

Inga Mrzyk

**OCENA TOKSYKOLOGICZNA  
KWASU 2,4-DICHLOROFENOKSYOCTOWEGO  
I 4-CHLORO-2-METYLOFENOKSYOCTOWEGO  
W BADANIU TOKSYCZNOŚCI PODPRZEWLEKŁEJ.**

Praca wykonana  
w Katedrze i Zakładzie Toksykologii  
Uniwersytetu Medycznego  
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu  
pod kierunkiem prof. dr hab. Barbary Zielińskiej – Psuja  
i przedstawiona na Radzie Wydziału Farmaceutycznego  
jako rozprawa doktorska

Poznań 2011

*Składam serdeczne podziękowania  
**Pani prof. dr hab. Barbarze Zielińskiej-Psuj**  
za merytoryczną opiekę i pomoc w trakcie  
przygotowania niniejszej pracy*

*Serdeczne podziękowania składam:*

***Kierownictwu Instytutu Przemysłu Organicznego  
Oddział w Pszczynie***

*za umożliwienie wykonania niniejszych badań,*

***Pracownikom Zakładu Badań Toksykologicznych***

*za pomoc w trakcie prowadzonych badań*

*oraz wszystkim osobom, które przyczyniły się do*

*powstania niniejszej pracy doktorskiej*

---

**Słowa kluczowe:**

kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy, kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy, toksyczność podprzewlekła, zachowanie się zwierząt

**Keywords:**

2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 4-chloro-2-methyl phenoxyacetic acid, subchronic toxicity, animals behavior,

---

## WYKAZ ZASTOSOWANYCH SKRÓTÓW

2,4-D	kwask 2,4-dichlorofenoksyoctowy
2,4-D-Ach	2,4-dichlorofenoksyacetylocholina
2,4-D-CoA	2,4-dichlorofenoksyacetyl-S-acyl-CoA
2,4-DCP	2,4-dichlorofenol
2,4-D DMA	sól dimetyloaminowa kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego
5-HIAA	kwask 5-hydroksyindoloctowy
5-HT	5-hydroksytryptamina, serotoninina
A	absorbancja
Acetylo-CoA	acetylokoenzym A
ADI	Acceptable Daily Intake – Dopuszczalne Dienne Pobranie
ALT	aminotransferaza alaninowa
AP	fosfataza alkaliczna
AST	aminotransferaza asparaginianowa
ATP	adenozynotrifosforan
BUN	azot mocznika krwi
C	stężenie
CHE	esteraza cholesterolowa
CHO	oksydaza cholesterolowa
DDP	Dopuszczalne Dienne Pobranie
DNA	kwask deoksyrybonukleinowy
DSB	Dopuszczalne Stężenie Biologiczne
EDTA	kwask etylenodiaminotetraoctowy
GLDH	dehydrogenaza glutaminianowa
GOD	oksydaza glukozyowa
GSH	glutation zredukowany
GSSH	glutation utleniony
h	godzina
HMCPA	kwask 4-chloro-2-hydroksymetylofenoksyoctowy
HVA	kwask homowaniliowy
LD <sub>50</sub>	dawka powodująca śmierć 50% zwierząt biorących udział w doświadczeniu; dawka śmiertelna medialna

---

LDH	dehydrogenaza mleczanowa
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level – najniższy obserwowany poziom działania szkodliwego
LOEL	Lowest Observed Effect Level- najniższy poziom narażenia, przy którym obserwuje się zmiany w badanych parametrach
m.c.	masa ciała
MCH	średnia masa hemoglobiny
MCHC	średnie stężenie hemoglobiny
MCPA	kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy
MCV	średnia objętość krwinki czerwonej
MDH	dehydrogenaza jabłczanowa
NAD <sup>+</sup>	dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy forma utleniona
NADH	dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy forma zredukowana
NDP	Najwyższe Dopuszczalne Pozostałości
NDS	Najwyższe Dopuszczalne Stężenie w środowisku pracy
NDSch	Najwyższe Dopuszczalne Stężenie Chwilowe w środowisku pracy
NDSP	Najwyższe Dopuszczalne Stężenie Pułapowe w środowisku pracy
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level – najwyższy poziom narażenia, przy którym nie obserwuje się efektów szkodliwych
NOEL	No Observed Effect Level – najwyższy poziom narażenia, przy którym nie obserwuje się żadnych zmian w badanych parametrach
OECD	Organization for Economic Cooperation and Development – Organizacja Współpracy Ekonomicznej i Rozwoju
OUN	ośrodkowy układ nerwowy
POD	peroksydaza
ppm	parts per million; $1 \times 10^{-6}$
SOD	dysmutaza ponadtlenkowa
T3	trójjodotyronina
T4	tyroksyna
U	jednostka aktywności enzymatycznej (1U=1μmol/1 min)

---

## SPIS TREŚCI

1.	WSTĘP .....	10
2.	CZEŚĆ TEORETYCZNA .....	12
2.1.	Zagrożenia związane ze stosowaniem środków ochrony roślin .....	12
2.2.	Zatrucia przewlekłe .....	14
2.3.	Ocena toksykologiczna środków ochrony roślin .....	15
2.4.	Zastosowanie kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) i kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego (MCPA).....	19
2.5.	Struktura chemiczna i właściwości fizykochemiczne 2,4-D i MCPA .....	21
2.6.	Mechanizm toksycznego działania 2,4-D i MCPA .....	22
2.7.	Toksyczność 2,4-D i MCPA .....	25
3.	ZAŁOŻENIA I CEL PRACY .....	30
4.	CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA .....	32
4.1.	Materiały i metody .....	32
4.1.1.	Badane materiały .....	32
4.1.2.	Zwierzęta doświadczalne .....	32
4.1.3.	Warunki przetrzymywania zwierząt .....	33
4.1.4.	Stosowane stężenia i liczba zwierząt w doświadczeniach .....	33
4.1.5.	Pasza i woda .....	34
4.2.	Przebieg doświadczenia .....	35
4.2.1.	Badania kliniczne .....	35
4.2.1.1.	Obserwacje kliniczne .....	35
4.2.1.2.	Masa ciała .....	36
4.2.1.3.	Spożycie paszy .....	36
4.2.2.	Badania zachowania się zwierząt .....	36
4.2.2.1.	Obserwacja zwierząt w otwartym polu .....	36
4.2.2.2.	Ocena reakcji czuciowo-ruchowych zwierząt na bodźce .....	37
4.2.2.3.	Pomiar siły chwytności kończyn przednich i tylnych .....	37
4.2.2.4.	Pomiar aktywności ruchowej .....	38
4.2.3.	Badania kliniczno-chemiczne .....	38
4.2.3.1.	Badania hematologiczne .....	38
4.2.3.2.	Badania biochemiczne .....	39
4.2.3.2.1.	Oznaczenie stężenia białka całkowitego .....	40
4.2.3.2.2.	Oznaczenie stężenia albuminy .....	40
4.2.3.2.3.	Oznaczenie stężenia cholesterolu całkowitego .....	41

---

4.2.3.2.4.	Oznaczanie stężenia azotu mocznika (BUN) .....	41
4.2.3.2.5.	Oznaczanie stężenia kreatyniny .....	42
4.2.3.2.6.	Oznaczanie stężenia glukozy .....	43
4.2.3.2.7.	Oznaczanie aktywności aminotransferazy asparaginianowej (AST) .....	43
4.2.3.2.8.	Oznaczanie aktywności aminotransferazy alaninowej (ALT) .....	44
4.2.3.2.9.	Oznaczanie aktywności fosfatazy zasadowej (AP) .....	45
4.2.3.2.10.	Oznaczanie elektrolitów Na <sup>+</sup> i K <sup>+</sup> .....	45
4.2.4.	Badania patomorfologiczne .....	46
4.2.4.1.	Badania makroskopowe .....	46
4.2.4.2.	Masa narządów wewnętrznych .....	46
4.2.4.3.	Badania mikroskopowe .....	46
4.3.	Obliczenia statystyczne .....	46
5.	WYNIKI .....	48
5.1.	Badania kliniczne .....	48
5.1.1.	Objawy kliniczne .....	48
5.1.2.	Śmiertelność .....	49
5.1.3.	Masa ciała .....	52
5.1.4.	Spożycie paszy .....	60
5.2.	Badania zachowania się zwierząt .....	65
5.2.1.	Obserwacja zwierząt w otwartym polu .....	65
5.2.2.	Ocena reakcji czuciowo-ruchowych na bodźce .....	79
5.2.3.	Siła chwytności kończyn przednich i tylnych .....	82
5.2.3.1.	Siła chwytności kończyn przednich .....	82
5.2.3.2.	Siła chwytności kończyn tylnych .....	85
5.2.4.	Aktywność ruchowa .....	88
5.3.	Badania kliniczno-chemiczne .....	106
5.3.1.	Badania hematologiczne .....	106
5.3.2.	Badania szpiku kostnego .....	113
5.3.3.	Badania biochemiczne .....	123
5.4.	Badania patomorfologiczne .....	130
5.4.1.	Zmiany makroskopowe .....	130
5.4.2.	Masa narządów wewnętrznych .....	130
5.4.3.	Zmiany mikroskopowe .....	140
6.	DYSKUSJA .....	143
7.	WNIOSKI .....	162



---

<b>8.</b>	<b>STRESZCZENIE</b> .....	164
<b>9.</b>	<b>PIŚMIENNICTWO</b> .....	172
<b>10.</b>	<b>SPIS TABEL</b> .....	186
<b>11.</b>	<b>SPIS RYCIN</b> .....	193
Załącznik 1	Klasyfikacja wyników szczegółowych obserwacji klinicznych zwierząt	194
Załącznik 2	Klasyfikacja wyników obserwacji klinicznych zwierząt w otwartym polu	197
Załącznik 3	Kryterium wyników oceny reakcji czuciowo-ruchowych zwierząt	199

## 1. WSTĘP

Wśród zagrożeń zdrowotnych powodowanych przez substancje chemiczne, na szczególną uwagę zasługują niebezpieczeństwa związane ze stosowaniem chemicznych środków ochrony roślin. Stanowią one zagrożenie dla ludzi bezpośrednio stykających się ze środkiem przy jego produkcji, dystrybucji, przechowywaniu i stosowaniu, stwarzając równocześnie zagrożenie odnoszące się do całej populacji narażonej pośrednio na działanie tych związków w wyniku skażenia nimi wody oraz żywności. W związku z tym najważniejszym problemem badawczym obecnie stała się ocena skutków działania środków ochrony roślin, pojawiających się z dużym opóźnieniem po ekspozycji i najczęściej po wielokrotnym pobraniu małych dawek.

W dostępnych na rynku polskim preparatach chwastobójczych powszechnie wykorzystuje się, jako substancje aktywne, kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) oraz kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA). Obie pochodne kwasu fenoksyoctowego niszczą rośliny dwuliścienne w uprawach zbożowych, a także na pastwiskach, trawnikach, polach golfowych oraz w parkach. W niskich dawkach stosowane są również jako regulatory wzrostu, zmniejszające przedwczesne opadanie owoców oraz zwiększające trwałość przechowywanych owoców. MCPA pod względem mechanizmu działania nie różni się prawie od 2,4-D z tym, że wykazuje nieco mniejszą fitotoksyczność w stosunku do roślin uprawnych. Ponadto, MCPA wyróżnia się lepszą selektywnością i szerszym spektrum działania.

Tak szeroka skala stosowania omawianych związków stwarza potencjalne niebezpieczeństwo wystąpienia niekorzystnych skutków dla zdrowia człowieka i dla środowiska. Zatem z punktu widzenia bezpieczeństwa ważna jest ocena ryzyka, zarówno w odniesieniu do narażenia zawodowego osób stosujących środki ochrony roślin na bazie 2,4-D i MCPA, jak i konsumentów narażonych na pozostałości substancji czynnych w wodzie i żywności.

W szacowaniu ryzyka chemicznych środków ochrony roślin dla zdrowia ludzi i zwierząt zasadniczą rolę odgrywają wyniki badań toksykometrycznych prowadzonych na zwierzętach. Jednym z podstawowych badań jest ocena toksyczności podprzewlekłej, której zasadniczym celem jest ustalenie poziomu narażenia bez obserwowanego działania szkodliwego (NOAEL), na podstawie którego, po uwzględnieniu masy ciała człowieka i współczynnika bezpieczeństwa, można wyznaczyć dopuszczalne dzienne pobranie (ADI),

czyli taką ilość danej substancji, która, pobierana codziennie przez okres całego życia, nie stworzy zagrożenia dla zdrowia konsumenta. Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej są również podstawą do podjęcia dalszych, szczegółowych badań nad wpływem badanych substancji na organizmy.

2,4-D i MCPA należą do środków ochrony roślin produkowanych od lat. Obydwa związki poddane zostały wielu badaniom toksykologicznym, które często były oparte o niejednorodne metody badawcze utrudniające interpretację uzyskanych wyników. Wprowadzenie w latach 80-tych ubiegłego stulecia zunifikowanych metod oceny toksyczności, w tym Wytycznych OECD do Badań Substancji Chemicznych oraz zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej ujednoliciło stosowane metody badawcze, a tym samym pozwoliło na uzyskanie porównywalnych wyników tych badań niezależnie od miejsca ich przeprowadzenia.

Ponadto badane uprzednio substancje, produkowane wg starych technologii zawierały znacznie wyższy poziom zanieczyszczeń, a także niższą zawartość składników czynnych, co mogło istotnie wpłynąć na ich właściwości toksykologiczne.

Obowiązujące aktualnie wytyczne, dotyczące sposobu oceny działania toksycznego związków chemicznych, zakładają nie tylko stosowanie zunifikowanych metod badawczych z uwzględnieniem zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej, ale zwracają również szczególną uwagę na działanie neurotoksyczne oraz konieczność wyznaczenia bezpiecznych poziomów narażenia.

Wymienione powyżej fakty uzasadniają podjęte w niniejszej pracy badania toksyczności podprzewlekłej 2,4-D i MCPA, przeprowadzone w oparciu o międzynarodowo akceptowane wytyczne metodyczne w laboratorium posiadającym certyfikat Dobrej Praktyki Laboratoryjnej.

## 2. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

### 2.1. Zagrożenia związane ze stosowaniem środków ochrony roślin

Spośród wielu związków zanieczyszczających środowisko istotną grupę stanowią chemiczne środki ochrony roślin, które charakteryzują się dużą aktywnością biologiczną i mogą oddziaływać szkodliwie na człowieka i inne organizmy (Siemiński, 2001). Powszechne stosowanie środków ochrony roślin zrewolucjonizowało gospodarkę rolną i przyniosło wiele korzyści. Środki ochrony roślin zwiększyły produkcję rolną i umożliwiły wytwarzanie żywności o lepszej jakości, a w efekcie uzyskiwanie wyższych plonów na mniejszym areale. W miarę upływu czasu i postępu wiedzy stosowanie środków ochrony roślin stworzyło wiele nowych i nieznanych problemów zmuszających do oceny nie tylko korzystnego ich działania, ale również doraźnych i odległych ujemnych skutków wynikających z ich stosowania. Nagromadzenie dużej ilości tych związków w przyrodzie, a także skażona przez nie żywność i woda, mogą być przyczyną szeregu zaburzeń stanu zdrowia narażonej populacji, również tych ujawniających się w postaci skutków odległych (Chruścielska, 1992). Wymienione powyżej fakty spowodowały, że środki ochrony roślin stały się przedmiotem szerokich, wielokierunkowych badań ekologicznych, epidemiologicznych, a przede wszystkim toksykologicznych (Brzeziński, 2002b).

Środki ochrony roślin zaliczane są do związków chemicznych o wysokim stopniu ryzyka zagrożenia toksykologicznego. Użytkowanie ich w każdym przypadku wymaga rozważenia i wyboru między spodziewanymi korzyściami a zagrożeniem. Potencjalne niebezpieczeństwa dla człowieka i biosfery związane ze stosowaniem środków ochrony roślin są wielokierunkowe. Wynikają one z działania substancji aktywnych, izomerów stanowiących ich zanieczyszczenia, użytkowych postaci, metabolitów powstających w organizmie lub w wyniku transformacji środowiskowej. Nie bez znaczenia jest synergizm ich działania z rozpuszczalnikami, lekami, składnikami organizmu i środowiska, co często sprzyja wielokrotnemu zwiększeniu ich toksyczności (Brzeziński, 2002b).

Stosowanie środków ochrony roślin w produkcji rolniczej jest niezbędne, dlatego konieczne są wszelkie doraźne i długoterminowe działania zapobiegające zatruciom oraz leczenie tych już zaistniałych. Zapobieganie szkodliwemu działaniu środków ochrony roślin obejmuje trzy kierunki działania: rozwijanie i przestrzeganie zasad Dobrej Praktyki Rolniczej, stałą aktualizację i rozszerzanie przepisów prawnych oraz badania doświadczalne.

Zasady Dobrej Praktyki Rolniczej stosowania środków ochrony roślin odnoszą się nie tylko do sfery ich produkcji, ale również do odpowiedniego przygotowania postaci

użytkowych oraz sposobów ich właściwego stosowania. W zakresie syntezy i produkcji zasady te obejmują hermetyzację procesów przemysłowych, wyznaczenie najwyższych dopuszczalnych stężeń w powietrzu oraz inne działania mające na celu ochronę zdrowia ludzi zatrudnionych w przemyśle i rolnictwie.

W obszarze zastosowań praktycznych Dobra Praktyka Rolnicza polega na zmniejszeniu zagrożenia dla zdrowia ludzi i zwierząt oraz środowiska przy jednoczesnym utrzymaniu dużej skuteczności produkcji. Założeniem ogólnym jest stosowanie środków ochrony roślin wyłącznie w przypadkach niezbędnych. Poprzedzić je powinno szczegółowe rozeznanie terenowe określające zakres, sposób i rodzaj związku zalecanego do stosowania. Rozwijający się system zintegrowanej produkcji rolniczej ukierunkowany jest na uzyskanie plodów rolnych o najwyższych wartościach biologicznych i odżywczych, ale jednocześnie bezpiecznych dla zdrowia ludzi. W ramach tego systemu kontroluje się cały proces produkcyjny aż do chwili zbiorów. Produkty roślinne poddaje się ścisłej kontroli pod kątem pozostałości środków ochrony roślin, nawozów oraz innych substancji niebezpiecznych dla zdrowia. Podstawą systemu integrowanej produkcji jest stosowanie tylko w uzasadnionych sytuacjach środków ochrony roślin w ilościach jak najmniej zagrażających zdrowiu ludzi i zwierząt oraz środowisku naturalnemu.

Regulacja prawna zagadnień związanych z użytkowaniem środków ochrony roślin warunkuje skuteczność działań zapobiegawczych. Wymagania i przepisy związane z ich rejestracją i dopuszczeniem do obrotu stanowią jej pierwsze ogniwo, których podstawą jest wszechstronna ocena substancji czynnej, przeprowadzona zgodnie z oficjalnie uznanymi i zalecanymi metodami oraz oparta na właściwych modelach doświadczalnych. Substancja czynna jest oceniana pod kątem właściwości fizycznych i chemicznych, toksyczności, ekotoksyczności oraz pozostałości. Szczególne znaczenie dla zdrowia człowieka ma ocena długotrwałego wpływu stosowania małych dawek łącznie z badaniami skutków odległych.

Wobec szerokiego kontaktu z środkami ochrony roślin ważne jest opracowanie systemu stałego monitorowania wielkości narażenia ludzi w środowisku pracy i życia. Obecne międzynarodowe i regionalne działania zmierzają do zabezpieczenia i określenia realnego zagrożenia ze strony zanieczyszczonej żywności. Podstawą tych starań jest wyznaczenie i przestrzeganie okresów karencji, określenie wartości dopuszczalnej podaży dobowej i możliwych do tolerowania pozostałości środków ochrony roślin w żywności.

Na podstawie wartości dopuszczalnej dziennej podaży środka i średniego spożycia produktu żywnościowego przez dorosłego człowieka obliczane są najwyższe dopuszczalne

pozostałości (NDP) środków ochrony roślin w poszczególnych surowcach i produktach spożywczych.

Najwyższe dopuszczalne pozostałości środka ochrony roślin w produkcie spożywczym (NDP) nie może przekroczyć dopuszczalnego dziennego pobrania (DDP, ADI – acceptable daily intake) dla ludzi. DDP to maksymalna ilość substancji, jaką według dotychczasowego stanu wiedzy toksykologicznej może przyjmować człowiek codziennie, ze wszystkich źródeł ekspozycji w ciągu całego życia, najprawdopodobniej bez szkody dla zdrowia.

## **2.2.   Zatrucia przewlekłe**

Problemem współczesnej toksykologii stały się zatrucia przewlekłe charakteryzujące się długotrwałym, nie zamierzonym oddziaływaniem małych dawek związków chemicznych, w tym środków ochrony roślin, na duże populacje ludzkie (Brzeziński, 2002a). Skutki działania toksycznego występujące i rozwijające się po narażeniu powtarzanym wynikają głównie z kumulacji związku toksycznego lub jego metabolitów w organizmie. Często ujawniają się po okresie utajnienia (latencji), który może być bardzo długi, zwłaszcza wówczas, gdy dawka substancji chemicznej jest bardzo mała (Chmielnicka, 2002).

Zatrucia przewlekłe mogą mieć charakter zawodowy i środowiskowy. Zatrucia o charakterze zawodowym występują u określonych grup pracowników zakładów produkujących środki ochrony roślin oraz osób je stosujących. U tych grup ludzi badania epidemiologiczne wykazują zwiększoną częstość występowania zaburzeń neurologicznych, sercowo - naczyniowych i metabolicznych, a także chorób nowotworowych, wad wrodzonych i uczuleń. Przypadki te mają ograniczony zasięg, są łatwiejsze do zidentyfikowania i profilaktyki.

Zasadnicze znaczenie odgrywają zatrucia przewlekłe o etiologii środowiskowej, które dotyczą całej populacji bez względu na płeć, wiek, stan zdrowia czy rejon geograficzny (Brzeziński i Szutowski, 2005). Szkodliwy wpływ małych dawek środków ochrony roślin przy długotrwałym narażeniu jest zróżnicowany. Obserwowane skutki mają w większości charakter tzw. działań niepożądanych i odległych, stąd też w ich ocenie zasadnicze znaczenie mają działania genotoksyczne, neurotoksyczne, immunologiczne oraz zaburzenia biochemiczne procesów regulacji hormonalnej i enzymatycznej odpowiedzialne za utrzymanie homeostazy w organizmie. Szczególne znaczenie przywiązuje się do możliwości

ich działania neurotoksycznego (Brzeziński, 2002b; Bolognesi i Morasso, 2000; Axelrad i wsp., 2002; Bolognesi, 2003; Hernandez i wsp., 2005).

Występowanie środowiskowych zatrucić środkami ochrony roślin jest uzależnione od ich toksyczności, trwałości oraz czasem zalegania w środowisku (persystencji) a także możliwości i zdolności do przemieszczania się i wytwarzania zamkniętego cyklu obiegu w przyrodzie (Brzeziński, 2002b). Okres półtrwania środków ochrony roślin w środowisku zależy od wielu czynników obejmujących m.in. właściwości klimatu, rodzaj i strukturę gleby, właściwości chemiczne, czy też wielkości dawki stosowanej w praktyce rolniczej. Obecnie środki ochrony roślin wytwarzane są tak, aby w naturalny sposób ulegały biodegradacji w środowisku, dlatego też większość aktualnie stosowanych środków ochrony roślin wykazuje ograniczoną trwałość w środowisku oraz w organizmach roślinnych i zwierząt. Jest to niezwykle ważna cecha tych związków, gdyż decyduje z jednej strony o skutecznym ich działaniu, z drugiej natomiast o ograniczonym wpływie na organizmy, które nie są obiektem zwalczania. Trwałość w środowisku jest najistotniejszym czynnikiem decydującym o zakresie ich stosowania i dopuszczenia do użytku (Róžański, 1998).

### **2.3. Ocena toksykologiczna środków ochrony roślin**

Stosowane powszechnie na świecie zasady bezpiecznego wykorzystania substancji chemicznych, a w tym środków ochrony roślin, są konsekwencją odkrytego już w XIV w. przez Paracelsusa podstawowego prawa toksykologii „Wszystko jest trucizną i nic nie jest trucizną – to dawka czyni truciznę”. W myśl tej zasady, nie ma substancji bezpiecznych, a szkodliwe działanie zależy od dawki, która dostanie się do organizmu lub ilości wprowadzonej do środowiska. Stąd też nie dopuszczając do nadmiernego narażenia człowieka lub zbyt dużego zanieczyszczenia środowiska, środki ochrony roślin można stosować względnie bezpiecznie.

Mimo wprowadzenia coraz skuteczniejszych środków ochrony roślin, charakteryzujących się wybiórczym działaniem w małych dawkach, problem ich pozostałości w produktach spożywczych i w wodzie jest nadal aktualny. Głównym źródłem tych związków a tym samym zagrożeniem dla populacji, jest zanieczyszczona żywność oraz woda. Biorąc pod uwagę konieczność stosowania środków ochrony roślin we współczesnym rolnictwie, jedynym sposobem zabezpieczenia ludności przed niekorzystnymi skutkami narażenia na ich pozostałości są odpowiednie uregulowania prawne (Ludwicki, 2002).



Aktualne rozwiązania prawne obligują do indywidualnej oceny toksykologicznej, zarówno substancji czynnych środków ochrony roślin, jak i samych preparatów, w których skład wchodzi te substancje. Ocena środka ochrony roślin jest dokonywana na podstawie procedury oceny ryzyka, zarówno w odniesieniu do narażenia zawodowego osób stosujących dany środek ochrony roślin, jak i konsumentów narażonych na pozostałości substancji czynnej w żywności (Ludwicki, 2002; Ustawa o ochronie roślin, 2008).

Do identyfikacji zagrożeń związanych z narażeniem na środek ochrony roślin wykorzystuje się wyniki badań toksykometrycznych m.in. wyniki badania toksyczności ostrej, badania toksyczności krótkoterminowej, podprzewlekłej i przewlekłej, genotoksyczności, toksyczności reprodukcyjnej, immunotoksyczności i neurotoksyczności. Wyniki uzyskane w tych badaniach umożliwiają określenie korelacji między dawką a wystąpieniem ujemnych skutków dla zdrowia. Zidentyfikowanie zależności dawka - odpowiedź (ang. dose response relationship) dla tzw. skutków krytycznych jest podstawą do wyznaczenia wartości dopuszczalnych poziomów narażenia człowieka, z zachowaniem odpowiedniego marginesu bezpieczeństwa. Jedną z takich wartości jest ADI. Kolejnym równie ważnym etapem w ocenie ryzyka jest porównanie wielkości dziennego pobrania do wartości ADI w oparciu o wartości najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości (NDP) wyznaczonych na podstawie badań polowych zgodnie z zalecaną przez producenta Dobrą Praktyką Rolniczą (Struciński i wsp., 2006).

W celu prawidłowego oszacowania ryzyka związanego ze stosowaniem środków ochrony roślin wymagana jest ocena ich potencjalnych właściwości szkodliwych dla zdrowia człowieka. Badania dotyczące bezpieczeństwa stosowania środków ochrony roślin prowadzone są od lat, lecz nie były one usystematyzowane, wsparte nowymi metodami badawczymi oraz nowoczesną aparaturą. Ponadto, podejmowane działania nie były międzynarodowo skoordynowane, a wyniki jednolicie oceniane. Początkiem działań mających na celu ujednoczenie oceny bezpieczeństwa stosowania substancji chemicznych było opracowanie i wdrożenie przez Organizację Współpracy Ekonomicznej i Rozwoju (OECD – Organization for Economic Cooperation and Development) w 1981 r. Wytycznych do Badań Substancji Chemicznych. Wytyczne te są na bieżąco aktualizowane i rozszerzane. Aby badania ukierunkowane na ochronę zdrowia człowieka oraz ochronę środowiska prowadzone w oparciu o w/w wytyczne uwiarygodnić, niezależnie od miejsca ich przeprowadzenia, opracowano i wdrożono zasady Dobrej Praktyki Laboratoryjnej. System ten



zapewnia zarówno odpowiednią jakość badań, jak i porównywalność licznych parametrów oznaczonych w takich badaniach.

W ocenie ryzyka stosowania środków ochrony roślin wykorzystuje się wyniki badań toksykologicznych przeprowadzonych zgodnie z Wytycznymi OECD i obejmujących szereg badań po jednokrotnym oraz wielokrotnym podaniu substancji. Badania toksyczności ostrej, dotyczące szkodliwych skutków działania pojedynczych dawek, dostarczają cennych informacji na temat sposobu działania badanej substancji chemicznej, które wykorzystywane są przy ustalaniu kierunku dalszych badań toksykologicznych, dotyczących wielokrotnych podań w określonym przedziale czasowym (badania podprzewlekłe i przewlekłe). Badania toksyczności po narażeniu wielokrotnym prowadzi się w celu ustalenia skutków toksycznych, mogących powstać po wielokrotnym podaniu substancji w małych dawkach, a więc takich, które często nie powodują natychmiastowych skutków toksycznych i często mają charakter opóźnionych efektów działania. Jednym z częściej stosowanych badań oceny toksyczności po narażeniu wielokrotnym są badania toksyczności podprzewlekłej na gryzoniach (Wytyczna OECD 408, 1998), w których ocenianą substancję chemiczną podaje się zwierzętom doświadczalnym przez okres 90 dni, co stanowi w przybliżeniu 10% naturalnego okresu ich życia. Celem tych badań, poza określeniem charakteru działania substancji na narządy wewnętrzne jak i na układy, jest uzyskanie informacji o narządach krytycznych, a także wyznaczenie najwyższej dawki niewywołującej działań toksycznych, przydatnej przy ustaleniu kryteriów bezpieczeństwa przy narażeniu ludzi. Badania te dostarczają informacji odnośnie wielkości dawek, jakie powinny być stosowane w następnym etapie badań (Jodynis-Liebert i Seńczuk, 2002; Bruchajzer, 2006).

W związku z częstymi opiniami o wpływie zanieczyszczeń środowiskowych na układ nerwowy populacji ludzkiej, w ostatnich latach położono szczególny nacisk na działanie neurotoksyczne substancji chemicznych. Znowelizowane Wytyczne OECD wprowadziły konieczność wykonania poszerzonych badań pozwalających na ocenę działania neurotoksycznego przy zastosowaniu zestawu testów czynnościowych oraz zwiększeniu liczby ocenianych parametrów klinicznych. Jednak dopiero, wprowadzenie Wytycznej OECD 424 dla badania neurotoksyczności na gryzoniach, dostarczyło narzędzia badawczego mającego na celu uzyskanie lub potwierdzenie skutków neurotoksycznych obserwowanych w badaniach toksyczności przy powtarzającym dawkowaniu. Sugeruje się, że dla pewnych klas związków chemicznych o potencjalnym działaniu neurotoksycznym badania neurotoksyczności powinny być przeprowadzone w oparciu o tę wytyczną bez konieczności wcześniejszego ustalania możliwej neurotoksyczności w badaniach toksyczności przy

powtarzanym dawkowaniu. Panel badań zawartych w Wytycznej OECD 424 został opracowany w taki sposób, by ujawnić poważniejsze skutki neurobehawioralne i neuropatologiczne. W obowiązujących wytycznych działanie neurotoksyczne rozumiane jest znacznie szerzej niż tylko neuropatia, uwzględnia także zaburzenia koordynacji ruchowej, ubytki sensoryczne, zaburzenia pamięci i uczenia się (Rydyński, 1996; Wytyczna OECD 424, 1997).

Celem badań toksykometrycznych na zwierzętach, poza ilościową charakterystyką działania substancji, wyjaśnieniem mechanizmów jej działania toksycznego oraz wypracowaniem metod zapobiegania i leczenia zatruc, jest ustalenie dawek (stężeń) substancji toksycznej, które zostaną wykorzystywane w dalszych badaniach toksykologicznych i obliczeniach zmierzających do określenia bezpiecznych, dla człowieka i środowiska, stężeń substancji toksycznych, w tym normatywów higienicznych (NDS - Najwyższe Dopuszczalne Stężenie w środowisku pracy; NDSCh – Najwyższe Dopuszczalne Stężenie Chwilowe w środowisku pracy; NDSP – Najwyższe Dopuszczalne Stężenie Pułapowe w środowisku pracy; DSB – Dopuszczalne Stężenie Biologiczne, ADI – Dopuszczalne Dienne Pobranie). Takimi dawkami (stężeniami) są wartości: NOEL (*No Observed Effect Level* - najwyższy poziom, przy którym nie obserwuje się żadnych zmian w badanych parametrach), NOAEL (*No Observed Adverse Effect Level* – najwyższy poziom, przy którym nie obserwuje się efektów szkodliwych), LOEL (*Lowest Observed Effect Level* – najniższy poziom narażenia, przy którym obserwuje się zmiany w badanych parametrach), LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level* – najniższy poziom narażenia, przy którym obserwuje się efekty szkodliwe) (Bruchajzer, 2006).

#### **2.4. Zastosowanie kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) i kwasu 4-chloro – 2 – metylofenoksyoctowego (MCPA)**

Jedną z podstawowych grup środków ochrony roślin są pochodne kwasu fenoksyoctowego, do których zalicza się kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) i kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA). Związki te wykazują aktywność chwastobójczą w odniesieniu do większości roślin dwuliściennych. Zastosowane w odpowiednich stężeniach działają selektywnie, niszcząc skutecznie szerokolistne rośliny dwuliścienne, nie uszkadzając jednocześnie roślin jednoliściennych z rodziny Graminae, stąd ich wykorzystanie w zwalczaniu chwastów w uprawach zbóż. Związki te są stosowane na dużych arealach, co determinuje wielkość ich zużycia oraz znaczenie gospodarcze, szczególnie w krajach, w których najważniejszymi uprawami są: pszenica, żyto, jęczmień i owies (Róžański, 1998). W Polsce w 2008 roku powierzchnia upraw zbóż wynosiła 8599 tys. ha i stanowiła 73,9% wszystkich zasiewów, natomiast w 2009 roku powierzchnia upraw zbóż wzrosła i osiągnęła 75,1% wszystkich zasiewów. W 2010 roku, powierzchnia zasiewów zbóż była większa i wynosiła 10 565 tys. ha (Rocznik statystyczny rolnictwa 2009, Mały rocznik statystyczny Polski, 2010; Mały rocznik statystyczny Polski, 2011). Według danych Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi sprzedaż środków chwastobójczych na bazie pochodnych fenoksykwasów wynosiła w 2009 roku 6 129 132,4 kg, podczas gdy w 2008 roku odnotowano nawet 8 063 112,6 kg (Sprzedaż i zapasy środków ochrony roślin – dane od producentów i importerów, 2008, 2009).

Jako herbicydy szczególne znaczenie znalazły sole i estry kwasu 2,4-D i MCPA. Takie postacie chemiczne tych kwasów ułatwiają herbicydom penetrację organizmu rośliny, natomiast formy te nie są biologicznie aktywne. Po wniknięciu do roślin ulegają hydrolizie, w wyniku której uwalniane są ich postacie kwasowe działające chwastobójczo. Hydrolizie sprzyja odczyn alkaliczny co sprawia, że zachodzi ona łatwo zarówno w organizmach żywych jak i w środowisku. 2,4-D i MCPA po zabiegu oprysku przenikają szybko do roślin przez zielone tkanki. Następnie wraz z asymilatami przemieszczają się w tkance sitowej do łodyg i korzeni aż do najmłodszych, rosnących części roślin. W efekcie zakłócają i hamują funkcje enzymów endogennych sterujących procesami wzrostu, oddychania i fotosyntezy, prowadząc do zaburzeń w asymilacji, oddychaniu, przemianie związków azotowych i odżywianiu się roślin, których konsekwencją jest zamieranie całej rośliny. Po przedostaniu się do gleby łatwo przenikają do korzeni, a następnie wraz z wodą przemieszczają się w naczyniach do nadziemnych części roślin (Czerniakowski i Czerniakowski, 1993).

MCPA pod względem wywoływanych efektów działania zasadniczo nie różni się od 2,4-D, wykazuje jednak nieco mniejszą fitotoksyczność w stosunku do roślin uprawnych. Ponadto, MCPA, w porównaniu do 2,4-D, wyróżnia się lepszą selektywnością i szerszym spektrum działania (Czerniakowski i Czerniakowski, 1993).

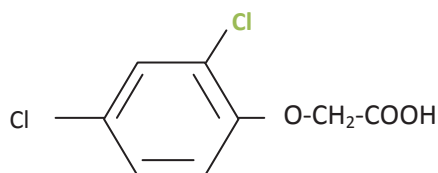
2,4-D i MCPA utrzymują się w glebie do 4 tygodni (Czerniakowski i Czerniakowski, 1993). Jednak istnieją doniesienia, że trwałość obu związków w niektórych rodzajach gleb jest większa niż się to zazwyczaj przyjmuje i zależy głównie od odczynu oraz wilgotności gleby. Większą trwałość tych związków stwierdzono w glebach kwaśnych o dużej wilgotności, w których jeszcze po upływie roku znajdowano 35% - 42% początkowej dawki MCPA i 2,4-D (Różański, 1998).

W Polsce, zabiegi agrotechniczne z użyciem 2,4-D oraz MCPA przypadają w miesiącach wiosennych i jesiennych. W tych okresach stwierdza się maksymalne stężenie tych substancji, zarówno w wodach powierzchniowych jak i gruntowych (Ignatowicz i Struk – Sokołowska, 2004; Sadowski i Kucharski, 2006). Do wód powierzchniowych herbicydy przedostają się głównie podczas wykonywania zabiegów agronomicznych. Intensywność i szybkość przenikania pozostałości do wód podziemnych zależy od wielu czynników m.in. właściwości fizykochemicznych substancji aktywnej, typu i składu granulometrycznego gleby oraz warunków meteorologicznych.

Badania przeprowadzone przez Sadowskiego i Kucharskiego (2006) wykazały obecność 2,4-D i MCPA w 90% pobranych prób z wód powierzchniowych jak i gruntowych. Jednocześnie odsetek prób zawierających pozostałości na poziomie przekraczającym dopuszczalne wartości dla wody pitnej był znikomy. Natomiast badania przeprowadzone przez Buczyńską i Szadkowską – Stańczyk (2005) wykazały obecność 2,4-D i MCPA w wodach gruntowych w ilościach przekraczających dopuszczalne stężenia.

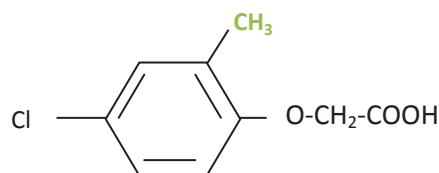
## 2.5. Struktura chemiczna i właściwości fizykochemiczne 2,4-D i MCPA

2,4-D i MCPA są pochodnymi kwasu fenoksyoctowego. MCPA różni się od 2,4-D tym, że chlor w pozycji 2 zastępuje grupa metylowa (rycina 1).



**2,4-D**

kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy



**MCPA**

kwas 2-metylo-4-chlorofenoksyoctowy

**Rycina 1.** Wzory strukturalne kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) i kwasu 2-metylo-4-chlorofenoksyoctowego (MCPA)

2,4-D o wzorze sumarycznym  $C_8H_6Cl_2O_3$  i masie cząsteczkowej 221,0 g/mol, jest białą krystaliczną substancją. W stanie chemicznie czystym jest bezwonny, natomiast produkt techniczny posiada przykry i trwały zapach, spowodowany obecnością domieszek różnych fenoli. 2,4-D jest słabo rozpuszczalny w wodzie (540 mg w 1l wody o temperaturze 20°C), natomiast dobrze rozpuszcza się w etanolu i acetonie. Temperatura topnienia wynosi 136-141°C (tabela 1) (Czerniakowski i Czerniakowski, 1993; WHO, 1984; Hayes i Laws, 1991; Karta charakterystyki niebezpiecznej substancji chemicznej 2,4-D, 2010).

MCPA o wzorze sumarycznym  $C_9H_9ClO_3$  ma masę cząsteczkową 200,6 g/mol. Chemicznie czysty MCPA jest bezbarwną krystaliczną substancją, bez zapachu. Produkt techniczny ma formę łusek barwy od białej do jasnobezowej i długo utrzymujący się zapach chlorowanych fenoli. Temperatura topnienia produktu technicznego wynosi 116-119°C. W wodzie rozpuszcza się bardzo słabo (0,67 g/l przy pH 2,7), a dość dobrze w niektórych rozpuszczalnikach organicznych, zwłaszcza metanolu, acetonie, izopropanolu (tabela 1) (Hayes i Laws, 1991; Karta charakterystyki niebezpiecznej substancji chemicznej: MCPA techniczny, 2006; Karta charakterystyki niebezpiecznej substancji chemicznej MCPA, 2010).

**Tabela 1.** Właściwości fizykochemiczne kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) i kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego (MCPA)

nazwa	kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D)	kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA)
wzór sumaryczny	$C_8H_6Cl_2O_3$	$C_9H_9ClO_3$
masa cząsteczkowa	221,04 g/mol	200,63 g/mol
postać	biała, krystaliczna substancja	bezbarwna krystaliczna substancja, produkt techniczny: łuski barwy białej do jasnobeżowej
zapach	bez zapachu produkt techniczny: przykry i trwały zapach fenoli	bez zapachu produkt techniczny: zapach chlorowanych fenoli
rozpuszczalność w wodzie	540 mg/l	670 mg/l
rozpuszczalniki	etanol, aceton	metanol, aceton, izopropanol
temperatura topnienia	136-141°C	116 - 119°C

## 2.6. Mechanizm toksycznego działania 2,4-D i MCPA

Mechanizm oddziaływania kwasów chlorofenoksyoctowych na organizm nie został jeszcze dokładnie poznany. Z przeprowadzonych badań wynika, że herbicydy chlorofenoksyoctowe uszkadzają strukturę błony plazmatycznej, zaburzają metabolizm komórkowy związany z acetylo-CoA oraz oksydacyjną fosforylację (Bradberry i wsp., 2000). Ponadto, istnieją doniesienia, że kwasy chlorofenoksyoctowe wywołują stres oksydacyjny w komórce (Bongiovani i wsp., 2007; Bukowska 2005; Bukowska i wsp., 2008).

Suwalsky i wsp. (1996) w badaniach *in vitro* z wykorzystaniem modelu błony komórkowej dowiedli, że 2,4-D może powodować uszkodzenia w hydrofobowej warstwie błon. Wykazali również, że wysokie stężenie 2,4-D uszkadza błonę komórkową erytrocytów ludzkich, powodując zmiany ich kształtu.

2,4-D i MCPA przenikają do ośrodkowego układu nerwowego (OUN) przez barierę krew - mózg. Uszkodzenie tej bariery powoduje, że ośrodkowy układ nerwowy staje się bezpośrednio dostępny dla 2,4-D. Wykazano również, że MCPA w dawkach

250-500 mg/kg m.c. odwracalnie i selektywnie uszkadza barierę krew - mózg. Jednocześnie sama bariera krew - mózg pozwala na akumulację tego herbicydu w ośrodkowym układzie nerwowym (Hervonen i wsp., 1982). Konsekwencją uszkodzeń strukturalnych w błonie komórkowej jest zaburzenie procesów transportowych m.in. transportu organicznych anionów w splocie naczyniówkowym umożliwiającym usuwanie toksycznych anionów z mózgu do krwi. W efekcie dochodzi do akumulacji w mózgu nie tylko herbicydów, ale również metabolitów neuroprzebieżników. Po podaniu szczurom 2,4-D w ośrodkowym układzie nerwowym stwierdzono gromadzenie się kwasu homowaniliowego (HVA), metabolitu dopaminy oraz kwasu 5-hydroksyindolooctowego (5-HIAA), metabolitu serotoniny (Kim i wsp., 1988, Elo i wsp., 1989).

Istnieje pogląd, że MCPA powoduje mniejsze uszkodzenia w naczyniach mózgowych niż 2,4-D (Elo i wsp., 1988). MCPA jest silniej niż 2,4-D wiązane przez białka krwi, co prawdopodobnie powoduje, że związek ten jest mniej dostępny dla OUN (Tyynelä i wsp., 1990).

Acetylo-CoA jest niezbędny w kluczowych procesach biochemicznych zachodzących w organizmach żywych, w tym: cyklu kwasu cytrynowego, syntezie kwasów tłuszczowych i lipidów, syntezie cholesterolu i hormonów steroidowych. W reakcji acetyloCoA z choliną powstaje neuroprzebieżnik acetylocholina. Kwasy chlorofenoksyoctowe wykazują podobieństwo strukturalne do kwasu octowego i są zdolne do tworzenia analogicznych form do acetylo-CoA tzn. 2,4-D-CoA (Sastry i wsp., 1995). Utworzenie takich analogów może powodować zaburzenia w wielu szlakach metabolicznych z udziałem acetylo-CoA. Analog 2,4-D-CoA może m.in. wejść w szlak syntezy acetylocholiny następstwem czego jest utworzenie 2,4-D-Ach. Powstały związek może działać jako fałszywy neuroprzebieżnik w synapsach muskarynowych i nikotynowych, wywołując m.in. miotonię i drżenie mięśni (Sastry i wsp., 1995).

Kwasy chlorofenoksyoctowe zaburzają fosforylację oksydacyjną w mitochondriach poprzez niszczenie integralności dwuwarstwy fosfolipidowej w mitochondriach (Argese i wsp., 2005; Di Paolo i wsp., 2001). Badania z użyciem mikroskopu elektronowego wykazały, że po podaniu 2,4-D następuje degeneracja mitochondriów w komórkach mięśni (Heene, 1968). Konsekwencją zaburzeń procesów fosforylacji oksydacyjnej jest obniżenie poziomu ATP, a w efekcie zaburzenie wielu reakcji zachodzących w komórce jak: utrzymanie gradientu jonowego, syntezy DNA, polimeryzacji mikrofilamentów prowadzących do



uszkodzeń cytoszkieletu i kształtu komórek (Rosso i wsp., 2000). Uszkodzenie pomp jonowych w wyniku obniżenia ATP wyjaśnia skutki miotoksyczne wywoływane przez 2,4-D. Zmniejszenie poziomu ATP powoduje zaburzenia pracy pompy wapniowej w retikulum endoplazmatycznym, co w konsekwencji prowadzi do upośledzenia regulacji funkcjonowania komórek mięśniowych i wydłużenia fazy skurczu mięśni (Bradberry i wsp., 2000).

