ostrej na rybach *Lebistes reticulatus*;
- test toksyczności ostrej na rozwielitce *Daphnia magna*.

Badanie zahamowania wzrostu glonów *Scenedesmus quadricauda*

Badania wykonano według metodyki podanej w wytycznych OECD [2]. Test prowadzono w kolbach stożkowych o pojemności 200 cm³. Do każdej kolby wprowadzano 50 cm³ roztworu, w którym stężenie początkowe glonów wynosiło 1 · 10⁵ kom/cm³, glony przesiewano z kultury wyjściowej w logarytmicznej fazie wzrostu. Test prowadzono w temperaturze 22 ± 1°C i przy ciągłym oświetleniu, aż do uzyskania 16-krotnego przyrostu glonów w próbach kontrolnych. Za miarę toksycznego oddziaływania produktów po rozkładzie biologicznym przyjęto zahamowanie wzrostu populacji po tym czasie, w zależności od rozcieńczenia. Prowadzono 3 serie testowe dla każdego rozcieńczenia. Na początku i na końcu testu mierzono pH roztworów.

Badanie toksyczności ostrej preparatów na rozwielitce *Daphnia magna*

Badania prowadzono zgodnie z metodyką ujętą w Polskich Normach [16]. Test prowadzono w krystalizatorach o pojemności 500 cm³, w temperaturze 20 ± 1°C, w pomieszczeniu oświetlanym jarzeniówkami przez 16 godzin na dobę. W każdym z krystalizatorów umieszczono po 10 osobników w wieku 24 godzin. Wykonano trzy serie testowe dla każdego roztworu. Test prowadzono przez 96 godzin, przyjmując jako kryterium oceny śmiertelność osobników w zależności od czasu ekspozycji w odpowiednich roztworach.

Badanie toksyczności ostrej preparatów na rybach *Lebistes reticulatus*

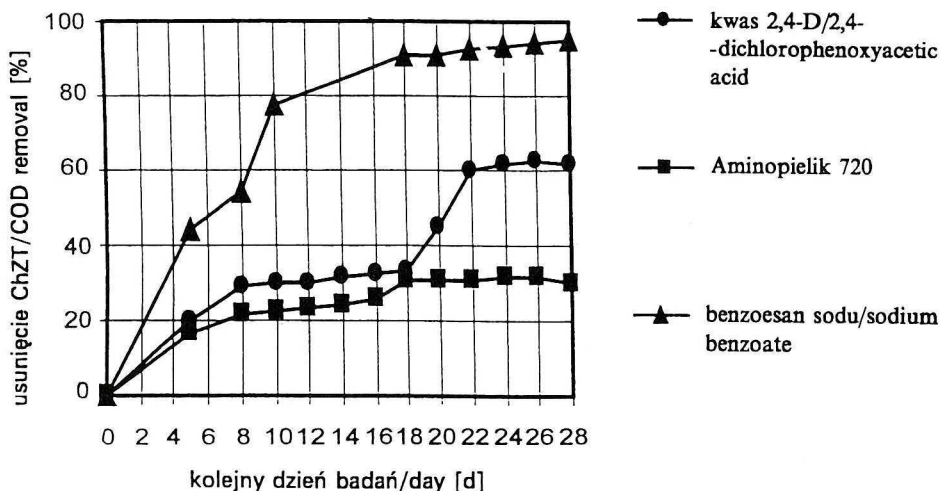
Badania wykonano według metodyki ujętej w Polskich Normach [17]. Test prowadzono w krystalizatorach o pojemności 500 cm³, w temperaturze 23 ± 1°C, stosując oświetlenie akwariów 20 W jarzeniówkami, z zachowaniem 8-godzinnej przerwy nocnej. W każdym krystalizatorze umieszczono po 5 osobników wielkości około 8–12 mm (przed wystąpieniem dymorfizmu płciowego). Wykonano trzy serie testowe dla każdego roztworu. Test prowadzono przez 96 godzin, przyjmując jako kryterium oceny śmiertelność osobników w zależności od czasu ekspozycji w odpowiednich roztworach.