Kwasy chlorofenoksyoctowe wywołują stres oksydacyjny wraz z jego wszystkimi konsekwencjami do śmierci komórki włącznie. Liczne prace wskazują, że z mechanizmem szkodliwego działania kwasów chlorofenoksyoctowych związane są wolne rodniki. Jednak bezpośrednia prooksydacyjna aktywność tych związków nie została dotychczas udowodniona. Próby poznania mechanizmu działania prooksydacyjnego 2,4-D i MCPA podjęła się Bukowska i wsp., (2008), którzy zdolność 2,4-D do tworzenia reaktywnych form tlenu wiąże przede wszystkim z powstającym podczas hydrolizy tego związku 2,4-dichlorofenolem (2,4-DCP). Jednocześnie zwracają uwagę, że 2,4-D prawdopodobnie reaguje z lipidami i białkami, uszkadzając je, a w konsekwencji powoduje powstanie reaktywnych form tlenu (Duchnowicz i wsp., 2002; Cserhati i wsp., 2001; Bukowska i wsp., 2008).

MCPA nie ulega hydrolizie w komórce do 2-metylo-4-chlorofenolu, związku, który mógłby inicjować reakcje oksydacyjne podobne do wywoływanych przez 2,4-D. Brak produktu hydrolizy MCPA, tzn. 2-metylo-4-chlorofenolu prawdopodobnie decyduje o niższej niż 2,4-D prooksydacyjnej zdolności tego związku. Nie można jednak wykluczyć, że MCPA poprzez reakcje z białkami i lipidami prowadzi do powstania reaktywnych form tlenu w erytrocytach (Bukowska i wsp., 2008).

Jednym z podstawowych endogennych zabezpieczeń komórek jest glutation (GSH), który posiada wolną grupę sulfhydrylową. Grupa ta służy jako nukleofil i czynnik redukujący. Szkodliwy, elektrofilny nukleofil może zostać zamieniony w koniugat z GSH poprzez nukleofilowe przyłączenie lub reakcję podstawienia. Reaktywny rodnik tlenu i organiczne nadtlenki wodoru są redukowane do utlenionego glutationu, tzn. disiarczku glutationu (GSSH) (Baillie i Slatter, 1991). Wyczerpanie komórkowego GSH poprzez różne chemiczne czynniki sprzyja peroksydacji lipidów i w konsekwencji prowadzi do uszkodzenia komórki. Spadek poziomu GSH i równoczesny spadek stosunku GSH/GSSG powoduje zaburzenia w homeostazie wapnia, peroksydacji lipidów i formowania pęcherzyków (Palmeira i wsp., 1994). Ponieważ ATP i NADH są głównymi produktami energii i nośnikami elektronów, to spadek wewnątrzkomórkowego ATP i NADH może spowodować utratę komórkowej



homeostazy, skutkując utratą zdolności do przeżycia (Boobis i wsp., 1989, Fawthrop i wsp., 1991).

W przeprowadzonych badaniach *in vitro* wpływu 2,4-D na metabolizm hepatocytów wykazano zaburzenia, u podstaw których upatruje się działania związane ze stresem oksydacyjnym. W obecności 2,4-D w komórkach wykazano wzrost GSSH z równoczesnym obniżeniem stężenia GSH, wyczerpywaniem poziomów ATP i NADH oraz zapoczątkowaniem śmierci komórki. Spadek poziomu ATP może zaburzać różnego rodzaju procesy komórkowe m.in. w utrzymanie gradientu jonowego związanego z funkcją zależnego od ATP transportu, jak również polimeryzacją mikrofilamentów oraz mikrotubuli, które mogą doprowadzić do uszkodzeń cytoszkieletu (Palmeira i wsp., 1994). Kolejne badania przeprowadzone przez Palmeira i wsp. (1995) nie potwierdziły w hepatocytach szczura bezpośredniego zaangażowania wzrost stężenia jonów  $Ca^{2+}$  w mechanizm śmierci komórki.

Badania prowadzone przez Bukowską (2005) z użyciem erytrocytów wykazały, że kwasy fenoksyoctowe indukują powstanie wolnych rodników, a ich nagromadzenie prowadzi do stresu oksydacyjnego komórki, na skutek wyczerpania jej mechanizmów obronnych. Indukowany przez 2,4-D spadek poziomu zredukowanego glutationu (GSH), obniżenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), zwiększenie aktywności peroksydazy glutationu i peroksydacja lipidów powoduje wzrost stężenia wolnych rodników wewnątrz komórki, które prowadzą do tworzenia methemoglobiny, zmian w kształcie erytrocytów i w końcowym efekcie do śmierci komórki (Bukowska, 2003; Duchnowicz i wsp., 2002; Bukowska i wsp., 1998).

Powstające wolne rodniki mogą uszkadzać m.in. również nienasycone kwasy tłuszczowe, wchodzące w skład fosfolipidów błonowych. Wiadomym jest, że 2,4-D wywołuje zakłócenia w strukturze błony komórkowej poprzez peroksydację lipidów i w efekcie zaburza prawidłowe funkcjonowanie całej komórki (Bukowska, 2003; Bukowska i Hutnik, 2006; Duchnowicz i Koter, 2002; Suvalsky i wsp., 1996).

## 2.7. Toksyczność 2,4-D i MCPA

Toksyczność ostra po podaniu dożołądkowym obu pochodnych kwasu fenoksyoctowego wyrażona dawką  $LD_{50}$  mieści się w zakresie od 300 do 1200 mg/kg m.c. dla różnych gatunków zwierząt (tabela 2). Ponieważ dawka  $LD_{50}$  (mg/kg m.c.) mieści się w zakresie  $200 < LD_{50} < 2000$ , herbicydy te zaliczane są do III klasy toksyczności (zgodnie

z metodą klasyczną klasyfikacji działania toksycznego substancji chemicznych) (Brzeziński, 2002b; Hayes i Laws 1991; Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi, 2002).

**Tabela 2.** Zestawienie wyników badań toksyczności ostrej po podaniu dożołądkowym 2,4-D i MCPA dla różnych gatunków zwierząt.

ZWIĄZEK	GATUNEK	LD <sub>50</sub> (mg/kg m.c)	PIŚMIENNICTWO
<b>2,4-D</b>	szczur	425-764	Review report for the active substance 2,4-D, Finalised in the Standing Committee on Plant Health at its meeting on 1 October 2001 in view of the inclusion of 2,4-D in Annex I of Directive 91/414/EEC
		639	US EPA, 2005
		375	Rowe i Hymas, 1954
		666	Hill i Carlisle, 1947
		625-855	Gorshkov, 1971
		1200	Loktionov i wsp., 1973
	mysz	300	Loktionov i wsp., 1973
		360	Loktionov i wsp., 1973
		375	Hill i Carlisle, 1947
	świnka morska	469	Rowe i Hymas, 1954
		1000	Hill i Carlisle, 1947
<b>MCPA</b>	szczur	700-1383	Ben-Dyke i wsp., 1979; Rowe i Hymas, 1954; U.S. EPA, 2004; U.S. EPA, 1990
	mysz	439-800	RTECS, 2005; Weed Science Society of America, 1989
		550	Gurd i wsp., 1965
	świnka morska	700	RTECS, 2005

2,4-D łatwo przenika z przewodu pokarmowego ssaków do krwi i tkanek, a następnie wydalany jest przede wszystkim z moczem, głównie w postaci niezmienionej, wolnej oraz w mniejszych ilościach w połączeniu z aminokwasami i białkami. W niewielkiej ilości usuwany jest w postaci 2,4-dichlorofenolu (van Ravenzwaay i wsp., 2003).

MCPA, podobnie jak 2,4-D, szybko przenika z przewodu pokarmowego do krwiobiegu i tkanek szczura. Ulega częściowej biotransformacji prowadzącej do wzrostu polarności. Głównie wydalany jest z moczem w postaci metabolitu tj. kwasu 4-chloro-2-hydroksymetylofenoksyoctowego (HMCPA) lub koniugatu z glicyną. W mniejszych ilościach

wydalany jest przez jelito grube (Róžański, 1998; van Ravenzwaay i wsp., 2004; Lappin i wsp., 2002; Bräunlich i wsp., 1989).

2,4-D i MCPA tworzą połączenia z białkami surowicy ssaków. Reakcję tę, zwłaszcza przy pierwszym podaniu tych herbicydów, uznaje się za mechanizm obronny przed toksycznym działaniem ksenobiotyków. Po podaniu odpowiednio wysokiej dawki część 2,4-D lub MCPA zostaje związana z białkiem, natomiast część - na skutek wysycenia białka w surowicy - pozostaje w formie niezwiązanej. W ten sposób wolne formy kwasów chlorofenoksyoctowych stają się dostępne dla tkanek organizmu (Bräunlich i wsp., 1989; Rosso i wsp., 1998).

Przeprowadzone na zwierzętach badania toksykologiczne wykazały, że badane związki mogą indukować zmiany hematologiczne, działać hepatotoksycznie, nefrotoksycznie i neurotoksycznie. Ponadto 2,4-D może działać miotoksycznie (WHO, 1984; Bellet i wsp., 1999; Heene, 1968; Bradberry i wsp., 2000; Hatulla i wsp., 1977; BjØrling-Poulsen i wsp., 2008).

W przeprowadzonych badaniach po powtarzającym podaniu 2,4-D oraz MCPA stwierdzono niekorzystny wpływ obu związków na parametry hematologiczne, w tym: spadek liczby erytrocytów, pytek krwi, poziomu hemoglobiny i hematokrytu (Charles i wsp. 1996b; Mellert i wsp., 1994). W badaniach *in vitro* wykazano wpływ herbicydów fenoksyoctowych na erytrocyty człowieka i ich podstawowe struktury: błonę, hemoglobinę i system antyoksydacyjny. Ponadto w badaniach tych stwierdzono, że 2,4-D wywołuje silniejsze zmiany oksydacyjne w erytrocytach człowieka w porównaniu z MCPA (Bukowska i wsp., 2008, Duchnowicz i wsp., 2002).

Istnieją doniesienia, że 2,4-D wywołuje zmiany w parametrach biochemicznych krwi, w tym aktywności aminotransferaz alaninowej i asparaginianowej, fosfatazy alkalicznej, stężeniu mocznika i kreatyniny (Charles i wsp., 1996a; Paulino i wsp., 1996). Wykazano, że 2,4-D może spowodować rozrost peroksysomów i wzrost aktywności oksydaz funkcji mieszanej w hepatocytach. Opisano również zmiany aktywności niektórych enzymów wątrobowych jak dehydrogenazy bursztynianowej i jabłczanowej, a także zawartości kwasu askorbinowego i glikogenu oraz produkcji kwasu hipurowego (WHO, 1984). Wielokrotne podanie MCPA powoduje zaburzenia w poziomie trójglicerydów (Bellet i wsp., 1999), aminotransferazy alaninowej, kreatyniny, glukozy, bilirubiny, albumin, (van Ravenzwaay i wsp., 2005; Inomata i wsp., 1991; Mellert i wsp., 1994).

W przeprowadzonych u szczurów badaniach podprzewlekłych i przewlekłych 2,4-D stwierdzono spadek masy wątroby. Ponadto u szczurów, którym przewlekłe podawano 2,4-D rozwijało się podostre toksyczne zapalenie wątroby z przekrwieniem naczyń krwionośnych, z przyćmieniem mięszowym, nacieczeniem tłuszczowym, lokalnymi zmianami martwiczymi, zwyrodnieniem i atrofią hepatocytów, zwłaszcza w mięszu w obszarze śródzrazikowym (WHO, 1984; Charles i wsp., 1996a; Charles i wsp., 1996b).

W badaniach toksykologicznych niejednokrotnie potwierdzono, że nerka jest narządem docelowym dla toksycznego działania 2,4-D. Stwierdzano uszkodzenia czynnościowe nerek, wzrost masy nerek oraz zmiany makroskopowe i histopatologiczne (przerost i rozplem, zwłaszcza w komórkach proksymalnych kanalików krętych, a także uszkodzenie kłębuszków nerkowych) (WHO, 1984; Charles i wsp., 1996a; Charles i wsp., 1996b).

Istnieją doniesienia, że 2,4-D w dużych dawkach może działać depresyjnie na ośrodkowy układ nerwowy, powodować ospałość, zwolnienie częstości oddechów, śpiączkę a nawet zgon. Objawy depresji ośrodkowego układu nerwowego są prawdopodobnie związane z częściowym uszkodzeniem bariery krew-mózg oraz naruszeniem transportu błonowego uniemożliwiającego usuwanie toksycznych anionów, co w konsekwencji prowadzi do nagromadzenia się 2,4-D w OUN (WHO, 1984). MCPA, w odróżnieniu od 2,4-D, wykazuje mniejszą zdolność do indukowania uszkodzeń naczyniowo-mózgowych (Elo i wsp., 1988, Tyynelä i wsp., 1990). Nie wykazano natomiast związku między obwodową neuropatią a działaniem toksycznym 2,4-D. Częściowe lub całkowite porażenie kończyn u zwierząt zatrutych może być raczej następstwem działania miotoksycznego niż neurotoksycznego (Mattson i Eisenbrandt, 1987).

Skutki działania toksycznego 2,4-D na komórki mięśniowe są złożone i obejmują zaburzenia w aktywności enzymów powodujących większą podaż mleczanu, zmiany poziomu potasu, stabilności błon, przepływu chlorków. Odnotowano również przesunięcie miejsc wiążących wapń, zmiany potencjałów elektrycznych w komórkach mięśniowych i nerwowych oraz zwyrodnienia strukturalne i ultrastrukturalne w mitochondriach komórek mięśniowych (Iyer i wsp., 1981, Dux i wsp., 1977, Danon i wsp., 1978).

Dla 2,4-D i MCPA wykonano cały szereg badań toksykologicznych, w tym i toksykometrycznych. Jednak wiedza o działaniu tych związków na organizm człowieka nadal nie jest pełna. Przeprowadzone badania nie były wykonane zgodnie z obligatoryjnymi

wytycznymi metodycznymi oraz nie stosowano w nich zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej, wymaganych do oceny ryzyka dla zdrowia ludzi. Wyniki tych badań często są fragmentaryczne i trudne do interpretacji, między innymi z uwagi na zróżnicowanie metodologiczne. Ponadto badania te zostały przeprowadzone na związkach o odmiennym profilu jakościowym, gdyż ich obecna produkcja opiera się na znacznie udoskonalonych procesach technologicznych, co powoduje, że otrzymane produkty różnią się od wcześniej ocenianych (Gruś, 2010). Powyższe fakty uzasadniają konieczność ponownej oceny toksykometrycznej 2,4-D i MCPA w oparciu o międzynarodowo akceptowane wytyczne metodyczne oraz zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej.

### 3. ZAŁOŻENIA I CEL PRACY.

2,4-D i MCPA są szeroko stosowane w rolnictwie, co stwarza potencjalne niebezpieczeństwo wystąpienia niekorzystnych skutków dla zdrowia człowieka i środowiska. Oba związki produkowane są od lat i stały się tematem wielu prac badawczych. Z piśmiennictwa wynika, że 2,4-D i MCPA powodują u zwierząt zmiany w parametrach hematologicznych, wykazują działanie hepatotoksyczne oraz nefrotoksyczne. Istnieją doniesienia o działaniu miotoksycznym 2,4-D, a także wywoływaniu przez ten związek zmian w układzie nerwowym (Bukowska i wsp., 2008; Charles i wsp., 1996a; Charles i wsp., 1996b; Mellert i wsp., 1994; Kim i wsp., 1988; Satsry i wsp., 1995; Mattsion i Eisenbrandt, 1987; Elo i wsp., 1988). Badane uprzednio substancje, produkowane wg starych technologii, zawierały znacznie wyższy poziom zanieczyszczeń, co mogło istotnie wpływać na ich właściwości toksyczne i obserwowane niekorzystne oddziaływanie na organizmy żywe. Postęp technologiczny oraz zaostrzenie norm dopuszczalnych stężeń zanieczyszczeń istotnie wpłynęły na profil jakościowy obecnie produkowanych 2,4-D i MCPA, które zawierają znacznie wyższą zawartość składników czynnych, a także mniej zanieczyszczeń, co może modyfikować ich oddziaływanie na organizmy żywe. Prowadzone uprzednio szeroko pojęte badania toksykologiczne często były oparte o niejednorodne metody badawcze utrudniające interpretację uzyskanych wyników. Wprowadzenie w latach 80 - tych XX wieku przez OECD nowych Wytycznych do Badań Substancji Chemicznych oraz zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej miało na celu ujednoczenie stosowanych metod badawczych, a tym samym uzyskanie porównywalnych wyników badań, niezależnie od miejsca ich przeprowadzenia.

Nowa jakość produkowanych 2,4-D i MCPA oraz możliwość zastosowania w badaniach toksykologicznych ujednoczonych wytycznych OECD (408, 424) skłoniły mnie do podjęcia badań toksyczności podprzewlekłej tych związków ze szczególnym uwzględnieniem działania neurotoksycznego. Zastosowanie zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej w badaniach gwarantuje porównywalność uzyskanych wyników.

Celem pracy jest ocena toksykologiczna 2,4-D i MCPA, na podstawie której zostaną wyznaczone dla obu związków: najwyższe poziomy narażenia, przy których nie stwierdza się istotnego wzrostu częstości lub nasilenia efektów szkodliwych (NOAEL). Ponadto podjęta zostanie próba porównania działania toksycznego obu związków celem wyjaśnienia czy obecność odmiennego podstawnika w pozycji 2 kwasu chlorofenoksyoctowego wpływa istotnie na właściwości toksykologiczne badanych związków.

W związku z powyższym zostały postawione następujące szczegółowe zadania badawcze:

1. Ocena wpływu 2,4-D i MCPA na układy i narządy wewnętrzne szczurów po narażeniu wielokrotnym drogą pokarmową w badaniach toksyczności podprzewlekłej (90-dniowej).
2. Ocena potencjalnego działania neurotoksycznego 2,4-D i MCPA na podstawie wyników badań behawioralnych.
3. Porównanie działania toksycznego 2,4-D i MCPA celem wyjaśnienia, w jaki sposób obecność odmiennego podstawnika w pozycji 2 kwasu chlorofenoksyoctowego wpływa na toksyczność badanych związków.
4. Wyznaczenie bezpiecznych poziomów narażenia dla 2,4-D i MCPA.

## **4. CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA**

### **4.1. Materiały i metody**

#### **4.1.1. Badane materiały**

Do badań użyto pochodne kwasu chlorofenoksyoctowego: kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) i kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA). Poddane badaniom kwasy chlorofenoksyoctowe były produktami technicznymi.

Techniczny 2,4-D zawierał 98% 2,4-D. Natomiast techniczny MCPA zawierał 97 % MCPA.

#### **4.1.2. Zwierzęta doświadczalne**

W badaniach każdego związku użyto 160 szczurów (80 samców i 80 samic) o symbolu Imp: WIST (stado outbred), pochodzących z hodowli Instytutu Medycyny Pracy w Łodzi, utrzymanej w typie konwencjonalnym. Stan zdrowia zwierząt został potwierdzony w formie sprawozdania z badań bakteriologicznych, mikologicznych i parazytologicznych wykonanych w Zakładzie Higieny Weterynaryjnej w Wojewódzkim Inspektoracie Weterynarii w Łodzi. Przed rozpoczęciem doświadczenia wszystkie zwierzęta przeszły tygodniowy okres kwarantanny, z zachowaniem tych samych warunków jak w okresie całego doświadczenia. W dniu przyjęcia zwierząt do kwarantanny wykonano ogólne badania lekarsko-weterynaryjne, a przed wprowadzeniem do doświadczenia u zwierząt przeprowadzono szczegółowe badania lekarsko-weterynaryjne. Do doświadczenia wprowadzono zwierzęta niewykazujące żadnych objawów chorobowych. Szczury były indywidualnie oznakowane. Do poszczególnych grup zwierzęta dobierano w sposób losowy według płci i z uwzględnieniem masy ciała. Zwierzęta wprowadzono do doświadczenia w wieku od 6 do 8 tygodni. Średnia masa ciała zwierząt wprowadzonych do badania 2,4-D wynosiła 248,8g (samce, zakres masy ciała 217g - 281g) oraz 184,4g (samice, zakres masy ciała: 162g - 204g). Średnia masa ciała zwierząt wprowadzonych do badania MCPA wynosiła 165,6g (samce, zakres masy ciała: 129g - 185g) oraz 136,5g (samice, zakres masy ciała: 116g - 154g)

Masy ciała poszczególnych szczurów wprowadzanych do doświadczenia znajdowały się w zakresie  $\pm 20\%$  wartości średniej dla danego związku i płci.



Badania przeprowadzono w Zakładzie Badań Toksykologicznych Instytutu Przemysłu Organicznego, Oddział w Pszczynie.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Katowicach (nr opinii 25/04 i 26/04).

#### **4.1.3. Warunki przetrzymywania zwierząt**

W okresie kwarantanny oraz doświadczenia zwierzęta przebywały w klimatyzowanych pomieszczeniach o następujących parametrach:

- temperatura powietrza                     $19^{\circ}\text{C} - 24^{\circ}\text{C}$  , średnio  $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- wilgotność względna powietrza     $30\% - 70\%$  , średnio  $50\%-60\%$
- warunki świetlne: oświetlenie sztuczne, jarzeniowe; cykl oświetlenia: 12 godzin jasno / 12 godzin ciemno.

Zwierzęta przetrzymywane były w plastikowych klatkach o wymiarach  $58 \times 37 \times 21$  cm (długość x szerokość x wysokość), z pokrywą z metalowych prętów, każda płęć oddzielnie, po 5 zwierząt w klatce. Jako ściółki używano odpylonych wiórów drzewnych, naświetlonych promieniami UV, które wymieniano dwa razy w tygodniu. Każda klatka wyposażona była w zawieszkę zawierającą informacje na temat: stężenia badanej substancji w paszy, daty założenia i planowanej likwidacji doświadczenia, płci oraz numeracji zwierząt.

#### **4.1.4. Stosowane stężenia i liczba zwierząt w doświadczeniach**

Stosowane w doświadczeniach stężenia związków w paszy zostały ustalone na podstawie przeprowadzonych wcześniej badań własnych toksyczności przy powtarzanym 28 - dniowym podawaniu doustnym (*range finding test*) (Przybyła i wsp., 2003, praca niepublikowana; Kita i wsp., 2000, praca niepublikowana), jak również danych z piśmiennictwa (Mattsson i wsp., 1997; Charles i wsp., 1996a; Charles i wsp., 1996b; Hayes i wsp., 1991).

W doświadczeniach, w poszczególnych grupach zwierząt stosowano następujące stężenia badanych związków w paszy:

**Tabela 3.** Stężenia 2,4-D w paszy i liczba zwierząt użytych w badaniu.

grupa	stężenie <u>2,4-D</u> w paszy [ppm]	liczba zwierząt	
		samce	samice
0	0	20	20
1	150	20	20
2	600	20	20
3	2400	20	20

**Tabela 4.** Stężenia MCPA w paszy i liczba zwierząt użytych w badaniu.

grupa	stężenie <u>MCPA</u> w paszy [ppm]	liczba zwierząt	
		samce	samice
0	0	20	20
1	200	20	20
2	700	20	20
3	2450	20	20

#### 4.1.5. Pasza i woda

W trakcie badań szczirom pozostawiono swobodny dostęp do paszy oraz wody. Zwierzęta karmiono standardową paszą "GLM" produkowaną przez firmę GAN – RAT w Krakowie oraz pojono wodą wodociągową.

W trakcie doświadczenia zwierzętom grup narażanych podawano paszę z dodatkiem 2,4-D lub MCPA, natomiast zwierzęta grup kontrolnych otrzymywały tą samą paszę, lecz bez dodatku badanych substancji.

W celu przygotowania paszy z dodatkiem 2,4-D, do 10 kg sypkiej paszy dodawano odpowiednio 1,5 g; 6,0 g oraz 24,0 g 2,4-D w postaci zawiesiny wodnej, uzyskując w ten sposób stężenia 150 ppm, 600 ppm oraz 2400 ppm 2,4-D w paszy. Paszę dokładnie mieszano, a następnie granulowano i suszono w temperaturze 20-24°C przez ok. 20 godzin.

W celu przygotowania paszy z dodatkiem MCPA, badaną substancję w formie zawiesiny wodnej wprowadzano do przygotowanej sypkiej paszy. Dla uzyskania stężeń: 200 ppm, 700 ppm oraz 2450 ppm MCPA w paszy, do 10 kg paszy dodawano odpowiednio

2,0 g, 7,0 g oraz 24,5 g, badanej substancji wcześniej zmielonej w młynku elektrycznym. Paszę dokładnie mieszano, a następnie granulowano i suszono w temperaturze 20-24°C przez ok. 20 godzin.

Przed rozpoczęciem doświadczenia sprawdzano metodą chromatografii cieczowej z detektorem UV-VIS, stężenia i trwałość 2,4-D oraz MCPA w sporządzonej paszy. Ponieważ deklarowane stężenia 2,4-D i MCPA w paszy po 21 dniach nie uległy istotnym zmianom, każdą przygotowaną partię paszy z dodatkiem 2,4-D lub MCPA podawano zwierzętom maksymalnie do trzech tygodni od daty jej sporządzenia.

Paszę z dodatkiem 2,4-D lub MCPA podawano szczurom codziennie przez siedem dni w tygodniu, w ciągu 13 tygodni.

## **4.2. Przebieg doświadczenia**

### **4.2.1. Badania kliniczne**

#### **4.2.1.1. Obserwacje kliniczne**

Ogólne obserwacje kliniczne były przeprowadzane każdego dnia doświadczenia o tej samej porze. W trakcie obserwacji zwierzęta oceniano pod kątem stanu zdrowia i śmiertelności.

Szczegółowe obserwacje kliniczne wszystkich zwierząt wykonywane były przed rozpoczęciem doświadczenia, a następnie pod koniec drugiego, szóstego, dziesiątego oraz trzynastego tygodnia narażania. Obserwacje obejmowały ocenę ogólnego zachowania się zwierząt w klatce oraz poza klatką podczas trzymania w ręce. Zwierzęta oceniano pod kątem zmian na skórze, w sierści, w oczach, błonach śluzowych. Odnotowywano pojawianie się wydzielin i wydaliny oraz czynności autonomicznych (np. łzawienie, stroszenie sierści, nieprawidłowy sposób oddychania), zmiany w sposobie chodzenia, zmiany w postawie ciała, zmiany w reakcji na chwytność, zmiany w aktywności ruchowej, obecność ruchów mimowolnych klonicznych lub tonicznych. Rejestrowano wszystkie przypadki ruchów stereotypowych (nadmierne czyszczenie się, ciągłe krążenie) oraz innych nietypowych zachowań zwierząt (np. samookaleczenie, chodzenie do tyłu). Wyniki obserwacji klinicznych zapisywano, stosując przyjęty system punktacji / klasyfikacji zamieszczony w załączniku 1.

#### **4.2.1.2. Masa ciała**

Przed rozpoczęciem doświadczenia (dzień 0), a następnie raz w tygodniu przez cały okres doświadczenia wszystkie zwierzęta ważono kontrolując ich przyrost masy ciała.

#### **4.2.1.3. Spożycie paszy**

Spożycie paszy przez zwierzęta sprawdzano raz w tygodniu przez cały okres doświadczenia. Pomiaru spożycia paszy dokonywano dla wszystkich zwierząt w klatce, a następnie wyliczano średnie spożycie paszy dla jednego szczura w klatce.

#### **4.2.2. Badania zachowania się zwierząt**

Badania zachowania się zwierząt wykonywano u 10 samców i 10 samic z każdej grupy w pięciu punktach czasowych tj. przed pierwszym narażeniem (pomiar 1), pod koniec drugiego tygodnia narażania (pomiar 2), pod koniec szóstego tygodnia narażania (pomiar 3), pod koniec dziesiątego tygodnia narażania (pomiar 4) oraz pod koniec trzynastego tygodnia narażania (pomiar 5).

Badania obejmowały: obserwacje zwierząt w otwartym polu, ocenę reakcji czuciowo – ruchowych na bodźce, pomiar siły chwytności kończyn przednich i tylnych oraz pomiar aktywności ruchowej.

##### **4.2.2.1. Obserwacja zwierząt w otwartym polu**

W celu przeprowadzenia obserwacji zwierząt w otwartym polu, każde ze zwierząt indywidualnie umieszczano w klatce o wymiarach 48 x 48 x 45cm i oceniano zachowanie przez 3 minuty. W trakcie prowadzenia obserwacji notowano brak lub wystąpienie oraz rodzaj ruchu mimowolnego klonicznego i tonicznego, oceniano sposób chodzenia zwierząt i stopień ich rozbudzenia, a także opisywano nietypowe zachowania zwierząt, jeżeli takie wystąpiły. Jednocześnie prowadzono pomiar aktywności ruchowej poziomej wyrażonej w przebytej drodze oraz pomiar aktywności ruchowej pionowej wyrażonej liczbą wzniesień. Pomiaru aktywności ruchowej dokonano przy użyciu aparatu TSE ActiMot for rats (rycina 2). Do detekcji ruchu badanego zwierzęcia zostało wykorzystane promieniowanie świetlne (niewidzialne dla zwierząt). Ruch poziomy zwierzęcia określano dzięki czujnikom promieniowania umieszczonym w płaszczyźnie X i Y w liczbie 16 x 16. Odległość między czujnikami wynosiła 28 mm. Dla detekcji ruchu pionowego aparat posiadał dodatkowo 16

czujników umieszczonych na wysokości 130 mm. Po zakończeniu obserwacji zliczano bolusy kału oraz kałuże moczu (NBRP Rat Kyoto: Rat Strain Phenotype Site, 2003).

Wyniki obserwacji notowano przy użyciu klasyfikacji zamieszczonej w załączniku 2.



**Rycina 2.** Aparat TSE ActiMot do pomiaru aktywności ruchowej zwierząt.

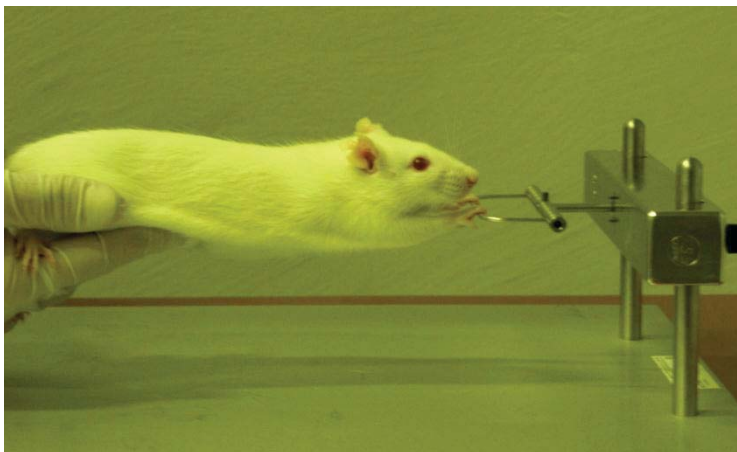
#### **4.2.2.2. Ocena reakcji czuciowo-ruchowych zwierząt na bodźce**

Oceny reakcji czuciowo-ruchowych na bodźce dokonano po zakończeniu obserwacji zwierząt w otwartym polu. Oceniano odpowiedź zwierzęcia na umieszczony przed nim w odległości ok. 2-3 cm przedmiot, odpowiedź na dotyk brzucha tępym przedmiotem, odpowiedź na dźwięk (trzask, którego źródło zbliżone było ok. 5 cm od jego grzbietu) oraz odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą.

Wyniki oceny reakcji czuciowo - ruchowych zwierząt na bodźce notowano przy użyciu kryterium zamieszczonego w załączniku 3.

#### **4.2.2.3. Pomiar siły chwytności kończyn przednich i tylnych**

Pomiaru siły kończyn przednich i tylnych dokonano za pomocą urządzenia TSE Grip Strength Metter, służącego do pomiaru siły chwytności kończyn u małych zwierząt laboratoryjnych. TSE Grip Strength Metter jest systemem komputerowym (rycina 3). W jego skład wchodzi czujniki siły, które poprzez jednostki kontrolujące podłączone są do komputera. Siła chwytności została wyrażona w pondach (p) (Meyer i wsp., 1979).



**Rycina 3.** Aparat TSE Grip Strength Metter do pomiaru siły chwytności kończyn przednich.

#### **4.2.2.4. Pomiar aktywności ruchowej**

Do pomiaru aktywności ruchowej poziomej i pionowej zwierząt użyto aparatu TSE ActiMot (rycina 2). Każde ze zwierząt poddano indywidualnie pomiarowi aktywności ruchowej poziomej i pionowej. Czas pomiaru wynosił 30 minut. Aktywność poziomą wyrażono w drodze przebytej przez zwierzę (m), natomiast aktywność pionową wyrażono w liczbie wzniesień (Kallman i Fowler, 1995).

Trzydziestominutowy czas pomiaru aktywności ruchowej podzielono na trzy 10-minutowe przedziały: 0-10 min., 10-20 min., 20-30 min. Aktywność zwierząt analizowano zarówno pod kątem aktywności w ciągu 30 minut, jak również aktywności w poszczególnych 10-minutowych przedziałach. Ponadto, w każdym z trzech 10-minutowych przedziałów oceniano adaptację zwierząt do nowego środowiska (Kallman i Fowler, 1995; Reiter i MacPhail, 1979).

### **4.2.3. Badania kliniczno – chemiczne**

#### **4.2.3.1. Badania hematologiczne**

Po zakończeniu narażania zwierzęta znieczulano pentobarbitem sodu, a następnie od 10 samców i 10 samic z każdej grupy doświadczalnej pobierano krew z serca. Probówki z krwią do badań hematologicznych zawierały antykoagulant EDTA.

W pobranej krwi oznaczano liczbę krwinek białych i krwinek czerwonych, płytek krwi, stężenie hemoglobiny, wartość hematokrytu. Badania hematologiczne wykonywano przy użyciu aparatu hematologicznego ABC VET przeznaczonego do badań weterynaryjnych uwzględniających specyfikę gatunkową zwierząt. Wyliczono wskaźniki czerwonekrwinkowe:

MCV- średnia objętość krwinki czerwonej, MCH- średni ciężar hemoglobiny, MCHC-średnie stężenie hemoglobiny.

Ponadto w badaniu mikroskopowym oceniono rozmazy krwi obwodowej, barwione roztworem May-Grunwalda-Giemsy (Mariańska i wsp., 2006; Krzemieńska – Ławkowicz i Maj, 1993).

U 10 samców i 10 samic z każdej grupy doświadczalnej przeprowadzono badania szpiku kostnego. Szpik kostny pobierano z wypreparowanej kości udowej bezpośrednio po uśpieniu zwierząt. Przygotowane rozmazy szpiku suszono w temperaturze pokojowej, utrwalano przez 20 minut w 100% alkoholu metylowym i barwiono metodą May-Grunwalda-Giemsy (Mariańska i wsp., 2006; Krzemieńska – Ławkowicz i Maj, 1993), a następnie oceniano jakościowo i ilościowo, określając liczbę poszczególnych komórek jądrzastych na 1000 komórek badanych. W zakresie układu czerwonekrwinkowego oceniano liczbę proerytroblastów, erytroblastów zasadochłonnych, erytroblastów polichromatycznych oraz erytroblastów ortochromatycznych. W zakresie układu białokrwinkowego określano liczbę mieloblastów, promielocytów, mielocytów obojętnochłonnych i kwasochłonnych, metamielocytów obojętnochłonnych i kwasochłonnych, granulocytów pałeczkowatych obojętnochłonnych i kwasochłonnych oraz granulocytów podzielonych obojętnochłonnych, kwasochłonnych i zasadochłonnych. W zakresie komórek różnych oznaczano liczbę limfocytów, monocytów, plazmocytów, megakariocytów, oraz komórek innych (komórki siateczki, komórki tuczne, nagie jądra).

#### **4.2.3.2. Badania biochemiczne**

Po zakończeniu doświadczenia u 10 samców i 10 samic każdej grupy zwierząt w osoczu krwi oznaczono następujące parametry: białko całkowite, albuminy, cholesterol całkowity, azot mocznika (BUN), kreatyninę, glukozę, aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST), aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT), aktywność fosfatazy zasadowej (AP) oraz elektrolity: sód i potas. Stężenie globuliny obliczano odejmując od stężenia białka całkowitego stężenie albuminy.

Wyżej wymienione parametry, z wyjątkiem elektrolitów, oznaczono na analizatorze biochemicznym Airone 200. Sód i potas oznaczono metodą jonoselektywną na analizatorze jonoselektywnym EasyLyte Calcium.



**4.2.3.2.1. Oznaczanie stężenia białka całkowitego.**

Stężenie białka całkowitego oznaczono metodą biuretową opartą na reakcji zachodzącej w środowisku alkalicznym pomiędzy wiązaniami peptydowymi białek a jonami miedzi  $\text{Cu}^{2+}$ . W wyniku reakcji powstaje niebiesko - fioletowy kompleks. Stabilizatorem tego kompleksu jest winian sodowo-potasowy, natomiast jodek potasowy zapobiega autoredukcji alkalicznego kompleksu miedzi. Natężenie barwy mierzone przy długości fali 546 nm jest wprost proporcjonalne do stężenia białka w badanej próbce.

wykonanie oznaczenia:

Pomiaru absorbancji dokonano automatycznie wobec próby ślepej w temp. 37°C, przy długości fali  $\lambda = 546 \text{ nm}$ ; długość drogi optycznej 1 cm.

obliczenia wyniku:

Stężenie białka całkowitego w próbce zostało obliczone automatycznie według następującego wzoru:

$$\text{białko całkowite} \left[ \frac{\text{g}}{\text{l}} \right] = \frac{A_{\text{próby}} - A_{\text{próby ślepej}}}{A_{\text{standardu}} - A_{\text{próby ślepej}}} \times C_{\text{standardu}}$$

**4.2.3.2.2. Oznaczanie stężenia albuminy.**

Do oznaczenia stężenia albuminy wykorzystano zmianę absorpcji widmowej barwnika wywołanej wiązaniem się albuminy z zielenią bromokrezolową. W reakcji tej następuje zmiana barwy zieleni bromokrezolowej z żółto – zielonego na niebiesko – zielony. Reakcja ta zachodzi w środowisku kwaśnym.

wykonanie oznaczenia:

Pomiaru absorbancji dokonano automatycznie wobec próby ślepej w temp 37°C, przy długości fali  $\lambda = 620 \text{ nm}$ ; długość drogi optycznej 1 cm.

obliczenia wyniku:

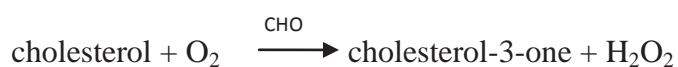
Stężenie albuminy w próbce zostało obliczone automatycznie według następującego wzoru:

$$\text{albumina} \left[ \frac{\text{g}}{\text{l}} \right] = \frac{A_{\text{próby}} - A_{\text{próby ślepej}}}{A_{\text{standardu}} - A_{\text{próby ślepej}}} \times C_{\text{standardu}}$$



**4.2.3.2.3. Oznaczanie stężenia cholesterolu całkowitego.**

Cholesterol całkowity oznaczono metodą enzymatyczną. Estry cholesterolu są enzymatycznie hydrolizowane przez esterazę cholesterolową (CHE) do cholesterolu i wolnych kwasów tłuszczowych. Wolny cholesterol zostaje utleniony przez oksydazę cholesterolową (CHO) do cholest-4-en-3-onu i nadtlenku wodoru. Nadtlenek wodoru łączy się z fenolem i 4-aminoantypiryną w obecności peroksydazy (POD), tworząc czerwony barwnik - chinoinimę. Powstałe czerwone zabarwienie mierzone przy długości fali 510 nm jest wprost proporcjonalne do stężenia cholesterolu w badanej próbce.

wykonanie oznaczenia:

Pomiaru absorbancji dokonano automatycznie wobec próby ślepej w temp. 37°C, przy długości fali  $\lambda = 510 \text{ nm}$ ; długość drogi optycznej 1 cm.

obliczenia wyniku:

Stężenie cholesterolu w próbce zostało obliczone automatycznie według następującego wzoru:

$$\text{cholesterol} \left[ \frac{\text{g}}{\text{l}} \right] = \frac{A_{\text{próby}} - A_{\text{próby ślepej}}}{A_{\text{standardu}} - A_{\text{próby ślepej}}} \times C_{\text{standardu}}$$

**4.2.3.2.4. Oznaczanie stężenia azotu mocznika (BUN).**

Azot mocznika został oznaczony procedurą pośrednią, w której oznaczany jest amoniak powstający z mocznika pod wpływem ureazy. W metodzie wykorzystano sprzężenie dwóch reakcji katalizowanych przez ureazę (amidohydrolaza mocznika) i dehydrogenazę glutaminianową (GLDH). W reakcjach bierze również udział NADH, którego utlenieniu towarzyszy spadek absorbancji mierzonej przy długości fali 340 nm. Spadek ten jest proporcjonalny do stężenia mocznika w badanej próbce. Ze stężenia mocznika obliczono stężenie azotu mocznika (BUN).



wykonanie oznaczenia:

Pomiaru absorbancji dokonano automatycznie wobec próby ślepej w temp. 37°C, przy długości fali  $\lambda = 340$  nm; długość drogi optycznej 1 cm. Pierwszego pomiaru absorbancji ( $A_1$ ) dokonano po 30 s okresie inkubacji, natomiast drugiego pomiaru absorbancji ( $A_2$ ) dokonano po dalszych 60 s.

obliczenia wyniku:

Stężenie mocznika w próbce zostało obliczone automatycznie według następującego wzoru:

$$\text{mocznik} \left[ \text{mmol/l} \right] = \frac{(A_2 - A_1)_{\text{próby}}}{(A_2 - A_1)_{\text{standardu}}} \times C_{\text{standardu}}$$

$$\text{mocznik} [\text{mmol/l}] \times 0,467 = \text{BUN} [\text{mmol/l}]$$

gdzie,  $A_1$ - absorbancja po 30 s

$A_2$ - absorbancja po kolejnych 60 s

**4.2.3.2.5. Oznaczanie stężenia kreatyniny.**

Do oznaczenia kreatyniny wykorzystano reakcję Jaffe, w której kreatynina reaguje z kwasem pikrynowym dając żółto-pomarańczowy kompleks. Szybkość powstawania tego kompleksu mierzona przy długości fali 510 nm jest proporcjonalna do stężenia kreatyniny w badanej próbce.

wykonanie oznaczenia:

Pomiaru absorbancji dokonano automatycznie wobec próby ślepej w temp. 37°C, przy długości fali  $\lambda = 510$  nm; długość drogi optycznej 1 cm. Pomiaru absorbancji dokonano automatycznie po 60 s ( $A_1$ ) i po następnych 120 s ( $A_2$ )

obliczenia wyniku:

Stężenie kreatyniny w próbce zostało obliczone automatycznie według następującego wzoru:

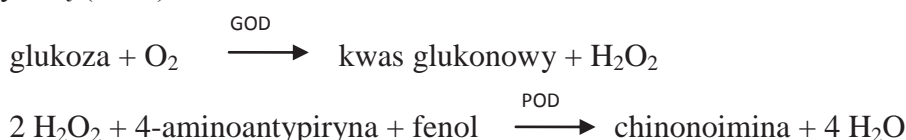
$$\text{kreatynina} \left[ \frac{\mu\text{mol}}{\text{l}} \right] = \frac{(A_2 - A_1)_{\text{próby}}}{(A_2 - A_1)_{\text{standardu}}} \times C_{\text{standardu}}$$

gdzie,  $A_1$ - absorbancja po 60s

$A_2$ - absorbancja po 120s

#### 4.2.3.2.6. Oznaczanie stężenia glukozy

Glukozę oznaczono po jej enzymatycznej oksydacji przy udziale oksydazy glukozowej (GOD). Kolorymetrycznym wskaźnikiem była chinonoimina powstająca z 4-aminoantypiryny i fenolu przy udziale nadtlenu wodoru w reakcji katalizowanej przez peroksydazę (POD).



wykonanie oznaczenia:

Pomiaru absorbancji dokonano automatycznie wobec próby ślepej w temp. 37°C, przy długości fali  $\lambda = 510 \text{ nm}$ ; długość drogi optycznej 1 cm.

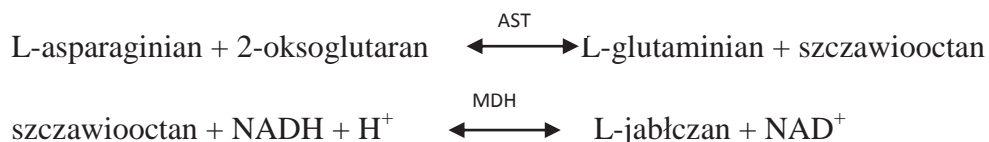
obliczenia wyniku:

Stężenie glukozy w próbce zostało obliczone automatycznie wg następującego wzoru:

$$\text{glukoza} \left[ \frac{\text{mmol}}{\text{l}} \right] = \frac{A_{\text{próby}} - A_{\text{próby ślepej}}}{A_{\text{standardu}} - A_{\text{próby ślepej}}} \times C_{\text{standardu}}$$

#### 4.2.3.2.7. Oznaczanie aktywności aminotransferazy asparaginianowej (AST)

Do oznaczenia aktywności aminotransferazy asparaginianowej wykorzystano jej zdolność do katalizowania reakcji przeniesienia reszty aminowej z L-asparaginianu na 2-oksoglutaran. W wyniku tej reakcji powstaje szczawiooctan i L-glutaminian. W następnej reakcji enzymatycznej katalizowanej przez dehydrogenazę jabłczanową (MDH), szczawiooctan jest redukowany do L-jabłczanu z jednoczesnym utlenieniem NADH do  $\text{NAD}^+$ . Spadek absorbancji przy długości fali 340 nm towarzyszący utlenianiu NADH jest proporcjonalny do aktywności AST.

wykonanie oznaczenia:

Pomiaru absorbancji dokonano automatycznie. W ciągu 1 s zostało wykonanych 6 pomiarów, co daje 180 pomiarów w ciągu 30 s. cyklu pomiarowego. Pomiar został przeprowadzony w temp. 37°C, przy długości fali  $\lambda = 340$  nm; długość drogi optycznej 1 cm.

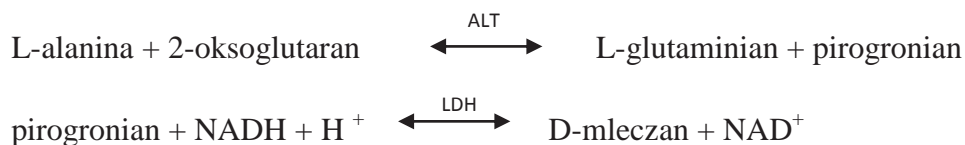
obliczenia wyniku:

Średnia wartość absorbancji na minutę ( $\Delta A/\text{min}$ ) została wyliczona automatycznie na podstawie uzyskanych pomiarów w ciągu 30 s. cyklu pomiarowego. Aktywność AST w próbce wyliczona została według następującego wzoru.

$$\text{aktywność AST [U/l]} = \Delta A/\text{min} \times 2143$$

**4.2.3.2.8. Oznaczanie aktywności aminotransferazy alaninowej (ALT)**

Do oznaczenia wykorzystano zdolność aminotransferazy alaninowej do katalizowania reakcji przeniesienia reszty aminowej z L-alaniny na  $\alpha$ -ketoglutaran. W wyniku tej reakcji powstaje pirogronian i L-glutaminian. W następnej reakcji enzymatycznej katalizowanej przez dehydrogenazę mleczanową (LDH) pirogronian ulega redukcji do mleczanu z jednoczesnym utlenieniem NADH do  $\text{NAD}^+$ . Spadek absorbancji przy długości fali 340 nm towarzyszący utlenianiu NADH jest proporcjonalny do aktywności ALT.

wykonanie oznaczenia:

Pomiaru absorbancji dokonano automatycznie. W ciągu 1 s zostało wykonanych 6 pomiarów, co daje 180 pomiarów w ciągu 30 s. cyklu pomiarowego. Pomiaru dokonano w temp. 37°C, przy długości fali  $\lambda = 340$  nm; długość drogi optycznej 1 cm.

obliczenia wyniku:

Średnia wartość absorbancji na minutę ( $\Delta A/\text{min}$ ) wyliczona została automatycznie na podstawie uzyskanych pomiarów w ciągu 30 s. cyklu pomiarowego. Aktywność ALT w próbce wyliczona została według następującego wzoru.

$$\text{aktywność ALT [U/l]} = \Delta A/\text{min} \times 2143$$

**4.2.3.2.9. Oznaczanie aktywności fosfatazy zasadowej (AP)**

Fosfataza zasadowa katalizuje hydrolizę p-nitrofenylofosforanu do p-nitrofenolu i fosforanu. W metodzie wykorzystano wzrost absorbancji przy długości fali 405 nm, który jest wprost proporcjonalny do aktywności fosfatazy zasadowej w badanej próbce.

wykonanie oznaczenia:

Pomiaru absorbancji dokonano automatycznie. W ciągu 1 s zostało wykonanych 6 pomiarów, co daje 180 pomiarów w ciągu 30 s. cyklu pomiarowego. Pomiaru dokonano w temp. 37 °C, przy długości fali  $\lambda = 405$  nm; długość drogi optycznej 1 cm.

obliczenia wyniku:

Średnia wartość absorbancji na minutę ( $\Delta A/\text{min}$ ) wyliczona została automatycznie na podstawie uzyskanych pomiarów w ciągu 30 s. cyklu pomiarowego. Aktywność AP w próbce obliczono z następującego wzoru.

$$\text{aktywność AP [U/l]} = \Delta A/\text{min} \times 3433$$

**4.2.3.2.10. Oznaczanie elektrolitów  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$** 

Do oznaczenia  $\text{Na}^+$  i  $\text{K}^+$  wykorzystano elektrody sodową i potasową selektywnie przepuszczające odpowiednio jony sodowe i potasowe. Potencjały na każdej z elektrod mierzone są w odniesieniu do stabilnego potencjału na elektrodzie referencyjnej uformowanej ze specjalnego materiału (srebro/srebro-chlor). W metodzie wykorzystano zmianę napięcia między elektrodami pomiarowymi a elektrodą referencyjną, która zależy od koncentracji jonów w próbce.

#### **4.2.4. Badania patomorfologiczne**

##### **4.2.4.1. Badania makroskopowe**

Zwierzęta padłe w trakcie doświadczenia oraz wszystkie zwierzęta po zakończeniu doświadczenia poddano szczegółowym badaniom makroskopowym, obejmującym ocenę wizualną zewnętrznej powierzchni ciała, naturalnych otworów ciała oraz narządów wewnętrznych.

##### **4.2.4.2. Masa narządów wewnętrznych**

Po zakończeniu doświadczenia, u 10 samców i 10 samic każdej grupy zwierząt ważono następujące narządy wewnętrzne: mózg, serce, płuca, wątrobę, śledzionę, nerki, nadnercza, grasicę, tarczycę, przysadkę mózgową i gonady (jądra lub jajniki).

##### **4.2.4.3. Badania mikroskopowe <sup>1</sup>**

U 10 samców i 10 samic każdej grupy zwierząt wykonano szczegółowe badania sekcyjne i pobrano do badań mikroskopowych następujące narządy: mózg, rdzeń kręgowy, przysadkę mózgową, tarczycę z przytarczycami, grasicę, przełyk, ślinianki, żołądek, jelito cienkie i grube, wątrobę, trzustkę, nerki, nadnercza, śledzionę, serce, tchawicę, płuca, gonady (jądra i jajniki), macicę, dodatkowe gruczoły płciowe, pęcherz moczowy, węzły chłonne, mięsień szkieletowy, nerw obwodowy, skórę. Narządy i tkanki utrwalano w 10% roztworze formaliny. Utrwalone wycinki opracowano techniką parafinową i wykonano skrawki, które następnie barwiono hematoksyliną i eozyną. Tak przygotowane preparaty oceniono w mikroskopie świetlnym (Zawistowski, 1986).

#### **4.3. Obliczenia statystyczne**

Wyniki przeprowadzonych badań poddano analizie statystycznej, wykorzystując program komputerowy STATISTICA 8.0 PL. W ocenie statystycznej przyjęto poziom istotności statystycznej  $p \leq 0,05$  (Łomnicki, 2003; Stanisiz 2006). Wyniki przedstawiono w tabelach w postaci wartości średnich i odchylenia standardowego ( $\bar{x} \pm SD$ ), w nawiasach podano wartości minimalną i maksymalną. Masę narządów wewnętrznych podano w wartościach bezwzględnych (mg) oraz względnych w odniesieniu do masy ciała zwierzęcia (%).

---

<sup>1</sup> Ocenę mikroskopową wykonał Pan doc. dr Kazimierz Kita, za co składam podziękowania.

Dla każdego parametru ilościowego określano podstawowe charakterystyki statystyki opisowej: średnią, odchylenie standardowe, wartość minimalną i wartość maksymalną, wariancję oraz za pomocą testu Shapiro-Wilka oceniano, czy dany parametr charakteryzował się rozkładem zbliżonym lub odbiegającym od normalnego. Następnie do oceny zależności międzygrupowych wykorzystano następujące testy statystyczne:

- dla parametrów ilościowych mających rozkład zbliżony do normalnego: jednoczynnikową analizę wariancji, poprzedzoną testem Bartlett'a, sprawdzającym jednorodność wariancji, a następnie test post hoc: test Dunnett'a lub test t
- dla parametrów ilościowych mających rozkład odbiegający od normalnego lub w przypadku stwierdzenia niejednorodności wariancji: test Kruskala-Wallisa

Dla zmiennych w skali jakościowej określono częstość występowania w poszczególnych grupach. Do oceny zależności międzygrupowych wykorzystano dokładny test Fishera (Stanisz, 2006).

## 5. WYNIKI

### 5.1. Badania kliniczne

#### 5.1.1. Objawy kliniczne

Objawy kliniczne, które wystąpiły w trakcie doświadczenia u zwierząt narażanych na 2,4-D lub MCPA zestawiono, odpowiednio w tabelach 5 i 6. Przed rozpoczęciem badań zwierzęta charakteryzowały się normalnym wyglądem i zachowaniem się, a także wykazywały prawidłową reakcją na bodźce zewnętrzne.

#### **2,4-D**

W trakcie doświadczenia, u zwierząt z grupy kontrolnej oraz grup narażanych na 2,4-D obserwowano zmiany kliniczne, które w wielu wypadkach miały charakter przejściowy. U zwierząt stwierdzono spadek masy ciała, zmiany w sposobie chodzenia i aktywności ruchowej, nastroszenie sierści, wyłysienie, wytrzeszcz oczu, zaburzenia w pracy układu oddechowego, wydzielinę śluzową z nozdrzy, zapalenie ucha, a także mocz o krwistym podbarwieniu (tabela 5). Częstość występowania poszczególnych rodzajów zmian klinicznych w grupach zwierząt narażanych na 2,4-D była podobna do występujących w grupie kontrolnej. Statystycznie istotny wzrost częstości występowania przejściowego spadku masy ciała stwierdzono jedynie u samic otrzymujących 2,4-D w stężeniu 2400 ppm (grupa 3).

#### **MCPA**

W trakcie doświadczenia, u zwierząt grup narażanych na MCPA oraz grupy kontrolnej obserwowano zmiany kliniczne, które u wielu osobników miały charakter przejściowy. U zwierząt stwierdzono: spadek masy ciała, zmiany w sposobie chodzenia i w poziomie aktywności ruchowej, nastroszenie sierści, wytrzeszcz oczu, zaburzenia w funkcjonowaniu układu oddechowego, wydzielinę śluzową z nozdrzy, zapalenie ucha oraz moczenie się (tabela 6). Częstość występowania poszczególnych rodzajów zmian klinicznych była podobna w grupach zwierząt narażanych na MCPA oraz w grupie kontrolnej. Jedynie u samic grupy 3 (2450 ppm), w porównaniu do grupy kontrolnej, występował statystycznie istotnie częściej przejściowy i nieznaczny wzrost aktywności ruchowej.



### **5.1.2. Śmiertelność**

#### **2,4-D**

W badaniu toksyczności przy powtarzanym 90-dniowym podawaniu doustnym 2,4-D nie odnotowano padnięć zwierząt.

#### **MCPA**

W badaniu toksyczności przy powtarzanym 90-dniowym podawaniu doustnym MCPA padła jedna samica z grupy kontrolnej, dwa samce z grupy 1 (200 ppm) i jeden samiec z grupy 3 (2450 ppm). Jeden samiec z grupy kontrolnej został poddany eutanazji ze względu na objawy widocznego cierpienia (tabela 6).

Samica z grupy kontrolnej padła w 2 miesiącu doświadczenia. Zwierzę zostało pożarte przez pozostałe szczury w klatce i zmian organicznych nie zdołano ustalić.

Jeden samiec z grupy 1 (200 ppm) padł w 2 miesiącu doświadczenia, a przyczyną śmierci było ropne zapalenie płuc. Przyczyną śmierci drugiego samca z tej samej grupy, który padł w 3 miesiącu doświadczenia, była mocznica.

U samca z grupy 3 (2450 ppm), który padł w 1 miesiącu doświadczenia stwierdzono zapalenie płuc.

U poddanego eutanazji samca z grupy kontrolnej stwierdzono ropne zapalenie ucha wewnętrznego.

**Tabela 5.** Objawy kliniczne obserwowane u zwierząt w trakcie narażania na 2,4-D.

objawy kliniczne		GRUPA / stężenie 2,4-D / płeć / liczba zwierząt							
		0 (0 ppm)		1 (150 ppm)		2 (600 ppm)		3 (2400 ppm)	
		samce	samice	samce	samice	samce	samice	samce	samice
padłe		-	-	-	-	-	-	-	-
zwierzęta, u których stwierdzono objawy kliniczne		9	-	4	5	5	5	2	12
spadek masy ciała		7 <sup>a</sup>	-	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	-	1	2 <sup>a</sup>	10 <sup>a*</sup>
sposób chodzenia	utrata koordynacji ruchowej	-	-	1	-	-	-	-	-
aktywność ruchowa	nieznaczny spadek	-	-	-	-	1	-	-	-
nastroszenie sierści		-	-	-	-	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	-	1 <sup>a</sup>
wyłysienie		-	-	-	-	-	-	-	2
wytrzeszcz oczu		-	-	-	-	-	3	-	2
układ oddechowy	szmery oddechowe	2 +4 <sup>a</sup>	-	-	1 <sup>a</sup>	2	-	-	1
	przyśpieszony oddech	1+1 <sup>a</sup>	-	1+1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1+1 <sup>a</sup>	1+1 <sup>a</sup>	-	-
	trudne oddychanie	-	-	-	-	1 <sup>a</sup>	-	-	-
wydzielina śluzowa z nozdrzy		1 <sup>a</sup>	-	-	-	-	-	-	-
zapalenie ucha		-	-	1	1	-	-	-	-
mocz o krwistym podbarwieniu		-	-	-	-	-	-	-	1 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> – objawy kliniczne, które obserwowano przejściowo

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 6.** Objawy kliniczne obserwowane u zwierząt w trakcie narażania na MCPA.

objawy kliniczne		GRUPA / stężenie MCPA / płeć / liczba zwierząt							
		0 (0 ppm)		1 (200 ppm)		2 (700 ppm)		3 (2450 ppm)	
		samce	samice	samce	samice	samce	samice	samce	samice
padle		1 <sup>b</sup>	1	2	-	-	-	1	-
zwierzęta, u których stwierdzono objawy kliniczne		7	6	5	7	9	8	5	20
spadek masy ciała		1	2	1	1 <sup>a</sup>	1	1 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	1 + 2 <sup>a</sup>
sposób chodzenia	chodzenie z zaokrąglonym grzbietem	-	1	1	-	-	-	-	1
	chodzenie na palcach	-	1	1	-	-	-	-	-
aktywność ruchowa	nieznaczny wzrost	-	-	-	-	-	-	-	15 <sup>a*</sup>
	nieznaczny spadek	-	-	-	2 <sup>a</sup>	-	-	1 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>
	wyraźny spadek	1	1	1	-	-	-	-	-
nastroszenie sierści		-	1	1	2 <sup>a</sup>	-	2 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>
wytrzeszcz oczu		-	-	-	-	-	-	-	4
układ oddechowy	szmery oddechowe	4 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	2 + 2 <sup>a</sup>	5 + 2 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>	3+3 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	3+ 3 <sup>a</sup>
	przyśpieszony oddech	-	-	1	1	1	-	-	1 <sup>a</sup>
	trudne oddychanie	1 <sup>a</sup>	-	-	-	-	1 <sup>a</sup>	-	-
wydzielina śluzowa z nozdrzy		3 <sup>a</sup>	-	-	2 <sup>a</sup>	1+1 <sup>a</sup>	-	-	-
zapalenie ucha		1	-	-	-	1	2	-	-
moczenie		-	-	-	-	-	-	1 <sup>a</sup>	-

<sup>a</sup> – objawy kliniczne, które obserwowano przejściowo

<sup>b</sup> – zwierzę poddano eutanazji

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

### 5.1.3. Masa ciała

Średnia masa ciała zwierząt narażanych na 2,4-D została przedstawiona w tabeli 7 (samce) oraz w tabeli 8 (samice). Średnia masa ciała zwierząt narażanych na MCPA została przedstawiona w tabeli 9 (samce) oraz w tabeli 10 (samice). Przyrost masy ciała zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono na rycinie 4 (samce) i na rycinie 5 (samice) natomiast zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono na rycinie 6 (samce) i rycinie 7 (samice).

#### 2,4-D

Średnia masa ciała samców otrzymujących 2,4-D nie różniła się statystycznie istotnie od średniej masy ciała samców z grupy kontrolnej (tabela 7). Jedynie w 1 tygodniu doświadczenia stwierdzono statystycznie istotnie mniejszą średnią masę ciała u samców z grupy 3 (2400 ppm) niemniej zakres masy ciała samców grupy 3 (2400 ppm) był podobny do zakresu masy ciała samców grupy kontrolnej. U samic grupy 1 (150 ppm) i grupy 2 (600 ppm) średnia masa ciała nie różniła się statystycznie istotnie od średniej masy ciała samic grupy kontrolnej. Odmiennie, u samic grupy 3 (2400 ppm) w trakcie całego doświadczenia stwierdzono statystycznie istotnie mniejszą średnią masę ciała w porównaniu do grupy kontrolnej (tabela 8). Po 13 tygodniach doświadczenia masa ciała samic grupy 3 (2400 ppm) była niższa o około 11% od masy ciała grupy kontrolnej.

U samców narażanych na 2,4-D przyrost masy ciała w trakcie 13 tygodniowego okresu narażania kształtował się na poziomie grupy kontrolnej (rycina 4). Natomiast u samic w grupie 3 (2400 ppm) obserwowano mniejszy przyrost masy ciała w trakcie całego doświadczenia (rycina 5).

#### MCPA

Średnia masa ciała, w porównaniu do grupy kontrolnej, była statystycznie istotnie mniejsza u narażanych na MCPA samców grupy 1 (200 ppm) od 3 do 8 tygodnia doświadczenia, grupy 2 (700 ppm) od 3 do 10 tygodnia oraz grupy 3 (2450 ppm) w ciągu całego okresu podawania MCPA (tabela 9). Po 13 tygodniach doświadczenia masa ciała samców tej grupy była niższa o ok. 17% od masy ciała samców grupy kontrolnej. Średnia masa ciała samic, w porównaniu do grupy kontrolnej, była przejściowo niższa w grupie 1 (200 ppm) od 3 do 5 tygodnia doświadczenia (tabela 10). Po 13 tygodniach doświadczenia

masa ciała samic grupy 3 (2450 ppm) była niższa o ok. 19% od masy ciała samic grupy kontrolnej.

U zwierząt otrzymujących MCPA stwierdzono przejściowy mniejszy przyrost masy ciała u samców i u samic grupy 1 (200 ppm) oraz u samic grupy 2 (700 ppm). Natomiast u zwierząt narażonych na działanie MCPA w najwyższym stężeniu (grupa 3) stwierdzono w trakcie całego doświadczenia mniejszy przyrost masy ciała, zarówno u samic jak i u samców (rycina 6 i 7).

Tabela 7. Średnia masa ciała (g) zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min.–maks.)

TYDZIEŃ	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
0	20	247,35 ± 15,37 (224 - 272)	20	247,25 ± 14,08 (217 - 272)	20	250,50 ± 13,87 (232 - 281)	20	250,15 ± 12,52 (231 - 271)
1	20	285,50 ± 19,07 (232 - 319)	20	278,80 ± 16,86 (247 - 311)	20	281,70 ± 16,91 (252 - 316)	20	<b>273,30 ± 16,34*</b> (249 - 302)
2	20	306,35 ± 30,58 (199 - 341)	20	305,20 ± 17,98 (268 - 337)	20	307,95 ± 19,04 (261 - 346)	20	294,95 ± 17,08 (261 - 326)
3	20	330,05 ± 32,23 (233 - 377)	20	330,65 ± 20,92 (295 - 362)	20	334,25 ± 19,24 (297 - 365)	20	318,10 ± 21,84 (277 - 355)
4	20	353,65 ± 28,04 (286 - 407)	20	355,45 ± 24,54 (314 - 404)	20	355,85 ± 23,09 (316 - 406)	20	338,90 ± 22,77 (301 - 376)
5	20	367,55 ± 27,04 (321 - 435)	20	368,80 ± 27,24 (322 - 429)	20	367,35 ± 25,70 (316 - 427)	20	350,65 ± 26,36 (312 - 401)
6	20	375,95 ± 27,35 (326 - 440)	20	376,60 ± 27,73 (337 - 433)	20	376,70 ± 25,71 (331 - 433)	20	363,05 ± 26,85 (316 - 410)
7	20	385,80 ± 27,48 (336 - 443)	20	386,40 ± 29,36 (339 - 433)	20	388,05 ± 28,60 (339 - 447)	20	374,35 ± 29,40 (327 - 432)
8	20	399,60 ± 30,32 (345 - 468)	20	399,60 ± 31,61 (353 - 459)	20	400,60 ± 31,24 (349 - 470)	20	388,05 ± 32,05 (334 - 444)
9	20	409,60 ± 31,34 (352 - 477)	20	408,65 ± 33,22 (360 - 470)	20	412,05 ± 32,29 (359 - 477)	20	399,40 ± 34,30 (346 - 459)
10	20	414,95 ± 30,89 (359 - 485)	20	415,75 ± 33,08 (362 - 473)	20	420,60 ± 33,34 (361 - 478)	20	400,45 ± 42,90 (289 - 469)
11	20	422,65 ± 31,31 (363 - 495)	20	424,60 ± 33,68 (376 - 490)	20	428,60 ± 33,66 (373 - 497)	20	412,75 ± 35,39 (354 - 482)
12	20	428,15 ± 32,19 (362 - 501)	20	429,00 ± 34,33 (369 - 497)	20	436,90 ± 36,28 (379 - 501)	20	419,00 ± 38,04 (358 - 492)
13	20	431,05 ± 32,42 (368 - 503)	20	433,35 ± 36,03 (365 - 514)	20	443,00 ± 36,75 (383 - 508)	20	424,30 ± 40,82 (359 - 501)
$\frac{\text{śr. m. c. grupy}}{\text{śr. m. c. grupy 0}} \times 100\%$ (w 13 tyg.)		100 %		101%		103%		98%

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 8.** Średnia masa ciała (g) zwierząt narażanych na 2,4-D - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

TYDZIEŃ	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
0	20	184,05 ± 10,73 (166 - 213)	20	184,55 ± 11,10 (162 - 203)	20	183,85 ± 10,36 (168 - 204)	20	185,35 ± 8,90 (171 - 201)
1	20	200,75 ± 11,47 (182 - 229)	20	200,95 ± 14,79 (175 - 227)	20	195,55 ± 12,31 (177 - 222)	20	<b>175,95 ± 16,28*</b> (147 - 204)
2	20	214,20 ± 14,94 (188 - 245)	20	214,20 ± 16,47 (185 - 246)	20	210,50 ± 12,82 (190 - 238)	20	<b>196,65 ± 13,05*</b> (173 - 218)
3	20	226,70 ± 13,90 (205 - 260)	20	226,60 ± 16,36 (202 - 263)	20	221,85 ± 11,33 (203 - 239)	20	<b>209,05 ± 10,24*</b> (190 - 227)
4	20	236,60 ± 17,23 (213 - 272)	20	239,35 ± 17,22 (215 - 283)	20	234,60 ± 14,65 (214 - 258)	20	<b>218,65 ± 13,71*</b> (192 - 245)
5	20	244,40 ± 17,97 (215 - 275)	20	245,25 ± 21,50 (217 - 298)	20	239,45 ± 15,57 (211 - 267)	20	<b>221,30 ± 14,09*</b> (196 - 247)
6	20	247,25 ± 17,81 (218 - 284)	20	246,90 ± 20,55 (222 - 300)	20	241,50 ± 14,37 (222 - 269)	20	<b>224,55 ± 13,18*</b> (199 - 249)
7	20	252,20 ± 18,22 (226 - 289)	20	251,90 ± 19,02 (224 - 293)	20	246,95 ± 14,57 (221 - 269)	20	<b>229,60 ± 13,92*</b> (202 - 253)
8	20	258,70 ± 18,76 (236 - 298)	20	258,70 ± 21,32 (228 - 310)	20	254,65 ± 15,13 (232 - 276)	20	<b>235,90 ± 13,25*</b> (210 - 258)
9	20	264,20 ± 17,83 (244 - 305)	20	260,00 ± 24,30 (228 - 315)	20	256,65 ± 15,87 (225 - 280)	20	<b>238,00 ± 15,08*</b> (213 - 260)
10	20	265,80 ± 18,84 (237 - 307)	20	262,90 ± 22,30 (229 - 313)	20	258,90 ± 15,26 (238 - 284)	20	<b>238,80 ± 14,97*</b> (214 - 262)
11	20	275,15 ± 30,30 (243 - 369)	20	266,10 ± 24,44 (228 - 317)	20	262,70 ± 17,83 (235 - 292)	20	<b>240,35 ± 15,23*</b> (219 - 265)
12	20	271,15 ± 21,12 (246 - 322)	20	269,00 ± 24,13 (234 - 324)	20	264,95 ± 17,05 (237 - 300)	20	<b>242,70 ± 15,26*</b> (220 - 273)
13	20	272,15 ± 18,32 (245 - 312)	20	268,60 ± 22,02 (231 - 324)	20	264,15 ± 17,51 (234 - 308)	20	<b>241,90 ± 14,13*</b> (218 - 265)
śr. m. c. grupy śr. m. c. grupy 0 (w 13 tyg.)		x100%		100%	99%	97%	89%	

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 9.** Masa ciała (g) zwierząt narażanych na MCPA - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

TYDZIEŃ	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
0	20	165,85 ± 9,69 (141 - 185)	20	165,80 ± 9,59 (141 - 183)	20	165,90 ± 7,35 (152 - 179)	20	165,00 ± 12,90 (129 - 180)
1	20	203,70 ± 12,75 (182 - 225)	20	199,35 ± 18,13 (168 - 233)	20	204,60 ± 10,78 (190 - 228)	20	<b>191,00 ± 15,26*</b> (160 - 220)
2	20	241,95 ± 17,00 (208 - 275)	20	228,20 ± 26,63 (179 - 274)	20	238,80 ± 16,11 (220 - 282)	20	<b>212,55 ± 22,03*</b> (152 - 240)
3	20	280,55 ± 18,35 (249 - 317)	20	<b>248,85 ± 28,19*</b> (199 - 299)	20	<b>267,30 ± 20,35*</b> (236 - 320)	20	<b>237,25 ± 21,28*</b> (178 - 263)
4	20	313,35 ± 22,76 (264 - 351)	20	<b>266,15 ± 31,17*</b> (214 - 318)	20	<b>287,20 ± 26,88*</b> (241 - 349)	19	<b>254,42 ± 26,29*</b> (198 - 294)
5	20	336,25 ± 26,32 (279 - 387)	20	<b>278,65 ± 35,43*</b> (209 - 329)	20	<b>296,15 ± 30,03*</b> (244 - 363)	19	<b>258,63 ± 30,51*</b> (194 - 306)
6	20	353,70 ± 30,37 (295 - 412)	20	<b>291,00 ± 40,34*</b> (193 - 352)	20	<b>307,25 ± 30,89*</b> (249 - 376)	19	<b>265,42 ± 25,66*</b> (221 - 313)
7	20	368,15 ± 33,08 (313 - 430)	19	<b>322,89 ± 31,88*</b> (259 - 369)	20	<b>327,70 ± 31,16*</b> (279 - 393)	19	<b>283,84 ± 26,47*</b> (238 - 332)
8	20	380,60 ± 34,60 (318 - 444)	19	<b>349,16 ± 33,97*</b> (298 - 413)	20	<b>351,00 ± 36,45*</b> (285 - 426)	19	<b>301,95 ± 29,84*</b> (245 - 358)
9	20	387,20 ± 45,38 (256 - 458)	19	363,79 ± 38,10 (293 - 433)	20	365,55 ± 39,82 (296 - 455)	19	<b>313,32 ± 32,41*</b> (248 - 366)
10	19	402,79 ± 37,17 (331 - 470)	19	379,42 ± 39,55 (315 - 458)	20	<b>376,30 ± 41,33*</b> (302 - 462)	19	<b>323,74 ± 34,33*</b> (252 - 375)
11	19	412,32 ± 38,45 (338 - 480)	19	389,53 ± 41,42 (317 - 467)	20	388,60 ± 43,93 (318 - 485)	19	<b>336,42 ± 33,80*</b> (266 - 394)
12	19	421,32 ± 42,33 (341 - 497)	19	401,74 ± 40,43 (334 - 480)	20	395,70 ± 47,86 (321 - 507)	19	<b>346,63 ± 36,48*</b> (276 - 407)
13	19	424,79 ± 42,80 (351 - 510)	18	409,39 ± 41,47 (340 - 498)	20	401,25 ± 48,33 (325 - 507)	19	<b>351,42 ± 37,68*</b> (280 - 415)
śr. m. c. grupy śr. m.c. grupy 0 (w 13 tyg.)		x100%						
		100%		96%		94%		83%

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

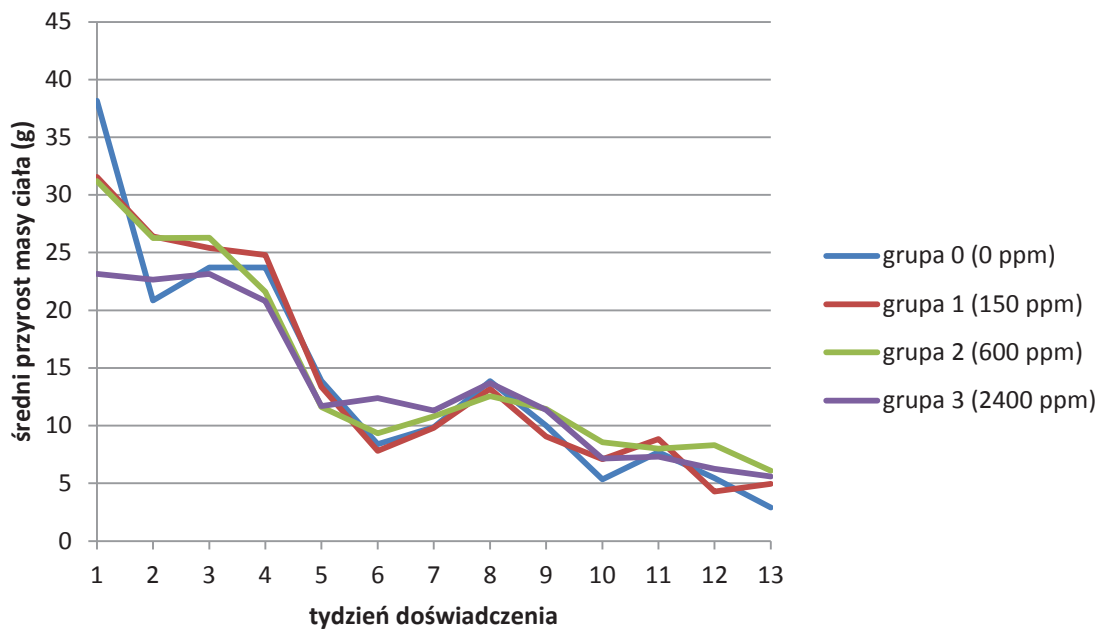


**Tabela 10.** Masa ciała (g) zwierząt narażanych na MCPA - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

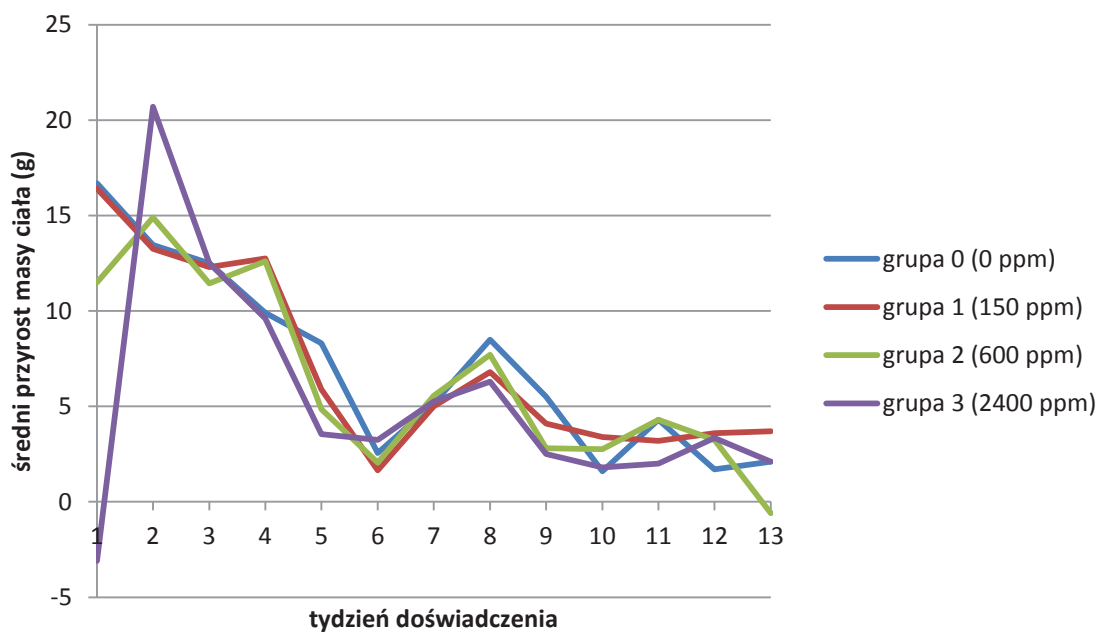
TYDZIEŃ	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
0	20	137,75 ± 6,14 (125 - 154)	20	135,60 ± 5,29 (126 - 148)	20	137,00 ± 4,94 (129 - 146)	20	135,65 ± 8,09 (116 - 146)
1	20	162,05 ± 9,16 (141 - 176)	20	155,20 ± 14,26 (121 - 179)	20	156,55 ± 8,85 (141 - 180)	20	<b>143,80 ± 12,94*</b> (118 - 163)
2	20	181,00 ± 13,29 (155 - 207)	20	171,40 ± 17,86 (141 - 204)	20	174,40 ± 12,10 (156 - 205)	20	<b>156,95 ± 12,22*</b> (132 - 179)
3	20	197,80 ± 13,69 (181 - 225)	20	<b>183,45 ± 21,55*</b> (133 - 228)	20	190,10 ± 15,06 (169 - 224)	20	<b>169,00 ± 12,88*</b> (142 - 192)
4	20	211,65 ± 17,37 (191 - 248)	20	<b>191,20 ± 25,54*</b> (117 - 243)	20	201,90 ± 19,17 (175 - 241)	20	<b>176,35 ± 13,87*</b> (148 - 201)
5	20	218,30 ± 26,32 (141 - 262)	20	<b>199,50 ± 24,22*</b> (137 - 250)	20	210,15 ± 22,03 (175 - 248)	20	<b>179,25 ± 17,99*</b> (146 - 211)
6	20	225,15 ± 29,66 (140 - 277)	20	210,10 ± 23,91 (153 - 255)	20	215,55 ± 21,43 (188 - 265)	20	<b>179,90 ± 14,60*</b> (157 - 208)
7	20	232,10 ± 31,79 (133 - 287)	20	220,80 ± 25,57 (168 - 268)	20	223,80 ± 21,94 (192 - 273)	20	<b>188,05 ± 16,62*</b> (161 - 211)
8	20	236,30 ± 36,97 (115 - 293)	20	227,90 ± 26,49 (178 - 282)	20	232,65 ± 26,72 (192 - 285)	20	<b>194,90 ± 16,70*</b> (167 - 220)
9	19	245,11 ± 24,32 (213 - 298)	20	233,35 ± 23,99 (194 - 284)	20	236,20 ± 26,37 (197 - 280)	20	<b>198,65 ± 18,11*</b> (169 - 224)
10	19	249,84 ± 24,30 (215 - 300)	20	237,00 ± 23,76 (195 - 280)	20	239,15 ± 26,13 (199 - 290)	20	<b>200,75 ± 18,98*</b> (171 - 230)
11	19	254,63 ± 24,52 (218 - 311)	20	241,90 ± 25,25 (198 - 291)	20	243,95 ± 28,99 (201 - 299)	20	<b>205,50 ± 19,11*</b> (173 - 233)
12	19	257,26 ± 28,78 (221 - 322)	20	243,70 ± 26,16 (201 - 299)	20	246,15 ± 28,67 (199 - 298)	20	<b>208,10 ± 19,45*</b> (178 - 241)
13	19	258,21 ± 26,18 (223 - 316)	20	244,65 ± 25,13 (200 - 290)	20	246,10 ± 26,81 (205 - 289)	20	<b>208,95 ± 19,25*</b> (174 - 241)
śr. m. c. grupy śr. m.c. grupy 0 (w 13 tyg.)		x100%		100%	95%	95%	81%	

n - liczba zwierząt

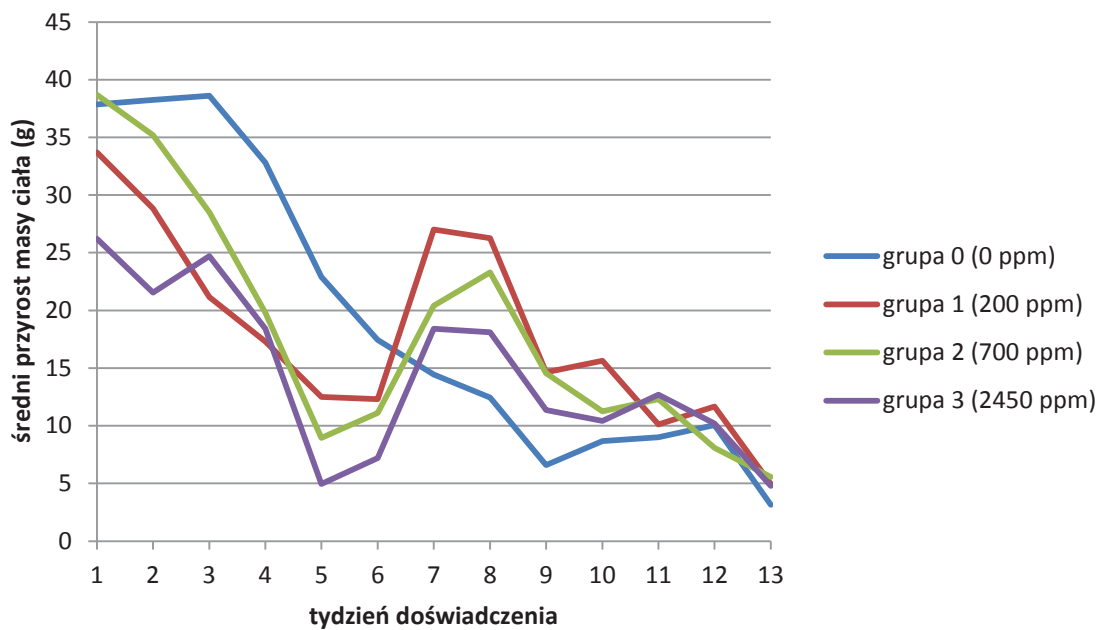
\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej



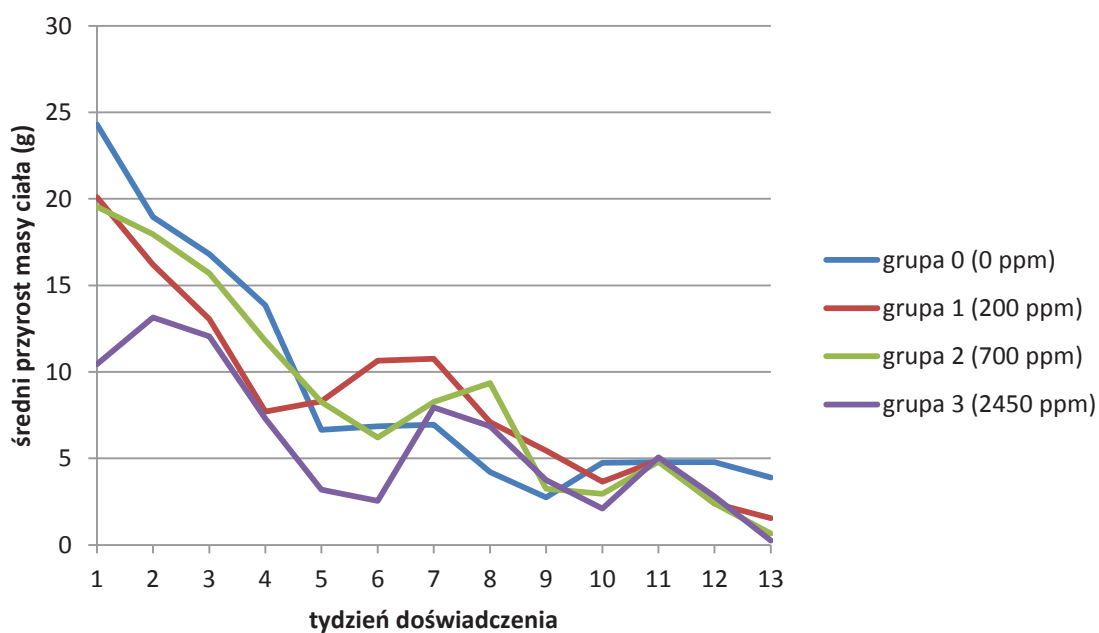
**Rycina 4.** Przyrost masy ciała (g) zwierząt narażanych na 2,4-D - samce



**Rycina 5.** Przyrost masy ciała (g) zwierząt narażanych na 2,4-D - samice



**Rycina 6.** Przyrost masy ciała (g) zwierząt narażanych na MCPA - samce



**Rycina 7.** Przyrost masa ciała (g) zwierząt narażanych na MCPA - samice

#### 5.1.4. Spożycie paszy

Średnie spożycie paszy przez zwierzęta narażane na 2,4-D przedstawiono w tabeli 11 (samce) i w tabeli 12 (samice). Średnie spożycie paszy przez zwierzęta narażane na MCPA przedstawiono w tabeli 13 (samce) i w tabeli 14 (samice).

##### **2,4-D**

Średnie spożycie paszy przez samce narażane na 2,4-D, nie różniło się statystycznie istotnie od średniego spożycia paszy samców grupy kontrolnej. Jedynie w 13 tygodniu doświadczenia stwierdzono statystycznie istotnie większe spożycie paszy przez samce w grupie 2 (600 ppm) w porównaniu do grupy kontrolnej (tabela 11). Średnie spożycie paszy przez samice narażane na 2,4-D w grupie 1 (150 ppm) i 2 (600 ppm) kształtowało się na poziomie grupy kontrolnej. Odmiennie, w grupie 3 (2400 ppm) stwierdzono statystycznie istotnie większe spożycie paszy przez samice w 1 i 2 tygodniu doświadczenia. Od 3 do 6 tygodnia spożycie paszy w tej grupie było podobne jak w grupie kontrolnej, natomiast od 7 tygodnia do zakończenia doświadczenia było istotnie mniejsze niż w grupie kontrolnej (tabela 12).

##### **MCPA**

U samców narażanych na MCPA w grupie 1 (200 ppm) i 2 (700 ppm) średnie spożycie paszy kształtowało się na poziomie grupy kontrolnej. U samców z grupy 3 (2450 ppm) stwierdzono statystycznie istotnie mniejsze spożycie paszy w 1, 3 oraz 4 tygodniu doświadczenia (tabela 13). Od 5 tygodnia do zakończenia doświadczenia spożycie paszy w tej grupie zwierząt było obniżone, niemniej zmiany te nie były statystycznie istotne. U samic narażanych na MCPA średnie spożycie paszy w każdej grupie narażanej kształtowało się na poziomie grupy kontrolnej. Jedynie w 1 tygodniu doświadczenia stwierdzono statystycznie istotnie mniejsze średnie spożycie paszy w grupie 3 (2450 ppm) (tabela 14).