WYNIKI

BADANIE BIODEGRADACJI

Badanie przesiewowe

W warunkach prowadzenia testu przesiewowego po 26 dniach Aminopielik 720 i kwas 2,4-D uległy rozkładowi odpowiednio w 31,6 i 62,4%, podczas gdy substancja referencyjna – benzoosan sodu w tym samym czasie rozkładał się w 95% (Rys. 1).

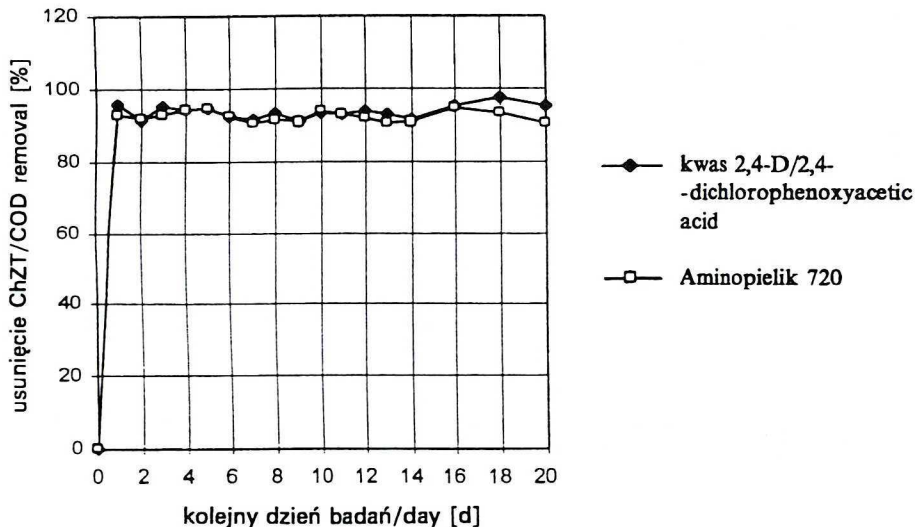


Rys. 1. Biodegradacja badanych preparatów w teście przesiewowym
Biodegradation of investigated preparations during OECD 301E test

Uznano, że Aminopielik był odporny na biodegradację pierwotną, a kwas 2,4-D ulegał częściowemu rozkładowi w warunkach testu. Przeprowadzone badania pozwoliły na obserwację, że mimo iż obydwa preparaty zawierały ten sam czynnik aktywny, czyli 2,4-D, to ulegały rozkładowi z różną szybkością. Sama substancja aktywna uległa po 28 dniach rozkładowi w dwa razy większym stopniu niż preparat użytkowy. Należy przy tym zauważyć, że w ciągu pierwszych 18 dni testu różnice w szybkości rozkładu 2,4-D i Aminopielika nie były aż tak wyraźne. W tym czasie usunięcie ChZT było w układzie z kwasem 2,4-D zaledwie o kilka (3–8%) wyższe niż w układzie z Aminopielikiem. Wykonane badania wskazują na konieczność przeprowadzania testów na gotowych preparatach dostępnych w handlu, a nie na samych substancjach aktywnych, gdyż zawarte w gotowych formułacjach domieszki mogą w znaczącym stopniu zmieniać właściwości badanego preparatu.

Badanie potwierdzające

Po przeprowadzeniu badań biodegradacji preparatów w warunkach symulujących pracę biologicznej oczyszczalni ścieków otrzymano następujące wyniki: kwas 2,4-D uległ rozkładowi w 95%, natomiast Aminopielik 720 w 90%. Rozkład preparatów w teście potwierdzającym obrazuje rysunek 2.