**Tabela 11.** Średnie spożycie paszy (g/szczura/dobę) przez zwierzęta narażane na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

TYDZIEŃ	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	20	23,55 ± 1,54 (2113 - 2416)	20	23,63 ± 1,00 (2216 - 2510)	20	24,33 ± 1,52 (2310 - 2614)	20	25,58 ± 4,80 (2210 - 3215)
2	20	23,43 ± 1,66 (2110 - 2416)	20	23,13 ± 0,54 (2214 - 2317)	20	23,73 ± 1,18 (2213 - 2417)	20	24,95 ± 0,93 (2411 - 2611)
3	20	23,30 ± 0,55 (22190 - 24110)	20	23,98 ± 0,49 (23150 - 24160)	20	24,30 ± 0,78 (23150 - 25130)	20	23,90 ± 1,61 (22100 - 25190)
4	20	24,35 ± 0,60 (23150 - 24190)	20	24,90 ± 1,25 (23110 - 26100)	20	24,78 ± 1,26 (23170 - 26150)	20	24,08 ± 1,07 (23110 - 25160)
5	20	24,65 ± 0,64 (24130 - 25160)	20	24,40 ± 1,11 (22180 - 25120)	20	24,38 ± 1,03 (23130 - 25170)	20	23,88 ± 1,13 (22160 - 25110)
6	20	23,80 ± 0,75 (23100 - 24170)	20	23,45 ± 1,26 (21170 - 24150)	20	23,73 ± 1,08 (22150 - 2511)	20	23,15 ± 1,44 (22110 - 25120)
7	20	22,33 ± 0,78 (21160 - 23110)	20	22,70 ± 0,77 (21170 - 23130)	20	22,95 ± 0,86 (21190 - 24100)	20	22,15 ± 1,23 (21100 - 23190)
8	20	22,83 ± 1,36 (21110 - 24140)	20	23,63 ± 0,54 (22190 - 24120)	20	23,88 ± 0,46 (23140 - 24150)	20	22,75 ± 0,76 (21170 - 23140)
9	20	23,08 ± 0,54 (22130 - 23150)	20	23,48 ± 1,88 (20180 - 25100)	20	24,08 ± 1,55 (21180 - 25110)	20	22,55 ± 1,30 (21120 - 24120)
10	20	22,50 ± 0,91 (21150 - 23170)	20	22,43 ± 1,41 (21150 - 24150)	20	23,50 ± 1,49 (22140 - 25170)	20	21,88 ± 1,20 (20180 - 23160)
11	20	22,88 ± 1,66 (21120 - 24190)	20	23,18 ± 0,77 (22140 - 24110)	20	24,05 ± 1,05 (22160 - 25110)	20	22,25 ± 1,03 (21130 - 23170)
12	20	23,08 ± 1,07 (22110 - 24160)	20	23,55 ± 0,78 (22170 - 24150)	20	24,60 ± 0,45 (24100 - 25110)	20	22,60 ± 0,98 (21130 - 23140)
13	20	22,98 ± 0,79 (22100 - 23190)	20	23,65 ± 0,86 (22160 - 24170)	20	<b>24,88 ± 0,70*</b> (24110 - 25180)	20	23,08 ± 0,94 (21170 - 23180)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 12.** Średnie spożycie paszy (g/szczura/dobę) przez zwierzęta narażane na 2,4-D - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

TYDZIEŃ	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	20	18,15 ± 1,30 (17,40 - 20,10)	20	19,55 ± 2,14 (16,60 - 21,70)	20	18,15 ± 1,91 (16,10 - 20,60)	20	<b>39,45 ± 5,40*</b> (34,70 - 46,30)
2	20	19,45 ± 1,50 (17,80 - 21,00)	20	19,00 ± 2,62 (15,80 - 22,20)	20	17,95 ± 1,23 (16,50 - 19,50)	20	<b>37,05 ± 12,90*</b> (24,90 - 48,20)
3	20	19,00 ± 1,54 (17,70 - 20,90)	20	21,15 ± 5,40 (16,70 - 29,00)	20	18,35 ± 1,08 (16,90 - 19,50)	20	20,50 ± 1,21 (18,70 - 21,20)
4	20	19,13 ± 1,38 (17,90 - 20,60)	20	18,95 ± 1,51 (16,80 - 20,00)	20	18,75 ± 1,45 (17,1 - 20,40)	20	18,85 ± 0,90 (17,60 - 19,70)
5	20	19,60 ± 0,86 (18,50 - 20,6)	20	18,05 ± 1,35 (17,00 - 19,90)	20	18,33 ± 0,66 (17,50 - 18,90)	20	17,48 ± 1,84 (15,70 - 19,60)
6	20	18,93 ± 1,63 (17,40 - 20,9)	20	18,30 ± 1,56 (16,30 - 20,10)	20	17,55 ± 1,26 (15,80 - 18,80)	20	17,20 ± 1,18 (15,50 - 18,10)
7	20	18,25 ± 1,29 (17,10 - 20,00)	20	17,23 ± 0,92 (16,20 - 18,10)	20	17,00 ± 0,42 (16,50 - 17,50)	20	<b>15,63 ± 0,89*</b> (14,60 - 16,70)
8	20	18,13 ± 0,34 (17,80 - 18,60)	20	18,48 ± 1,23 (16,70 - 19,30)	20	17,88 ± 0,87 (16,70 - 18,70)	20	<b>15,38 ± 0,64*</b> (14,60 - 16,00)
9	20	18,28 ± 0,87 (17,50 - 19,50)	20	18,13 ± 2,31 (14,80 - 20,10)	20	17,50 ± 1,49 (15,30 - 18,60)	20	<b>14,83 ± 1,35*</b> (13,10 - 16,30)
10	20	17,48 ± 1,42 (16,50 - 19,50)	20	16,73 ± 2,06 (14,60 - 19,50)	20	16,48 ± 1,44 (15,10 - 18,40)	20	14,53 ± 1,80 (13,20 - 17,10)
11	20	17,68 ± 0,53 (17,00 - 18,10)	20	16,60 ± 0,96 (15,60 - 17,80)	20	16,85 ± 1,27 (15,80 - 18,70)	20	<b>14,25 ± 0,44*</b> (13,70 - 14,60)
12	20	17,65 ± 1,07 (16,70 - 19,10)	20	17,75 ± 1,31 (15,80 - 18,50)	20	17,28 ± 0,60 (16,50 - 17,80)	20	<b>15,20 ± 1,18*</b> (14,10 - 16,50)
13	20	17,68 ± 0,94 (16,50 - 18,80)	20	18,08 ± 1,17 (16,80 - 19,60)	20	17,65 ± 0,81 (16,90 - 18,40)	20	<b>15,65 ± 0,84*</b> (14,50 - 16,50)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 13.** Średnie spożycie paszy (g/szczura/dobę) przez zwierzęta narażane na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

TYDZIEŃ	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	20	19,88 ± 1,42 (18,00 - 21,20)	20	20,08 ± 2,26 (16,70 - 21,40)	20	20,20 ± 1,81 (18,40 - 21,90)	20	<b>16,23 ± 0,96*</b> (15,30 - 17,40)
2	20	21,40 ± 1,98 (18,50 - 22,90)	20	21,03 ± 1,87 (18,30 - 22,30)	20	20,90 ± 0,65 (20,00 - 21,50)	20	17,85 ± 2,21 (15,50 - 20,80)
3	20	24,23 ± 1,60 (22,30 - 25,90)	20	23,68 ± 2,28 (20,70 - 25,90)	20	22,08 ± 1,08 (21,20 - 23,40)	20	<b>19,25 ± 1,70*</b> (17,70 - 21,50)
4	20	24,48 ± 1,74 (22,30 - 26,20)	20	23,63 ± 2,82 (20,30 - 26,30)	20	22,93 ± 1,01 (22,00 - 23,90)	19	<b>19,90 ± 1,92*</b> (18,10 - 22,50)
5	20	23,80 ± 1,91 (21,60 - 25,40)	20	24,08 ± 4,96 (18,90 - 30,30)	20	23,28 ± 2,69 (21,00 - 26,90)	19	21,38 ± 2,22 (18,70 - 23,40)
6	20	23,85 ± 2,07 (21,40 - 25,80)	20	25,75 ± 4,57 (22,30 - 32,40)	20	22,63 ± 2,59 (19,80 - 26,00)	19	23,13 ± 3,65 (19,50 - 27,60)
7	20	23,13 ± 1,85 (21,40 - 25,10)	19	22,25 ± 1,42 (20,90 - 24,00)	20	23,75 ± 1,97 (21,60 - 26,00)	19	22,00 ± 2,20 (20,10 - 24,50)
8	20	22,45 ± 2,08 (20,50 - 24,30)	19	22,95 ± 1,77 (21,00 - 25,30)	20	23,00 ± 1,00 (22,10 - 24,10)	19	20,68 ± 1,60 (19,10 - 22,90)
9	20	22,18 ± 2,20 (19,80 - 24,10)	19	22,88 ± 2,75 (19,70 - 26,40)	20	23,13 ± 0,94 (21,90 - 24,00)	19	20,45 ± 1,36 (19,00 - 22,10)
10	19	23,23 ± 1,84 (20,80 - 24,70)	19	23,18 ± 2,64 (20,10 - 26,50)	20	22,95 ± 1,10 (21,60 - 23,90)	19	21,55 ± 1,79 (19,20 - 23,40)
11	19	23,30 ± 1,89 (21,20 - 25,60)	19	22,95 ± 2,31 (19,90 - 25,50)	20	22,85 ± 1,16 (21,30 - 24,10)	19	20,50 ± 1,55 (19,10 - 22,70)
12	19	23,43 ± 1,84 (21,10 - 25,30)	19	22,88 ± 1,40 (21,90 - 24,90)	20	22,05 ± 1,59 (20,40 - 24,10)	19	20,58 ± 1,38 (19,70 - 22,60)
13	19	24,25 ± 1,93 (22,40 - 26,50)	18	22,58 ± 3,90 (17,30 - 26,70)	20	22,28 ± 1,62 (19,90 - 23,30)	19	20,73 ± 2,04 (18,80 - 23,60)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 14.** Średnie spożycie paszy (g/szczura/dobę) przez zwierzęta narażane na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

TYDZIEŃ	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	20	16,78 ± 1,09 (15,70 - 18,10)	20	15,98 ± 1,43 (14,10 - 17,40)	20	15,85 ± 1,76 (13,80 - 18,00)	20	<b>12,68 ± 1,36*</b> (11,10 - 14,00)
2	20	17,00 ± 0,82 (16,10 - 18,10)	20	16,33 ± 1,21 (14,70 - 17,50)	20	16,35 ± 1,72 (14,60 - 18,50)	20	16,75 ± 1,75 (14,20 - 18,20)
3	20	17,40 ± 1,28 (15,90 - 19,00)	20	16,58 ± 0,93 (15,40 - 17,60)	20	17,00 ± 1,94 (14,80 - 19,30)	20	16,00 ± 1,28 (15,10 - 17,90)
4	20	17,85 ± 1,17 (16,60 - 19,40)	20	16,35 ± 0,62 (15,60 - 17,10)	20	17,30 ± 1,88 (15,20 - 19,70)	20	15,58 ± 1,91 (14,70 - 16,50)
5	20	17,50 ± 1,47 (16,00 - 19,40)	20	17,08 ± 1,09 (16,00 - 18,40)	20	17,75 ± 2,63 (14,60 - 20,90)	20	17,15 ± 4,40 (14,00 - 23,60)
6	20	17,43 ± 1,32 (16,20 - 19,30)	20	16,88 ± 0,76 (16,10 - 17,90)	20	17,58 ± 1,89 (15,70 - 20,20)	20	17,90 ± 7,85 (12,90 - 29,60)
7	20	16,93 ± 0,94 (15,80 - 18,10)	20	17,35 ± 0,98 (16,60 - 18,80)	20	17,63 ± 1,93 (15,10 - 19,80)	20	21,25 ± 10,20 (13,40 - 35,80)
8	20	16,20 ± 1,61 (14,30 - 18,20)	20	17,20 ± 0,60 (16,70 - 17,90)	20	17,73 ± 2,70 (14,70 - 21,20)	20	18,53 ± 6,19 (14,00 - 27,50)
9	19	16,55 ± 0,94 (15,60 - 17,70)	20	16,83 ± 0,64 (15,90 - 17,30)	20	17,20 ± 1,80 (15,70 - 19,70)	20	18,85 ± 7,22 (13,00 - 29,30)
10	19	16,73 ± 0,43 (16,40 - 17,30)	20	16,43 ± 0,99 (15,10 - 17,50)	20	17,10 ± 1,97 (14,70 - 19,30)	20	18,70 ± 7,18 (13,10 - 29,20)
11	19	16,70 ± 0,80 (15,50 - 17,20)	20	16,35 ± 0,77 (15,50 - 17,10)	20	16,68 ± 1,56 (14,80 - 18,60)	20	17,88 ± 5,52 (13,70 - 26,00)
12	19	17,03 ± 1,24 (16,00 - 18,80)	20	16,30 ± 0,83 (15,10 - 17,00)	20	16,40 ± 1,93 (14,80 - 19,20)	20	17,18 ± 5,02 (13,30 - 24,50)
13	19	17,13 ± 1,16 (15,50 - 18,20)	20	16,30 ± 0,92 (15,10 - 17,30)	20	16,83 ± 2,17 (14,30 - 19,60)	20	14,75 ± 1,22 (13,40 - 16,20)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej



## **5.2. Badania zachowania się zwierząt**

Badania zachowania się zwierząt wykonywano w pięciu punktach czasowych tj. przed pierwszym narażeniem (pomiar 1), pod koniec drugiego tygodnia narażania (pomiar 2), pod koniec szóstego tygodnia narażania (pomiar 3), pod koniec dziesiątego tygodnia narażania (pomiar 4) oraz pod koniec trzynastego tygodnia narażania (pomiar 5).

### **5.2.1. Obserwacja zwierząt w otwartym polu**

Zmiany w zachowaniu się zwierząt narażanych na 2,4-D odnotowane w trakcie obserwacji w otwartym polu przedstawiono w tabeli 15 (samce) i w tabeli 16 (samice), natomiast zmiany w zachowaniu się zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 17 (samce) i w tabeli 18 (samice).

#### **2,4-D**

U zwierząt narażanych na 2,4-D w trakcie obserwacji w otwartym polu w poszczególnych punktach czasowych stwierdzono pojedyncze przypadki ruchu mimowolnego klonicznego w postaci powtarzalnego ruchu pyskiem/szczękami, ogólnego drżenia, drżenia, trzęsienia się. U pojedynczych zwierząt stwierdzono zmiany w sposobie chodzenia (utrata koordynacji ruchowej oraz zaokrąglenie grzbietu/ kucanie zwierzęcia). Obserwowano zmiany w rozbudzeniu (wzrost lub spadek o różnym nasileniu w aktywności poznawczej zwierząt) (tabele 15 i 16).

#### **MCPA**

W trakcie obserwacji w otwartym polu zwierząt narażanych na MCPA stwierdzono, w różnych punktach czasowych, wystąpienie u kilku zwierząt ruchu mimowolnego klonicznego w postaci powtarzalnego ruchu pyskiem/szczękami, ogólnego drżenia, drżenia, trzęsienia się. U pojedynczych zwierząt stwierdzono zmiany w sposobie chodzenia (grzbiet był zaokrąglony lub zwierzę kucalo). Obserwowano zmiany w rozbudzeniu (wzrost lub spadek o różnym nasileniu w aktywności poznawczej zwierząt), szczególnie u samic grup 2 (700 ppm) i 3 (2450 ppm), u których obserwowano wzrost rozbudzenia (tabele 17 i 18). Analiza statystyczna wykazała statystycznie istotny wzrost częstości występowania wzrostu rozbudzenia u samic grupy 2 (700 ppm) w pomiarze 3, w porównaniu do grupy kontrolnej.

Liczbę bolusów kału oraz kałuż mocz u pozostawionych przez zwierzęta narażane na 2,4-D przedstawiono w tabelach 19 i 23 (samce) oraz w tabelach 20 i 24 (samice), natomiast przez zwierzęta narażane na MCPA przedstawiono w tabelach 21 i 25 (samce) oraz w tabelach 22 i 26.

### **2,4-D**

Nie wykazano statystycznie istotnych zmian w ilości pozostawionych bolusów kału oraz kałuż mocz u przez zwierzęta narażane na 2,4-D w porównaniu do grupy kontrolnej (tabele 19, 20, 23 i 24).

### **MCPA**

Wyniki analizy statystycznej nie ujawniły zmian w ilości pozostawionych bolusów kału oraz kałuż mocz u przez zwierzęta narażane na MCPA w porównaniu do grupy kontrolnej w poszczególnych punktach pomiarowych (tabele 21, 22, 25 i 26).

Wyniki pomiaru aktywności ruchowej w otwartym polu zwierząt narażanych na 2,4-D zostały przedstawione w tabelach 27 i 28 (samce) oraz w tabelach 29 i 30 (samice) natomiast, zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabelach 31 i 32 (samce) oraz w tabelach 33 i 34 (samice).

### **2,4-D**

Aktywność ruchowa samców grup narażanych na 2,4-D, zarówno przebyta droga jak i liczba wzniesień, nie różniła się statystycznie istotnie od wyników samców grupy kontrolnej (tabele 27 i 28). Aktywność ruchowa pozioma (przebyta droga) samic grup narażanych różniła się statystycznie istotnie jedynie w pomiarze 5, w którym obserwowano większą aktywność poziomą samic grupy 3 (2400 ppm) w porównaniu do grupy kontrolnej (tabela 29). Aktywność ruchowa pionowa samic narażanych na 2,4-D nie różniła się statystycznie istotnie od wyników samic grupy kontrolnej we wszystkich przeprowadzonych pomiarach (tabela 30).

### **MCPA**

Aktywność ruchowa samców i samic grup narażanych na MCPA, zarówno przebyta droga jak również liczba wzniesień, nie różniła się statystycznie istotnie od wyników samców i samic grupy kontrolnej we wszystkich przeprowadzonych pomiarach (tabele 31, 32, 33 i 34).

**Tabela 15.** Rodzaj zmian i liczba zwierząt narażanych na 2,4-D, u których obserwowano zmiany w zachowaniu się w trakcie obserwacji w otwartym polu - samce.

POMIAR	RODZAJ ZMIAN		GRUPA ( stężenie 2,4-D )			
			0 (0 ppm)	1 (150 ppm)	2 (600 ppm)	3 (2400 ppm)
1 tydzień (0 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	-	1	-	-
		ogólne drżenie	-	-	-	-
	sposób chodzenia	utrata koordynacji ruchowej	-	-	-	-
		rozbudzenie	lekki spadek	1	-	2
		umiarkowany spadek	-	-	1	-
		lekki wzrost	-	-	-	-
2 tydzień (2 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	1	-	1	-
		ogólne drżenie	-	-	-	-
	sposób chodzenia	utrata koordynacji ruchowej	-	-	-	-
		rozbudzenie	lekki spadek	1	3	2
		umiarkowany spadek	1	-	1	-
		lekki wzrost	-	1	-	-
3 tydzień (6 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	-	-	1	-
		ogólne drżenie	-	-	-	-
	sposób chodzenia	utrata koordynacji ruchowej	-	-	-	-
		rozbudzenie	lekki spadek	1	2	3
		umiarkowany spadek	-	1	-	-
		lekki wzrost	-	2	1	1
4 tydzień (10 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	2	-	-	1
		ogólne drżenie	-	-	-	1
	sposób chodzenia	utrata koordynacji ruchowej	-	1	-	-
		rozbudzenie	lekki spadek	4	2	2
		umiarkowany spadek	-	-	-	-
		lekki wzrost	-	-	-	-
5 tydzień (13 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	-	1	-	-
		ogólne drżenie	-	1	1	-
	sposób chodzenia	utrata koordynacji ruchowej	-	-	-	-
		rozbudzenie	lekki spadek	2	1	4
		umiarkowany spadek	-	1	1	1
		lekki wzrost	-	-	-	-

**Tabela 16.** Rodzaj zmian i liczba zwierząt narażanych na 2,4-D, u których obserwowano zmiany w zachowaniu się w trakcie obserwacji w otwartym polu - samice.

POMIAR	RODZAJ ZMIAN		GRUPA (stężenie 2,4-D)			
			0 (0 ppm)	1 (150 ppm)	2 (600 ppm)	3 (2400 ppm)
1 tydzień (0 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	-	-	-	-
		drżenie, trzęsienie się	-	-	-	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	-	-	-	-
		umiarkowany spadek	-	-	-	-
	lekki wzrost	-	3	-	-	
	silny wzrost	-	-	-	-	
2 tydzień (2 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	-	-	-	-
		drżenie, trzęsienie się	-	-	-	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	-	-	-	-
		umiarkowany spadek	-	-	-	-
	lekki wzrost	-	-	-	-	
	silny wzrost	-	-	-	-	
3 tydzień (6 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	-	-	-	-
		drżenie, trzęsienie się	-	-	-	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	-	2	2	-
		umiarkowany spadek	-	-	-	-
	lekki wzrost	1	2	1	4	
	silny wzrost	-	-	-	-	
4 tydzień (10 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	2	1	1	2
		drżenie, trzęsienie się	-	-	1	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	1	-
	rozbudzenie	lekki spadek	-	-	-	-
		umiarkowany spadek	-	-	-	-
	lekki wzrost	1	1	-	3	
	silny wzrost	-	-	-	-	
5 tydzień (13 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	1	3	3	1
		drżenie, trzęsienie się	-	-	1	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	1	1	1	-
		umiarkowany spadek	-	-	-	-
	lekki wzrost	-	-	-	2	
	silny wzrost	-	-	-	1	

**Tabela 17.** Rodzaj zmian i liczba zwierząt narażanych na MCPA, u których obserwowano zmiany w zachowaniu się w trakcie obserwacji w otwartym polu - samce.

POMIAR	RODZAJ ZMIAN		GRUPA (stężenie MCPA)			
			0 (0 ppm)	1 (200 ppm)	2 (700 ppm)	3 (2450 ppm)
1 (0 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	-	-	-	-
		ogólne drżenie	-	-	-	-
		drżenie, trzęsienie się	-	-	-	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	-	3	1	1
		umiarkowany spadek	-	-	-	-
lekki wzrost		-	1	-	1	
2 (2 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	1	-	-	1
		ogólne drżenie	-	-	-	-
		drżenie, trzęsienie się	-	-	-	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	-	1	1	1
		umiarkowany spadek	1	-	1	-
lekki wzrost		-	1	-	1	
3 (6 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	-	-	-	-
		ogólne drżenie	-	-	-	-
		drżenie, trzęsienie się	-	-	-	1
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	1	-	1	-
		umiarkowany spadek	-	-	1	1
lekki wzrost		1	1	3	1	
4 (10 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	2	-	1	-
		ogólne drżenie	-	-	-	1
		drżenie, trzęsienie się	-	-	-	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	1	-	2	1
		umiarkowany spadek	-	-	-	-
lekki wzrost		1	1	3	-	
5 (13 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	1	-	-	1
		ogólne drżenie	-	-	-	-
		drżenie, trzęsienie się	-	-	-	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	1	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	1	1	1	1
		umiarkowany spadek	-	-	1	-
lekki wzrost		-	-	1	-	

**Tabela 18.** Rodzaj zmian i liczba zwierząt narażanych na MCPA, u których obserwowano zmiany w zachowaniu się w trakcie obserwacji w otwartym polu - samice.

POMIAR	RODZAJ ZMIAN		GRUPA (stężenie MCPA)			
			0 (0 ppm)	1 (200 ppm)	2 (700 ppm)	3 (2450 ppm)
1 tydzień (0 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	3	1	1	1
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	2	2	2	-
		umiarkowany spadek	-	-	-	-
	lekki wzrost	2	-	3	1	
2 tydzień (2 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	1	3	-	1
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	-	1	-	1
		umiarkowany spadek	-	-	-	1
	lekki wzrost	1	1	5	3	
3 tydzień (6 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	-	1	-	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	1	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	-	4	-	1
		umiarkowany spadek	-	-	-	2
	lekki wzrost	-	-	<b>6*</b>	1	
4 tydzień (10 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	1	-	1	1
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	1	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	-	2	-	1
		umiarkowany spadek	-	-	-	1
	lekki wzrost	4	2	8	5	
5 tydzień (13 tydzień doświadczenia)	ruch mimowolny - kloniczny	powtarzalny ruch pyskiem/szczękami	3	1	-	-
	sposób chodzenia	grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca	-	-	-	-
	rozbudzenie	lekki spadek	-	-	-	-
		umiarkowany spadek	-	-	-	1
	lekki wzrost	1	3	5	4	

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 19.** Liczba bolusów kału pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	2,9 ± 1,60 (0 - 4)	10	3,0 ± 1,49 (2 - 7)	10	3,0 ± 2,45 (0 - 6)	10	3,6 ± 2,41 (0 - 7)
2	10	1,4 ± 2,46 (0 - 7)	10	0,8 ± 1,55 (0 - 5)	10	0,2 ± 0,42 (0 - 1)	10	1,6 ± 2,91 (0 - 7)
3	10	0,7 ± 1,64 (0 - 5)	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,0 ± 0,0 (0 - 0)
4	10	0,3 ± 0,95 (0 - 3)	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,0 ± 0,0 (0 - 0)	10	0,7 ± 1,89 (0 - 6)
5	10	0,6 ± 1,07 (0 - 3)	10	0,0 ± 0,0 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,0 (0 - 0)	10	0,4 ± 1,26 (0 - 4)

n - liczba zwierząt

**Tabela 20.** Liczba bolusów kału pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	2,2 ± 2,57 (0 - 8)	10	2,2 ± 2,15 (0 - 5)	10	1,5 ± 1,78 (0 - 5)	10	1,8 ± 2,04 (0 - 5)
2	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,4 ± 1,26 (0 - 4)
3	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,2 ± 0,63 (0 - 2)
4	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)
5	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)

n - liczba zwierząt

**Tabela 21.** Liczba bolusów kału pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	1,2 ± 1,80 (0 - 4)	10	1,4 ± 1,50 (0 - 4)	10	3,7 ± 3,02 (0 - 9)	10	2,2 ± 2,70 (0 - 7)
2	10	1,3 ± 2,06 (0 - 6)	10	1,1 ± 2,23 (0 - 7)	10	0,4 ± 0,70 (0 - 2)	10	0,9 ± 1,91 (0 - 5)
3	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,4 ± 1,26 (0 - 4)	10	0,6 ± 1,26 (0 - 4)
4	10	1,3 ± 2,58 (0 - 8)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,4 ± 1,26 (0 - 4)	10	0,6 ± 1,07 (0 - 3)
5	10	1,2 ± 1,99 (0 - 5)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,7 ± 1,64 (0 - 5)	10	1,2 ± 1,99 (0 - 5)

n - liczba zwierząt

**Tabela 22.** Liczba bolusów kału pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	0,2 ± 0,42 (0 - 1)	10	0,3 ± 0,90 (0 - 3)	10	0,5 ± 3,48 (0 - 5)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)
2	10	1,0 ± 2,83 (0 - 9)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,3 ± 0,67 (0 - 2)
3	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)
4	9	0,67 ± 2,00 (0 - 6)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)
5	9	0,11 ± 0,33 (0 - 1)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,2 ± 0,63 (0 - 2)

n - liczba zwierząt



**Tabela 23.** Liczba kałuż moczu pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	0,8 ± 0,92 (0 - 3)	10	0,8 ± 0,63 (0 - 2)	10	1,0 ± 0,05 (0 - 3)	10	0,6 ± 0,52 (0 - 1)
2	10	0,8 ± 1,03 (0 - 3)	10	0,6 ± 0,97 (0 - 3)	10	0,2 ± 0,42 (0 - 1)	10	0,6 ± 0,97 (0 - 3)
3	10	0,6 ± 0,70 (0 - 2)	10	0,6 ± 1,07 (0 - 3)	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,6 ± 0,84 (0 - 2)
4	10	0,4 ± 0,52 (0 - 1)	10	0,5 ± 0,71 (0 - 2)	10	0,3 ± 0,67 (0 - 2)	10	0,4 ± 0,97 (0 - 3)
5	10	0,4 ± 0,97 (0 - 3)	10	0,7 ± 1,25 (0 - 4)	10	0,3 ± 0,67 (0 - 2)	10	0,6 ± 0,70 (0 - 2)

n - liczba zwierząt

**Tabela 24.** Liczba kałuż moczu pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	0,9 ± 0,57 (0 - 2)	10	1,4 ± 1,07 (0 - 3)	10	0,8 ± 0,92 (0 - 2)	10	1,2 ± 0,79 (0 - 2)
2	10	0,3 ± 0,95 (0 - 3)	10	1,0 ± 1,49 (0 - 4)	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,7 ± 1,25 (0 - 4)
3	10	0,8 ± 1,23 (0 - 4)	10	0,4 ± 1,26 (0 - 4)	10	0,5 ± 0,85 (0 - 2)	10	0,4 ± 0,84 (0 - 2)
4	10	0,9 ± 1,20 (0 - 3)	10	0,8 ± 1,23 (0 - 4)	10	0,2 ± 0,63 (0 - 2)	10	0,5 ± 0,85 (0 - 2)
5	10	0,7 ± 1,06 (0 - 3)	10	0,4 ± 0,70 (0 - 2)	10	0,6 ± 1,07 (0 - 3)	10	1,1 ± 2,47 (0 - 8)

n - liczba zwierząt

**Tabela 25.** Liczba kałuż moczu pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	0,3 ± 0,48 (0 - 1)	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,2 ± 0,42 (0 - 1)	10	0,3 ± 0,67 (0 - 2)
2	10	0,3 ± 0,48 (0 - 1)	10	0,5 ± 1,27 (0 - 4)	10	0,3 ± 0,67 (0 - 2)	10	0,7 ± 0,67 (0 - 2)
3	10	0,4 ± 0,52 (0 - 1)	10	0,3 ± 0,48 (0 - 1)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,5 ± 0,97 (0 - 3)
4	10	0,3 ± 0,67 (0 - 2)	10	0,3 ± 0,67 (0 - 2)	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)
5	10	1,3 ± 1,34 (0 - 4)	10	0,2 ± 0,42 (0 - 1)	10	0,5 ± 0,71 (0 - 2)	10	1,3 ± 1,34 (0 - 4)

n - liczba zwierząt

**Tabela 26.** Liczba kałuż moczu pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,0 ± 0,00 (0 - 0)	10	0,2 ± 0,42 (0 - 1)	10	0,2 ± 0,63 (0 - 2)
2	10	0,3 ± 0,48 (0 - 1)	10	0,2 ± 0,42 (0 - 1)	10	0,7 ± 0,48 (0 - 1)	10	0,3 ± 0,67 (0 - 2)
3	10	0,4 ± 0,97 (0 - 3)	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,3 ± 0,48 (0 - 1)	10	0,4 ± 0,70 (0 - 2)
4	9	0,1 ± 0,33 (0 - 1)	10	0,1 ± 0,32 (0 - 1)	10	0,8 ± 0,92 (0 - 3)	10	1,0 ± 1,49 (0 - 4)
5	9	0,8 ± 0,83 (0 - 2)	10	0,3 ± 0,48 (0 - 1)	10	1,3 ± 1,64 (0 - 5)	10	0,8 ± 1,03 (0 - 3)

n - liczba zwierząt

**Tabela 27.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na 2,4-D. Przebyta droga [m] – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	40,05 ± 10,79 (1515 - 5418)	10	43,09 ± 3,65 (3613 - 4619)	10	47,40 ± 8,07 (3011 - 5516)	10	39,43 ± 6,22 (2711 - 4912)
2	10	24,66 ± 7,30 (815 - 3414)	10	31,69 ± 12,44 (1519 - 4613)	10	34,74 ± 11,07 (2013 - 4910)	10	36,12 ± 9,62 (1713 - 4915)
3	10	31,91 ± 10,37 (2214 - 5617)	10	32,15 ± 16,17 (1015 - 6111)	10	31,04 ± 14,44 (1010 - 5115)	10	33,76 ± 7,33 (1816 - 4412)
4	10	33,79 ± 13,39 (1714 - 6013)	10	36,89 ± 7,24 (2313 - 4512)	10	38,19 ± 13,76 (1913 - 6510)	10	33,86 ± 6,72 (2119 - 4111)
5	10	31,26 ± 6,37 (1816 - 3817)	10	28,96 ± 12,52 (1018 - 4512)	10	31,23 ± 15,38 (715 - 5917)	10	34,54 ± 10,70 (1212 - 4716)

n - liczba zwierząt

**Tabela 28.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na 2,4-D. Liczba wzniesień – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	16,50 ± 4,25 (710 - 2310)	10	16,80 ± 4,57 (1110 - 2310)	10	13,60 ± 6,15 (3100 - 2310)	10	15,50 ± 3,78 (1110 - 2410)
2	10	8,80 ± 4,34 (110 - 1710)	10	12,50 ± 6,11 (310 - 2310)	10	12,40 ± 5,74 (310 - 2310)	10	15,80 ± 7,60 (410 - 2810)
3	10	17,00 ± 6,24 (1010 - 2910)	10	12,40 ± 7,62 (210 - 2610)	10	12,10 ± 7,13 (210 - 2310)	10	16,80 ± 6,30 (710 - 3010)
4	10	12,70 ± 6,68 (510 - 2510)	10	14,60 ± 8,33 (510 - 3010)	10	12,20 ± 5,25 (410 - 1910)	10	15,00 ± 5,16 (910 - 2410)
5	10	13,70 ± 4,00 (810 - 2010)	10	11,00 ± 7,47 (210 - 2310)	10	11,50 ± 7,06 (110 - 2210)	10	13,60 ± 6,31 (310 - 2710)

n - liczba zwierząt

**Tabela 29.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na 2,4-D. Przebyta droga [m] – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	50,49 ± 5,91 (44,9 - 64,6)	10	50,63 ± 13,79 (22,1 - 71,4)	10	47,40 ± 8,07 (30,1 - 55,6)	10	51,70 ± 16,28 (26,7 - 83,6)
2	10	49,48 ± 18,75 (28,4 - 83,1)	10	54,08 ± 22,51 (22,5 - 89,1)	10	44,91 ± 13,98 (25,1 - 71,8)	10	52,39 ± 13,01 (35,0 - 74,8)
3	10	50,71 ± 14,49 (21,1 - 67,5)	10	46,85 ± 21,43 (20,2 - 89,5)	10	37,74 ± 9,23 (22,7 - 53,2)	10	58,83 ± 9,29 (47,9 - 76,0)
4	10	49,94 ± 13,92 (23,6 - 73,5)	10	53,38 ± 15,15 (36,6 - 77,6)	10	50,83 ± 14,73 (32,6 - 72,2)	10	58,42 ± 16,64 (37,9 - 96,3)
5	10	41,53 ± 12,77 (19,2 - 58,0)	10	55,48 ± 13,94 (32,8 - 68,5)	10	52,70 ± 12,62 (28,5 - 69,4)	10	<b>67,56 ± 19,26*</b> (40,5 - 101,8)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 30.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na 2,4-D. Liczba wzniesień – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	20,90 ± 4,91 (10,0 - 27,0)	10	18,70 ± 6,62 (7,0 - 27,0)	10	19,60 ± 4,72 (13,0 - 26,0)	10	18,60 ± 7,69 (10,0 - 36,0)
2	10	20,90 ± 9,96 (9,0 - 43,0)	10	20,10 ± 10,29 (4,0 - 34,0)	10	17,00 ± 8,52 (6,0 - 29,0)	10	22,90 ± 9,72 (10,0 - 39,0)
3	10	21,80 ± 11,67 (9,0 - 48,0)	10	20,00 ± 8,68 (8,0 - 32,0)	10	16,40 ± 6,52 (6,0 - 26,0)	10	25,70 ± 7,23 (15,0 - 37,0)
4	10	19,50 ± 7,03 (10,0 - 33,0)	10	21,20 ± 8,22 (12,0 - 35,0)	10	21,40 ± 9,43 (9,0 - 32,0)	10	23,90 ± 6,98 (17,0 - 40,0)
5	10	18,40 ± 9,65 (8,0 - 34,0)	10	23,80 ± 8,89 (8,0 - 34,0)	10	23,80 ± 9,07 (10,0 - 40,0)	10	27,30 ± 10,27 (12,0 - 39,0)

n - liczba zwierząt

**Tabela 31.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na MCPA. Przebyta droga [m] – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	33,49 ± 9,94 (155 - 548)	10	34,57 ± 10,59 (363 - 469)	10	37,84 ± 13,64 (301 - 556)	10	37,96 ± 13,75 (271 - 492)
2	10	34,18 ± 12,95 (64 - 484)	10	33,56 ± 13,26 (131 - 545)	10	30,62 ± 16,71 (41 - 518)	10	33,79 ± 7,42 (199 - 429)
3	10	38,76 ± 13,00 (69 - 520)	10	41,42 ± 9,80 (336 - 636)	10	45,07 ± 18,38 (78 - 715)	10	41,79 ± 11,75 (169 - 563)
4	10	41,91 ± 7,91 (351 - 600)	10	40,45 ± 14,72 (216 - 667)	10	45,55 ± 16,76 (206 - 764)	10	38,41 ± 10,45 (184 - 587)
5	10	35,63 ± 9,87 (173 - 510)	10	37,75 ± 11,20 (239 - 581)	10	39,50 ± 17,95 (80 - 686)	10	33,94 ± 12,40 (164 - 569)

n - liczba zwierząt

**Tabela 32.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na MCPA. Liczba wzniesień – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	11,2 ± 6,05 (20 - 200)	10	11,7 ± 6,38 (30 - 230)	10	12,4 ± 5,15 (70 - 250)	10	12,3 ± 5,25 (30 - 200)
2	10	13,4 ± 8,37 (20 - 260)	10	14,4 ± 8,68 (40 - 260)	10	11,1 ± 6,71 (10 - 230)	10	11,3 ± 2,75 (700 - 150)
3	10	17,3 ± 9,38 (10 - 320)	10	18,9 ± 5,17 (90 - 240)	10	19,5 ± 8,33 (20 - 290)	10	15,0 ± 6,45 (40 - 260)
4	10	16,7 ± 9,00 (80 - 390)	10	20,0 ± 11,58 (60 - 460)	10	18,9 ± 7,46 (90 - 290)	10	17,4 ± 4,43 (70 - 230)
5	10	16,0 ± 8,83 (60 - 300)	10	18,5 ± 10,01 (40 - 360)	10	15,5 ± 8,11 (20 - 280)	10	14,3 ± 6,98 (80 - 290)

n - liczba zwierząt

**Tabela 33.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na MCPA. Przebyta droga [m] – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	35,70 ± 9,44 (22□ - 49□)	10	34,46 ± 12,88 (18□ - 52□)	10	41,64 ± 13,86 (17□ - 57□)	10	46,80 ± 12,39 (25□ - 65□)
2	10	40,49 ± 11,71 (26□ - 64□)	10	40,51 ± 14,39 (15□ - 61□)	10	49,71 ± 12,47 (27□ - 69□)	10	39,32 ± 21,22 (7□ - 71□)
3	10	55,05 ± 20,85 (3□ - 77□)	10	45,65 ± 15,00 (30□ - 81□)	10	61,18 ± 11,77 (46□ - 81□)	10	43,69 ± 17,77 (11□ - 73□)
4	9	49,16 ± 13,05 (36□ - 71□)	10	45,47 ± 19,41 (19□ - 74□)	10	59,07 ± 8,67 (45□ - 73□)	10	47,05 ± 19,60 (4□ - 70□)
5	9	50,31 ± 14,80 (33□ - 70□)	10	46,78 ± 15,02 (29□ - 68□)	10	58,26 ± 11,12 (41□ - 79□)	10	54,22 ± 25,17 (2□ - 90□)

n - liczba zwierząt

**Tabela 34.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na MCPA. Liczba wzniesień – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	10,0 ± 3,30 (5□ - 15□)	10	9,7 ± 6,68 (3□ - 20□)	10	13,9 ± 9,17 (3□ - 29□)	10	14,8 ± 4,47 (8□ - 25□)
2	10	17,7 ± 7,09 (10□ - 27□)	10	15,0 ± 5,79 (9□ - 28□)	10	19,6 ± 5,89 (13□ - 29□)	10	12,1 ± 6,28 (3□ - 23□)
3	10	25,1 ± 11,75 (0□ - 40□)	10	16,5 ± 7,53 (8□ - 33□)	10	20,8 ± 7,67 (8□ - 31□)	10	16,0 ± 8,84 (3□ - 35□)
4	9	21,4 ± 6,50 (13□ - 32□)	10	16,9 ± 8,28 (7□ - 29□)	10	22,3 ± 8,29 (11□ - 34□)	10	15,9 ± 6,85 (1□ - 26□)
5	9	20,8 ± 7,46 (13□ - 33□)	10	17,9 ± 8,46 (11□ - 36□)	10	21,9 ± 9,35 (5□ - 33□)	10	21,5 ± 9,87 (0□ - 35□)

n - liczba zwierząt

### **5.2.2. Ocena reakcji czuciowo-ruchowych na bodźce**

Wyniki oceny reakcji na bodźce zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 35, natomiast zwierząt narażanych na MCPA w tabeli 36.

#### **2,4-D**

W przeprowadzonych badaniach reakcji czuciowo-ruchowych na bodźce zwierzęta narażane na 2,4-D nie wykazywały nieprawidłowych reakcji. Jedynie u jednego samca z grupy 1 (150 ppm) obserwowano zwiększoną wrażliwość na dźwięk w pomiarach 4 i 5.

#### **MCPA**

W trakcie doświadczenia u pojedynczych zwierząt narażanych na MCPA stwierdzono zaburzenia w odpowiedziach czuciowo-ruchowych. U jednego samca z grupy 0 (0 ppm) obserwowano drgania (napięcie mięśni) w odpowiedzi na zbliżenie przedmiotu w pomiarze 2. Ponadto, w pomiarze 5 u jednej samicy z grupy 2 (700 ppm) reakcja na dotyk i szczypanie ogona była gwałtowna, a u dwóch samic z grupy 2 (700 ppm) stwierdzono brak reakcji na dźwięk.

Tabela 35. Wyniki oceny reakcji czuciowo-ruchowych zwierząt narażanych na 2,4-D

POMIAR	RODZAJ ZMIAN		GRUPA (stężenie 2,4-D)							
			0 (0 ppm)		1 (150 ppm)		2 (600 ppm)		3 (2400 ppm)	
			samce	samice	samce	samice	samce	samice	samce	samice
1 tydzień (0 tydzień doświadczenia)	odpowiedź zbliżenia do przedmiotu	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dotyk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dźwięk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
2 tydzień (2 tydzień doświadczenia)	odpowiedź zbliżenia do przedmiotu	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dotyk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dźwięk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
3 tydzień (6 tydzień doświadczenia)	odpowiedź zbliżenia do przedmiotu	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dotyk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dźwięk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
4 tydzień (10 tydzień doświadczenia)	odpowiedź zbliżenia do przedmiotu	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dotyk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dźwięk	normalna reakcja	10	10	9	10	10	10	10	10
		gwałtowna reakcja	0	0	1	0	0	0	0	0
odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10	
5 tydzień (13 tydzień doświadczenia)	odpowiedź zbliżenia do przedmiotu	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dotyk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dźwięk	normalna reakcja	10	10	9	10	10	10	10	10
		gwałtowna reakcja	0	0	1	0	0	0	0	0
odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10	



Tabela 36. Wyniki oceny reakcji czuciowo-ruchowych zwierząt narażonych na MCPA

POMIAR	RODZAJ ZMIAN		GRUPA (stężenie MCPA)							
			0 (0 ppm)		1 (200 ppm)		2 (700 ppm)		3 (2450 ppm)	
			samce	samice	samce	samice	samce	samice	samce	samice
1 tydzień (0 doświadczenia)	odpowiedź zbliżenia do przedmiotu	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dotyk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dźwięk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
2 tydzień (2 doświadczenia)	odpowiedź zbliżenia do przedmiotu	normalna reakcja	9	10	10	10	10	10	10	10
		drżenia (napięcie mięśni)	1	0	0	0	0	0	0	0
	odpowiedź na dotyk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dźwięk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
3 tydzień (6 doświadczenia)	odpowiedź zbliżenia do przedmiotu	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dotyk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dźwięk	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą	normalna reakcja	10	10	10	10	10	10	10	10
4 tydzień (10 doświadczenia)	odpowiedź zbliżenia do przedmiotu	normalna reakcja	10	9	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dotyk	normalna reakcja	10	9	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dźwięk	normalna reakcja	10	9	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą	normalna reakcja	10	9	10	10	10	10	10	10
5 tydzień (13 doświadczenia)	odpowiedź zbliżenia do przedmiotu	normalna reakcja	10	9	10	10	10	10	10	10
	odpowiedź na dotyk	normalna reakcja	10	9	10	10	10	9	10	10
		gwałtowna reakcja	0	0	0	0	0	1	0	0
	odpowiedź na dźwięk	normalna reakcja	10	9	10	10	10	8	10	10
		brak reakcji	0	0	0	0	0	2	0	0
	odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą	normalna reakcja	10	9	10	10	10	9	10	10
gwałtowna reakcja		0	0	0	0	0	1	0	0	

### **5.2.3. Siła chwytności kończyn przednich i tylnych**

#### **5.2.3.1. Siła chwytności kończyn przednich**

Wyniki pomiaru siły chwytności kończyn przednich zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 37 (samce) oraz w tabeli 38 (samice), natomiast u zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 39 (samce) oraz w tabeli 40 (samice).

#### **2,4-D**

W przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w sile chwytności kończyn przednich samców narażanych na 2,4-D w żadnym z przeprowadzonych pomiarów (tabela 37). U samic narażanych na 2,4-D we wszystkich grupach stwierdzono statystycznie istotnie mniejszą siłę chwytności kończyn przednich w porównaniu do grupy kontrolnej w 13 tygodniu doświadczenia (5 pomiar) (tabela 38).

#### **MCPA**

U samców i samic narażanych na MCPA nie stwierdzono zmian statystycznie istotnych w sile chwytności kończyn przednich w żadnym z przeprowadzonych pomiarów (tabela 39 i 40).

**Tabela 37.** Siła chwytności kończyn przednich (p) zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  
 $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	705,80 ± 132,93 (546 <sub>3</sub> - 1001 <sub>0</sub> )	10	720,40 ± 114,06 (543 <sub>0</sub> - 885 <sub>3</sub> )	10	842,60 ± 142,05 (576 <sub>3</sub> - 1017 <sub>3</sub> )	10	792,40 ± 164,39 (533 <sub>0</sub> - 1059 <sub>0</sub> )
2	10	1069,30 ± 112,41 (832 <sub>3</sub> - 1250 <sub>7</sub> )	10	1083,27 ± 165,71 (770 <sub>3</sub> - 1364 <sub>3</sub> )	10	1170,20 ± 143,61 (881 <sub>7</sub> - 1441 <sub>0</sub> )	10	1213,30 ± 141,98 (1016 <sub>3</sub> - 1498 <sub>0</sub> )
3	10	1146,43 ± 314,10 (599 <sub>7</sub> - 1669 <sub>7</sub> )	10	1160,93 ± 234,46 (768 <sub>0</sub> - 1501 <sub>3</sub> )	10	1128,30 ± 183,92 (650 <sub>0</sub> - 1334 <sub>7</sub> )	10	1077,77 ± 172,12 (800 <sub>7</sub> - 1428 <sub>0</sub> )
4	10	1180,67 ± 145,25 (985 <sub>7</sub> - 1397 <sub>3</sub> )	10	1130,43 ± 155,07 (910 <sub>7</sub> - 1361 <sub>7</sub> )	10	1218,30 ± 254,95 (619 <sub>0</sub> - 1481 <sub>7</sub> )	10	1193,03 ± 132,27 (1027 <sub>0</sub> - 1369 <sub>0</sub> )
5	10	1107,70 ± 239,13 (672 <sub>0</sub> - 1338 <sub>3</sub> )	10	1108,73 ± 178,08 (897 <sub>0</sub> - 1478 <sub>3</sub> )	10	1209,50 ± 218,89 (846 <sub>7</sub> - 1478 <sub>0</sub> )	10	1254,37 ± 187,46 (1002 <sub>3</sub> - 1549 <sub>7</sub> )

n - liczba zwierząt

**Tabela 38.** Siła chwytności kończyn przednich zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  
 $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	534,40 ± 116,29 (360 <sub>0</sub> - 808 <sub>0</sub> )	10	614,40 ± 97,78 (468 <sub>0</sub> - 774 <sub>7</sub> )	10	690,13 ± 50,25 (586 <sub>3</sub> - 757 <sub>0</sub> )	10	672,47 ± 154,18 (410 <sub>7</sub> - 879 <sub>3</sub> )
2	10	939,57 ± 127,43 (756 <sub>3</sub> - 1157 <sub>7</sub> )	10	955,47 ± 149,04 (737 <sub>3</sub> - 1223 <sub>7</sub> )	10	894,00 ± 167,31 (648 <sub>0</sub> - 1202 <sub>3</sub> )	10	882,57 ± 52,19 (820 <sub>0</sub> - 962 <sub>7</sub> )
3	10	944,43 ± 175,29 (715 <sub>3</sub> - 1317 <sub>0</sub> )	10	784,17 ± 159,25 (503 <sub>0</sub> - 1060 <sub>0</sub> )	10	848,60 ± 135,67 (620 <sub>0</sub> - 990 <sub>7</sub> )	10	782,73 ± 202,25 (512 <sub>3</sub> - 1085 <sub>7</sub> )
4	10	911,17 ± 151,15 (661 <sub>0</sub> - 1188 <sub>7</sub> )	10	844,87 ± 162,40 (613 <sub>3</sub> - 1149 <sub>3</sub> )	10	838,67 ± 167,22 (556 <sub>7</sub> - 1117 <sub>7</sub> )	10	792,50 ± 205,63 (456 <sub>3</sub> - 1079 <sub>3</sub> )
5	10	902,73 ± 139,87 (679 <sub>3</sub> - 1106 <sub>0</sub> )	10	<b>649,30 ± 144,33*</b> (400 <sub>3</sub> - 889 <sub>7</sub> )	10	<b>640,87 ± 214,19*</b> (328 <sub>0</sub> - 1115 <sub>67</sub> )	10	<b>639,90 ± 165,29*</b> (394 <sub>7</sub> - 853 <sub>0</sub> )

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 39.** Siła chwytności kończyn przednich zwierząt narażanych na MCPA – samce;  
 $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	601,80 ± 107,22 (404,0 - 725,5)	10	657,20 ± 94,06 (449,0 - 742,0)	10	626,8 ± 54,87 (543,0 - 704,0)	10	673,80 ± 80,61 (560,0 - 789,0)
2	10	743,50 ± 123,72 (511,0 - 891,0)	10	869,30 ± 84,22 (742,5 - 967,0)	10	806,20 ± 113,32 (689,5 - 1019,0)	10	798,20 ± 116,55 (604,5 - 919,0)
3	10	1061,05 ± 207,09 (725,0 - 1282,5)	10	1024,55 ± 173,02 (698,5 - 1268,0)	10	1011,55 ± 99,89 (859,0 - 1194,0)	10	913,35 ± 144,58 (756,5 - 1212,0)
4	10	1122,45 ± 192,89 (728,5 - 1352,0)	10	1015,30 ± 188,08 (661,0 - 1240,0)	10	999,85 ± 239,34 (527,5 - 1279,0)	10	900,50 ± 165,05 (677,0 - 1149,0)
5	10	978,80 ± 226,80 (661,0 - 1467,5)	10	947,95 ± 126,15 (812,0 - 1199,0)	10	857,50 ± 266,46 (416,0 - 1200,0)	10	850,55 ± 176,88 (654,0 - 1247,0)

n - liczba zwierząt

**Tabela 40.** Siła chwytności kończyn przednich zwierząt narażanych na MCPA – samice;  
 $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	609,20 ± 116,58 (378,0 - 743,0)	10	581,95 ± 87,63 (463,5 - 687,0)	10	614,60 ± 61,89 (530,5 - 719,0)	10	571,65 ± 79,47 (440,0 - 750,5)
2	10	693,30 ± 107,28 (504,5 - 800,0)	10	722,05 ± 60,15 (590,0 - 803,5)	10	747,60 ± 73,02 (591,5 - 847,5)	10	687,85 ± 133,36 (428,0 - 888,0)
3	10	710,25 ± 228,26 (377,5 - 1105,0)	10	617,00 ± 187,44 (250,0 - 846,0)	10	682,50 ± 217,16 (174,5 - 908,5)	10	667,35 ± 154,35 (417,0 - 838,0)
4	9	732,56 ± 158,65 (513,5 - 997,0)	10	713,80 ± 111,15 (534,0 - 873,0)	10	671,81 ± 173,16 (520,5 - 967,0)	10	692,80 ± 100,07 (558,5 - 854,5)
5	9	741,72 ± 188,03 (387,5 - 1050,5)	10	731,70 ± 161,28 (442,0 - 918,0)	10	683,72 ± 127,45 (500,0 - 849,0)	10	705,90 ± 108,73 (563,0 - 916,5)

n - liczba zwierząt

### 5.2.3.2. Siła chwytności kończyn tylnych

Wyniki pomiaru siły chwytności kończyn tylnych zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 41 (samce) oraz w tabeli 42 (samice), natomiast zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 43 (samce) oraz w tabeli 44 (samice).

#### 2,4-D

W przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian w sile chwytności kończyn tylnych samców i samic narażanych na 2,4-D (tabele 41 i 42).

#### MCPA

U zwierząt narażanych na MCPA stwierdzono statystycznie istotnie mniejszą siłę chwytności kończyn tylnych u samców grupy 3 (2450 ppm), w 6 tygodniu doświadczenia (pomiar 3) (tabela 43). U samic narażanych na MCPA nie stwierdzono zmian w sile chwytności kończyn tylnych (tabela 44).

**Tabela 41.** Siła chwytności kończyn tylnych zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;

$\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	122,57 ± 68,51 (6313 - 30110)	10	117,50 ± 40,76 (7113 - 21210)	10	112,87 ± 24,95 (8010 - 14713)	10	111,60 ± 29,79 (6513 - 15513)
2	10	140,10 ± 35,46 (84133 - 18513)	10	132,23 ± 46,46 (70133 - 204133)	10	137,27 ± 52,44 (4613 - 21713)	10	174,07 ± 55,05 (8117 - 26417)
3	10	168,07 ± 62,63 (9113 - 27017)	10	165,07 ± 88,70 (8213 - 37017)	10	165,37 ± 62,37 (8917 - 27217)	10	177,77 ± 103,87 (11313 - 46217)
4	10	148,77 ± 51,00 (6413 - 23213)	10	135,73 ± 60,09 (3917 - 26113)	10	144,00 ± 71,55 (6410 - 24517)	10	124,33 ± 63,88 (4510 - 23917)
5	10	129,00 ± 61,01 (7713 - 27410)	10	136,00 ± 60,60 (6510 - 23713)	10	142,13 ± 67,81 (5713 - 28810)	10	109,63 ± 42,01 (5717 - 20013)

n - liczba zwierząt

**Tabela 42.** Siła chwytności kończyn tylnych zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  
 $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	115,30 ± 38,01 (76,3 - 176,3)	10	105,00 ± 31,22 (69,7 - 181,3)	10	132,53 ± 46,64 (77,3 - 194,0)	10	127,47 ± 36,32 (71,7 - 188,7)
2	10	148,10 ± 31,62 (95,0 - 197,0)	10	150,77 ± 27,79 (103,3 - 188,0)	10	143,97 ± 62,05 (70,3 - 268,7)	10	149,67 ± 41,45 (92,3 - 207,3)
3	10	158,53 ± 40,83 (70,7 - 217,3)	10	176,00 ± 40,73 (122,0 - 264,7)	10	144,27 ± 72,26 (60,0 - 317,3)	10	124,80 ± 25,97 (75,3 - 166,7)
4	10	159,37 ± 45,15 (77,0 - 240,33)	10	149,30 ± 41,60 (73,67 - 209,7)	10	131,33 ± 58,58 (51,0 - 228,3)	10	142,27 ± 39,57 (69,7 - 212,3)
5	10	127,07 ± 39,79 (73,7 - 205,7)	10	152,77 ± 45,81 (96,7 - 253,7)	10	120,50 ± 30,88 (50,7 - 159,7)	10	105,33 ± 36,00 (54,0 - 162,0)

n - liczba zwierząt

**Tabela 43.** Siła chwytności kończyn tylnych zwierząt narażanych na MCPA – samce;  
 $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	76,70 ± 51,66 (26,0 - 162,5)	10	98,20 ± 40,46 (32,5 - 157,5)	10	81,40 ± 28,89 (52,0 - 145,5)	10	96,45 ± 29,79 (50,0 - 140,5)
2	10	123,45 ± 55,42 (56,5 - 266,0)	10	107,05 ± 45,70 (37,5 - 170,5)	10	111,75 ± 14,48 (94,0 - 138,5)	10	118,90 ± 40,85 (58,5 - 194,0)
3	10	179,30 ± 60,06 (102,5 - 292,0)	10	133,40 ± 60,53 (63,0 - 243,5)	10	126,75 ± 53,31 (49,5 - 229,0)	10	<b>104,55 ± 45,51*</b> (46,5 - 171,0)
4	10	164,30 ± 83,68 (60,5 - 338,5)	10	195,35 ± 101,72 (71,0 - 381,5)	10	125,90 ± 55,97 (58,0 - 254,5)	10	137,05 ± 87,06 (51,0 - 308,0)
5	10	166,50 ± 56,37 (90,5 - 280,0)	10	209,30 ± 81,35 (103,0 - 392,0)	10	151,20 ± 62,09 (77,0 - 267,0)	10	185,05 ± 88,26 (62,5 - 323,5)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 44.** Siła chwytności kończyn tylnych zwierząt narażanych na MCPA – samice;  
 $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	108,35 ± 38,19 (58,5 - 158,0)	10	111,15 ± 26,14 (76,5 - 150,0)	10	104,85 ± 48,77 (33,5 - 201,0)	10	118,80 ± 33,21 (67,0 - 176,5)
2	10	128,95 ± 49,08 (74,0 - 233,0)	10	133,30 ± 40,35 (83,0 - 178,0)	10	149,95 ± 44,92 (97,5 - 232,0)	10	147,85 ± 54,25 (55,5 - 231,0)
3	10	147,70 ± 29,86 (90,5 - 180,0)	10	123,60 ± 43,04 (60,0 - 196,0)	10	118,38 ± 50,68 (25,0 - 181,0)	10	130,40 ± 52,68 (60,5 - 204,0)
4	9	166,72 ± 42,03 (92,0 - 233,5)	10	163,40 ± 61,39 (73,5 - 258,0)	10	150,94 ± 51,31 (68,0 - 234,5)	10	163,05 ± 61,64 (82,5 - 296,5)
5	9	235,61 ± 55,00 (167,5 - 315,0)	10	196,40 ± 90,78 (72,5 - 334,0)	10	195,78 ± 59,54 (114,5 - 272,0)	10	213,65 ± 66,41 (112,5 - 330,5)

n - liczba zwierząt

#### 5.2.4. Aktywność ruchowa

Wyniki pomiaru długości przebytej drogi przez zwierzęta narażane na 2,4-D w czasie 0-30 min. przedstawiono w tabeli 45 (samce) oraz w tabeli 49 (samice). Wyniki pomiaru długości przebytej drogi w poszczególnych przedziałach czasowych 0-10 min., 10-20 min., 20-30 min. przedstawiono w tabelach 46 - 48 (samce) i w tabelach 50 - 52 (samice). Liczbę wzniesień wykonanych przez zwierzęta narażane na 2,4-D w czasie 0-30 min. przedstawiono w tabeli 53 (samce) oraz w tabeli 57 (samice). Wyniki pomiaru liczby wzniesień w poszczególnych przedziałach czasowych 0-10 min., 10-20 min., 20-30 min. przedstawiono w tabelach 54-56 (samce) i w tabelach 58 - 60 (samice).

Wyniki pomiaru długości przebytej drogi przez zwierzęta narażane na MCPA w czasie 0-30 min. przedstawiono w tabeli 61 (samce) oraz w tabeli 65 (samice). Wyniki pomiaru długości przebytej drogi w poszczególnych przedziałach czasowych 0-10 min., 10-20 min., 20-30 min. przedstawiono w tabelach 62 - 64 (samce) i w tabelach 66 - 68 (samice). Liczbę wzniesień wykonanych przez zwierzęta narażane na MCPA w czasie 0-30 min. przedstawiono w tabeli 69 (samce) oraz w tabeli 73 (samice). Wyniki pomiaru liczby wzniesień w poszczególnych przedziałach czasowych 0-10 min., 10-20 min., 20-30 min. przedstawiono w tabelach 70 - 72 (samce) i w tabelach 74 - 76 (samice).

#### **2,4-D**

Przeprowadzone badania aktywności ruchowej zwierząt nie wykazały wpływu narażania na 2,4-D na ich aktywność ruchową. Zarówno długość przebytej drogi, jak również liczba wzniesień zwierząt grup narażanych mierzona w czasie 0-30 min., nie różniła się statystycznie istotnie od wyników uzyskanych u zwierząt grupy kontrolnej w każdym z wykonanych pomiarów. Analiza statystyczna wyników długości przebytej drogi i liczby wzniesień w poszczególnych 10-minutowych przedziałach czasowych (0-10 min.; 10-20 min.; 20-30min.) również nie wykazała istotnych statystycznie zmian u zwierząt grup narażanych na 2,4-D w porównaniu do grupy kontrolnej. Jedynie w pomiarze 5, u samic grupy 3 (2400 ppm) stwierdzono statystycznie istotny wzrost przebytej drogi w przedziale czasowym 10-20 min. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki pomiaru aktywności ruchowej dla poszczególnych przedziałów czasowych, można stwierdzić, że zwierzęta prawidłowo adaptowały się do środowiska i ich aktywność ruchowa była największa w przedziale czasowym 0-10 min.



## MCPA

U zwierząt otrzymujących MCPA stwierdzono statystycznie istotny wzrost długości przebytej drogi mierzonej w czasie 0-30 min. u samców i samic w grupie 2 (700 ppm) w 6 tygodniu doświadczenia (pomiar 3) (tabele 61 i 65). Analizując poszczególne 10-minutowe przedziały czasowe, stwierdzono statystycznie istotnie większą długość przebytej drogi u samców i samic grupy 2 (700 ppm) w przedziale czasowym 10-20 min (tabela 63).

Liczba wzniesień samców otrzymujących MCPA mierzona w czasie 0-30 min. nie różniła się statystycznie istotnie od wyników grupy kontrolnej we wszystkich przeprowadzonych pomiarach (tabela 69). Analizując poszczególne 10-minutowe przedziały czasowe (0-10 min.; 10-20 min.; 20-30min.), obserwowano u samców grupy 2 wzrost liczby wzniesień w przedziale czasowym 10-20 min. w pomiarze 3.

U samic narażanych na MCPA w grupie 3 stwierdzono statystycznie istotnie mniejszą liczbę wzniesień mierzoną w czasie 0-30 min. w 2 tygodniu doświadczenia (2 pomiar). W kolejnych pomiarach liczba wzniesień w czasie 0-30 min nie ulegała istotnym zmianom (tabela 73).

Analizując poszczególne przedziały czasowe (0-10 min.; 10-20 min.; 20-30min.), nie stwierdzono zmian statystycznie istotnych u samic narażanych na MCPA w porównaniu do grupy kontrolnej. Ponadto, uzyskane wyniki pomiaru aktywności ruchowej dla poszczególnych przedziałów czasowych wykazały, że zwierzęta prawidłowo adaptowały się do środowiska, a największą aktywność ruchową zwierzęta przejawiały w pierwszym przedziale czasowym.

**Tabela 45.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	167,46 ± 36,34 (99,6 - 225,9)	10	164,84 ± 67,99 (82,2 - 287,6)	10	129,41 ± 43,99 (57,6 - 204,0)	10	133,81 ± 56,22 (68,8 - 247,0)
2	10	132,91 ± 42,58 (58,3 - 188,9)	10	123,73 ± 24,52 (91,7 - 170,7)	10	133,92 ± 57,74 (71,7 - 260,5)	10	132,42 ± 46,78 (82,7 - 224,9)
3	10	132,42 ± 38,63 (75,2 - 213,0)	10	154,79 ± 54,04 (89,0 - 233,7)	10	152,00 ± 96,79 (65,7 - 393,1)	10	155,99 ± 33,05 (116,7 - 214,2)
4	10	119,67 ± 35,23 (63,2 - 173,6)	10	141,78 ± 27,93 (83,1 - 184,6)	10	166,32 ± 75,92 (72,4 - 340,3)	10	144,67 ± 41,02 (60,2 - 191,0)
5	10	139,65 ± 40,71 (76,0 - 207,7)	10	151,84 ± 38,61 (82,9 - 202,8)	10	146,13 ± 67,73 (57,6 - 300,4)	10	153,76 ± 45,77 (82,8 - 231,4)

n - liczba zwierząt

**Tabela 46.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	88,16 ± 29,35 (31,0 - 131,9)	10	81,90 ± 29,53 (30,3 - 140,5)	10	66,04 ± 26,27 (21,2 - 121,6)	10	73,77 ± 17,55 (48,9 - 96,4)
2	10	61,01 ± 24,81 (17,0 - 86,9)	10	56,83 ± 15,05 (33,3 - 86,8)	10	69,21 ± 43,57 (17,9 - 147,2)	10	63,61 ± 15,19 (45,8 - 91,5)
3	10	60,05 ± 17,47 (29,3 - 95,8)	10	72,04 ± 33,35 (32,9 - 152,2)	10	72,31 ± 51,81 (21,7 - 173,0)	10	61,63 ± 19,97 (32,1 - 85,8)
4	10	46,36 ± 14,01 (23,6 - 63,7)	10	56,99 ± 15,51 (25,6 - 78,4)	10	63,47 ± 36,82 (9,3 - 135,3)	10	64,42 ± 19,19 (35,2 - 88,4)
5	10	52,34 ± 21,79 (23,4 - 92,6)	10	66,76 ± 24,84 (36,1 - 102,2)	10	58,62 ± 32,11 (12,8 - 116,0)	10	54,66 ± 11,83 (40,4 - 70,0)

n - liczba zwierząt

**Tabela 47.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	51,11 ± 13,16 (266 - 734)	10	45,87 ± 34,48 (123 - 1327)	10	35,82 ± 21,49 (30 - 637)	10	33,58 ± 21,89 (14 - 694)
2	10	43,16 ± 27,20 (102 - 1013)	10	35,51 ± 18,66 (66 - 678)	10	38,70 ± 19,19 (99 - 714)	10	37,32 ± 22,20 (76 - 710)
3	10	43,93 ± 17,70 (88 - 642)	10	46,46 ± 16,78 (178 - 673)	10	48,29 ± 30,04 (155 - 1147)	10	54,03 ± 9,02 (417 - 688)
4	10	44,59 ± 22,47 (199 - 887)	10	48,09 ± 13,02 (248 - 648)	10	61,76 ± 22,41 (217 - 975)	10	44,93 ± 17,58 (85 - 724)
5	10	49,07 ± 11,59 (352 - 677)	10	48,01 ± 20,22 (199 - 864)	10	45,09 ± 19,40 (157 - 799)	10	58,31 ± 18,30 (268 - 894)

n - liczba zwierząt

**Tabela 48.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	28,19 ± 19,62 (30 - 637)	10	37,11 ± 23,31 (04 - 707)	10	27,53 ± 24,44 (05 - 715)	10	26,47 ± 28,87 (13 - 935)
2	10	28,75 ± 15,50 (55 - 563)	10	31,39 ± 12,10 (143 - 587)	10	26,00 ± 18,35 (53 - 572)	10	31,48 ± 19,84 (47 - 625)
3	10	28,42 ± 17,28 (49 - 637)	10	36,30 ± 21,77 (76 - 692)	10	31,39 ± 29,10 (25 - 1053)	10	40,36 ± 25,53 (27 - 937)
4	10	28,71 ± 15,56 (32 - 530)	10	36,68 ± 11,29 (226 - 577)	10	41,07 ± 27,39 (134 - 1074)	10	35,30 ± 22,84 (24 - 753)
5	10	38,21 ± 15,44 (182 - 637)	10	37,08 ± 14,21 (177 - 603)	10	42,40 ± 28,04 (96 - 1045)	10	40,79 ± 25,70 (102 - 864)

n - liczba zwierząt

**Tabela 49.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	225,10 ± 79,27 (124,4 - 358,4)	10	218,85 ± 82,02 (89,8 - 344,2)	10	222,31 ± 62,97 (110,9 - 313,4)	10	236,97 ± 83,17 (119,6 - 423,8)
2	10	218,11 ± 81,93 (130,6 - 364,2)	10	202,38 ± 96,12 (73,6 - 404,6)	10	190,47 ± 67,24 (97,6 - 290,4)	10	158,57 ± 63,88 (65,2 - 276,1)
3	10	165,67 ± 45,70 (67,5 - 247,5)	10	164,80 ± 98,69 (45,6 - 405,0)	10	185,12 ± 35,39 (121,2 - 250,3)	10	219,78 ± 61,09 (121,2 - 250,3)
4	10	148,80 ± 25,88 (101,2 - 183,2)	10	176,82 ± 88,52 (26,1 - 365,2)	10	186,97 ± 52,51 (91,7 - 250,1)	10	233,52 ± 80,44 (129,6 - 400,1)
5	10	155,13 ± 56,18 (63,1 - 217,1)	10	180,63 ± 93,10 (35,4 - 353,9)	10	179,90 ± 48,64 (106,5 - 258,8)	10	239,31 ± 77,99 (178,1 - 434,3)

n - liczba zwierząt

**Tabela 50.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	117,00 ± 44,58 (47,4 - 200,7)	10	113,16 ± 35,82 (66,2 - 177,0)	10	107,18 ± 33,41 (37,6 - 144)	10	118,69 ± 35,89 (58,5 - 194,3)
2	10	115,72 ± 39,75 (67,3 - 182,9)	10	97,93 ± 41,88 (23,4 - 168,1)	10	99,27 ± 30,28 (45,9 - 147,7)	10	83,52 ± 40,42 (38,5 - 142,4)
3	10	84,37 ± 28,23 (29,7 - 134,9)	10	75,87 ± 44,01 (18,3 - 164,9)	10	98,21 ± 27,60 (39,6 - 132,4)	10	113,81 ± 20,48 (66,4 - 137,2)
4	10	76,32 ± 16,01 (42,4 - 99,1)	10	91,20 ± 44,82 (7,7 - 162,0)	10	93,45 ± 23,09 (58,2 - 138,5)	10	113,90 ± 29,50 (57,5 - 149,5)
5	10	69,65 ± 28,36 (28,7 - 115,6)	10	79,80 ± 46,43 (9,4 - 154,5)	10	91,15 ± 28,40 (57,0 - 149,0)	10	104,39 ± 27,32 (70,6 - 148,8)

n - liczba zwierząt

**Tabela 51.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	61,09 ± 29,84 (337 - 1212)	10	55,73 ± 31,24 (106 - 1228)	10	63,00 ± 22,99 (95 - 845)	10	65,19 ± 26,95 (272 - 1197)
2	10	54,03 ± 19,33 (298 - 912)	10	51,55 ± 30,77 (125 - 946)	10	56,92 ± 26,03 (112 - 1112)	10	47,20 ± 23,39 (147 - 802)
3	10	48,71 ± 20,02 (287 - 977)	10	51,80 ± 30,81 (186 - 1244)	10	54,49 ± 21,44 (238 - 897)	10	58,93 ± 34,13 (275 - 1390)
4	10	42,53 ± 15,72 (128 - 602)	10	43,41 ± 26,19 (96 - 1006)	10	44,56 ± 24,42 (100 - 1004)	10	68,68 ± 33,29 (329 - 1473)
5	10	36,96 ± 18,69 (162 - 677)	10	41,07 ± 19,62 (164 - 798)	10	51,95 ± 22,00 (152 - 828)	10	<b>69,85 ± 41,66*</b> (338 - 1817)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 52.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	47,00 ± 19,38 (70 - 712)	10	49,99 ± 25,68 (119 - 825)	10	52,12 ± 21,84 (149 - 880)	10	53,07 ± 27,84 (140 - 1105)
2	10	48,33 ± 31,95 (89 - 989)	10	52,86 ± 35,76 (123 - 1418)	10	34,28 ± 20,39 (109 - 662)	10	27,85 ± 19,60 (18 - 625)
3	10	32,61 ± 20,94 (97 - 805)	10	37,11 ± 32,22 (25 - 1156)	10	32,42 ± 13,32 (124 - 529)	10	47,05 ± 23,34 (169 - 917)
4	10	29,94 ± 8,09 (155 - 445)	10	42,22 ± 31,22 (88 - 1027)	10	48,96 ± 21,03 (150 - 949)	10	50,94 ± 34,31 (64 - 1118)
5	10	48,54 ± 23,56 (177 - 849)	10	59,73 ± 33,96 (96 - 1384)	10	36,78 ± 14,08 (140 - 597)	10	65,07 ± 20,38 (340 - 1045)

n - liczba zwierząt

**Tabela 53.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	62,6 ± 21,26 (36,0 - 96,0)	10	53,6 ± 27,97 (22,0 - 97,0)	10	38,6 ± 17,82 (16,0 - 73,0)	10	46,8 ± 25,17 (17,0 - 93,0)
2	10	52,6 ± 26,62 (3,0 - 87,0)	10	45,4 ± 21,43 (20,0 - 90,0)	10	46,8 ± 22,70 (13,0 - 80,0)	10	45,0 ± 33,77 (17,0 - 121,0)
3	10	66,7 ± 26,18 (35,0 - 109,0)	10	60,4 ± 32,70 (26,0 - 127,0)	10	52,4 ± 51,11 (6,0 - 190,0)	10	65,7 ± 28,25 (33,0 - 126,0)
4	10	50,8 ± 24,89 (23,0 - 101,0)	10	53,9 ± 25,37 (25,0 - 109,0)	10	73,3 ± 66,61 (12,0 - 251,0)	10	55,4 ± 18,66 (24,0 - 75,0)
5	10	61,2 ± 29,89 (26,0 - 128,0)	10	56,8 ± 24,76 (31,0 - 114,0)	10	69,2 ± 49,16 (16,0 - 193,0)	10	60,5 ± 26,11 (30,0 - 101,0)

n - liczba zwierząt

**Tabela 54.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	32,3 ± 13,14 (9,0 - 49,0)	10	27,6 ± 14,92 (9,0 - 61,0)	10	19,7 ± 7,63 (3,0 - 29,0)	10	25,5 ± 8,32 (11,0 - 37,0)
2	10	23,0 ± 13,42 (2,0 - 43,0)	10	17,8 ± 7,44 (9,0 - 36,0)	10	23,6 ± 17,13 (3,0 - 57,0)	10	18,5 ± 10,86 (9,0 - 42,0)
3	10	27,6 ± 12,69 (13,0 - 54,0)	10	26,1 ± 17,41 (7,0 - 66,0)	10	22,6 ± 21,93 (1,0 - 66,0)	10	23,9 ± 17,49 (5,0 - 64,0)
4	10	16,5 ± 5,97 (8,0 - 26,0)	10	19,9 ± 11,04 (5,0 - 38,0)	10	24,5 ± 25,92 (4,0 - 93,0)	10	24,6 ± 7,85 (11,0 - 33,0)
5	10	20,3 ± 15,47 (5,0 - 59,0)	10	25,7 ± 16,91 (9,0 - 64,0)	10	25,0 ± 18,80 (3,0 - 68,0)	10	20,9 ± 8,16 (11,0 - 32,0)

n - liczba zwierząt

**Tabela 55.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	19,7 ± 11,64 (80 - 370)	10	11,8 ± 9,96 (30 - 330)	10	11,7 ± 8,41 (00 - 250)	10	15,0 ± 16,43 (00 - 540)
2	10	17,8 ± 18,70 (10 - 610)	10	13,8 ± 13,62 (20 - 430)	10	13,4 ± 10,09 (10 - 340)	10	15,3 ± 13,29 (10 - 390)
3	10	25,3 ± 12,82 (20 - 490)	10	19,1 ± 13,21 (80 - 520)	10	19,3 ± 21,82 (10 - 790)	10	25,9 ± 7,43 (140 - 380)
4	10	22,4 ± 14,46 (50 - 480)	10	17,9 ± 8,09 (60 - 300)	10	27,0 ± 15,03 (50 - 570)	10	17,9 ± 10,22 (00 - 340)
5	10	22,7 ± 9,50 (130 - 390)	10	17,9 ± 10,09 (70 - 350)	10	24,5 ± 17,37 (40 - 650)	10	25,5 ± 11,11 (70 - 470)

n - liczba zwierząt

**Tabela 56.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	10,7 ± 10,89 (00 - 300)	10	14,2 ± 11,66 (00 - 290)	10	7,2 ± 10,23 (00 - 330)	10	6,3 ± 8,01 (00 - 260)
2	10	12,0 ± 8,99 (00 - 270)	10	13,9 ± 9,43 (40 - 300)	10	9,8 ± 8,66 (00 - 230)	10	11,3 ± 12,52 (00 - 410)
3	10	14,0 ± 11,38 (00 - 330)	10	15,4 ± 10,62 (10 - 310)	10	10,6 ± 13,12 (00 - 450)	10	16,1 ± 12,46 (10 - 390)
4	10	11,9 ± 10,44 (00 - 360)	10	16,2 ± 11,85 (70 - 410)	10	21,9 ± 29,39 (10 - 1020)	10	13,2 ± 9,21 (10 - 290)
5	10	18,2 ± 10,49 (40 - 320)	10	13,3 ± 5,74 (50 - 200)	10	19,9 ± 17,53 (10 - 610)	10	14,3 ± 11,76 (00 - 300)

n - liczba zwierząt

**Tabela 57.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	87,1 ± 39,31 (410 - 1780)	10	87,9 ± 46,48 (160 - 1840)	10	98,8 ± 39,19 (260 - 160)	10	96,8 ± 40,80 (600 - 1980)
2	10	94,4 ± 45,61 (530 - 1890)	10	83,6 ± 47,37 (180 - 1670)	10	78,5 ± 37,71 (390 - 1300)	10	61,7 ± 25,56 (300 - 1200)
3	10	76,2 ± 30,80 (310 - 1280)	10	75,5 ± 64,71 (150 - 2240)	10	93,5 ± 35,04 (210 - 1440)	10	89,5 ± 29,70 (540 - 1540)
4	10	77,3 ± 36,73 (350 - 1650)	10	82,5 ± 46,95 (80 - 1610)	10	98,8 ± 29,30 (580 - 1380)	10	103,2 ± 52,84 (420 - 1860)
5	10	78,6 ± 45,99 (130 - 1750)	10	81,1 ± 55,40 (40 - 1920)	10	91,7 ± 37,56 (470 - 1490)	10	110,4 ± 47,98 (530 - 2180)

n - liczba zwierząt

**Tabela 58.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	45,0 ± 22,35 (210 - 940)	10	46,8 ± 26,10 (150 - 1020)	10	41,3 ± 17,55 (90 - 730)	10	45,7 ± 13,00 (300 - 770)
2	10	50,4 ± 25,66 (250 - 1090)	10	38,2 ± 22,40 (70 - 820)	10	37,0 ± 14,88 (170 - 610)	10	28,5 ± 10,55 (150 - 450)
3	10	35,9 ± 13,60 (150 - 540)	10	32,2 ± 28,15 (60 - 86)	10	50,6 ± 25,86 (60 - 860)	10	44,6 ± 10,98 (300 - 650)
4	10	34,6 ± 15,78 (170 - 630)	10	38,1 ± 22,04 (10 - 720)	10	45,7 ± 20,85 (180 - 860)	10	43,3 ± 15,22 (250 - 690)
5	10	30,2 ± 17,39 (90 - 650)	10	36,1 ± 27,53 (20 - 870)	10	43,6 ± 19,48 (210 - 760)	10	43,9 ± 17,55 (230 - 730)

n - liczba zwierząt



**Tabela 59.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	21,6 ± 9,29 (110 - 370)	10	21,4 ± 12,56 (00 - 410)	10	35,9 ± 17,50 (40 - 560)	10	26,9 ± 15,79 (110 - 660)
2	10	23,2 ± 8,23 (100 - 340)	10	22,4 ± 16,54 (10 - 500)	10	25,4 ± 16,60 (40 - 560)	10	20,2 ± 13,85 (50 - 470)
3	10	25,9 ± 18,89 (120 - 740)	10	25,7 ± 20,08 (50 - 690)	10	26,5 ± 10,26 (100 - 430)	10	23,5 ± 18,09 (100 - 680)
4	10	24,8 ± 15,95 (30 - 570)	10	21,7 ± 13,98 (30 - 490)	10	20,9 ± 14,29 (10 - 480)	10	34,6 ± 26,45 (70 - 950)
5	10	20,6 ± 16,65 (00 - 550)	10	16,9 ± 11,51 (00 - 330)	10	29,1 ± 16,65 (70 - 580)	10	34,7 ± 25,27 (130 - 960)

n - liczba zwierząt

**Tabela 60.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (150 ppm)	n	2 (600 ppm)	n	3 (2400 ppm)
1	10	20,7 ± 15,58 (00 - 470)	10	19,8 ± 14,60 (10 - 410)	10	21,8 ± 10,75 (50 - 390)	10	24,2 ± 19,10 (00 - 590)
2	10	20,8 ± 15,72 (20 - 490)	10	23,2 ± 15,80 (00 - 570)	10	16,2 ± 13,73 (20 - 450)	10	13,0 ± 10,42 (00 - 290)
3	10	14,4 ± 11,10 (00 - 320)	10	17,8 ± 22,65 (00 - 770)	10	16,6 ± 14,29 (00 - 400)	10	21,5 ± 14,96 (40 - 520)
4	10	18,0 ± 12,23 (30 - 460)	10	22,9 ± 21,00 (20 - 660)	10	32,3 ± 16,28 (70 - 610)	10	25,4 ± 18,66 (00 - 540)
5	10	28,0 ± 16,63 (40 - 570)	10	28,2 ± 21,12 (20 - 760)	10	19,1 ± 11,61 (40 - 410)	10	32,0 ± 13,07 (80 - 500)

n - liczba zwierząt

**Tabela 61.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	143,78 ± 36,28 (58□ - 181□8)	10	153,37 ± 41,83 (67□9 - 226□3)	10	152,92 ± 64,45 (62□2 - 288□0)	10	153,89 ± 22,39 (130□6 - 201□2)
2	10	105,15 ± 55,61 (134□0 - 295□9)	10	132,55 ± 38,34 (65□8 - 388□3)	10	141,73 ± 56,13 (119□7 - 377□3)	10	126,29 ± 53,88 (48□2 - 235□5)
3	10	149,99 ± 47,06 (59□4 - 224□3)	10	185,44 ± 55,99 (107□2 - 323□0)	10	<b>218,4 ± 45,75*</b> (124□1 - 303□0)	10	168,89 ± 24,52 (136□9 - 209□1)
4	10	164,05 ± 60,61 (65□2 - 277□3)	10	170,82 ± 78,53 (83□6 - 326□8)	10	182,39 ± 78,94 (90□5 - 321□8)	10	175,63 ± 48,12 (86□6 - 269□6)
5	10	164,88 ± 48,64 (115□9 - 294□3)	10	198,90 ± 80,02 (87□5 - 337□2)	10	194,64 ± 85,46 (99□9 - 351□4)	10	168,74 ± 31,10 (118□1 - 232□0)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 62.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	79,04 ± 28,26 (16□3 - 101□7)	10	78,20 ± 23,72 (39□4 - 106□4)	10	78,39 ± 35,16 (26□4 - 134□2)	10	83,51 ± 18,71 (61□3 - 108□0)
2	10	48,04 ± 25,82 (16□7 - 91□7)	10	61,20 ± 21,26 (28□5 - 97□0)	10	63,87 ± 30,64 (16□6 - 107□7)	10	55,04 ± 24,85 (6□9 - 94□7)
3	10	79,89 ± 31,13 (33□0 - 139□0)	10	88,41 ± 21,61 (54□8 - 120□3)	10	105,02 ± 34,64 (48□7 - 163□2)	10	79,82 ± 22,04 (55□0 - 119□9)
4	10	75,08 ± 25,57 (31□3 - 109□9)	10	67,63 ± 30,51 (28□8 - 115□3)	10	82,89 ± 41,76 (20□4 - 161□1)	10	72,42 ± 27,05 (28□0 - 103□9)
5	10	73,55 ± 19,99 (36□4 - 110□9)	10	90,55 ± 38,44 (38□5 - 130□7)	10	85,58 ± 39,29 (32□3 - 154□7)	10	72,65 ± 22,60 (21□4 - 108□1)

n - liczba zwierząt

**Tabela 63.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	34,54 ± 16,49 (19 - 59,2)	10	41,76 ± 14,49 (19,9 - 62,3)	10	45,04 ± 18,61 (15,9 - 85,5)	10	42,42 ± 11,23 (24,6 - 62,9)
2	10	37,96 ± 19,38 (4,7 - 60,2)	10	41,97 ± 17,17 (15,3 - 75,0)	10	42,17 ± 19,74 (16,0 - 74,8)	10	39,28 ± 19,66 (6,7 - 61,7)
3	10	37,73 ± 19,99 (4,4 - 65,8)	10	48,19 ± 15,50 (21,7 - 82,3)	10	<b>75,12 ± 17,28*</b> (43,0 - 102,6)	10	46,59 ± 13,73 (28,4 - 70,2)
4	10	51,19 ± 22,62 (18,4 - 94,7)	10	55,37 ± 26,90 (14,9 - 104,2)	10	52,95 ± 16,37 (28,5 - 74,3)	10	54,35 ± 16,31 (35,2 - 88,3)
5	10	45,03 ± 17,10 (17,2 - 78,0)	10	59,82 ± 24,01 (29,5 - 116,9)	10	55,77 ± 27,14 (13,2 - 103,1)	10	53,45 ± 25,61 (23,6 - 105,2)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 64.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	30,21 ± 17,67 (0,9 - 50,7)	10	33,40 ± 20,23 (5,4 - 65,1)	10	29,48 ± 26,66 (2,4 - 68,2)	10	27,94 ± 18,96 (0,1 - 50,6)
2	10	19,15 ± 17,10 (1,0 - 56,1)	10	29,39 ± 15,55 (10,4 - 55,7)	10	35,68 ± 29,14 (6,6 - 89,0)	10	31,96 ± 19,81 (1,1 - 61,0)
3	10	32,37 ± 17,07 (4,9 - 53,5)	10	48,83 ± 29,59 (16,3 - 121,6)	10	38,25 ± 16,12 (17,6 - 66,3)	10	42,45 ± 20,92 (9,7 - 79,8)
4	10	37,78 ± 25,91 (1,5 - 72,7)	10	47,80 ± 28,31 (18,6 - 107,3)	10	46,55 ± 33,49 (9,9 - 104,9)	10	48,85 ± 24,30 (5,3 - 77,4)
5	10	46,31 ± 24,70 (20,7 - 105,3)	10	48,50 ± 24,80 (9,7 - 92,2)	10	53,27 ± 30,76 (22,1 - 113,9)	10	42,64 ± 13,71 (23,6 - 65,4)

n - liczba zwierząt

**Tabela 65.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	167,58 ± 50,59 (96,7 - 282,2)	10	138,44 ± 50,59 (76,1 - 238,5)	10	156,38 ± 63,82 (73,7 - 253,5)	10	144,78 ± 48,98 (75,9 - 234,5)
2	10	214,54 ± 52,47 (134,5 - 295,0)	10	223,15 ± 91,85 (65,8 - 388,3)	10	240,69 ± 93,41 (119,7 - 377,3)	10	160,15 ± 71,11 (48,2 - 235,5)
3	10	197,39 ± 68,08 (23,7 - 263,3)	10	215,98 ± 110,50 (115,3 - 472,7)	10	<b>302,68 ± 89,44*</b> (211,9 - 496,7)	10	185,24 ± 90,14 (38,0 - 317,7)
4	9	200,49 ± 69,66 (109,0 - 305,9)	10	237,28 ± 119,52 (65,8 - 412,7)	10	270,95 ± 87,00 (138,7 - 368,6)	10	191,25 ± 93,16 (56,4 - 326,8)
5	9	206,08 ± 78,25 (87,3 - 330,0)	10	203,53 ± 84,15 (102,9 - 321,6)	10	269,08 ± 98,13 (123,8 - 412,5)	10	219,32 ± 109,58 (64,7 - 453,8)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 66.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	87,01 ± 24,21 (44,9 - 125,9)	10	86,82 ± 28,96 (50,5 - 137,5)	10	93,94 ± 29,36 (42,7 - 126,8)	10	80,94 ± 28,91 (45,1 - 122,8)
2	10	101,17 ± 39,76 (8,3 - 143,8)	10	109,18 ± 46,62 (42,3 - 206,4)	10	126,01 ± 43,14 (69,9 - 184,4)	10	86,14 ± 46,61 (14,4 - 152)
3	10	107,52 ± 43,68 (15,2 - 179,2)	10	111,8 ± 52,17 (61,8 - 210,5)	10	153,55 ± 55,95 (86,5 - 280,7)	10	100,30 ± 56,20 (19,3 - 185,6)
4	9	106,12 ± 31,79 (62,2 - 165,7)	10	115,58 ± 55,22 (31,9 - 195,5)	10	123,20 ± 36,20 (61,3 - 169,2)	10	91,36 ± 51,50 (9,2 - 152,8)
5	9	95,96 ± 41,94 (32,0 - 173,0)	10	102,87 ± 45,10 (46,8 - 176,8)	10	120,51 ± 51,27 (45,7 - 191,7)	10	100,05 ± 53,73 (18,3 - 187,8)

n - liczba zwierząt

**Tabela 67.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	44,64 ± 27,51 (42 - 859)	10	28,27 ± 14,45 (69 - 519)	10	38,95 ± 19,67 (138 - 777)	10	38,88 ± 26,20 (310 - 827)
2	10	60,23 ± 30,15 (227 - 1263)	10	64,72 ± 29,59 (218 - 1079)	10	65,87 ± 40,09 (185 - 1327)	10	37,57 ± 21,42 (67 - 615)
3	10	46,03 ± 22,13 (67 - 814)	10	61,14 ± 35,96 (226 - 1270)	10	<b>80,76 ± 27,81*</b> (367 - 1368)	10	49,66 ± 25,96 (160 - 910)
4	9	45,11 ± 22,99 (191 - 862)	10	56,26 ± 30,41 (202 - 1210)	10	78,19 ± 30,01 (425 - 1266)	10	50,46 ± 31,06 (63 - 1077)
5	9	64,56 ± 28,97 (214 - 1083)	10	53,80 ± 29,89 (59 - 1085)	10	84,86 ± 38,55 (183 - 1432)	10	68,48 ± 33,20 (171 - 1359)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 68.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	35,92 ± 25,05 (25 - 740)	10	23,32 ± 21,57 (02 - 653)	10	23,49 ± 22,77 (27 - 686)	10	25,00 ± 15,79 (02 - 440)
2	10	53,11 ± 22,31 (185 - 860)	10	49,25 ± 22,92 (17 - 776)	10	48,79 ± 28,81 (148 - 1064)	10	36,43 ± 25,36 (27 - 776)
3	10	43,85 ± 23,75 (18 - 809)	10	43,01 ± 38,63 (57 - 1357)	10	68,33 ± 39,46 (37 - 1385)	10	35,27 ± 19,70 (04 - 674)
4	9	49,24 ± 31,88 (22 - 999)	10	65,43 ± 44,62 (57 - 1300)	10	69,58 ± 43,73 (185 - 1524)	10	49,44 ± 20,86 (204 - 815)
5	9	45,58 ± 19,94 (154 - 706)	10	46,85 ± 20,42 (204 - 755)	10	63,71 ± 35,42 (09 - 1327)	10	50,78 ± 34,57 (54 - 1307)

n - liczba zwierząt

**Tabela 69.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	50,1 ± 15,79 (240 - 760)	10	58,8 ± 29,63 (190 - 1120)	10	58,8 ± 31,82 (230 - 1290)	10	48,8 ± 13,62 (360 - 760)
2	10	42,0 ± 30,93 (80 - 890)	10	46,9 ± 25,31 (60 - 930)	10	49,7 ± 31,96 (130 - 1240)	10	50,4 ± 36,71 (20 - 1150)
3	10	70,8 ± 38,63 (120 - 1510)	10	95,0 ± 38,94 (300 - 1590)	10	87,2 ± 20,94 (370 - 1070)	10	75,4 ± 19,63 (500 - 1160)
4	10	86,5 ± 46,81 (180 - 1770)	10	91,9 ± 56,66 (300 - 1940)	10	74,5 ± 35,53 (300 - 1240)	10	81,9 ± 33,16 (310 - 1500)
5	10	82,0 ± 41,92 (440 - 1890)	10	99,0 ± 48,68 (310 - 1660)	10	79,6 ± 35,41 (210 - 1450)	10	76,3 ± 24,85 (430 - 1130)

n - liczba zwierząt

**Tabela 70.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	28,0 ± 13,91 (40 - 480)	10	32,0 ± 14,17 (90 - 500)	10	31,7 ± 18,99 (100 - 680)	10	28,4 ± 6,54 (200 - 440)
2	10	16,5 ± 12,93 (20 - 460)	10	20,6 ± 10,62 (20 - 340)	10	22,4 ± 15,32 (10 - 470)	10	24,1 ± 19,43 (10 - 580)
3	10	38,1 ± 27,49 (60 - 940)	10	44,3 ± 14,02 (140 - 580)	10	41,9 ± 12,64 (130 - 560)	10	30,6 ± 9,79 (210 - 490)
4	10	40,2 ± 24,02 (110 - 860)	10	32,7 ± 22,46 (70 - 700)	10	34,1 ± 18,42 (70 - 590)	10	30,7 ± 18,97 (90 - 660)
5	10	34,7 ± 18,02 (110 - 740)	10	44,5 ± 20,85 (140 - 790)	10	34,6 ± 16,37 (100 - 560)	10	28,5 ± 15,35 (100 - 650)

n - liczba zwierząt

**Tabela 71.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	11,6 ± 6,74 (00 - 200)	10	16,5 ± 10,05 (20 - 320)	10	14,9 ± 8,10 (00 - 300)	10	11,1 ± 6,37 (50 - 250)
2	10	15,7 ± 11,94 (10 - 340)	10	14,1 ± 9,62 (30 - 350)	10	12,4 ± 9,91 (10 - 300)	10	12,3 ± 9,87 (00 - 280)
3	10	16,3 ± 13,52 (00 - 460)	10	24,9 ± 12,62 (90 - 400)	10	<b>33,2 ± 9,51*</b> (170 - 460)	10	20,0 ± 6,85 (110 - 310)
4	10	25,9 ± 18,01 (50 - 660)	10	32,6 ± 21,31 (00 - 750)	10	19,9 ± 8,72 (90 - 370)	10	25,1 ± 11,90 (110 - 510)
5	10	22,7 ± 14,83 (40 - 500)	10	31,0 ± 18,84 (50 - 600)	10	21,8 ± 15,4 (20 - 430)	10	29,8 ± 16,68 (60 - 580)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 72.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	10,5 ± 8,25 (00 - 200)	10	10,4 ± 10,25 (00 - 300)	10	11,9 ± 14,66 (00 - 410)	10	9,5 ± 9,24 (00 - 260)
2	10	9,8 ± 10,44 (00 - 260)	10	12,2 ± 13,21 (10 - 440)	10	15,0 ± 17,87 (00 - 480)	10	14,0 ± 12,00 (00 - 290)
3	10	16,5 ± 13,00 (10 - 400)	10	25,9 ± 19,19 (50 - 620)	10	12,2 ± 7,32 (30 - 220)	10	24,9 ± 18,88 (00 - 570)
4	10	20,3 ± 14,96 (10 - 440)	10	26,6 ± 18,20 (40 - 580)	10	20,6 ± 17,78 (40 - 590)	10	26,1 ± 17,24 (20 - 490)
5	10	24,6 ± 16,87 (50 - 650)	10	23,6 ± 16,42 (00 - 580)	10	23,3 ± 14,01 (80 - 570)	10	18,1 ± 11,61 (40 - 420)

n - liczba zwierząt

**Tabela 73.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	48,7 ± 14,49 (33,0 - 75,0)	10	44,8 ± 25,20 (21,0 - 91,0)	10	50,0 ± 26,14 (17,0 - 104,0)	10	46,2 ± 17,40 (13,0 - 75,0)
2	10	112,5 ± 53,13 (44,0 - 225,0)	10	89,9 ± 38,47 (26,0 - 155,0)	10	105,0 ± 55,26 (24,0 - 204,0)	10	<b>55,6 ± 29,88*</b> (16,0 - 106,0)
3	10	95,6 ± 39,55 (0,0 - 159,0)	10	98,4 ± 69,81 (24,0 - 281,0)	10	121,7 ± 43,48 (28,0 - 168,0)	10	78,2 ± 40,00 (15,0 - 156,0)
4	9	97,8 ± 54,12 (49,0 - 193,0)	10	112,7 ± 65,25 (25,0 - 235,0)	10	110,4 ± 49,54 (32,0 - 167,0)	10	86,0 ± 35,67 (25,0 - 132,0)
5	9	113,6 ± 58,27 (43,0 - 198,0)	10	96,2 ± 57,33 (33,0 - 192,0)	10	109,5 ± 53,39 (39,0 - 224,0)	10	92,5 ± 38,09 (33,0 - 155,0)

n - liczba zwierząt

\* różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 74.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	25,9 ± 9,09 (13,0 - 40,0)	10	29,9 ± 14,16 (15,0 - 56,0)	10	32,1 ± 13,38 (16,0 - 62,0)	10	26,3 ± 8,63 (8,0 - 41,0)
2	10	54,3 ± 30,54 (2,0 - 103,0)	10	43,0 ± 16,66 (17,0 - 75,0)	10	58,2 ± 24,90 (19,0 - 97,0)	10	30,4 ± 18,39 (5,0 - 59,0)
3	10	47,6 ± 22,18 (0,0 - 75,0)	10	45,7 ± 24,70 (16,0 - 103,0)	10	61,6 ± 26,07 (20,0 - 111,0)	10	41,4 ± 25,45 (6,0 - 83,0)
4	9	52,3 ± 20,89 (26,0 - 83,0)	10	50,6 ± 28,81 (9,0 - 106,0)	10	50,6 ± 23,86 (17,0 - 80,0)	10	41,9 ± 23,53 (6,0 - 71,0)
5	9	51,3 ± 27,76 (12,0 - 99,0)	10	47,8 ± 26,82 (19,0 - 98,0)	10	47,1 ± 25,32 (14,0 - 86,0)	10	43,4 ± 20,69 (8,0 - 72,0)

n - liczba zwierząt



**Tabela 75.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	12,1 ± 10,62 (00 - 280)	10	8,8 ± 6,48 (00 - 200)	10	11,2 ± 7,22 (10 - 200)	10	10,1 ± 8,91 (00 - 260)
2	10	26,3 ± 16,81 (20 - 620)	10	27,0 ± 13,49 (90 - 530)	10	27,1 ± 22,26 (10 - 680)	10	13,3 ± 8,79 (10 - 240)
3	10	26,0 ± 19,76 (00 - 570)	10	31,1 ± 29,14 (40 - 1030)	10	31,3 ± 14,17 (70 - 550)	10	22,1 ± 14,92 (10 - 480)
4	9	19,1 ± 18,41 (20 - 620)	10	26,0 ± 17,80 (130 - 680)	10	32,7 ± 19,32 (70 - 640)	10	22,5 ± 14,30 (00 - 420)
5	9	40,4 ± 28,02 (50 - 840)	10	25,4 ± 21,93 (00 - 690)	10	36,6 ± 24,10 (80 - 830)	10	29,9 ± 18,83 (60 - 680)

n - liczba zwierząt

**Tabela 76.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

POMIAR	GRUPA (stężenie MCPA)							
	n	0 (0 ppm)	n	1 (200 ppm)	n	2 (700 ppm)	n	3 (2450 ppm)
1	10	10,6 ± 8,40 (00 - 230)	10	6,2 ± 7,51 (00 - 200)	10	6,7 ± 9,63 (00 - 250)	10	9,9 ± 8,96 (00 - 230)
2	10	32,0 ± 19,19 (00 - 600)	10	19,9 ± 15,13 (00 - 500)	10	19,8 ± 17,83 (30 - 580)	10	12,0 ± 12,11 (00 - 420)
3	10	22,0 ± 11,91 (00 - 350)	10	21,7 ± 22,57 (00 - 760)	10	29,2 ± 19,88 (10 - 630)	10	14,9 ± 10,81 (00 - 360)
4	9	26,3 ± 22,06 (00 - 570)	10	36,3 ± 29,95 (00 - 890)	10	27,3 ± 17,81 (20 - 520)	10	21,6 ± 10,42 (40 - 390)
5	9	22,0 ± 11,46 (50 - 430)	10	22,9 ± 16,66 (40 - 490)	10	26,0 ± 15,68 (00 - 560)	10	19,4 ± 12,59 (00 - 390)

n - liczba zwierząt

### **5.3. Badania kliniczno – chemiczne**

#### **5.3.1. Badania hematologiczne**

Wyniki badań hematologicznych krwi obwodowej zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 77 (samce) i w tabeli 78 (samice), natomiast zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 79 (samce) i w tabeli 80 (samice).