Rys. 2. Biodegradacja badanych preparatów w teście potwierdzającym
Biodegradation of investigated preparation during OECD 303A test

W równoległym pracującym układzie kontrolnym zasilanym syntetycznymi ściekami o charakterze gospodarczo-bytowym związki organiczne z tych ścieków usuwane były w 93%. Stwierdzono zatem, że badane preparaty ulegały biologicznemu rozkładowi i można je uznać za podatne na biodegradację właściwą. Fakt dużej podatności fenoksyherbicydów na rozkład biologiczny metodą osadu czynnego nie był dotychczas interpretowany. Należy przypuszczać, że podatność na rozkład tych związków związana może być z tym, że kwasy fenoksyoctowe przypominają budową auksyny, będące produktem metabolizmu tryptofanu w organizmach zwierzęcych oraz organizmie człowieka [8]. Obecność związków o podobnej budowie w typowych ściekach może wykształcać u mikroorganizmów mechanizmy ochronne, pozwalające na ich unieszkodliwianie bądź usuwanie do środowiska.

BADANIA TOKSYCZNOŚCI

Badanie toksyczności ostrej roztworów pobiodegradacyjnych na rozwielitce *Daphnia magna* i rybach *Lebistes reticulatus*

Wyniki testów prowadzonych na *Daphnia magna* i *Lebistes reticulatus* zawierają tabele 1 (dla roztworów po badaniach przesiewowych) i 2 (dla roztworów po badaniach potwierdzających).

Tabela 1. Wyniki testu toksyczności ostrej roztworów uzyskanych po badaniach przesiewowych dla *Lebistes reticulatus* i *Daphnia magna*Toxicity of degradation products obtained in OECD 301E test to *Lebistes reticulatus* and *Daphnia magna*

Preparat Preparation	Śmiertelność <i>Lebistes reticulatus</i> w roztworze 100% [%] Mortality of <i>Lebistes reticulatus</i> in 100% solution	Śmiertelność <i>Lebistes reticulatus</i> w roztworze 50% [%] Mortality of <i>Lebistes reticulatus</i> in 50% solution	Śmiertelność <i>Daphnia magna</i> w roztworze 100% [%] Mortality of <i>Daphnia magna</i> in 100% solution
Aminopielik 720	0 (96 h)	0 (96 h)	100 (96 h)
Kwas 2,4-D 2,4-dichlorophenoxyacetic acid	100 (24 h)	20 (24 h)	100 (24 h)
Kontrola Control	0 (96 h)	0 (96 h)	0 (96 h)

Tabela 2. Wyniki testu toksyczności ostrej roztworów pobiodegradacyjnych uzyskanych w teście potwierdzającym dla *Lebistes reticulatus* i *Daphnia magna*Toxicity of degradation products obtained in OECD 303A test to *Lebistes reticulatus* and *Daphnia magna*

Preparat Preparation	Śmiertelność <i>Lebistes reticulatus</i> po 96 h [%] Mortality of <i>Lebistes reticulatus</i> after 96 h [%]	Śmiertelność <i>Daphnia magna</i> po 96 h [%] Mortality of <i>Daphnia magna</i> after 96 h [%]
Aminopielik 720	0	0
Kwas 2,4-D 2,4-dichlorophenoxyacetic acid	0	0
Kontrola Control	0	0

Uzyskane dane pozwalają stwierdzić, że produkty rozkładu Aminopielika po badaniach przesiewowych nie wykazywały toksyczności ostrej dla ryb. Produkty rozkładu po badaniach przesiewowych kwasu 2,4-D powodowały natomiast 100% śmiertelność *Lebistes reticulatus* po 24-godzinnej ekspozycji. Dla *Daphnia magna* produkty biodegradacji Aminopielika uzyskane w badaniach przesiewowych powodowały 100% śmiertelność skorupiaków po 96 h, produkty rozkładu substancji aktywnej – kwasu 2,4-D powodowały 100% śmiertelność już po 24 h. Wartości pH w roztworach pobiodegradacyjnych uzyskanych w badaniach przesiewowych wyniosły: około 5,0 dla Aminopielika, i 4,4 dla kwasu 2,4-D. Tak niskie pH może powodować nie tylko zmiany toksyczności

trucizn, ale i samo – niezależnie od obecności substancji szkodliwych – toksycznie oddziaływać na żywe organizmy. Jak podaje Przeździecki [18] zakres pH 4–4,5 jest silnie szkodliwy dla młodych ryb. W roztworach, w których zaobserwowano silną toksyczność w stosunku do *Lebistes reticulatus*, wartość pH mieściła się właśnie w wymienionym powyżej zakresie. Niska wartość odczynu była również prawdopodobnie główną przyczyną śmiertelności dafni. Roztwory uzyskane w wyniku przeprowadzenia testu potwierdzającego nie były toksyczne w stosunku do ryb i rozwielitek.