##### **2,4-D**

U samców narażanych na 2,4-D nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych w wynikach badań hematologicznych. U samic narażanych na 2,4-D jedynie w grupie 3 (2400 ppm) stwierdzono statystycznie istotny spadek stężenia hemoglobiny, hematokrytu, krwinek czerwonych i krwinek białych w porównaniu do grupy kontrolnej (tabela 78).

##### **MCPA**

U samców narażanych na MCPA nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych w wynikach badań hematologicznych. U samic narażonych na MCPA w grupie 3 (2450 ppm) stwierdzono statystycznie istotnie niższe stężenie hemoglobiny w porównaniu do grupy kontrolnej (tabela 80).

Wyniki składu odsetkowego krwinek białych zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 81 (samce) i w tabeli 82 (samice), natomiast zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 83 (samce) i w tabeli 84 (samice).

##### **2,4-D**

U samców narażanych na 2,4-D stwierdzono statystycznie istotny wzrost liczby eozynocytów w grupie 2 (600 ppm). U samic stwierdzono statystycznie istotny wzrost liczby eozynocytów w grupach 1 (150 ppm) i 2 (600 ppm), a także statystycznie istotny spadek liczby limfocytów w grupie 2 (600 ppm).

##### **MCPA**

U samców narażanych na MCPA w żadnej grupie nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych w składzie odsetkowym krwinek białych w porównaniu do grupy kontrolnej. Natomiast u samic narażanych na MCPA stwierdzono statystycznie istotny wzrost liczby neutrocytów jedynie w grupie 3 (2450 ppm).

**Tabela 77.** Wyniki badań hematologicznych zwierząt narażanych na 2,4-D- samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
HEMOGLOBINA g/l	154,60 ± 6,92 (1450 - 1650)	155,80 ± 5,75 (1430 - 1620)	154,80 ± 4,92 (1480 - 1630)	156,60 ± 6,06 (1480 - 1680)
HEMATOKRYT 1/l	0,45 ± 0,02 (043 - 047)	0,45 ± 0,01 (043 - 047)	0,45 ± 0,02 (042 - 047)	0,46 ± 0,02 (043 - 049)
KRWINKI CZERWONE x 10 <sup>12</sup> /l	8,83 ± 0,36 (823 - 936)	8,74 ± 0,43 (809 - 943)	8,65 ± 0,39 (808 - 942)	8,79 ± 0,34 (819 - 921)
MCV fl	51,2 ± 1,62 (480 - 530)	51,90 ± 1,85 (490 - 550)	51,50 ± 1,18 (500 - 540)	52,50 ± 1,65 (500 - 550)
MCH pg	17,50 ± 0,87 (160 - 187)	17,87 ± 0,77 (172 - 190)	17,92 ± 0,63 (171 - 185)	17,83 ± 0,64 (167 - 188)
MCHC g/l	341,70 ± 7,45 (3320 - 3520)	343,10 ± 8,65 (3340 - 3580)	346,50 ± 9,05 (3300 - 3580)	339,80 ± 6,55 (3310 - 3500)
KRWINKI PŁYTKOWE x 10 <sup>9</sup> /l	744,10 ± 110,76 (6360 - 8790)	851,60 ± 276,52 (11920 - 4350)	920,90 ± 160,26 (7260 - 11980)	752,40 ± 99,05 (5430 - 8700)
KRWINKI BIAŁE x 10 <sup>9</sup> /l	9,01 ± 1,81 (65 - 117)	7,26 ± 1,50 (54 - 92)	8,18 ± 1,25 (61 - 96)	8,31 ± 1,99 (65 - 133)

n – liczba zwierząt

**Tabela 78.** Wyniki badań hematologicznych zwierząt narażanych na 2,4-D- samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
HEMOGLOBINA g/l	149,50 ± 8,80 (133,0 - 165,0)	145,90 ± 8,53 (127,0 - 155,0)	148,90 ± 4,56 (142,0 - 157,0)	<b>139,00 ± 6,55*</b> (127,0 - 147,0)
HEMATOKRYT 1/1	0,43 ± 0,02 (0,39 - 0,45)	0,42 ± 0,03 (0,36 - 0,45)	0,43 ± 0,02 (0,41 - 0,46)	<b>0,40 ± 0,02*</b> (0,37 - 0,43)
KRWINKI CZERWONE x 10 <sup>12</sup> /l	7,92 ± 0,34 (7,30 - 8,42)	7,82 ± 0,62 (6,33 - 8,62)	8,02 ± 0,35 (7,56 - 8,71)	<b>7,44 ± 0,33*</b> (6,90 - 7,93)
MCV fl	54,10 ± 2,08 (50,0 - 57,0)	53,10 ± 2,23 (49,0 - 57,0)	53,70 ± 1,25 (52,0 - 55,0)	54,00 ± 2,21 (51,0 - 59,0)
MCH pg	18,87 ± 0,94 (16,9 - 19,9)	18,70 ± 0,91 (17,4 - 20,1)	18,59 ± 0,66 (17,5 - 19,4)	18,69 ± 0,97 (17,4 - 20,7)
MCHC g/l	348,70 ± 8,21 (336,0 - 362,0)	351,50 ± 5,50 (346,0 - 360,0)	346,50 ± 8,73 (333,0 - 360,0)	345,50 ± 6,72 (335,0 - 356,0)
KRWINKI PŁYTKOWE x 10 <sup>9</sup> /l	705,90 ± 116,03 (560,0 - 867,0)	793,00 ± 214,93 (521,0 - 1262,0)	743,40 ± 175,47 (555,0 - 1100,0)	687,60 ± 137,81 (419,0 - 851,0)
KRWINKI BIAŁE x 10 <sup>9</sup> /l	7,26 ± 1,63 (4,6 - 10,2)	6,71 ± 1,58 (4,0 - 8,4)	5,48 ± 1,44 (3,4 - 7,4)	<b>5,00 ± 2,42*</b> (2,5 - 9,6)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 79.** Wyniki badań hematologicznych zwierząt narażanych na MCPA - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
HEMOGLOBINA g/l	153,10 ± 6,51 (145,0 - 166,0)	148,80 ± 6,84 (141,0 - 163,0)	150,20 ± 4,76 (142,0 - 157,0)	152,20 ± 6,70 (143,0 - 161,0)
HEMATOKRYT 1/l	0,46 ± 0,02 (0,41 - 0,48)	0,44 ± 0,03 (0,41 - 0,49)	0,45 ± 0,02 (0,42 - 0,48)	0,46 ± 0,02 (0,42 - 0,49)
KRWINKI CZERWONE x 10 <sup>12</sup> /l	8,60 ± 0,42 (7,54 - 9,03)	8,21 ± 0,46 (7,72 - 8,96)	8,56 ± 0,36 (8,09 - 9,05)	8,45 ± 0,48 (7,61 - 9,01)
MCV fl	53,20 ± 1,48 (51,0 - 56,0)	53,60 ± 1,26 (52,0 - 56,0)	52,40 ± 1,07 (51,0 - 54,0)	54,60 ± 1,43 (53,0 - 58,0)
MCH pg	17,84 ± 0,87 (16,8 - 19,3)	18,16 ± 0,46 (17,5 - 19,0)	17,55 ± 0,42 (17,0 - 18,2)	18,06 ± 0,86 (16,9 - 19,6)
MCHC g/l	334,10 ± 12,36 (319,0 - 356,0)	338,70 ± 6,57 (328,0 - 349,0)	335,30 ± 6,83 (327,0 - 345,0)	330,80 ± 7,07 (321,0 - 342,0)
KRWINKI PŁYTKOWE x 10 <sup>9</sup> /l	742,80 ± 150,29 (597,0 - 1050,0)	779,50 ± 131,81 (594,0 - 1098,0)	901,90 ± 171,22 (595,0 - 1152,0)	680,20 ± 109,66 (504,0 - 798,0)
KRWINKI BIAŁE x 10 <sup>9</sup> /l	8,35 ± 1,93 (5,20 - 11,10)	7,62 ± 1,29 (5,80 - 9,90)	9,84 ± 2,36 (6,50 - 15,30)	9,65 ± 1,69 (7,30 - 12,30)

n – liczba zwierząt

**Tabela 80.** Wyniki badań hematologicznych zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
HEMOGLOBINA g/l	148,20 ± 5,43 (140,0 - 157,0)	147,00 ± 9,50 (135,0 - 169,0)	140,90 ± 6,40 (130,0 - 151,0)	<b>135,70 ± 6,83*</b> (127,0 - 148,0)
HEMATOKRYT 1/l	0,43 ± 0,02 (0,40 - 0,47)	0,43 ± 0,03 (0,39 - 0,45)	0,41 ± 0,02 (0,36 - 0,45)	0,40 ± 0,03 (0,35 - 0,45)
KRWINKI CZERWONE x 10 <sup>12</sup> /l	7,66 ± 0,33 (6,99 - 8,29)	7,87 ± 0,52 (7,160 - 8,900)	7,52 ± 0,53 (6,65 - 8,51)	7,15 ± 0,55 (6,36 - 7,96)
MCV fl	56,20 ± 1,03 (54,00 - 57,0)	55,00 ± 1,33 (53,0 - 57,0)	55,00 ± 1,25 (53,0 - 57,0)	56,40 ± 1,58 (54,0 - 58,0)
MCH pg	19,36 ± 0,70 (18,40 - 21,10)	18,70 ± 0,64 (17,90 - 19,80)	18,75 ± 0,77 (17,3 - 19,7)	18,99 ± 0,74 (17,5 - 19,9)
MCHC g/l	344,40 ± 10,30 (332,0 - 368,0)	339,70 ± 11,77 (323,0 - 362,0)	340,80 ± 10,67 (328,0 - 357,0)	336,70 ± 9,55 (327,0 - 357,0)
KRWINKI PŁYTKOWE x 10 <sup>9</sup> /l	821,40 ± 235,41 (330,0 - 1168,0)	786,10 ± 78,98 (685,0 - 886,0)	738,50 ± 139,31 (451,0 - 976,0)	695,80 ± 266,97 (455,0 - 1362,0)
KRWINKI BIAŁE x 10 <sup>9</sup> /l	8,13 ± 0,94 (6,80 - 9,30)	7,92 ± 3,16 (4,70 - 16,30)	6,39 ± 2,18 (3,90 - 11,30)	6,65 ± 2,76 (2,90 - 12,30)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 81.** Skład odsetkowy krwinek białych zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
NEUTROCYTY 1/1	0,23 ± 0,06 (0,17 - 0,31)	0,21 ± 0,07 (0,11 - 0,29)	0,22 ± 0,05 (0,14 - 0,29)	0,23 ± 0,03 (0,16 - 0,26)
EZYNOCYTY 1/1	0,04 ± 0,04 (0,01 - 0,14)	0,07 ± 0,06 (0,01 - 0,21)	<b>0,10 ± 0,04*</b> (0,05 - 0,18)	0,09 ± 0,05 (0,01 - 0,21)
LIMFOCYTY 1/1	0,72 ± 0,06 (0,64 - 0,80)	0,69 ± 0,07 (0,58 - 0,80)	0,68 ± 0,05 (0,59 - 0,75)	0,66 ± 0,08 (0,49 - 0,78)
MONOCYTY 1/1	0,02 ± 0,01 (0,00 - 0,05)	0,02 ± 0,02 (0,00 - 0,06)	0,00 ± 0,01 (0,00 - 0,02)	0,02 ± 0,01 (0,00 - 0,05)
KOMÓRKI INNE 1/1	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	0,01 ± 0,01 (0,00 - 0,04)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,01)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,01)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 82.** Skład odsetkowy krwinek białych zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
NEUTROCYTY 1/1	0,16 ± 0,05 (0,07 - 0,25)	0,15 ± 0,06 (0,07 - 0,26)	0,19 ± 0,08 (0,30 - 0,60)	0,16 ± 0,04 (0,08 - 0,24)
EZYNOCYTY 1/1	0,06 ± 0,04 (0,01 - 0,12)	<b>0,10 ± 0,05*</b> (0,04 - 0,18)	<b>0,10 ± 0,03*</b> (0,06 - 0,14)	0,07 ± 0,02 (0,03 - 0,10)
LIMFOCYTY 1/1	0,78 ± 0,06 (0,72 - 0,88)	0,75 ± 0,05 (0,67 - 0,84)	<b>0,70 ± 0,06*</b> (0,62 - 0,79)	0,76 ± 0,05 (0,66 - 0,85)
MONOCYTY 1/1	0,00 ± 0,01 (0,00 - 0,02)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,01)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,01)	0,01 ± 0,01 (0,00 - 0,02)
KOMÓRKI INNE 1/1	0,01 ± 0,01 (0,00 - 0,02)	0,01 ± 0,01 (0,00 - 0,01)	0,01 ± 0,01 (0,00 - 0,04)	0,01 ± 0,01 (0,00 - 0,02)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 83.** Skład odsetkowy krwinek białych zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
NEUTROCYTY 1/1	0,16 ± 0,08 (0,08 - 0,33)	0,19 ± 0,05 (0,13 - 0,30)	0,20 ± 0,03 (0,14 - 0,25)	0,16 ± 0,04 (0,08 - 0,22)
EZYNOCYTY 1/1	0,05 ± 0,03 (0,01 - 0,09)	0,03 ± 0,03 (0,00 - 0,07)	0,05 ± 0,04 (0,01 - 0,11)	0,04 ± 0,03 (0,01 - 0,10)
LIMFOCYTY 1/1	0,78 ± 0,10 (0,60 - 0,89)	0,78 ± 0,05 (0,67 - 0,84)	0,74 ± 0,05 (0,66 - 0,80)	0,79 ± 0,07 (0,67 - 0,89)
MONOCYTY 1/1	0,01 ± 0,02 (0,00 - 0,05)	0,01 ± 0,00 (0,00 - 0,01)	0,01 ± 0,01 (0,00 - 0,05)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,01)
KOMÓRKI INNE 1/1	0,00 ± 0,01 (0,00 - 0,02)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,01)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 ± 0,01 (0,00 - 0,02)

n – liczba zwierząt

**Tabela 84.** Skład odsetkowy krwinek białych zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
NEUTROCYTY 1/1	0,15 ± 0,04 (0,07 - 0,20)	0,21 ± 0,10 (0,10 - 0,41)	0,21 ± 0,08 (0,14 - 0,25)	<b>0,26 ± 0,13*</b> (0,11 - 0,54)
EZYNOCYTY 1/1	0,08 ± 0,04 (0,01 - 0,15)	0,12 ± 0,09 (0,03 - 0,28)	0,07 ± 0,07 (0,01 - 0,11)	0,04 ± 0,03 (0,00 - 0,10)
LIMFOCYTY 1/1	0,76 ± 0,06 (0,68 - 0,88)	0,67 ± 0,16 (0,31 - 0,86)	0,72 ± 0,09 (0,66 - 0,80)	0,69 ± 0,13 (0,43 - 0,82)
MONOCYTY 1/1	0,01 ± 0,01 (0,00 - 0,02)	0,00 ± 0,01 (0,00 - 0,02)	0,00 ± 0,01 (0,00 - 0,05)	0,00 ± 0,01 (0,00 - 0,02)
KOMÓRKI INNE 1/1	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,01)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,01)	0,00 ± 0,00 (0,00 - 0,00)	0,00 ± 0,01 (0,00 - 0,02)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej



### **5.3.2. Badania szpiku kostnego**

Wyniki badań szpiku kostnego z zakresu układu czerwonokrwinkowego zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 85 (samce) i w tabeli 86 (samice), natomiast zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 87 (samce) i w tabeli 88 (samice).

#### **2,4-D**

U samców narażanych na 2,4-D, w układzie czerwonokrwinkowym nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w średniej liczbie poszczególnych rodzajów komórek w porównaniu do grupy kontrolnej. U samic narażanych na 2,4-D stwierdzono jedynie statystycznie istotny wzrost liczby proerytroblastów w grupie 2 (600 ppm) (tabela 86).

#### **MCPA**

U samców narażanych na MCPA stwierdzono statystycznie mniejszą liczbę erytroblastów ortochromatycznych w grupie 1 (200 ppm). U samic narażanych na MCPA nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych w średniej liczbie poszczególnych rodzajów komórek w porównaniu do grupy kontrolnej.

Wyniki badań szpiku kostnego z zakresu układu białokrwinkowego zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 89 (samce) i w tabeli 90 (samice), natomiast zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 91 (samce) i w tabeli 92 (samice).

#### **2,4-D**

U samców narażanych na 2,4-D oraz MCPA, nie stwierdzono w układzie białokrwinkowym różnic statystycznie istotnych w średniej liczbie poszczególnych rodzajów komórek w porównaniu do grupy kontrolnej. U samic narażanych na 2,4-D stwierdzono statystycznie istotny wzrost liczby granulocytów pałeczkowatych obojętnochłonnych w grupie 2 (600 ppm) (tabela 90).

#### **MCPA**

U samców narażanych na MCPA, nie stwierdzono w układzie białokrwinkowym różnic statystycznie istotnych w średniej liczbie poszczególnych rodzajów komórek w porównaniu do grupy kontrolnej. Natomiast u samic narażanych na MCPA stwierdzono statystycznie istotny wzrost liczby mielocytów i granulocytów pałeczkowatych kwasochłonnych w grupie 1 (200 ppm) (tabela 92).

Wyniki badań szpiku kostnego z zakresu komórek różnych zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 93 (samce) i w tabeli 94 (samice), natomiast zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 95 (samce) i w tabeli 96 (samice).

### **2,4-D**

U samców narażanych na 2,4-D oraz u samców i samic narażanych na MCPA nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych w średniej liczbie poszczególnych rodzajów komórek różnych w porównaniu do grupy kontrolnej. Jedynie u samic narażanych na 2,4-D stwierdzono statystycznie istotny wzrost liczby komórek innych w grupie 3 (2400 ppm) oraz statystycznie istotnie większą sumę komórek różnych w porównaniu do grupy kontrolnej (tabela 94).

### **MCPA**

U samców i samic narażanych na MCPA nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych w średniej liczbie poszczególnych rodzajów komórek różnych w porównaniu do grupy kontrolnej.

**Tabela 85.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Układ czerwonokrwinkowy – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
PROERYTROBLASTY 1/1	0,007 ± 0,004 (0,004 - 0,016)	0,009 ± 0,004 (0,004 - 0,016)	0,006 ± 0,003 (0,004 - 0,012)	0,010 ± 0,006 (0,004 - 0,024)
ERYTROBLASTY ZASADOCHŁONNE 1/1	0,035 ± 0,014 (0,016 - 0,060)	0,034 ± 0,015 (0,008 - 0,052)	0,030 ± 0,010 (0,012 - 0,044)	0,036 ± 0,012 (0,016 - 0,052)
ERYTROBLASTY POLICHROMATYCZNE 1/1	0,94 ± 0,023 (0,064 - 0,140)	0,118 ± 0,025 (0,072 - 0,164)	0,112 ± 0,032 (0,080 - 0,172)	0,094 ± 0,023 (0,056 - 0,132)
ERYTROBLASTY ORTOCHROMATYCZNE 1/1	0,095 ± 0,024 (0,068 - 0,140)	0,097 ± 0,013 (0,076 - 0,124)	0,090 ± 0,031 (0,048 - 0,144)	0,107 ± 0,019 (0,080 - 0,132)
SUMA 1/1	0,231 ± 0,047 (0,176 - 0,348)	0,258 ± 0,031 (0,204 - 0,292)	0,239 ± 0,042 (0,200 - 0,344)	0,247 ± 0,038 (0,188 - 0,316)

n – liczba zwierząt

**Tabela 86.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Układ czerwonokrwinkowy – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
PROERYTROBLASTY 1/1	0,008 ± 0,005 (0,004 - 0,016)	0,010 ± 0,006 (0,004 - 0,020)	<b>0,016 ± 0,009*</b> (0,004 - 0,028)	0,009 ± 0,005 (0,004 - 0,016)
ERYTROBLASTY ZASADOCHŁONNE 1/1	0,031 ± 0,014 (0,012 - 0,056)	0,041 ± 0,013 (0,020 - 0,064)	0,044 ± 0,013 (0,016 - 0,064)	0,031 ± 0,011 (0,020 - 0,052)
ERYTROBLASTY POLICHROMATYCZNE 1/1	0,94 ± 0,023 (0,084 - 0,152)	0,102 ± 0,021 (0,068 - 0,128)	0,115 ± 0,021 (0,088 - 0,148)	0,107 ± 0,017 (0,084 - 0,132)
ERYTROBLASTY ORTOCHROMATYCZNE 1/1	0,115 ± 0,028 (0,072 - 0,156)	0,111 ± 0,031 (0,056 - 0,148)	0,118 ± 0,016 (0,088 - 0,148)	0,106 ± 0,018 (0,072 - 0,132)
SUMA 1/1	0,278 ± 0,042 (0,220 - 0,328)	0,263 ± 0,043 (0,216 - 0,332)	0,293 ± 0,029 (0,244 - 0,328)	0,253 ± 0,030 (0,212 - 0,296)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 87.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Układ czerwonokrwinkowy – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
PROERYTROBLASTY 1/1	0,010 ± 0,006 (0,004 - 0,020)	0,012 ± 0,009 (0,004 - 0,028)	0,011 ± 0,009 (0,004 - 0,036)	0,007 ± 0,007 (0,004 - 0,020)
ERYTROBLASTY ZASADOCHŁONNE 1/1	0,026 ± 0,013 (0,016 - 0,048)	0,040 ± 0,015 (0,016 - 0,068)	0,028 ± 0,016 (0,008 - 0,064)	0,032 ± 0,007 (0,016 - 0,044)
ERYTROBLASTY POLICHROMATYCZNE 1/1	0,097 ± 0,031 (0,040 - 0,144)	0,110 ± 0,016 (0,088 - 0,132)	0,098 ± 0,021 (0,072 - 0,132)	0,108 ± 0,025 (0,076 - 0,152)
ERYTROBLASTY ORTOCHROMATYCZNE 1/1	0,136 ± 0,017 (0,100 - 0,156)	<b>0,102 ± 0,029*</b> (0,056 - 0,160)	0,112 ± 0,013 (0,096 - 0,132)	0,122 ± 0,024 (0,092 - 0,160)
SUMA 1/1	0,270 ± 0,048 (0,160 - 0,316)	0,264 ± 0,031 (0,216 - 0,320)	0,250 ± 0,035 (0,212 - 0,312)	0,269 ± 0,043 (0,216 - 0,324)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 88.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Układ czerwonokrwinkowy – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
PROERYTROBLASTY 1/1	0,009 ± 0,006 (0,004 - 0,020)	0,011 ± 0,006 (0,004 - 0,020)	0,012 ± 0,007 (0,004 - 0,020)	0,008 ± 0,004 (0,004 - 0,016)
ERYTROBLASTY ZASADOCHŁONNE 1/1	0,036 ± 0,014 (0,020 - 0,048)	0,041 ± 0,023 (0,004 - 0,072)	0,042 ± 0,016 (0,012 - 0,068)	0,044 ± 0,014 (0,028 - 0,068)
ERYTROBLASTY POLICHROMATYCZNE 1/1	0,100 ± 0,018 (0,084 - 0,128)	0,082 ± 0,015 (0,064 - 0,108)	0,095 ± 0,009 (0,084 - 0,112)	0,084 ± 0,029 (0,056 - 0,140)
ERYTROBLASTY ORTOCHROMATYCZNE 1/1	0,127 ± 0,025 (0,096 - 0,168)	0,121 ± 0,022 (0,092 - 0,152)	0,110 ± 0,021 (0,076 - 0,140)	0,112 ± 0,019 (0,084 - 0,136)
SUMA 1/1	0,272 ± 0,025 (0,240 - 0,312)	0,256 ± 0,039 (0,204 - 0,300)	0,259 ± 0,027 (0,228 - 0,304)	0,248 ± 0,032 (0,204 - 0,296)

n – liczba zwierząt

**Tabela 89.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Układ białokrwinkowy – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania		GRUPA (stężenie 2,4-D)			
		0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
MIELOBLASTY	1/1	0,016 ± 0,008 (0,004 - 0,032)	0,017 ± 0,006 (0,012 - 0,028)	0,022 ± 0,011 (0,008 - 0,040)	0,014 ± 0,006 (0,004 - 0,024)
PROMIELOCYTY	1/1	0,072 ± 0,018 (0,048 - 0,104)	0,066 ± 0,013 (0,048 - 0,096)	0,065 ± 0,017 (0,040 - 0,084)	0,063 ± 0,012 (0,048 - 0,084)
MIELOCYTY OBOJ.	1/1	0,090 ± 0,027 (0,052 - 0,148)	0,090 ± 0,025 (0,044 - 0,120)	0,094 ± 0,023 (0,064 - 0,132)	0,094 ± 0,019 (0,060 - 0,128)
MIELOCYTY KWAS.	1/1	0,028 ± 0,014 (0,016 - 0,044)	0,027 ± 0,019 (0,004 - 0,052)	0,024 ± 0,011 (0,008 - 0,044)	0,020 ± 0,006 (0,012 - 0,028)
METAMIELOCYTY OBOJ.	1/1	0,114 ± 0,023 (0,096 - 0,144)	0,094 ± 0,026 (0,060 - 0,128)	0,094 ± 0,020 (0,064 - 0,128)	0,108 ± 0,022 (0,064 - 0,144)
METAMIELOCYTY KWAS.	1/1	0,026 ± 0,014 (0,008 - 0,056)	0,036 ± 0,012 (0,016 - 0,052)	0,036 ± 0,008 (0,024 - 0,052)	0,037 ± 0,022 (0,008 - 0,084)
GRANULOCYTY PAŁECZKOWATE OBOJ.	1/1	0,077 ± 0,021 (0,028 - 0,104)	0,061 ± 0,034 (0,020 - 0,136)	0,076 ± 0,027 (0,040 - 0,112)	0,086 ± 0,023 (0,056 - 0,120)
GRANULOCYTY PAŁECZKOWATE KWAS.	1/1	0,018 ± 0,012 (0,004 - 0,044)	0,016 ± 0,005 (0,012 - 0,028)	0,020 ± 0,013 (0,004 - 0,048)	0,020 ± 0,011 (0,004 - 0,044)
GRANULOCYTY PODZIELONE OBOJ.	1/1	0,062 ± 0,021 (0,032 - 0,084)	0,053 ± 0,015 (0,024 - 0,072)	0,044 ± 0,013 (0,024 - 0,064)	0,047 ± 0,012 (0,024 - 0,064)
GRANULOCYTY PODZIELONE KWAS.	1/1	0,014 ± 0,013 (0,004 - 0,040)	0,017 ± 0,008 (0,008 - 0,032)	0,021 ± 0,013 (0,008 - 0,056)	0,015 ± 0,013 (0,004 - 0,036)
GRANULOCYTY ZASAD.	1/1	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)
SUMA	1/1	0,521 ± 0,038 (0,424 - 0,552)	0,482 ± 0,053 (0,424 - 0,572)	0,500 ± 0,043 (0,416 - 0,560)	0,508 ± 0,045 (0,432 - 0,580)
Stosunek ilościowy układu białokrwinkowego do czerwokrwinkowego		2,350 ± 0,503	1,915 ± 0,464	2,157 ± 0,410	2,117 ± 0,482

n – liczba zwierząt

**Tabela 90.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Układ białokrwinkowy – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
MIELOBLASTY 1/1	0,024 ± 0,010 (0,012 - 0,040)	0,022 ± 0,011 (0,004 - 0,040)	0,026 ± 0,012 (0,012 - 0,048)	0,024 ± 0,011 (0,008 - 0,044)
PROMIELOCYTY 1/1	0,064 ± 0,015 (0,048 - 0,092)	0,063 ± 0,009 (0,048 - 0,076)	0,058 ± 0,018 (0,032 - 0,084)	0,066 ± 0,021 (0,044 - 0,100)
MIELOCYTY OBOJ. 1/1	0,100 ± 0,029 (0,056 - 0,144)	0,091 ± 0,023 (0,060 - 0,136)	0,078 ± 0,031 (0,024 - 0,132)	0,104 ± 0,024 (0,068 - 0,148)
MIELOCYTY KWAS. 1/1	0,038 ± 0,014 (0,020 - 0,064)	0,033 ± 0,015 (0,012 - 0,060)	0,024 ± 0,010 (0,012 - 0,048)	0,030 ± 0,011 (0,016 - 0,052)
METAMIELOCYTY OBOJ. 1/1	0,093 ± 0,021 (0,060 - 0,128)	0,090 ± 0,023 (0,064 - 0,128)	0,086 ± 0,025 (0,040 - 0,132)	0,070 ± 0,019 (0,036 - 0,100)
METAMIELOCYTY KWAS. 1/1	0,028 ± 0,010 (0,16 - 0,044)	0,034 ± 0,014 (0,004 - 0,048)	0,036 ± 0,013 (0,012 - 0,056)	0,030 ± 0,011 (0,016 - 0,048)
GRANULOCYTY PAŁECZKOWATE OBOJ. 1/1	0,056 ± 0,016 (0,036 - 0,084)	0,053 ± 0,017 (0,032 - 0,076)	<b>0,079 ± 0,023*</b> (0,048 - 0,120)	0,066 ± 0,015 (0,040 - 0,096)
GRANULOCYTY PAŁECZKOWATE KWAS. 1/1	0,011 ± 0,005 (0,004 - 0,020)	0,018 ± 0,007 (0,008 - 0,036)	0,012 ± 0,008 (0,004 - 0,032)	0,020 ± 0,015 (0,004 - 0,044)
GRANULOCYTY PODZIELONE OBOJ. 1/1	0,051 ± 0,008 (0,040 - 0,064)	0,055 ± 0,019 (0,024 - 0,072)	0,042 ± 0,024 (0,016 - 0,096)	0,042 ± 0,019 (0,012 - 0,076)
GRANULOCYTY PODZIELONE KWAS. 1/1	0,009 ± 0,004 (0,004 - 0,016)	0,014 ± 0,008 (0,008 - 0,028)	0,014 ± 0,007 (0,004 - 0,024)	0,013 ± 0,005 (0,004 - 0,020)
GRANULOCYTY ZASAD. 1/1	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)
SUMA 1/1	0,478 ± 0,037 (0,416 - 0,544)	0,477 ± 0,045 (0,416 - 0,548)	0,461 ± 0,032 (0,428 - 0,532)	0,473 ± 0,036 (0,400 - 0,520)
Stosunek ilościowy układu białokrwinkowego do czerwokrwinkowego	1,774 ± 0,398	1,879 ± 0,452	1,596 ± 0,275	1,903 ± 0,325

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 91.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Układ białokrwinkowy – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
MIELOBLASTY 1/1	0,012 ± 0,007 (0,004 - 0,024)	0,011 ± 0,007 (0,004 - 0,024)	0,011 ± 0,005 (0,004 - 0,016)	0,011 ± 0,007 (0,004 - 0,028)
PROMIELOCYTY 1/1	0,061 ± 0,012 (0,040 - 0,076)	0,064 ± 0,019 (0,040 - 0,104)	0,074 ± 0,019 (0,036 - 0,100)	0,078 ± 0,019 (0,060 - 0,104)
MIELOCYTY OBOJ. 1/1	0,083 ± 0,022 (0,048 - 0,120)	0,075 ± 0,017 (0,060 - 0,104)	0,069 ± 0,016 (0,040 - 0,088)	0,100 ± 0,018 (0,076 - 0,140)
MIELOCYTY KWAS. 1/1	0,020 ± 0,014 (0,004 - 0,052)	0,014 ± 0,008 (0,004 - 0,028)	0,015 ± 0,009 (0,004 - 0,028)	0,018 ± 0,013 (0,004 - 0,044)
METAMIELOCYTY OBOJ. 1/1	0,088 ± 0,019 (0,060 - 0,116)	0,082 ± 0,013 (0,068 - 0,104)	0,098 ± 0,017 (0,068 - 0,120)	0,075 ± 0,021 (0,052 - 0,104)
METAMIELOCYTY KWAS. 1/1	0,030 ± 0,015 (0,008 - 0,048)	0,032 ± 0,008 (0,020 - 0,044)	0,022 ± 0,009 (0,004 - 0,036)	0,026 ± 0,011 (0,012 - 0,052)
GRANULOCYTY PAŁECZKOWATE OBOJ. 1/1	0,069 ± 0,015 (0,048 - 0,092)	0,082 ± 0,017 (0,056 - 0,112)	0,093 ± 0,034 (0,036 - 0,160)	0,067 ± 0,016 (0,040 - 0,088)
GRANULOCYTY PAŁECZKOWATE KWAS. 1/1	0,022 ± 0,013 (0,004 - 0,040)	0,015 ± 0,007 (0,004 - 0,024)	0,019 ± 0,012 (0,004 - 0,040)	0,025 ± 0,008 (0,004 - 0,032)
GRANULOCYTY PODZIELONE OBOJ. 1/1	0,081 ± 0,033 (0,052 - 0,160)	0,072 ± 0,026 (0,040 - 0,128)	0,077 ± 0,027 (0,036 - 0,120)	0,060 ± 0,022 (0,032 - 0,092)
GRANULOCYTY PODZIELONE KWAS. 1/1	0,014 ± 0,008 (0,004 - 0,024)	0,015 ± 0,010 (0,004 - 0,028)	0,012 ± 0,005 (0,004 - 0,020)	0,012 ± 0,005 (0,004 - 0,016)
GRANULOCYTY ZASAD. 1/1	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)
SUMA 1/1	0,483 ± 0,062 (0,388 - 0,624)	0,466 ± 0,025 (0,432 - 0,508)	0,493 ± 0,056 (0,416 - 0,608)	0,477 ± 0,050 (0,408 - 0,548)
Stosunek ilościowy układu białokrwinkowego do czerwonych	1,904 ± 0,754	1,792 ± 0,279	2,028 ± 0,462	1,838 ± 0,471

n – liczba zwierząt

**Tabela 92.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Układ białokrwinkowy – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
MIELOBLASTY 1/1	0,009 ± 0,006 (0,004 - 0,020)	0,012 ± 0,007 (0,004 - 0,024)	0,014 ± 0,007 (0,004 - 0,024)	0,016 ± 0,006 (0,008 - 0,024)
PROMIELOCYTY 1/1	0,079 ± 0,008 (0,068 - 0,092)	0,080 ± 0,019 (0,052 - 0,100)	0,084 ± 0,018 (0,048 - 0,112)	0,083 ± 0,020 (0,044 - 0,112)
MIELOCYTY OBOJ. 1/1	0,074 ± 0,021 (0,048 - 0,120)	<b>0,097 ± 0,024*</b> (0,056 - 0,128)	0,089 ± 0,012 (0,072 - 0,112)	0,094 ± 0,019 (0,056 - 0,120)
MIELOCYTY KWAS. 1/1	0,023 ± 0,013 (0,004 - 0,044)	0,032 ± 0,020 (0,004 - 0,072)	0,015 ± 0,007 (0,004 - 0,028)	0,024 ± 0,012 (0,008 - 0,040)
METAMIELOCYTY OBOJ. 1/1	0,082 ± 0,020 (0,052 - 0,124)	0,080 ± 0,018 (0,056 - 0,104)	0,074 ± 0,022 (0,036 - 0,108)	0,086 ± 0,028 (0,028 - 0,128)
METAMIELOCYTY KWAS. 1/1	0,032 ± 0,012 (0,012 - 0,052)	0,030 ± 0,015 (0,012 - 0,048)	0,028 ± 0,012 (0,008 - 0,052)	0,029 ± 0,019 (0,004 - 0,060)
GRANULOCYTY PAŁECZKOWATE OBOJ. 1/1	0,078 ± 0,022 (0,060 - 0,120)	0,067 ± 0,019 (0,044 - 0,100)	0,085 ± 0,025 (0,060 - 0,144)	0,067 ± 0,025 (0,032 - 0,104)
GRANULOCYTY PAŁECZKOWATE KWAS. 1/1	0,009 ± 0,004 (0,004 - 0,016)	<b>0,019 ± 0,010*</b> (0,004 - 0,032)	0,013 ± 0,007 (0,008 - 0,028)	0,014 ± 0,007 (0,008 - 0,032)
GRANULOCYTY PODZIELONE OBOJ. 1/1	0,062 ± 0,011 (0,048 - 0,080)	0,058 ± 0,021 (0,032 - 0,096)	0,069 ± 0,019 (0,032 - 0,096)	0,074 ± 0,024 (0,036 - 0,116)
GRANULOCYTY PODZIELONE KWAS. 1/1	0,016 ± 0,009 (0,004 - 0,028)	0,014 ± 0,009 (0,004 - 0,028)	0,017 ± 0,008 (0,004 - 0,028)	0,015 ± 0,013 (0,004 - 0,040)
GRANULOCYTY ZASAD. 1/1	0,004 ± 0,001 (0,004 - 0,008)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)
SUMA 1/1	0,470 ± 0,030 (0,424 - 0,508)	0,496 ± 0,062 (0,412 - 0,584)	0,492 ± 0,038 (0,452 - 0,540)	0,504 ± 0,042 (0,420 - 0,560)
Stosunek ilościowy układu białokrwinkowego do czerwonych	1,750 ± 0,262	2,013 ± 0,564	1,930 ± 0,322	2,077 ± 0,411

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej



**Tabela 93.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Komórki różne – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
LIMFOCYTY 1/1	0,110 ± 0,020 (0,088 - 0,140)	0,124 ± 0,031 (0,092 - 0,180)	0,121 ± 0,023 (0,092 - 0,156)	0,102 ± 0,018 (0,084 - 0,136)
MONOCYTY 1/1	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,001 (0,004 - 0,008)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)
PLAZMOCYTY 1/1	0,012 ± 0,005 (0,004 - 0,020)	0,013 ± 0,007 (0,004 - 0,024)	0,018 ± 0,013 (0,004 - 0,040)	0,013 ± 0,007 (0,004 - 0,020)
MEGAKARIOCYTY 1/1	0,014 ± 0,008 (0,004 - 0,024)	0,012 ± 0,006 (0,008 - 0,028)	0,011 ± 0,004 (0,004 - 0,020)	0,012 ± 0,005 (0,004 - 0,020)
KOMÓRKI INNE 1/1	0,109 ± 0,013 (0,092 - 0,128)	0,106 ± 0,015 (0,084 - 0,136)	0,107 ± 0,017 (0,084 - 0,132)	0,114 ± 0,016 (0,092 - 0,136)
SUMA 1/1	0,248 ± 0,020 (0,228 - 0,284)	0,259 ± 0,030 (0,216 - 0,304)	0,261 ± 0,038 (0,208 - 0,308)	0,245 ± 0,028 (0,204 - 0,288)

n – liczba zwierząt

**Tabela 94.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Komórki różne – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
LIMFOCYTY 1/1	0,112 ± 0,020 (0,084 - 0,132)	0,118 ± 0,015 (0,092 - 0,140)	0,104 ± 0,017 (0,084 - 0,144)	0,116 ± 0,019 (0,088 - 0,136)
MONOCYTY 1/1	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)
PLAZMOCYTY 1/1	0,016 ± 0,007 (0,008 - 0,028)	0,015 ± 0,009 (0,004 - 0,032)	0,014 ± 0,008 (0,004 - 0,028)	0,019 ± 0,011 (0,008 - 0,044)
MEGAKARIOCYTY 1/1	0,011 ± 0,005 (0,004 - 0,020)	0,012 ± 0,007 (0,004 - 0,024)	0,015 ± 0,005 (0,008 - 0,024)	0,010 ± 0,003 (0,004 - 0,012)
KOMÓRKI INNE 1/1	0,100 ± 0,013 (0,084 - 0,132)	0,111 ± 0,013 (0,096 - 0,136)	0,109 ± 0,017 (0,088 - 0,132)	<b>0,126 ± 0,022*</b> (0,080 - 0,144)
SUMA 1/1	0,244 ± 0,022 (0,220 - 0,276)	0,260 ± 0,020 (0,224 - 0,296)	0,246 ± 0,021 (0,216 - 0,276)	<b>0,274 ± 0,030*</b> (0,232 - 0,320)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 95.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Komórki różne – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
LIMFOCYTY 1/1	0,115 ± 0,020 (0,088 - 0,152)	0,132 ± 0,018 (0,100 - 0,164)	0,122 ± 0,027 (0,072 - 0,152)	0,120 ± 0,016 (0,104 - 0,144)
MONOCYTY 1/1	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)
PLAZMOCYTY 1/1	0,016 ± 0,008 (0,008 - 0,032)	0,018 ± 0,008 (0,008 - 0,032)	0,018 ± 0,007 (0,004 - 0,028)	0,020 ± 0,009 (0,008 - 0,036)
MEGAKARIOCYTY 1/1	0,010 ± 0,005 (0,004 - 0,020)	0,012 ± 0,005 (0,004 - 0,020)	0,010 ± 0,004 (0,004 - 0,016)	0,010 ± 0,005 (0,004 - 0,016)
KOMÓRKI INNE 1/1	0,102 ± 0,017 (0,084 - 0,128)	0,104 ± 0,017 (0,084 - 0,136)	0,103 ± 0,020 (0,072 - 0,132)	0,101 ± 0,010 (0,084 - 0,116)
SUMA 1/1	0,247 ± 0,029 (0,216 - 0,280)	0,270 ± 0,024 (0,236 - 0,308)	0,258 ± 0,042 (0,180 - 0,316)	0,254 ± 0,023 (0,220 - 0,288)

n – liczba zwierząt

**Tabela 96.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Komórki różne – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
LIMFOCYTY 1/1	0,122 ± 0,021 (0,092 - 0,148)	0,120 ± 0,017 (0,096 - 0,148)	0,121 ± 0,019 (0,096 - 0,144)	0,105 ± 0,017 (0,084 - 0,132)
MONOCYTY 1/1	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,004 ± 0,000 (0,004 - 0,004)	0,005 ± 0,003 (0,004 - 0,012)
PLAZMOCYTY 1/1	0,017 ± 0,010 (0,004 - 0,036)	0,014 ± 0,007 (0,004 - 0,024)	0,016 ± 0,010 (0,004 - 0,036)	0,019 ± 0,011 (0,004 - 0,036)
MEGAKARIOCYTY 1/1	0,013 ± 0,006 (0,004 - 0,024)	0,009 ± 0,002 (0,008 - 0,012)	0,014 ± 0,007 (0,004 - 0,028)	0,009 ± 0,004 (0,004 - 0,016)
KOMÓRKI INNE 1/1	0,103 ± 0,013 (0,084 - 0,128)	0,102 ± 0,016 (0,080 - 0,128)	0,094 ± 0,008 (0,084 - 0,108)	0,110 ± 0,018 (0,096 - 0,124)
SUMA 1/1	0,259 ± 0,014 (0,228 - 0,276)	0,248 ± 0,027 (0,204 - 0,292)	0,249 ± 0,025 (0,208 - 0,292)	0,247 ± 0,027 (0,212 - 1,084)

n – liczba zwierząt

### **5.3.3. Badania biochemiczne**

Wyniki badań biochemicznych wykonanych w krwi (osoczu) zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 97 (samce) i w tabeli 98 (samice), natomiast zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 99 (samce) i w tabeli 100 (samice).