Test inhibicji wzrostu glonów *Scenedesmus quadricauda*

Wyniki uzyskane w teście zestawiono w tabeli 3. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że roztwory pobiodegradacyjne uzyskane w wyniku testów potwierdzających i przesiewowych nie były toksyczne w stosunku do *Scenedesmus quadricauda*. Nie obserwowano również zmiany rozmiarów i kształtu komórek podczas testu w porównaniu z próbą kontrolną.

Tabela 3. Stopień zahamowania wzrostu glonów *Scenedesmus quadricauda* pod wpływem produktów biodegradacji kwasu 2,4-D i Aminopielika 720

Effect of biodegradation intermediates of 2,4-D and Aminopielik 720 on *Scenedesmus quadricauda* growth inhibition ratio

Rodzaj preparatu Preparation	Zahamowanie wzrostu glonów w stosunku do kontroli w badaniu po teście przesiewowym [%] Algae growth inhibition in relation to control (screening test)	Zahamowanie wzrostu glonów w stosunku do kontroli w badaniu po teście potwierdzającym [%] Algae growth inhibition in relation to control (confirmatory test)
Kwas 2,4-D 2,4-dichlorophenoxyacetic acid	4	6
Aminopielik 720	10	8

WNIOSKI

Badane preparaty ulegały biodegradacji w warunkach prowadzenia testu potwierdzającego. Podatność na biologiczny rozkład preparatów determinowały zastosowane w preparacie handlowym rozpuszczalniki i wypełniacze, co wskazuje na konieczność przeprowadzania badań na preparatach użytkowych.

Produkty biodegradacji obydwu preparatów uzyskane w teście potwierdzającym nie były toksyczne dla organizmów wodnych, natomiast toksyczność produktów biodegradacji uzyskanych po teście przesiewowym najprawdopodobniej spowodowana była niecałkowitym usunięciem preparatów oraz niskim pH roztworów.