#### **2,4-D**

U samców narażanych na 2,4-D stwierdzono statystycznie istotny wzrost białka całkowitego oraz globulin w grupie 3 (2400 ppm) (tabela 97). U samic stwierdzono statystycznie istotny wzrost globulin i poziomu sodu w grupach 2 (600 ppm) i 3 (2400 ppm), statystycznie istotny spadek stosunku albumin do globulin w grupie 2 (600 ppm) i 3 (2400 ppm), a także statystycznie istotny wzrost poziomu cholesterolu całkowitego w grupie 2 (600 ppm). Ponadto, stwierdzono statystycznie istotny spadek stężenia kreatyniny w grupie 2 (600 ppm) (tabela 98).

#### **MCPA**

U samców narażanych na MCPA stwierdzono statystycznie istotny wzrost poziomu cholesterolu całkowitego i azotu mocznika w grupie 3 (2450 ppm). Natomiast u samic stwierdzono statystycznie istotny wzrost globulin i azotu mocznika oraz statystycznie istotny spadek stosunku albumin do globulin w grupie 3 (2450 ppm) (tabela 100).

Wyniki badań enzymatycznych wykonanych u zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 101 (samce) i w tabeli 102 (samice), natomiast u zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 103 (samce) i w tabeli 104 (samice).

#### **2,4-D**

U zwierząt narażanych na 2,4-D w żadnej grupie doświadczalnej, nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian w aktywnościach aminotransferazy asparaginianowej, aminotransferazy alaninowej i fosfatazy zasadowej.

#### **MCPA**

U zwierząt narażanych na MCPA, w żadnej grupie doświadczalnej, nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian w aktywnościach aminotransferazy asparaginianowej, aminotransferazy alaninowej i fosfatazy zasadowej.

**Tabela 97.** Wyniki badań biochemicznych osocza zwierząt narażanych na 2,4-D – samce; $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
BIALKO CAŁKOWITE g/l	66,19 ± 2,83 (62,36 - 70,55)	66,37 ± 2,93 (61,56 - 70,63)	67,79 ± 3,01 (63,51 - 72,99)	<b>71,29 ± 2,69*</b> (66,30 - 75,27)
ALBUMINY g/l	37,35 ± 2,46 (32,56 - 40,18)	39,30 ± 2,18 (36,04 - 42,22)	37,90 ± 2,96 (33,57 - 42,19)	38,83 ± 2,72 (33,43 - 42,11)
GLOBULINY g/l	28,85 ± 2,01 (25,96 - 32,53)	27,07 ± 1,62 (25,18 - 29,29)	29,89 ± 1,28 (28,21 - 31,38)	<b>32,46 ± 2,60*</b> (26,73 - 35,13)
STOSUNEK A/G	1,30 ± 0,14 (1,09 - 1,55)	1,46 ± 0,11 (1,33 - 1,63)	1,27 ± 0,12 (1,07 - 1,45)	1,21 ± 0,16 (0,95 - 1,48)
GLUKOZA mmol/l	9,51 ± 2,46 (5,86 - 13,69)	10,58 ± 3,06 (4,01 - 15,07)	9,50 ± 1,67 (6,85 - 12,55)	10,72 ± 3,15 (6,98 - 15,27)
CHOLESTEROL CAŁKOWITY mmol/l	1,16 ± 0,22 (0,79 - 1,55)	1,15 ± 0,13 (0,98 - 1,33)	1,28 ± 0,19 (0,97 - 1,51)	1,32 ± 0,15 (0,95 - 1,48)
AZOT MOCZNIKA mmol/l	6,79 ± 1,00 (5,14 - 7,93)	7,82 ± 1,40 (6,11 - 10,64)	6,93 ± 1,63 (5,27 - 10,18)	6,57 ± 1,53 (4,65 - 9,01)
KREATYNINA μmol/l	42,22 ± 7,71 (27,99 - 52,01)	44,69 ± 10,23 (32,50 - 59,94)	41,73 ± 10,95 (27,99 - 58,18)	45,49 ± 9,89 (27,99 - 59,06)
SÓD mmol/l	137,10 ± 2,04 (133,8 - 140,4)	138,08 ± 1,48 (136,2 - 140,6)	138,06 ± 0,87 (136,4 - 139,9)	138,02 ± 1,31 (136,5 - 140,8)
POTAS mmol/l	4,54 ± 0,91 (3,27 - 6,45)	4,71 ± 0,69 (3,32 - 5,32)	4,93 ± 0,77 (4,01 - 6,47)	5,24 ± 1,55 (3,61 - 7,70)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 98.** Wyniki badań biochemicznych osocza zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  
 $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
BIĄŁKO CAŁKOWITE g/l	71,53 ± 2,09 (68,57 - 74,34)	72,09 ± 3,98 (66,33 - 75,57)	74,41 ± 2,42 (71,42 - 78,19)	73,18 ± 3,83 (65,30 - 77,93)
ALBUMINY g/l	43,77 ± 1,64 (40,97 - 45,97)	41,64 ± 3,96 (37,58 - 48,88)	40,78 ± 3,24 (34,95 - 45,69)	40,69 ± 2,30 (37,48 - 44,72)
GLOBULINY g/l	27,76 ± 2,01 (23,51 - 30,05)	30,45 ± 3,33 (26,39 - 37,17)	<b>33,64 ± 2,73*</b> (29,21 - 39,02)	<b>32,50 ± 3,65*</b> (26,44 - 37,14)
STOSUNEK A/G	1,58 ± 0,16 (1,41 - 1,92)	1,39 ± 0,24 (1,02 - 1,85)	<b>1,22 ± 0,17*</b> (0,96 - 1,45)	<b>1,27 ± 0,18*</b> (1,03 - 1,57)
GLUKOZA mmol/l	7,32 ± 1,75 (5,00 - 9,73)	7,79 ± 1,84 (5,01 - 10,67)	6,87 ± 1,43 (5,04 - 8,67)	6,57 ± 0,82 (5,29 - 8,40)
CHOLESTEROL CAŁKOWITY mmol/l	1,14 ± 0,26 (0,84 - 1,54)	1,40 ± 0,30 (0,95 - 1,79)	<b>1,48 ± 0,28*</b> (1,08 - 1,92)	1,35 ± 0,21 (1,09 - 1,67)
AZOT MOCZNIKA mmol/l	6,01 ± 0,51 (5,39 - 6,86)	6,13 ± 1,05 (4,02 - 7,37)	5,49 ± 0,66 (4,53 - 6,96)	5,83 ± 1,06 (4,04 - 7,57)
KREATYNINA μmol/l	51,44 ± 8,89 (35,21 - 66,14)	45,56 ± 5,09 (37,22 - 51,53)	<b>43,36 ± 4,15*</b> (36,29 - 51,18)	56,04 ± 6,59 (44,66 - 67,00)
SÓD mmol/l	136,38 ± 1,00 (135,30 - 138,40)	138,17 ± 2,21 (134,3 - 141,9)	<b>138,91 ± 1,77*</b> (135,8 - 141,3)	<b>139,67 ± 1,71*</b> (137,7 - 142,5)
POTAS mmol/l	4,31 ± 0,92 (3,22 - 6,32)	3,77 ± 0,28 (3,22 - 4,11)	4,47 ± 0,89 (3,44 - 6,22)	4,02 ± 0,46 (3,08 - 4,96)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 99.** Wyniki badań biochemicznych osocza zwierząt narażanych na MCPA – samce;  
 $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
BIĄŁKO CAŁKOWITE g/l	73,10 ± 4,17 (65,54 - 79,70)	71,02 ± 3,01 (65,56 - 76,54)	70,76 ± 2,49 (67,55 - 74,54)	73,92 ± 2,75 (69,63 - 78,7)
ALBUMINY g/l	40,03 ± 1,74 (37,52 - 43,02)	39,50 ± 1,84 (37,08 - 43,16)	38,13 ± 2,07 (34,39 - 41,56)	40,58 ± 2,17 (36,44 - 43,63)
GLOBULINY g/l	33,07 ± 4,50 (26,99 - 40,01)	31,53 ± 1,95 (27,48 - 30,06)	32,64 ± 3,19 (28,20 - 38,57)	33,34 ± 3,20 (29,33 - 40,18)
STOSUNEK A/G	1,23 ± 0,19 (0,96 - 1,56)	1,26 ± 0,09 (1,1 - 1,39)	1,18 ± 0,16 (0,89 - 1,42)	1,23 ± 0,15 (0,91 - 1,49)
GLUKOZA mmol/l	7,92 ± 1,39 (5,95 - 10,61)	8,10 ± 1,88 (6,33 - 10,61)	7,62 ± 0,97 (6,36 - 9,14)	7,09 ± 0,90 (6,03 - 7,98)
CHOLESTEROL CAŁKOWITY mmol/l	1,25 ± 0,29 (0,84 - 1,75)	1,13 ± 0,16 (0,99 - 1,53)	1,06 ± 0,24 (0,74 - 1,46)	<b>1,55 ± 0,24*</b> (1,23 - 1,88)
AZOT MOCZNIKA mmol/l	7,69 ± 1,48 (5,67 - 10,15)	8,17 ± 1,56 (6,03 - 10,63)	7,55 ± 1,25 (5,47 - 9,8)	<b>10,23 ± 2,10*</b> (7,85 - 13,35)
KREATYNINA μmol/l	43,53 ± 7,48 (34,36 - 57,27)	45,32 ± 9,04 (36,12 - 62,56)	44,72 ± 9,26 (34,01 - 66,96)	50,31 ± 7,20 (37,88 - 59,03)
SÓD mmol/l	137,76 ± 2,79 (134,9 - 144,3)	139,55 ± 5,05 (135,8 - 150,9)	136,79 ± 1,81 (135,0 - 140,7)	136,42 ± 2,55 (131,5 - 140,5)
POTAS mmol/l	4,24 ± 0,38 (3,77 - 4,79)	4,11 ± 0,72 (3,27 - 5,52)	4,50 ± 0,61 (3,40 - 5,21)	4,29 ± 0,54 (3,52 - 5,52)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 100.** Wyniki badań biochemicznych osocza zwierząt narażanych na MCPA – samice;  
 $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
BIĄŁKO CAŁKOWITE g/l	73,51 ± 4,38 (67,10 - 81,14)	73,13 ± 2,52 (68,64 - 75,69)	72,71 ± 2,59 (68,32 - 76,43)	76,15 ± 5,07 (67,43 - 82,38)
ALBUMINY g/l	42,44 ± 1,78 (39,54 - 44,89)	41,25 ± 3,62 (36,17 - 46,39)	41,13 ± 2,70 (35,78 - 45,91)	39,92 ± 1,79 (38,09 - 42,88)
GLOBULINY g/l	31,08 ± 3,62 (26,76 - 35,76)	31,88 ± 2,91 (27,12 - 37,23)	31,58 ± 1,91 (28,81 - 35,54)	<b>36,23 ± 5,00*</b> (29,89 - 41,23)
STOSUNEK A/G	1,38 ± 0,16 (1,18 - 1,57)	1,31 ± 0,23 (1,03 - 1,71)	1,31 ± 0,13 (1,01 - 1,47)	<b>1,13 ± 0,20*</b> (0,92 - 1,6)
GLUKOZA mmol/l	6,12 ± 1,33 (3,72 - 7,68)	6,25 ± 1,33 (3,46 - 8,39)	5,71 ± 0,97 (4,68 - 7,85)	5,34 ± 0,77 (3,91 - 6,47)
CHOLESTEROL CAŁKOWITY mmol/l	1,44 ± 0,17 (1,18 - 1,69)	1,51 ± 0,28 (1,00 - 1,99)	1,41 ± 0,22 (1,02 - 1,75)	1,53 ± 0,23 (1,21 - 1,81)
AZOT MOCZNIKA mmol/l	9,22 ± 1,31 (7,56 - 11,4)	8,83 ± 1,78 (6,48 - 12,66)	8,66 ± 1,36 (6,17 - 11,04)	<b>11,90 ± 2,08*</b> (8,80 - 15,04)
KREATYNINA μmol/l	46,92 ± 11,15 (25,35 - 62,95)	42,92 ± 8,48 (30,60 - 56,83)	42,58 ± 7,55 (33,22 - 55,11)	47,76 ± 9,20 (28,85 - 59,41)
SÓD mmol/l	143,35 ± 2,07 (141,1 - 147,7)	142,59 ± 3,67 (136,3 - 147,7)	140,18 ± 4,90 (133,8 - 146,1)	144,80 ± 5,76 (136,8 - 152,9)
POTAS mmol/l	4,00 ± 0,41 (3,19 - 4,44)	4,23 ± 0,53 (3,30 - 5,02)	3,90 ± 0,45 (3,27 - 4,54)	4,44 ± 0,42 (4,01 - 5,19)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 101.** Wyniki badań enzymatycznych zwierząt narażanych na 2,4-D – samce; $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
AST IU/dm <sup>3</sup>	157,36 ± 85,62 (90,01 - 376,17)	209,55 ± 76,51 (98,22 - 307,56)	148,85 ± 56,64 (87,66 - 262,58)	158,15 ± 59,27 (90,01 - 250,39)
ALT IU/dm <sup>3</sup>	110,62 ± 46,15 (75,64 - 212,27)	165,33 ± 73,11 (61,27 - 263,88)	109,56 ± 50,69 (69,48 - 201,13)	145,31 ± 66,94 (72,71 - 240,71)
AP IU/dm <sup>3</sup>	87,77 ± 14,94 (68,65 - 113,16)	93,91 ± 11,38 (69,59 - 107,83)	85,83 ± 18,60 (62,06 - 125,07)	88,71 ± 17,49 (66,14 - 119,74)

n – liczba zwierząt

**Tabela 102.** Wyniki badań enzymatycznych zwierząt narażanych na 2,4-D – samice; $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
AST IU/dm <sup>3</sup>	213,30 ± 90,65 (78,28 - 385,55)	154,92 ± 87,79 (64,5 - 311,37)	162,93 ± 25,52 (119,62 - 200,25)	163,05 ± 64,35 (82,68 - 265,93)
ALT IU/dm <sup>3</sup>	143,58 ± 75,81 (48,08 - 250,39)	118,54 ± 94,41 (29,9 - 255,96)	116,84 ± 51,09 (52,48 - 208,75)	95,20 ± 51,44 (50,72 - 207,87)
AP IU/dm <sup>3</sup>	50,53 ± 4,22 (44,20 - 60,50)	48,43 ± 18,75 (27,58 - 79,30)	40,06 ± 4,18 (31,34 - 46,70)	50,25 ± 8,75 (43,57 - 63,00)

n – liczba zwierząt



**Tabela 103.** Wyniki badań enzymatycznych zwierząt narażanych na MCPA – samce; $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
AST IU/dm <sup>3</sup>	175,30 ± 122,39 (95,87 - 497,56)	146,45 ± 123,36 (83,56 - 495,51)	107,19 ± 23,24 (77,99 - 146,3)	136,19 ± 126,45 (86,20 - 495,21)
ALT IU/dm <sup>3</sup>	132,64 ± 106,41 (73,3 - 424,26)	101,59 ± 105,93 (47,2 - 399,63)	67,64 ± 24,12 (44,85 - 120,50)	104,87 ± 120,04 (49,55 - 445,07)
AP IU/dm <sup>3</sup>	89,34 ± 20,53 (60,5 - 127,89)	92,53 ± 15,79 (61,44 - 107,83)	102,57 ± 39,87 (73,35 - 210,34)	108,08 ± 25,40 (81,81 - 149,21)

n – liczba zwierząt

**Tabela 104.** Wyniki badań enzymatycznych zwierząt narażanych na MCPA – samice; $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Rodzaj badania	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2(700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
AST IU/dm <sup>3</sup>	121,62 ± 31,49 (91,77 - 181,78)	159,67 ± 106,20 (89,71 - 431,29)	106,95 ± 31,00 (58,34 - 153,63)	134,69 ± 51,16 (83,85 - 256,25)
ALT IU/dm <sup>3</sup>	75,61 ± 34,80 (37,23 - 127,24)	94,58 ± 90,10 (27,85 - 329,55)	65,53 ± 31,76 (16,12 - 116,69)	77,25 ± 38,00 (33,71 - 169,76)
AP IU/dm <sup>3</sup>	58,99 ± 11,55 (47,64 - 84,01)	52,03 ± 14,14 (42,00 - 89,96)	59,55 ± 17,10 (33,85 - 90,59)	84,48 ± 36,51 (51,72 - 162,06)

n – liczba zwierząt

## **5.4. Badania patomorfologiczne.**

### **5.4.1. Zmiany makroskopowe**

#### **2,4-D**

U zwierząt narażanych na 2,4-D badaniem sekcyjnym nie stwierdzono zmian makroskopowych. U dwóch samców z grupy kontrolnej stwierdzono ropne zapalenie płuc.

#### **MCPA**

U zwierząt narażanych na MCPA badaniem sekcyjnym stwierdzono następujące zmiany patologiczne: ropne zapalenie płuc u jednego samca z grupy 1 (200 ppm), u jednego samca i jednej samicy z grupy 2 (700 ppm) oraz u dwóch samców i czterech samic z grupy 3 (2450 ppm). Ponadto powiększenie śledziony i zastój moczu stwierdzono u jednego samca z grupy 1 (200 ppm). W równolegle prowadzonej grupie kontrolnej również stwierdzono zmiany makroskopowe, w tym zapalenie ropne ucha wewnętrznego u jednego samca z grupy 0 (0 ppm) oraz powiększenie macicy u jednej samicy z grupy 0 (0 ppm).

### **5.4.2. Masa narządów wewnętrznych.**

Wyniki masy bezwzględnej narządów wewnętrznych zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 105 (samce) i w tabeli 106 (samice), natomiast zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 107 (samce) i w tabeli 108 (samice).

#### **2,4-D**

U samców narażanych na 2,4-D, we wszystkich grupach doświadczalnych, stwierdzono statystycznie istotnie mniejszą bezwzględną masę płuc w odniesieniu do grupy kontrolnej (tabela 104). Natomiast u samic, jedynie w grupie 3 (2400 ppm) stwierdzono statystycznie istotnie mniejszą masę bezwzględną serca, wątroby, śledziony, nerek, grasicy oraz nadnerczy (tabela 106).

#### **MCPA**

U samców narażanych na MCPA, stwierdzono statystycznie istotnie mniejszą masę bezwzględną serca w grupie 2 (700 ppm) i 3 (2450 ppm), wątroby w grupie 1 (200 ppm) i 3 (2450 ppm), śledziony w grupie 3 (2450 ppm) oraz jąder w grupie 2 (700 ppm). Ponadto w grupie 1 stwierdzono statystycznie istotny wzrost masy nadnerczy, a w grupie 3

(2450 ppm) stwierdzono statystycznie istotnie większą masę bezwzględną tarczycy (tabela 107).

U samic narażanych na MCPA stwierdzono statystycznie istotnie mniejszą masę bezwzględną śledziony w grupie 2 (700 ppm), nerek, nadnerczy w grupie 3 (2450 ppm) i jajników w grupach 1 (200 ppm) i 3 (2450 ppm) oraz statystycznie istotnie większą masę bezwzględną tarczycy w grupie 3 (2450 ppm) (tabela 108).

Wyniki masy względnej narządów wewnętrznych zwierząt narażanych na 2,4-D przedstawiono w tabeli 109 (samce) i w tabeli 110 (samice), natomiast zwierząt narażanych na MCPA przedstawiono w tabeli 111 (samce) i w tabeli 112 (samice).

### **2,4-D**

Analizując masę względną narządów wewnętrznych, u zwierząt narażanych na 2,4-D stwierdzono statystycznie istotnie mniejszą masę płuc u samców z grup 2 (600 ppm) i 3 (2400 ppm) oraz grasicy u samic z grupy 3 (2400 ppm) (tabele 109 i 110).

### **MCPA**

U zwierząt narażanych na MCPA stwierdzono statystycznie istotnie większą masę względną śledziony i nadnerczy u samców grupy 1 (200 ppm) i grasicy u samców grupy 2 (700 ppm) oraz wątroby u samic grupy 3 (2450 ppm), ponadto mózgu i tarczycy samców i samic z grupy 3 (2450 ppm) (tabele 111 i 112).

**Tabela 105.** Masa bezwzględna narządów wewnętrznych (mg) zwierząt narażanych na 2,4-D  
– samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Badany narząd	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
MÓZG	19991,4 $\pm$ 131,097 (1710,0 - 2168,0)	2033,0 $\pm$ 73,034 (1952,0 - 2174,0)	2073,0 $\pm$ 75,746 (1991,0 - 2218,0)	2039,4 $\pm$ 69,399 (1892,0 - 2170,0)
SERCE	1079,2 $\pm$ 106,338 (877,0 - 1234,0)	1076,3 $\pm$ 100,641 (911,0 - 1316,0)	1124,7 $\pm$ 120,749 (892,0 - 1261,0)	997,9 $\pm$ 166,719 (758,0 - 1301,0)
PŁUCA	2239,3 $\pm$ 303,653 (1815,0 - 2710,0)	<b>1861,6 <math>\pm</math> 257,303*</b> (1516,0 - 2466,0)	<b>1916,6 <math>\pm</math> 194,374*</b> (1737,0 - 2316,0)	<b>1807,2 <math>\pm</math> 227,337*</b> (1480,0 - 2126,0)
WĄTROBA	12162,1 $\pm$ 2198,374 (9234,0 - 15965,0)	11830,0 $\pm$ 2104,341 (8557,0 - 15151,0)	11949,8 $\pm$ 1456,710 (10030,0 - 15043,0)	11203,5 $\pm$ 1337,833 (9406,0 - 13883,0)
ŚLEDZIONA	847,5 $\pm$ 79,474 (767,0 - 941,0)	787,7 $\pm$ 106,178 (651,0 - 958,0)	805,7 $\pm$ 107,831 (697,0 - 1057,0)	772,9 $\pm$ 95,998 (630,0 - 910,0)
NERKI	2736,3 $\pm$ 182,960 (2335,0 - 2969,0)	2652,4 $\pm$ 248,413 (2263,0 - 3145,0)	2888,3 $\pm$ 514,596 (2440,0 - 4042,0)	2773,6 $\pm$ 194,672 (2616,0 - 3282,0)
GRASICA	564,2 $\pm$ 157,933 (409,0 - 912,0)	463,7 $\pm$ 97,344 (338,0 - 687,0)	524,7 $\pm$ 114,148 (396,0 - 745,0)	480,7 $\pm$ 115,201 (358,0 - 778,0)
PRZYSADKA MÓZGOWA	9,6 $\pm$ 2,973 (2,0 - 14,0)	8,8 $\pm$ 1,600 (6,0 - 11,0)	9,7 $\pm$ 1,735 (8,0 - 14,0)	8,9 $\pm$ 2,022 (5,0 - 13,0)
TARCZYCA	17,7 $\pm$ 3,100 (13,0 - 21,0)	18,9 $\pm$ 3,081 (14,0 - 24,0)	19,1 $\pm$ 2,663 (14,0 - 23,0)	18,2 $\pm$ 3,682 (12,0 - 25,0)
NADNERCZA	56,4 $\pm$ 8,868 (41,0 - 73,0)	60,3 $\pm$ 9,890 (49,0 - 78,0)	60,3 $\pm$ 10,640 (49,0 - 83,0)	55,0 $\pm$ 9,539 (42,0 - 68,0)
JĄDRA	3910,6 $\pm$ 357,397 (3356,0 - 4423,0)	3692,3 $\pm$ 366,591 (3148,0 - 4332,0)	3845,3 $\pm$ 377,695 (3276,0 - 4758,0)	3730,2 $\pm$ 383,391 (3075,0 - 4272,0)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 106.** Masa bezwzględna narządów wewnętrznych (mg) zwierząt narażanych na 2,4-D  
– samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Badany narząd	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
MÓZG	1926,3 ± 43,500 (1850,0 - 1986,0)	1982,1 ± 126,525 (1812,0 - 2261,0)	1983,5 ± 103,788 (1831,0 - 2173,0)	1925,4 ± 100,698 (1692,0 - 2050,0)
SERCE	771,0 ± 69,390 (645,0 - 903,0)	791,9 ± 91,280 (635,0 - 948,0)	748,0 ± 32,212 (699,0 - 812,0)	<b>655,7 ± 56,066*</b> (572,0 - 748,0)
PŁUCA	1433,5 ± 229,102 (1220,0 - 2069,0)	1525,4 ± 257,439 (1099,0 - 1939,0)	1475,1 ± 182,836 (1282,0 - 1800,0)	1291,8 ± 139,075 (1065,0 - 1507,0)
WĄTROBA	7418,0 ± 1002,904 (6239,0 - 9547,0)	7127,2 ± 855,350 (5759,0 - 8419,0)	7522,2 ± 723,192 (6564,0 - 8953,0)	<b>6316,5 ± 510,506*</b> (5644,0 - 7341,0)
ŚLEDZIONA	663,2 ± 89,567 (512,0 - 804,0)	645,1 ± 131,449 (440,0 - 931,0)	609,2 ± 67,917 (514,0 - 750,0)	<b>533,8 ± 72,005*</b> (442,0 - 649,0)
NERKI	1734,9 ± 242,021 (1442,0 - 2324,0)	1675,6 ± 141,717 (1383,0 - 1850,0)	1619,6 ± 144,403 (1419,0 - 1910,0)	<b>1440,7 ± 142,941*</b> (1147,0 - 1619,0)
GRASICA	494,6 ± 76,462 (376,0 - 644,0)	463,0 ± 96,108 (337,0 - 683,0)	455,3 ± 86,415 (297,0 - 594,0)	<b>369,9 ± 46,453*</b> (300,0 - 482,0)
PRZYSADKA MÓZGOWA	11,6 ± 1,908 (10,0 - 15,0)	12,4 ± 3,040 (8,0 - 17,0)	13,3 ± 3,607 (10,0 - 21,0)	10,8 ± 2,358 (8,0 - 15,0)
TARCZYCA	16,7 ± 2,452 (12,0 - 20,0)	15,1 ± 2,022 (11,0 - 18,0)	16,3 ± 4,291 (10,0 - 23,0)	16,0 ± 3,194 (12,0 - 23,0)
NADNERCZA	71,7 ± 5,967 (60,0 - 82,0)	75,6 ± 6,484 (66,0 - 85,0)	65,4 ± 7,405 (54,0 - 74,0)	<b>57,0 ± 8,955*</b> (49,0 - 70,0)
JAJNIKI	134,5 ± 23,657 (108,0 - 170,0)	129,8 ± 21,175 (84,0 - 153,0)	126,7 ± 14,974 (106,0 - 161,0)	130,2 ± 21,066 (94,0 - 159,0)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 107.** Masa bezwzględna narządów wewnętrznych (mg) zwierząt narażanych na MCPA  
– samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Badany narząd	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
MÓZG	1927,9 ± 53,039 (1850,0 - 2047,0)	1992,6 ± 85,085 (1820,0 - 2102,0)	1941,5 ± 130,620 (1650,0 - 2201,0)	1973,7 ± 93,175 (1829,0 - 2148,0)
SERCE	1078,1 ± 119,915 (892,0 - 1333,0)	1090,4 ± 126,015 (917,0 - 1296,0)	<b>961,3 ± 75,238*</b> (865,0 - 1119,0)	<b>849,0 ± 149,235*</b> (702,0 - 1205,0)
PŁUCA	1888,1 ± 217,833 (1511,0 - 2201,0)	1936,9 ± 357,903 (1316,0 - 2457,0)	2045,600 ± 380,239 (1464,0 - 2832,0)	1771,0 ± 306,661 (1508,0 - 2531,0)
WĄTROBA	11411,6 ± 1697,888 (7968,0 - 13701,0)	<b>10115,7 ± 1101,391*</b> (8431,0 - 11497,0)	10399,6 ± 1245,825 (8558,0 - 13041,0)	<b>9443,2 ± 1073,935*</b> (8116,0 - 11785,0)
ŚLEDZIONA	721,3 ± 84,284 (547,0 - 849,0)	753,0 ± 55,608 (681,0 - 843,0)	779,3 ± 228,074 (594,0 - 1389,0)	<b>627,7 ± 52,631*</b> (524,0 - 723,0)
NERKI	2484,5 ± 262,228 (1857,0 - 2805,0)	2356,1 ± 231,005 (2145,0 - 2839,0)	2726,6 ± 721,942 (2167,0 - 4591,0)	2252,6 ± 236,994 (2061,0 - 2691,0)
GRASICA	412,8 ± 95,333 (307,0 - 665,0)	391,0 ± 95,160 (228,0 - 603,0)	435,9 ± 75,936 (323,0 - 541,0)	355,8 ± 94,708 (245,0 - 590,0)
PRZYSADKA MÓZGOWA	8,6 ± 1,8 (6,0 - 12,0)	9,3 ± 1,418 (7,0 - 12,0)	8,3 ± 1,418 (7,0 - 11,0)	8,5 ± 2,802 (5,0 - 13,0)
TARCZYCA	14,1 ± 2,809 (7,0 - 17,0)	14,1 ± 2,625 (10,0 - 19,0)	15,8 ± 2,315 (10,0 - 18,0)	<b>18,0 ± 2,191*</b> (13,0 - 20,0)
NADNERCZA	55,3 ± 5,274 (48,0 - 62,0)	<b>63,6 ± 5,869*</b> (54,0 - 71,0)	57,3 ± 7,836 (48,0 - 74,0)	50,4 ± 4,821 (43,0 - 58,0)
JĄDRA	3654,2 ± 368,212 (3175,0 - 4247,0)	3626,5 ± 357,081 (2948,0 - 4210,0)	<b>3388,2 ± 191,889*</b> (3159,0 - 3826,0)	3225,7 ± 502,156 (1991,0 - 3748,0)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 108.** Masa bezwzględna narządów wewnętrznych (mg) zwierząt narażanych na MCPA  
– samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Badany narząd	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
MÓZG	1863,7 ± 114,382 (1721,0 - 2050,0)	1856,2 ± 101,592 (1783,0 - 2022,0)	1842,6 ± 144,642 (1611,0 - 2153,0)	1756,2 ± 113,753 (1507,0 - 1853,0)
SERCE	719,9 ± 36,686 (670,0 - 792,0)	702,7 ± 84,010 (530,0 - 824,0)	716,6 ± 72,534 (619,0 - 825,0)	625,5 ± 102,725 (534,0 - 897,0)
PŁUCA	1384,9 ± 173,991 (1109,0 - 1788,0)	1729,7 ± 744,108 (1179,0 - 3697,0)	1457,8 ± 172,279 (1204,0 - 1809,0)	1820,6 ± 707,094 (1010,0 - 2938,0)
WĄTROBA	7310,5 ± 1088,684 (5860,0 - 9600,0)	6554,1 ± 1049,494 (4829,0 - 8396,0)	7472,5 ± 852,155 (6281,0 - 8921,0)	6520,3 ± 695,995 (5814,0 - 8129,0)
ŚLEDZIONA	646,4 ± 85,619 (531,0 - 792,0)	592,0 ± 92,563 (432,0 - 741,0)	<b>570,7 ± 28,362*</b> (493,0 - 607,0)	637,3 ± 212,346 (385,0 - 1050,0)
NERKI	1548,0 ± 109,992 (1360,0 - 1679,0)	1478,9 ± 170,507 (1220,0 - 1824,0)	1499,4 ± 117,572 (1346,0 - 1756,0)	<b>1372,1 ± 147,017*</b> (1073,0 - 1557,0)
GRASICA	417,2 ± 94,641 (290,0 - 578,0)	413,4 ± 94,856 (311,0 - 602,0)	365,5 ± 73,003 (263,0 - 490,0)	378,3 ± 145,024 (161,0 - 610,0)
PRZYSADKA MÓZGOWA	11,1 ± 2,119 (8,0 - 15,0)	11,5 ± 2,012 (9,0 - 15,0)	11,6 ± 1,356 (9,0 - 13,0)	8,1 ± 1,446 (5,0 - 10,0)
TARCZYCA	14,9 ± 2,385 (10,0 - 19,0)	15,5 ± 2,247 (13,0 - 19,0)	15,3 ± 2,685 (10,0 - 19,0)	<b>17,8 ± 1,166*</b> (17,0 - 20,0)
NADNERCZA	68,0 ± 11,278 (44,0 - 82,0)	65,2 ± 7,846 (55,0 - 79,0)	71,6 ± 10,509 (63,0 - 101,0)	<b>56,5 ± 6,233*</b> (47,0 - 68,0)
JAJNIKI	137,2 ± 26,214 (98,0 - 190,0)	<b>122,8 ± 6,274*</b> (112,0 - 130,0)	136,1 ± 18,289 (103,0 - 172,0)	<b>107,8 ± 16,774*</b> (84,0 - 135,0)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 109.** Masa względna narządów wewnętrznych (%) zwierząt narażanych na 2,4-D  
– samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Badany narząd	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
MÓZG	0,480 ± 0,047 (0,421 - 0,574)	0,494 ± 0,046 (0,431 - 0,584)	0,490 ± 0,035 (0,440 - 0,550)	0,514 ± 0,033 (0,452 - 0,554)
SERCE	0,259 ± 0,023 (0,225 - 0,304)	0,261 ± 0,024 (0,227 - 0,295)	0,266 ± 0,032 (0,212 - 0,304)	0,251 ± 0,038 (0,199 - 0,324)
PŁUCA	0,541 ± 0,091 (0,404 - 0,739)	0,453 ± 0,081 (0,381 - 0,668)	<b>0,453 ± 0,054*</b> (0,378 - 0,560)	<b>0,455 ± 0,058*</b> (0,347 - 0,540)
WĄTROBA	2,902 ± 0,374 (2,435 - 3,756)	2,841 ± 0,344 (2,205 - 3,300)	2,808 ± 0,232 (2,512 - 3,162)	2,806 ± 0,194 (2,482 - 3,099)
ŚLEDZIONA	0,204 ± 0,022 (0,161 - 0,238)	0,191 ± 0,029 (0,164 - 0,260)	0,189 ± 0,017 (0,160 - 0,221)	0,195 ± 0,027 (0,164 - 0,245)
NERKI	0,657 ± 0,026 (0,613 - 0,705)	0,641 ± 0,045 (0,575 - 0,714)	0,677 ± 0,084 (0,328 - 0,846)	0,698 ± 0,043 (0,614 - 0,759)
GRASICA	0,135 ± 0,034 (0,020 - 0,185)	0,112 ± 0,021 (0,068 - 0,153)	0,124 ± 0,026 (0,089 - 0,156)	0,121 ± 0,028 (0,080 - 0,189)
PRZYSADKA MÓZGOWA	0,002 ± 0,001 (0,002 - 0,005)	0,002 ± 0,000 (0,002 - 0,003)	0,002 ± 0,000 (0,002 - 0,003)	0,002 ± 0,000 (0,001 - 0,003)
TARCZYCA	0,004 ± 0,001 (0,003 - 0,005)	0,005 ± 0,001 (0,003 - 0,006)	0,004 ± 0,001 (0,004 - 0,006)	0,005 ± 0,001 (0,003 - 0,006)
NADNERCZA	0,013 ± 0,002 (0,010 - 0,015)	0,015 ± 0,002 (0,011 - 0,018)	0,014 ± 0,002 (0,012 - 0,017)	0,014 ± 0,002 (0,011 - 0,016)
JĄDRA	0,943 ± 0,112 (0,765 - 1,153)	0,895 ± 0,095 (0,736 - 1,028)	0,910 ± 0,114 (0,726 - 1,093)	0,937 ± 0,082 (0,833 - 1,130)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej



**Tabela 110.** Masa względna narządów wewnętrznych (%) zwierząt narażanych na 2,4-D  
– samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Badany narząd	GRUPA (stężenie 2,4-D)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (150 ppm) n = 10	2 (600 ppm) n = 10	3 (2400 ppm) n = 10
MÓZG	0,746 ± 0,046 (0,666 - 0,821)	0,751 ± 0,081 (0,584 - 0,886)	0,771 ± 0,034 (0,721 - 0,814)	0,836 ± 0,077 (0,696 - 0,917)
SERCE	0,298 ± 0,023 (0,265 - 0,340)	0,298 ± 0,022 (0,253 - 0,322)	0,291 ± 0,021 (0,258 - 0,340)	0,284 ± 0,025 (0,253 - 0,345)
PŁUCA	0,557 ± 0,106 (0,442 - 0,848)	0,573 ± 0,086 (0,438 - 0,729)	0,575 ± 0,082 (0,474 - 0,744)	0,561 ± 0,072 (0,426 - 0,689)
WĄTROBA	2,858 ± 0,286 (2,557 - 3,616)	2,686 ± 0,308 (2,285 - 3,165)	2,924 ± 0,269 (2,554 - 3,342)	2,734 ± 0,216 (2,304 - 3,021)
ŚLEDZIONA	0,256 ± 0,027 (0,215 - 0,295)	0,243 ± 0,047 (0,175 - 0,346)	0,236 ± 0,021 (0,212 - 0,286)	0,231 ± 0,030 (0,184 - 0,272)
NERKI	0,667 ± 0,052 (0,593 - 0,780)	0,631 ± 0,045 (0,549 - 0,712)	0,629 ± 0,040 (0,555 - 0,690)	0,622 ± 0,042 (0,549 - 0,699)
GRASICA	0,191 ± 0,029 (0,136 - 0,225)	0,174 ± 0,029 (0,134 - 0,224)	0,177 ± 0,033 (0,110 - 0,231)	<b>0,159 ± 0,013*</b> (0,141 - 0,192)
PRZYSADKA MÓZGOWA	0,004 ± 0,001 (0,004 - 0,006)	0,005 ± 0,001 (0,003 - 0,006)	0,005 ± 0,002 (0,003 - 0,009)	0,005 ± 0,001 (0,004 - 0,006)
TARCZYCA	0,006 ± 0,001 (0,005 - 0,008)	0,006 ± 0,001 (0,004 - 0,007)	0,006 ± 0,002 (0,003 - 0,009)	0,007 ± 0,002 (0,005 - 0,011)
NADNERCZA	0,028 ± 0,002 (0,024 - 0,031)	0,029 ± 0,003 (0,022 - 0,032)	0,025 ± 0,003 (0,021 - 0,030)	0,025 ± 0,004 (0,017 - 0,032)
JAJNIKI	0,052 ± 0,009 (0,040 - 0,065)	0,049 ± 0,007 (0,033 - 0,058)	0,049 ± 0,005 (0,041 - 0,057)	0,056 ± 0,007 (0,044 - 0,065)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 111.** Masa względna narządów wewnętrznych (%) zwierząt narażanych na MCPA  
– samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Badany narząd	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
MÓZG	0,479 ± 0,038 (0,432 - 0,559)	0,545 ± 0,061 (0,469 - 0,659)	0,527 ± 0,060 (0,444 - 0,607)	<b>0,581 ± 0,55*</b> (0,541 - 0,685)
SERCE	0,267 ± 0,027 (0,226 - 0,310)	0,297 ± 0,041 (0,227 - 0,381)	0,260 ± 0,019 (0,226 - 0,300)	0,250 ± 0,051 (0,201 - 0,387)
PLUCA	0,467 ± 0,043 (0,392 - 0,522)	0,522 ± 0,068 (0,413 - 0,654)	0,553 ± 0,111 (0,456 - 0,871)	0,524 ± 0,115 (0,393 - 0,814)
WĄTROBA	2,805 ± 0,260 (2,290 - 3,294)	2,747 ± 0,262 (2,273 - 3,282)	2,798 ± 0,185 (2,543 - 3,170)	2,757 ± 0,144 (2,538 - 3,014)
ŚLEDZIONA	0,179 ± 0,023 (0,132 - 0,215)	<b>0,205 ± 0,021*</b> (0,176 - 0,248)	0,213 ± 0,074 (0,152 - 0,422)	0,185 ± 0,020 (0,153 - 0,218)
NERKI	0,613 ± 0,033 (0,534 - 0,654)	0,640 ± 0,049 (0,552 - 0,718)	0,725 ± 0,118 (0,605 - 1,046)	0,660 ± 0,054 (0,601 - 0,740)
GRASICA	0,102 ± 0,023 (0,078 - 0,164)	0,105 ± 0,018 (0,071 - 0,143)	<b>0,117 ± 0,012*</b> (0,103 - 0,142)	0,103 ± 0,021 (0,070 - 0,151)
PRZYSADKA MÓZGOWA	0,002 ± 0,000 (0,002 - 0,003)	0,003 ± 0,000 (0,002 - 0,003)	0,002 ± 0,000 (0,002 - 0,003)	0,002 ± 0,001 (0,001 - 0,003)
TARCZYCA	0,004 ± 0,001 (0,002 - 0,004)	0,004 ± 0,001 (0,002 - 0,005)	0,004 ± 0,001 (0,003 - 0,005)	<b>0,005 ± 0,001*</b> (0,004 - 0,007)
NADNERCZA	0,014 ± 0,001 (0,012 - 0,016)	<b>0,017 ± 0,002*</b> (0,015 - 0,022)	0,016 ± 0,003 (0,012 - 0,022)	0,015 ± 0,002 (0,011 - 0,018)
JĄDRA	0,908 ± 0,115 (1,089 - 0,723)	0,989 ± 0,120 (0,768 - 1,164)	0,922 ± 0,113 (0,755 - 1,073)	0,949 ± 0,176 (0,640 - 1,275)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

**Tabela 112.** Masa względna narządów wewnętrznych (%) zwierząt narażanych na MCPA  
– samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

Badany narząd	GRUPA (stężenie MCPA)			
	0 (0 ppm) n = 10	1 (200 ppm) n = 10	2 (700 ppm) n = 10	3 (2450 ppm) n = 10
MÓZG	0,730 ± 0,048 (0,664 - 0,796)	0,808 ± 0,103 (0,639 - 1,021)	0,768 ± 0,045 (0,693 - 0,837)	<b>0,869 ± 0,081*</b> (0,769 - 1,055)
SERCE	0,283 ± 0,030 (0,233 - 0,338)	0,304 ± 0,042 (0,237 - 0,396)	0,299 ± 0,026 (0,253 - 0,349)	0,308 ± 0,047 (0,267 - 0,440)
PŁUCA	0,544 ± 0,084 (0,458 - 0,771)	0,765 ± 0,380 (0,480 - 1,704)	0,612 ± 0,091 (0,465 - 0,754)	0,897 ± 0,342 (0,505 - 1,440)
WĄTROBA	2,846 ± 0,276 (2,497 - 3,254)	2,806 ± 0,204 (2,464 - 3,044)	3,112 ± 0,284 (2,723 - 3,665)	<b>3,214 ± 0,283*</b> (2,753 - 3,799)
ŚLEDZIONA	0,252 ± 0,024 (0,235 - 0,309)	0,254 ± 0,027 (0,210 - 0,288)	0,240 ± 0,029 (0,187 - 0,286)	0,313 ± 0,104 (0,220 - 0,525)
NERKI	0,607 ± 0,056 (0,494 - 0,686)	0,637 ± 0,050 (0,545 - 0,717)	0,626 ± 0,055 (0,551 - 0,735)	0,678 ± 0,081 (0,494 - 0,779)
GRASICA	0,162 ± 0,032 (0,119 - 0,214)	0,179 ± 0,043 (0,125 - 0,277)	0,151 ± 0,024 (0,118 - 0,194)	0,185 ± 0,067 (0,081 - 0,305)
PRZYSADKA MÓZGOWA	0,004 ± 0,001 (0,003 - 0,006)	0,005 ± 0,001 (0,004 - 0,006)	0,005 ± 0,001 (0,004 - 0,006)	0,004 ± 0,001 (0,002 - 0,005)
TARCZYCA	0,006 ± 0,001 (0,004 - 0,008)	0,007 ± 0,001 (0,005 - 0,008)	0,006 ± 0,001 (0,005 - 0,009)	<b>0,009 ± 0,001*</b> (0,008 - 0,010)
NADNERCZA	0,027 ± 0,005 (0,015 - 0,034)	0,028 ± 0,006 (0,023 - 0,042)	0,030 ± 0,004 (0,024 - 0,037)	0,028 ± 0,005 (0,022 - 0,038)
JAJNIKI	0,054 ± 0,010 (0,042 - 0,073)	0,054 ± 0,007 (0,042 - 0,068)	0,057 ± 0,010 (0,039 - 0,073)	0,053 ± 0,007 (0,042 - 0,064)

n – liczba zwierząt

\* - różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

### 5.4.3. Zmiany mikroskopowe

Zmiany mikroskopowe występujące w narządach wewnętrznych zwierząt narażanych na 2,4-D zestawiono w tabeli 113, natomiast na MCPA - w tabeli 114.