LITERATURA

- [1] Abdel-Hamid M.J.: *Development and Application of a Simple Procedure for Toxicity Testing Using Immobilized Algae*, *Wat. Sci. Tech.*, **6**, 129–138 (1996).
- [2] Anonim: *Wytyczne OECD do badań substancji chemicznych, przekład oficjalnej wersji wydania w języku angielskim*, IMPiZŚ, Sosnowiec 1997.
- [3] Arias E.: *Effects of the Phenoxy Herbicide MCPA on SCE Frequency and Cell Kinetics in Developing Chick Embryos*, *Ecotoxicol. & Environ. Saf.*, **33**, 25–29 (1996).
- [4] Bernardini G., E. Bolzacchini, M. Orlandi: *The Reactivity and Fate of a Phenoxyacetic Herbicide: 4-Chloro-2-Methylphenoxyacetic Acid (MCPA) in the Environment*, *Wat. Sci. Tech.*, **32**, 9–10, 205–209 (1995).
- [5] Bernardini G., O. Spinelli, C. Presutti: *Evaluation of the Developmental Toxicity of the Pesticide MCPA and Its Contaminants Phenol and Chlorocresol*, *Environ. Toxicol. & Chem.*, **15**, 5, 754–760 (1996).
- [6] Bogacka T.: *Kinetyka rozkładu wybranych pestycydów w środowisku wodnym*, *Roczniki PZH*, t. XXXIII, **4**, 281–287 (1982).
- [7] Caux P.Y., L. Ménard, R.A. Kent: *Comparative Study of the Effects of MCPA, Butylate, Atrazine and Cyanazine on *Selenastrum capricornutum**, *Environ. Pollut.*, **92**, 2, 219–225, (1996).
- [8] Duda J., S. Gumiński, *Fizjologia roślin*, PWN, Warszawa 1970.
- [9] Fargašová A.: *Comparative study of plant growth hormone (herbicide) toxicity in various biological subjects*, *Ecotoxicol. & Environ. Saf.*, **29**, 359–364 (1994).
- [10] Fochtman P., A. Raszka: *Wpływ wybranych pestycydów (karbendazymu i MCPA) na rozrodczość *Daphnia magna* (Straus)*, [w:] *Materiały XVI Sympozjum: Badania Toksykologiczne w Ochronie Wód organizowanej przez Polski Komitet IAWQ*, Warszawa 1997.
- [11] Graczyk M., Z. Sadecka: *Persystencja i toksyczność wybranych insektycydów w warunkach fermentacji metanowej*, Wydawnictwo Wyższej Szkoły Inżynierskiej w Zielonej Górze, Zielona Góra 1993.
- [12] Hermanowicz W.: *Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków*, Arkady, Warszawa 1999.
- [13] Oh K., O. Touovinen: *Bacterial degradation of phenoxy herbicide mixtures 2,4-D and MCPP*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **47**, 222–229 (1991).
- [14] Okay O., A. Gaines: *Toxicity of 2,4-D acid to phytoplankton*, *Wat. Res.*, **30**, 3, 668–696 (1996).
- [15] Pawlikowska D.: *Współczesne chemiczne i biologiczne metody unieszkodliwiania pestycydów w ściekach*, *Przem. Chem.* **66**, 6, 270–275 (1987).
- [16] PN-90/C-04610/03 – Woda i ścieki. Badania toksyczności zanieczyszczeń dla organizmów wodnych. Oznaczanie toksyczności ostrej na rozwielitce *Daphnia magna* Straus.
- [17] PN-90/C-04610/03 – Woda i ścieki. Badania toksyczności zanieczyszczeń dla organizmów wodnych. Oznaczanie toksyczności ostrej na gupiku *Lebistes reticulatus*.
- [18] Przędzicki Z.: *Biologiczne skutki chemizacji środowiska*, PWN, Warszawa 1984.
- [19] Räsänen L., M.L. Hattula: *The Mutagenicity of MCPA and its Soil Metabolites, Chlorinated Phenols, Catechols and Some Widely Used Slimicides in Finland*, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **18**, 5, 565–571 (1977).
- [20] Riviere J.L., A. Devaux, O. Gonin: *Effect of β -Naphthoflavone and MCPA on Liver and Kidney drug-metabolizing enzymes from the Carp, *Cyprinus carpio**, *Ecotoxicol and Environ. Safety*, **19**, 276–284 (1990).
- [21] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej z dnia 12 marca 1996 „W sprawie szczegółowych zasad wydawania zezwoleń na dopuszczenie środków ochrony roślin do obrotu i stosowania”, DZU, nr 48, poz. 212, 1996.
- [22] Różański L.: *Vademecum pestycydów*, Agra – Enviro Lab., Poznań 1996.

- [23] Vismara C., A. Garavaglia: *4-Chloro-2-Methylphenoxyacetic Acid Containing Compounds. Genotoxicity Evaluation by Mutatox Assay and Comparision with Acute (Microtox) and Embryo (Fetax) Toxicities*, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **58**, 582–588 (1997).
- [24] Wiktor J.: *Toksyczność wybranych pestycydów w środowisku wodnym*, [w:] Materiały sympozjum: Biodegradacja i toksyczność substancji zanieczyszczających wody powierzchniowe, Radziejowice 1981.
- [25] Woin P., C. Brönmark: *Effect of DDT and MCPA (4-Chloro-2-Methylphenoxyacetic Acid) on reproduction of the pond snail Lymnea Stagnalis L.*, Bull. Environ. Contam. Toxicol., **48**, 7–13 (1992).
- [26] Zavanella T., N.P. Zaffaroni, E. Arias: *Evaluation of Carcinogenic Risk of the Phenoxyherbicide MCPA to an Urodele Amphibian*, Ecotoxicology and Environ Safety, **16**, 114–122 (1988).

Wpłynęło: 10 stycznia 2000, zaakceptowano do druku: 14 czerwca 2000.