#### 2,4-D

W narządach wewnętrznych zwierząt narażanych na 2,4-D stwierdzono zmiany mikroskopowe o charakterze zaburzeń w krążeniu, zmian postępowych i zapalnych. Spośród zaburzeń w krążeniu wymienić należy przekrwienie, krwinkotoki, wylewy, obrzęki i złogi hemosyderyny. Powyższe zmiany obserwowano w mózgu, sercu, płucach, wątrobie, śledzionie, nerkach, przysadce mózgowej i nadnerczach. W pojedynczych przypadkach stwierdzono zmiany postępowe w postaci nacieków limfocytarnych i komórek piankowatych w płucach, nacieków drobnokomórkowych (wątroba i nerki) rozrostu miazgi białej (śledzionie) i rozrostu tarczycy. Zmiany zapalne obserwowano w płucach oraz w wsierdziu i w osierdziu. W pozostałych badanych narządach nie stwierdzono zmian histopatologicznych.

Analiza statystyczna nie wykazała jednak wzrostu częstości występowania zmian mikroskopowych w żadnej grupie narażanej na 2,4-D w porównaniu do grupy kontrolnej.

#### MCPA

W narządach wewnętrznych zwierząt narażanych na MCPA, podobnie jak u zwierząt narażanych na 2,4-D, stwierdzono zmiany mikroskopowe o charakterze zaburzeń w krążeniu, zmian postępowych i zapalnych. Zaburzenia w krążeniu miały postać przekrwienia, krwinkotoków, wylewów, obrzęków oraz stwierdzono złogi hemosyderyny. Zmiany powyższe obserwowano w mózgu, sercu, płucach, wątrobie, śledzionie, nerkach, przysadce mózgowej, nadnerczach i jajnikach. W pojedynczych przypadkach stwierdzono zmiany postępowe w postaci nacieków limfocytarnych i komórek piankowatych w płucach, nacieków drobnokrwinkowych (wątroba i nerki), rozrostu tarczycy i miazgi białej śledziony. Zmiany zapalne obserwowano w płucach i miały one charakter ropnego zapalenia. Ponadto w jednym przypadku ujawniono ropne zapalenie wsierdzia i osierdzia. W pozostałych badanych narządach nie stwierdzono zmian histopatologicznych.

Analiza statystyczna wykazała wzrost częstości występowania nacieków limfocytarnych w płucach u samców grupy 3 (2450 ppm) oraz zapalenia ropnego płuc u samic grupy 3 (2450 ppm) w odniesieniu do wyników uzyskanych w grupie kontrolnej.

Tabela 113. Zmiany histopatologiczne zwierząt narażanych na 2,4-D

narząd	rodzaj zmian	GRUPA (stężenie 2,4-D)							
		0 (0 ppm)		1 (150 ppm)		2 (600 ppm)		3 (2400 ppm)	
		samce n = 10	samice n = 10	samce n = 10	samice n = 10	samce n = 10	samice n = 10	samce n = 10	samice n = 10
mózg	przekrwienie	1	-	1	1	1	-	-	-
	krwinkotoki	-	-	-	-	-	-	-	-
serce	przekrwienie	2	-	2	1	3	1	2	2
	krwinkotoki	-	-	-	-	-	-	1	1
	zapalenie wsierdzia i osierdzia	-	-	-	-	-	-	-	-
płuca	przekrwienie	6	2	3	3	3	4	4	5
	krwinkotoki	-	-	2	4	-	-	1	2
	wylewy	-	-	-	-	-	-	-	-
	obrzęk	-	1	-	-	-	-	-	-
	rozedma	1	-	-	-	-	-	-	1
	nacieki limfocytarne	1	-	1	2	2	-	2	-
	nacieki komórek piankowatych	2	-	2	-	2	1	2	4
	zapalenie oskrzeli	-	-	-	-	-	-	-	-
	zapalenie ropne	2	-	-	-	-	-	-	-
wątroba	przekrwienie	1	-	3	1	4	1	-	-
	krwinkotoki	1	-	-	-	-	-	-	-
	nacieki drobnokomórkowe	-	1	1	-	-	2	-	1
	rozrost komórek Browicza-Kupffera	-	-	-	-	-	-	-	-
	rozrost przewodów żółciowych	-	-	-	-	-	-	-	-
śledziona	przekrwienie	-	-	4	2	4	1	3	-
	krwinkotoki	-	-	-	-	-	-	-	-
	złogi hemosyderyny	1	5	-	-	-	-	-	1
	rozrost miazgi białej	1	-	-	-	2	-	-	-
nerki	przekrwienie	-	-	4	2	4	1	3	-
	krwinkotoki	-	-	-	-	-	-	-	-
	wylewy	-	-	-	-	-	1	-	-
	nacieki drobnokomórkowe	-	1	-	-	-	-	-	1
przysadka mózgowa	przekrwienie	4	2	2	1	-	1	3	2
tarczyca	rozrost	2	-	-	-	-	-	-	-
nadnercza	przekrwienie kory	2	-	-	-	-	1	-	-
	przekrwienie rdzenia	2	-	1	3	2	1	1	-
jajniki	przekrwienie	-	-	-	-	-	-	-	-
	torbiele pęcherzykowe	-	-	-	-	-	-	-	1
macica	rozrost	-	-	-	-	-	-	-	-

n – liczba zwierząt

Tabela 114. Zmiany histopatologiczne zwierząt narażanych na MCPA

narząd	rodzaj zmian	GRUPA (stężenie MCPA)							
		0 (0 ppm)		1 (200 ppm)		2 (700 ppm)		3 (2450 ppm)	
		samce n = 10	samice n = 10	samce n = 10	samice n = 10	samce n = 10	samice n = 10	samce n = 10	samice n = 10
mózg	przekrwienie	-	-	-	-	-	-	1	-
	krwinkotoki	2	1	-	-	-	1	-	-
serce	przekrwienie	-	-	-	-	-	-	2	-
	krwinkotoki	2	-	1	-	-	-	1	-
	zapalenie wsierdzia i osierdzia	-	-	-	-	-	-	-	1
płuca	przekrwienie	6	2	1	1	6	3	8	2
	krwinkotoki	-	1	2	-	2	1	1	1
	wylewy	-	-	-	-	-	-	-	1
	obrząk	-	1	1	-	-	-	-	-
	rozedma	1	-	-	-	-	-	1	-
	nacieki limfocytarne	-	-	-	-	2	-	5*	-
	nacieki komórek piankowatych	-	3	2	1	-	1	-	3
	zapalenie oskrzeli	1	1	-	1	1	-	1	2
	zapalenie ropne	-	-	-	-	2	2	2	5*
wątroba	przekrwienie	2	-	-	-	1	-	3	-
	krwinkotoki	-	-	-	-	2	-	-	-
	nacieki drobnokomórkowe	-	1	-	-	3	-	4	1
	rozrost komórek Browicza-Kupffera	1	2	-	-	-	-	-	2
	rozrost przewodów żółciowych	-	-	-	-	1	-	1	2
śledziona	przekrwienie	-	-	-	-	1	-	-	-
	krwinkotoki	-	-	-	-	-	-	-	-
	złogi hemosyderyny	3	4	1	2	-	6	-	4
	rozrost miazgi białej	-	-	-	-	-	-	-	-
nerki	przekrwienie	-	-	-	-	1	-	-	-
	krwinkotoki	5	-	-	-	-	1	-	-
	wylewy	-	-	-	-	-	-	-	-
	nacieki drobnokomórkowe	1	-	-	-	1	-	2	-
przysadka mózgowa	przekrwienie	2	2	-	-	-	-	1	1
tarczyca	rozrost	7	2	6	-	1	4	5	2
nadnercza	przekrwienie kory	-	-	1	-	-	-	-	-
	przekrwienie rdzenia	3	1	-	-	1	2	-	1
jajniki	przekrwienie	-	-	-	-	-	1	-	-
	torbiele pęcherzykowe	-	-	-	-	-	-	-	-
macica	rozrost	-	1	-	-	-	-	-	-

n – liczba zwierząt

\*- różnica statystycznie istotna w porównaniu do grupy kontrolnej

## 6. DYSKUSJA

Herbicydy należące do grupy kwasów chlorofenoksyoctowych od dziesięcioleci są wykorzystywane jako środki ochrony roślin. Związki te najczęściej stosowane są w postaci soli lub estrów, co ułatwia w praktyce wyprodukowanie odpowiednich form użytkowych. Ponadto związki te szybko hydrolizują, a ich toksyczność sprowadza się do działania kwasowej formy herbicydu.

Stosowanie w ochronie roślin kwasów chlorofenoksyoctowych przeznaczonych do walki z chwastami, z jednej strony znacznie zwiększa wydajność produkcji rolniczej a z drugiej stwarza ryzyko szkodliwego działania na organizmy stałocieplne, w tym na człowieka. Kwasy chlorofenoksyoctowe po przedostaniu się do organizmu są silnie wiązane przez białka osocza. Siła wiązania z białkami zależy od ich chemicznej struktury. Wzrost długości łańcucha kwasowego i liczby podstawników w pierścieniu aromatycznym sprzyja silniejszemu wiązaniu (Bradberry i wsp., 2000). 2,4-D i MCPA ulegają odwracalnemu wiązaniu z białkami osocza, szczególnie albuminą, prawdopodobnie w miejscach kompetencyjnego współzawodnictwa ze związkami pokrewnymi np. kwasem palmitynowym, tyroksyną (Bräunlich i wsp., 1989, Rosso i wsp., 1998; WHO, 1984).

Budowa chemiczna decyduje o biodostępności poszczególnych herbicydów danej klasy, a tym samym określa stopień ich toksyczności (Bradberry i wsp., 2000). Kwasy chlorofenoksyoctowe po podaniu drogą pokarmową są szybko absorbowane przez organizm i wydalane przede wszystkim z moczem. Po jednorazowym podaniu tych kwasów w dawce 5 mg/kg m.c. okres półtrwania w osoczu szczura dla 2,4-D wynosi około 1 h, a dla MCPA - około 6 h. (Timchalk, 2004). 2,4-D jest szybko wydalany z moczem, głównie w postaci niezmienionej, oraz w mniejszych ilościach - jako 2,4-dichlorofenol. MCPA również jest szybko usuwany z organizmu, jednak ulega częściowej biotransformacji na drodze oksydacji grupy metylowej do kwasu 4-chloro-2-hydroksymetylofenoksyoctowego (HMCPA). U szczurów MCPA wydalany jest w postaci niezmienionej, metabolitu HMCPA lub koniugatu z glicyną (Lappin i wsp., 2002; Bräunlich i wsp., 1989; van Ravenzwaay i wsp., 2004).

Deregowski i wsp. (1990) po jednokrotnym dożołądkowym podaniu 2,4-D szczurom wykazali obecność tego związku w: wątrobie, nerkach, płucach, sercu, śledzionie oraz – w małych ilościach - w mózgu i w tkance tłuszczowej. Aydin i wsp. (2006) wykazali, że

sposób podania 2,4-D może decydować o jego przyswajalności dla organizmu. Po 30 - dniowym podawaniu 2,4-D, w tych samych stężeniach (50 ppm), w wodzie lub z paszą w wątrobie stwierdzono obecność 2,4-D i jego metabolitu 2,4-dichlorofenolu (2,4-DCP) w wyższych stężeniach u zwierząt otrzymujących ten związek w paszy.

Po 4 dniach od jednorazowego doustnego podania [<sup>14</sup>C] MCPA szczurom w dawce 5 mg/kg m.c, stwierdzono obecność MCPA w tkance tłuszczowej, skórze, nerkach i w wątrobie. Po analogicznym podaniu [<sup>14</sup>C] MCPA w dawce 100 mg/kg m. c, po 7 dniach obecność MCPA stwierdzono, podobnie jak w poprzednim badaniu, w tkance tłuszczowej, skórze, w nerkach i w wątrobie. Ponadto stwierdzono obecność MCPA w mięśniach szkieletowych, żołądku, gonadach, macicy i nadnerczach (van Ravenzwaay i wsp., 2004).

U szczurów eliminacja kwasów chlorofenoksyoctowych z osocza następuje głównie z wykorzystaniem mechanizmu aktywnego transport anionów organicznych umieszczonego w kanalikach nerkowych. Jednak podanie wysokich dawek kwasów chlorofenoksyoctowych może spowodować, że część tych związków będzie występować w krwi w formie niezwiązanej. W tym przypadku, oczyszczanie niezwiązanych z białkami kwasów chlorofenoksyoctowych następuje w kłębuszkach nerkowych (Bus i Hammond, 2007, Timchalk, 2004, van Ravenzwaay i wsp., 2003). Wydalanie kwasów chlorofenoksyoctowych, w tym 2,4-D i MCPA, z moczem jest więc skutkiem procesów filtracji, sekrecji i reabsorpcji zachodzących w nerkach. Na oczyszczanie nerkowe, a w związku z tym na toksyczność obu związków wpływają: wielkość dawki, siła wiązania z białkami, efektywność i zdolność kanalikowego systemu sekrecji dla kwasu, przepływ nerkowy i pH moczu. Wykazano, że wzrost pH moczu prowadzi do redukcji reabsorpcji kwasów chlorofenoksyoctowych (Timchalk, 2004; Bräunlich i wsp., 1989).

O toksyczności związku decyduje między innymi możliwość jego kumulacji w organizmie. Zarówno MCPA jak i 2,4-D, nie ulegają kumulacji w organizmie. Jednak podanie wysokiej dawki kwasu chlorofenoksyoctowego może spowodować wysycenie aktywnego transportu anionów organicznych i wydłużenie procesu eliminacji tych związków z organizmu. Konsekwencją tego zjawiska może być dłuższy kontakt kwasów chlorofenoksyoctowych ze składnikami organizmu, co może prowadzić do wzrostu ich toksycznego działania (van Ravenzwaay i wsp., 2004; Paulino i wsp., 1996)



Szybka absorpcja i dystrybucja kwasów chlorofenoksyoctowych, stosunkowo krótki okres półtrwania w osoczu i sprawne ich wydalanie wskazują na możliwie małą ich toksyczność po podaniu powtarzanym. Niemniej powtarzane podawanie związku w wysokich dawkach może spowodować wyczerpanie się ustrojowych mechanizmów obronnych, wydłużenie czasu eliminacji związku, a w konsekwencji może doprowadzić do powstania trwałych zmian w jego obrębie (van Ravenzwaay i wsp., 2004).

W niniejszej pracy w oparciu o wyniki uzyskane w badaniach toksyczności przy powtarzanym 90-dniowym podawaniu doustnym obu związków dokonano próby porównania zmian ujawnionych w poszczególnych badanych parametrach. Celem porównania było uchwycenie ewentualnych różnic w działaniu szkodliwym obu chlorofenoksykwasów na organizmy szczurów. Badania toksyczności przeprowadzono w tym samym laboratorium, w podobnych warunkach środowiskowych, z wykorzystaniem zwierząt pochodzących z tej samej hodowli. Stosowano taki sam okres narażenia oraz zbliżone stężenia badanych związków. Poszczególne parametry oznaczano z zastosowaniem takich samych metod badawczych, przy użyciu tej samej aparatury pomiarowej. Okres narażenia wynosił 90 dni, co jest okresem wystarczającym dla ujawnienia ewentualnych objawów szkodliwego wpływu na organizmy zwierząt doświadczalnych.

W przeprowadzonych badaniach własnych w trakcie narażenia na 2,4-D nie stwierdzono padnięć zwierząt, natomiast w trakcie narażenia na MCPA wystąpiły nieliczne padnięcia zwierząt. Ponieważ upadki zwierząt były pojedyncze w poszczególnych grupach i nie zależne od poziomu narażenia, nie można ich bezpośrednio wiązać z podawanym związkiem.

W trakcie narażenia na 2,4-D oraz MCPA u zwierząt wystąpiły objawy kliniczne. Większość objawów miała jednak charakter przejściowy, a przeprowadzona analiza statystyczna częstości ich pojawiania się w większości przypadków nie wykazała zmian statystycznie istotnych. U samic narażanych na MCPA w stężeniu 2450 ppm w pierwszych tygodniach doświadczenia stwierdzono statystycznie istotny wzrost częstości pojawiania nieznacznego wzrostu aktywności ruchowej u samic, który prawdopodobnie związany był z poszukiwaniem przez zwierzęta pokarmu niezawierającego MCPA. Zwierzęta unikały jedzenia paszy zanieczyszczonej MCPA.

Wyniki badań własnych wykazały, że podawanie przez 90 dni 2,4-D lub MCPA zmniejsza przyrost masy ciała narażanych zwierząt. Zmiany statystycznie istotne stwierdzono jedynie po narażeniu na najwyższe stężenia badanych substancji. Po zakończeniu okresu narażania na 2,4-D stwierdzono o 11% mniejszą masę ciała jedynie u samic. U zwierząt narażanych na MCPA, po zakończeniu doświadczenia odnotowano mniejszą masę ciała u samców o około 17% i samic o około 19%. Podczas doświadczenia zaobserwowano, że zwierzęta unikały spożywania paszy zawierającej 2,4-D lub MCPA, co znalazło odzwierciedlenie w mniejszym spożyciu paszy oraz w zmniejszonym przyroście masy ciała. Odmienne, w przypadku samic otrzymujących 2,4-D w najwyższym stężeniu, w dwóch pierwszych tygodniach pozornie stwierdzono większe zużycie paszy, które było skutkiem wyciągania paszy z karmików do klatek przez zwierzęta a nie rzeczywistym wzrostem spożycia. Wahania w spożyciu paszy przez zwierzęta były spowodowane zmianą właściwości organoleptycznych paszy, których zwierzęta w pełni nie akceptowały. Podobne zmiany, tzn. mniejszy przyrost masy ciała zwierząt otrzymujących w paszy 2,4-D w dawce 100 mg/kg m.c./dzień przez 13 tygodni obserwował Charles i wsp. (1996) oraz Ravenzwaay i wsp. (2005) po podawaniu MCPA w stężeniu 2000 ppm przez 28 dni.

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wykazały wpływ zarówno 2,4-D jak i MCPA na niektóre parametry hematologiczne. Zmiany te występowały jedynie u samic. Po 90 dniach narażania zwierząt na 2,4-D w stężeniu 2400 ppm u samic stwierdzono spadek stężenia hemoglobiny, hematokrytu oraz liczby krwinek czerwonych i białych. Natomiast u samic otrzymujących MCPA w stężeniu 2450 ppm stwierdzono jedynie obniżenie stężenia hemoglobiny. Zarówno po narażeniu na 2,4-D jak i na MCPA, u samców nie stwierdzono zmian w parametrach hematologicznych. Stwierdzone u samic zmiany w parametrach hematologicznych mogą świadczyć o silniejszym anemizującym wpływie 2,4-D w porównaniu do MCPA.

O niekorzystnym, zależnym od płci, wpływie 2,4-D na liczbę krwinek czerwonych i stężenie hemoglobiny u szczurów w badaniu podprzewlekłym (13 tygodniowym) donosili Charles i wsp. (1996). Autorzy, odmiennie niż w badaniach własnych, po podaniu szczurom 2,4-D stwierdzili spadek liczby krwinek i obniżony poziom hemoglobiny u samców po dawce 100 mg/kg/dzień oraz u samic po dawce 300 mg/kg/dzień. Stwierdzone w badaniach własnych oraz przeprowadzonych przez Charles i wsp. (1996) różnice we wrażliwości obu płci prawdopodobnie spowodowane są zastosowaniem odmiennych szczepów szczurów oraz

okresu rozwoju. Ponadto mogą wynikać z czystości 2,4-D użytego w badaniach. Badania własne zostały przeprowadzone na dojrzałych płciowo 8 tygodniowych (w chwili rozpoczęcia doświadczenia) szczurach Wistar, podczas gdy Charles i wsp. (1996) wykorzystali w badaniach młode 4 tygodniowe szczury Fischer 344. Rozpoczęcie narażania szczurów na znacznie wcześniejszym etapie ich rozwoju mogło przyczynić się do stwierdzonych odmiennych skutków działania 2,4-D. W obu badaniach zastosowano produkt techniczny 2,4-D, który jednak różnił się zawartością substancji czynnej. W badaniach własnych zastosowano 98% 2,4-D natomiast Charles i wsp. (1996) badania przeprowadzili stosując 96,4% 2,4-D.

Podobnie jak w niniejszej pracy, w badaniu podprzewlekłym przeprowadzonym przez Mellert i wsp. (1994) wykazano niekorzystny wpływ MCPA na parametry hematologiczne szczurów. W odróżnieniu od wyników badań własnych, autorzy stwierdzili zmiany zarówno u samców jak i samic. Ponadto, stwierdzili większą liczbę zmian tzn. spadek hematokrytu, hemoglobiny oraz liczby krwinek czerwonych po 13-tygodniowym narażeniu zwierząt na działanie MCPA w stężeniu 2500 ppm.

Przeprowadzone badania *in vitro* dotyczące wpływu kwasów fenoksyoctowych na erythrocyty człowieka i ich podstawowe struktury, w tym: błonę komórkową i hemoglobinę oraz system antyoksydacyjny wykazały, że herbicydy z podstawnikami chlorowymi (2,4-D) wywołują silniejsze zmiany oksydacyjne w erythrocytach człowieka w porównaniu do MCPA (Bukowska, 2008). Należy podkreślić, że stwierdzone w badaniach własnych po podaniu MCPA obniżenie jedynie poziomu hemoglobiny u narażanych samic, w porównaniu do zmian wywołanych przez 2,4-D, w tym obniżone stężenie hemoglobiny, hematokrytu i liczby czerwonych krwinek potwierdzają wyniki uzyskane przez Bukowską (2008) i hipotezę, że kwasy chlorofenoksyoctowe z podstawnikiem chlorowym (2,4-D) w pozycji 2 działają silniej niż posiadające w tym miejscu grupę metylową (MCPA).

W przedstawionych badaniach własnych zastosowane stężenie 2400 ppm 2,4-D spowodowało u samic obniżenie liczby leukocytów. Obniżeniu liczby leukocytów nie towarzyszyły jednak zmiany w składzie odsetkowym poszczególnych rodzajów krwinek białych. Kaioumowa i wsp., (2001) wysunęli hipotezę, że 2,4-D może powodować stres oksydacyjny nie tylko w erythrocytach, ale również może niszczyć i upośledzać funkcję innych komórek krwi, w tym białych krwinek. Stąd nie można wykluczyć, że obniżona liczba

krwinek białych stwierdzona w badaniach własnych jest skutkiem uszkodzeń oksydacyjnych w tej linii komórek.

W przeprowadzonych badaniach 90 - dniowe narażenie na 2,4-D spowodowała wzrost liczby eozynocytów u samców otrzymujących substancję w stężeniu 600 ppm oraz u samic otrzymujących substancję w stężeniu 150 ppm i 600 ppm. Analiza statystyczna nie wykazała jednak zmian statystycznie istotnych w grupach otrzymujących najwyższe stężenia badanego związku, stąd nie można jednoznacznie stwierdzić, że zmiany liczby eozynocytów są skutkiem działania 2,4-D, zwłaszcza, że przeprowadzona analiza rozmazów szpiku kostnego również nie wykazała zmian świadczących o zwiększonej produkcji eozynocytów. Mając na uwadze fakt, że związek ten jest zaliczany do substancji wywołujących reakcje uczuleniowe po narażeniu kontaktowym, nie można wykluczyć, że wzrost liczby eozynocytów może być następstwem reakcji alergicznej związanej z obecnością 2,4-D (Szewczyk i wsp., 1999, praca niepublikowana).

W przedstawionych badaniach u samic narażanych na MCPA w stężeniu 2450 ppm stwierdzono pozorny wzrost liczby neutrocytów. Zmiana ta wydaje się być konsekwencją przesunięcia w składzie odsetkowym krwinek białych u samic, będącej skutkiem reakcji fizjologicznej zwierząt na ropne zapalenie płuc, a nie wpływem podawanego MCPA. Zaznaczyć należy, że w grupie tej stwierdzono statystycznie istotny wzrost częstości występowania stanów zapalnych płuc.

Przeprowadzone badania mikroskopowe szpiku kostnego nie wykazały szkodliwego działania 2,4-D i MCPA na szpik kostny. Badania z zakresu układu czerwokrwinkowego, białokrwinkowego nie wykazały nieprawidłowości w poszczególnych etapach rozwojowych układu krwiotwórczego. Pojedyncze zmiany statystycznie istotne jakie odnotowano w szpiku kostnym, zarówno u zwierząt narażanych na 2,4-D jak i MCPA, nie potwierdzają się w grupach o wyższym stopniu narażenia oraz nie znajdują swego odzwierciedlenia w badaniach krwi obwodowej, dlatego można je przyjąć za zmiany przypadkowe.

Mając na uwadze doniesienia o możliwości hepatotoksycznego działania kwasów chlorofenoksyoctowych, w badaniach własnych, po zakończeniu 90 – dniowego narażenia na oceniane ksenobiotyki, w osoczu zwierząt oznaczono aktywność aminotransferazy asparaginianowej, aminotransferazy alaninowej i fosfatazy zasadowej, jako markerów uszkodzenia wątroby. Niezależnie od zastosowanego w badaniach stężenia 2,4-D i MCPA nie

stwierdzono zmian w aktywnościach ocenianych enzymów, co świadczy o braku działania hepatotoksycznego obu herbicydów w badanych stężeniach. Oceniane markery hepatotoksycznego działania należą do enzymów cytozolowych, których aktywność we krwi wzrasta w momencie uszkodzenia hepatocyta. Brak działania hepatotoksycznego obu kwasów został potwierdzony badaniami histopatologicznymi wątroby. W narządzie tym stwierdzono jedynie zaburzenia w krążeniu, zmiany postępowe i zapalne. Zmiany te nie są zależne od podawanych substancji, ponieważ częstość występowania tych zmian była podobna, zarówno w grupach narażonych jak i grupach kontrolnych.

Uzyskane wyniki przemawiające za brakiem działania hepatotoksycznego są zgodne z badaniami innych autorów, którzy, nie wykazali zmian w aktywnościach tych enzymów po 90 - dniowym narażeniu na 2,4-D w paszy w dawce 300 mg/kg m.c./dzień (Charles i wsp., 1996) oraz po 30 - dniowym narażeniu na 2,4-D w paszy w stężeniu 100 ppm (Aydin i wsp., 2006).

Odmienne, niż prezentowane w niniejszej pracy efekty działania 2,4-D stwierdzono w badaniach przeprowadzonych przez Paulino i wsp. (1996), którzy po 30 - dniowym narażeniu szczurów na 2,4-D w postaci soli dimetyloaminowej (2,4-D DMA) w stężeniu 200 ppm w wodzie, stwierdzili wzrost aktywności aminotransferazy asparaginianowej. Wydłużenie narażania zwierząt do 180 dni spowodowało wzrost aktywności aminotransferazy asparaginianowej i dodatkowo fosfatazy zasadowej.

Odmienne niż w badaniach własnych, wzrost aktywności enzymów wątrobowych tj. aminotransferazy asparaginianowej, aminotransferazy alaninowej oraz fosfatazy zasadowej po 90-dniowym narażeniu na MCPA w stężeniu 2500 ppm stwierdzili Mellert i wsp. (1994).

W niniejszej pracy, powtarzane podawanie 2,4-D w stężeniu 600 ppm (samice) oraz 2400 ppm (samce i samice) wywołało wzrost poziomu globulin. Ponadto, u samic narażanych na 2,4-D w stężeniach 600 ppm oraz 2400 ppm stwierdzono zmniejszony stosunek albuminy/globulin. U samców narażanych na 2,4-D w stężeniu 2400 ppm stwierdzono wzrost stężenia białka całkowitego. Nie stwierdzono jednak zmian w stężeniu albuminy, czyli frakcji białek w większości syntetyzowanych w wątrobie.

W prezentowanej pracy, powtarzane podawanie MCPA jedynie w stężeniu 2450 ppm spowodowało u samic statystycznie istotnie wzrost stężenia globulin oraz statystycznie

istotny spadek stosunku albuminy/globulin u samic. U samców nie stwierdzono żadnych zmian.

Narażanie na 2,4-D i MCPA wywołało u zwierząt niewielkie zaburzenia w gospodarce lipidowej ujawniające się wzrostem stężenia cholesterolu całkowitego. U samic otrzymujących 2,4-D analiza statystyczna wykazała statystycznie istotny wzrost stężenia cholesterolu jedynie po narażeniu na ten związek w stężeniu 600 ppm. Natomiast u zwierząt narażanych na MCPA statystycznie istotny wzrost poziomu cholesterolu stwierdzono u samców otrzymujących ten związek w stężeniu 2450 ppm.

W badaniach własnych u samic narażanych na 2,4-D w stężeniach 600 ppm oraz 2400 ppm stwierdzono wzrost stężenia sodu, co może być związane z zaburzeniami gospodarki wodnej i sodowej. Biorąc pod uwagę jednoczesny spadek poziomu hemoglobiny i hematokrytu u samic narażanych na 2,4-D w stężeniu 2400 ppm, można przypuszczać, że następuje przewodnienie hipertoniczne. Wzrost poziomu sodu obserwowany jest przy zaburzeniach czynności nerek. Ponieważ poziom markerów nerkowych tzn. azotu mocznika i kreatyniny nie uległy podwyższeniu w tych grupach, dlatego można przypuszczać, że wzrost poziomu sodu nie jest związany z zaburzeniami w funkcjonowaniu tego narządu.

W ocenie toksykologicznej 2,4-D i MCPA obok wątroby, na uwagę zasługują nerki, które odgrywają szczególną rolę w usuwaniu kwasów chlorofenoksyoctowych z organizmu. Po 90 - dniowym narażeniu na 2,4-D nie stwierdzono wzrostu poziomu azotu mocznika i kreatyniny, parametrów wskazujących na zaburzenia pracy nerek. Odmiennie, po podaniu MCPA, wzrost tych wskaźników stwierdzono w grupie zwierząt narażanych na najwyższe z zastosowanych stężeń (2450 ppm). Podwyższone poziomy azotu mocznika u samców i samic oraz wzrost stężenia (bez istotności statystycznej) kreatyniny u samców w tej grupie może wskazywać na zaburzenia funkcji nerek. Podobne wyniki uzyskali Ravenzwaay i wsp., (2005), którzy po zakończeniu podawania przez 28 dni MCPA w stężeniu 2000 ppm stwierdzili u zwierząt wysokie poziomy kreatyniny wskazujące na dysfunkcję nerek.

W niniejszej pracy, zarówno u zwierząt narażanych na 2,4-D, jak i na MCPA, stwierdzono statystycznie istotne różnice w masach bezwzględnych i względnych ocenianych narządów wewnętrznych.

U samców narażanych na 2,4-D we wszystkich grupach stwierdzono statystycznie istotny spadek masy bezwzględnej płuc. Natomiast statystycznie istotny spadek masy



względnej płuc stwierdzono u samców narażanych na 2,4-D w stężeniach 600 ppm i 2400 ppm. Zmiany te wydają się nie być skutkiem działania podawanego 2,4-D ale wysoką masą tego narządu u dwóch zwierząt grupy kontrolnej. W badaniach patomorfologicznych u tych zwierząt stwierdzono zapalenie ropne płuc. Ze zmianami ropnymi płuc związany jest wzrost masy tego narządu, co w konsekwencji podwyższyło średnią masę tego narządu w grupie i zafałszowało analizę statystyczną, która wykazała statystycznie istotnie mniejszą masę bezwzględną płuc we wszystkich grupach narażanych oraz mniejszą masę względną w grupach narażanych na 2,4-D w stężeniu 600 ppm i 2400 ppm. Ze względu na wystąpienie u dwóch zwierząt zmian ropnych w płucach, przeprowadzona ponownie analiza statystyczna wyników z wykluczeniem mas płuc zwierząt chorych nie wykazała zmian statystycznie istotnych, zarówno w masach względnych jak i bezwzględnych płuc badanych zwierząt.

U samic narażanych na 2,4-D w najwyższym stężeniu stwierdzono statystycznie istotny spadek masy bezwzględnej serca, wątroby, śledziony, nerek, grasicy i nadnerczy oraz masy względnej grasicy. W tej grupie zwierząt stwierdzono również statystycznie istotnie mniejszą masę ciała, stąd też zmiany w masach poszczególnych narządów są prawdopodobnie tego konsekwencją.

Odmienne niż prezentowane w niniejszej pracy, efekty działania 2,4-D wykazali Charles i wsp. (1996). Po 13 tygodniowym podawaniu zwierzętom 2,4-D w paszy stwierdzili wzrost masy względnej tarczycy i wątroby u samców po podaniu dawki 100 mg/kg m.c./dzień natomiast u samic po podaniu dawki 300 mg/kg m.c./dzień oraz wzrost masy nerek u samców po podaniu dawki 15 mg/kg m.c./dzień a u samic po podaniu dawki 100 mg/kg m.c./dzień.

W badaniach własnych u zwierząt narażanych na MCPA, zależnie od płci stwierdzono istotne statystycznie różnice w masach bezwzględnych niektórych narządów wewnętrznych. U samców narażanych na MCPA w stężeniu 700 ppm oraz 2450 ppm stwierdzono statystycznie istotny spadek masy serca. Masy wątroby były obniżone u samców wszystkich grup narażonych zwierząt, niemniej różnice statystycznie znamienne stwierdzono w stężeniu 200 ppm oraz 2450 ppm. Masa śledziony była obniżona u samców narażanych na stężenie 2450 ppm, natomiast masy jąder u samców narażanych na MCPA w stężeniach 700 ppm. Ponadto, stwierdzono statystycznie istotny wzrost masy tarczycy u samców narażanych na MCPA w stężeniu 2450 ppm oraz masy nadnerczy u samców narażanych na MCPA w stężeniu 200 ppm i 2450 ppm.

U samic narażonych na MCPA w stężeniu 700 ppm stwierdzono statystycznie istotne zmniejszenie masy bezwzględnej śledziony. Narażenie na najwyższe z badanych stężeń (2450 ppm) spowodowało natomiast obniżenie bezwzględnej masy nerek i nadnerczy. Masa jajników była obniżona u samic narażanych na MCPA w stężeniach 200 ppm oraz 2450 ppm. Ponadto, u samic narażanych na MCPA w stężeniu 2450 ppm, podobnie jak u samców stwierdzono statystycznie istotny wzrost masy tarczycy.

Analizując masy względne narządów wewnętrznych zwierząt narażonych na MCPA, po podaniu najwyższego z badanych stężeń (2450 ppm) stwierdzono wzrost masy mózgu i tarczycy u samców i samic oraz wątroby u samic. U samców stwierdzono dodatkowo wzrost masy względnej śledziony i nadnerczy (200 ppm) oraz grasicy (700 ppm).

Stwierdzone zmiany w masach bezwzględnych oraz względnych narządów wewnętrznych zwierząt narażanych dotyczyły zarówno wzrostu jak i spadku masy. Wystąpiły u zwierząt narażanych na różne stężenia badanych substancji. Zjawisko to jest trudne do zinterpretowania, ponieważ w wielu wypadkach nie ma zależności od wielkości narażenia. Jest to związane najprawdopodobniej z faktem zróżnicowanego osobniczo przyrostu masy ciała, mimo, że na początku doświadczenia zwierzęta zostały dobierane w możliwie wąskim przedziale wiekowym o zbliżonej wyjściowej masie ciała. Masy ciała oraz narządów u poszczególnych zwierząt mogą różnić się na tyle, że ich średnie mogą wykazywać różnice statystycznie istotne. Ponadto, u wszystkich zwierząt narażanych na najwyższe stężenie badanych substancji stwierdzono mniejszą masę ciała, co również znalazło odzwierciedlenie, głównie w bezwzględnych i w mniejszym stopniu względnych masach narządów. W badaniach toksykologicznych różnych związków chemicznych przy ich wielokrotnym podawaniu często stwierdzane są różnice statystycznie istotne, w bezwzględnej i względnej masie narządów wewnętrznych w porównaniu do grupy kontrolnej.

W badaniach histopatologicznych zwierząt narażanych na 2,4-D stwierdzono zmiany o charakterze zaburzeń w krążeniu, zmian postępowych i zapalnych. Tego typu zmiany, o podobnym nasileniu, występowały zarówno u zwierząt kontrolnych jak i narażanych, co wskazuje, że są one spowodowane działaniem innego czynnika niż badane substancje chemiczne. W badaniach własnych, po zakończeniu 13-tygodniowego narażania zmiany zapalne w płucach stwierdzono jedynie u zwierząt z grupy kontrolnej. Ponieważ infekcje dróg oddechowych ze zmianami zapalnymi występują często u szczurów laboratoryjnych (Tucker,



1997; Richardson, 2004), fakt ten odnotowano, pozostawiając zwierzęta w dalszych procedurach badawczych.

Odmienne, Charles i wsp. (1996) wykazali w badaniu histopatologicznym zmiany w nadnerczach oraz wątrobach zwierząt, którym podawano przez 13 tygodni 2,4-D w dawce 100 mg/kg m.c/dzień.

W badaniach histopatologicznych zwierząt narażanych na MCPA, podobnie jak u zwierząt narażanych na 2,4-D, stwierdzono zmiany o charakterze zaburzeń w krążeniu, zmian postępowych i zapalnych. Zaburzenia w krążeniu miały postać przekrwienia, krwinkotoków, wylewów, obrzęków i złogów hemosyderyny. Nasilenie zmian było podobne u szczurów grup narażanych i grupy kontrolnej, co wskazuje, że zostały wywołane przez czynnik niezwiązany z podawaną substancją. Odmienne, nasilenie zmian postępowych w płucach zwierząt narażanych na MCPA w najwyższym stężeniu, było większe niż w pozostałych grupach, co pozwala je wiązać z podawaniem badanej substancji. Zmiany rozrostowe tarczycy wystąpiły w podobnym nasileniu u szczurów grupy kontrolnej jak i narażanej. Biorąc jednak pod uwagę masę względną tarczycy, największy rozrost występował u zwierząt otrzymujących MCPA w stężeniu 2450 ppm. Zmiany zapalne obserwowano w płucach i w mięśniu sercowym. Ponieważ stwierdzono statystycznie istotnie większą częstość występowania zmian zapalnych w płucach u zwierząt narażanych na MCPA w najwyższym stężeniu, można przypuszczać, że związek ten w wysokich stężeniach prawdopodobnie prowadzi do spadku odporności u badanych zwierząt, a tym samym umożliwia szybsze działanie występujących w środowisku czynników infekcyjnych.

W niniejszych badaniach, celem wstępnej oceny funkcjonowania układu nerwowego narażanych zwierząt, zastosowano techniki badań behawioralnych. Układ nerwowy może być układem docelowym dla działania kwasów chlorofenoksyoctowych, ponieważ związki te mają możliwość przenikania przez barierę krew – mózg, gdyż wywołują uszkodzenia błon plazmatycznych, powodując tym samym zmiany w ich przepuszczalności. MCPA, w porównaniu do 2,4-D, wykazuje mniejszą zdolność do indukowania uszkodzeń naczyńiowo – mózgowych (Elo i wsp., 1988; Tyynelä i wsp., 1990). Herbicydy chlorofenoksyoctowe wywołują zmiany w układzie nerwowym m.in. poprzez naruszenie transportu błonowego. Nasycenie nimi systemu transportu anionów organicznych uniemożliwia usuwanie

toksycznych anionów z mózgu, powodując ich akumulację (Tyynelä i wsp., 1990; Elo i MacDonald, 1989).

Mimo doniesień o możliwym wpływie badanych substancji na układ nerwowy, w przeprowadzonych badaniach behawioralnych nie wykazano znaczących nieprawidłowości w funkcjonowaniu układu nerwowego. W wyniku przeprowadzonych w trakcie narażania oraz po jego zakończeniu szczegółowych obserwacji klinicznych oraz obserwacji zwierząt w otwartym polu u badanych zwierząt nie stwierdzono objawów muskarynowych (osłabienie, łzawienie, ślinienie, niepokój), nikotynowych (biegunki, trudności w koordynacji ruchowej) ani objawów ośrodkowych (śpiączka) po podaniu każdej z badanych substancji w żadnym z zastosowanych stężeń. Nie stwierdzono również opóźnionego działania neurotoksycznego w postaci porażenia kończyn dolnych, niezdolności ruchów, zaburzenia czucia i porażenia ogólnego.

Wyniki badań przedstawionych w niniejszej pracy wskazują, że powtarzane podanie 2,4-D, w przeciwieństwie do MCPA, powoduje w najwyższym z badanych stężeń wzrost aktywności ruchowej poziomej w otwartym polu samic narażanych na ten herbicyd. Ogólna aktywność ruchowa odzwierciedla nie tylko krótkoterminowy i długoterminowy wpływ podawanej substancji na układ motoryczny, ale również wpływ na przekąźnictwo katecholoaminoergiczne oraz serotonergiczne (Oliveria i wsp., 1993). Ponieważ w trakcie obserwacji zwierząt w otwartym polu stwierdzono, obok wzrostu aktywności ruchowej, wzrost rozbudzenia u kilku zwierząt otrzymujących 2,4-D w najwyższym stężeniu, to uzyskane wyniki mogą wskazywać na nadstymulację dopaminergicznego przekąźnictwa nerwowego, objawiającą się nadaktywnością ruchową i związaną z nią utratą uwagi (Staller i wsp., 2007). W badaniach własnych aktywność ruchowa zwierząt mierzona w czasie 0-30 min nie uległa zmianie. Ponadto, aktywność ruchowa zwierząt narażanych na 2,4-D w pierwszych 10 minutach pomiaru 30 minutowego kształtowała się na poziomie grupy kontrolnej. Brak zmian w aktywności ruchowej zwierząt, mierzonej w czasie 0-30 minut, nie potwierdza wzrostu aktywności poznawczej wskazującej na psychostymulujące działanie tej substancji. Jednocześnie należy podkreślić, że u zwierząt tych nie stwierdzono żadnych stereotypowych i agresywnych zachowań, które wskazywałyby również na stymulację układu nerwowego.

Odmienne wyniki uzyskali Oliveria i wsp. (1993), którzy po jednokrotnym doustnym podaniu 2,4-D w postaci estru dimetyloaminowego w dawkach 100 mg/kg m.c., 200 mg/kg m.c. oraz 300 mg/kg m.c. w badaniach zachowania się szczurów (samców) w otwartym polu wykazali spadek aktywności ruchowej, liczby wzniesień na tylnych łapach, a także wydłużenie czasu pozostawania w bezruchu. Obserwowane zaburzenia w zachowaniu się zwierząt wiązały ze zmianami w poziomie serotoniny (5-HT), a dokładniej z obniżeniem jej wytwarzania. Zmniejszony poziom serotoniny w mózgu stwierdzono już po podaniu dawki 100 mg/kg m.c. Ponadto po podaniu dawki 200 mg/kg m.c. stwierdzono wzrost stężenia kwasu 5-hydroksyindolooctowego (5-HIAA), produktu rozkładu serotoniny w mózgu. Jednocześnie w przeprowadzonych przez tych autorów badaniach nie stwierdzono wpływu 2,4-D na poziom dopaminy i kwasu homowaniliowego (HVA) w mózgu. Wyniki przeprowadzonych przez tych autorów badań wskazują na modyfikację aktywności serotoniny (5-HT) w centralnym systemie nerwowym pod wpływem 2,4-D.

Podobne do wyżej wymienionych, zmiany behawioralne stwierdzono po jednorazowym podaniu wysokich dawek estru butylowego 2,4-D (150 mg/kg m.c./dzień). U zwierząt obserwowano zmniejszony poziom aktywności ruchowej oraz utratę koordynacji ruchowej. O ile brak koordynacji ruchowej wiąże się z działaniem n-butanolu, powstającego po rozpadzie estru butylowego, to wpływ na aktywność ruchową tłumaczony jest skutkiem działania samego 2,4-D (Schulze, 1988; Schulze i wsp., 1988).

Opisane powyżej zmiany w zachowaniu się zwierząt powstały na skutek jednorazowego podania 2,4-D. W prezentowanej pracy zwierzętom wielokrotnie podawano w paszy 2,4-D w stężeniu 2400 ppm, co odpowiada dawce 120 mg/kg m.c./dzień. Biorąc pod uwagę wyniki badań uzyskanych przez Oliveria, i wsp. (1993), Schulze, (1988) oraz Schulze i wsp. (1988), również w badaniach własnych można by oczekiwać zmian w zachowaniu się zwierząt, tym bardziej, że czas narażenia był znacznie dłuższy. Należy zwrócić uwagę na fakt, że zwierzęta pobierały wystarczająco wysoką dawkę 2,4-D, która jednak w odróżnieniu od podania jednorazowego, była pobierana przez zwierzęta stopniowo w ciągu całej doby. Stąd też prawdopodobnie nie obserwowano zmian w zachowaniu się zwierząt.

Charakterystycznymi objawami silnego zatrucia 2,4-D u ssaków są: osłabienie mięśni, sztywność, zataczanie się oraz skurcze mięśniowe. Mechanizm działania toksycznego 2,4-D na komórki mięśniowe jest złożony i obejmuje zaburzenia takie jak: zmiany poziomu potasu,

stabilności błon plazmatycznych czy przepływu chlorków. Zanotowano również przesunięcia miejsc wiążących wapń, zmiany potencjałów elektrycznych w komórkach mięśniowych i nerwowych oraz zwyrodnienia strukturalne i ultrastrukturalne w mitochondriach komórek mięśniowych (Iyer i wsp., 1981; Dux i wsp., 1977; Danon i wsp., 1978).

Przeprowadzone badania własne wykazały obniżenie siły chwytności kończyn przednich u samic otrzymujących 2,4-D. Zmiana ta wystąpiła po 13 tygodniach we wszystkich grupach narażanych, niezależnie od zastosowanego stężenia. Jednocześnie nie stwierdzono zmian w sile chwytności kończyn tylnych. Squibb i wsp. (1983) donoszą o miotoksycznym działaniu 2,4-D objawiającym się wzrostem siły chwytności kończyn przednich i tylnych. Wzrost siły chwytności kończyn wyjaśniają zjawiskiem miotonii indukowanej przez 2,4-D, która charakteryzuje się trudnościami w rozkurczu mięśni szkieletowych po wcześniejszym silnym ich skurczu. Wyniki niniejszej pracy wskazują na obniżenie siły chwytności kończyn po powtarzonym narażeniu szczurów na 2,4-D. Wyniki pomiaru siły chwytności kończyn przednich samic we wszystkich narażanych grupach były bardzo zbliżone pomimo różnic w wielkości narażenia na 2,4-D. Zastanawiające jest to, że pomimo wyników wskazujących na osłabienie mięśni kończyn przednich, trakcie 30 - minutowego pomiaru, nie stwierdzono mniejszej aktywności ruchowej u tych zwierząt, zarówno w przebytej drodze jak i w liczbie wzniesień. Ponadto, w trakcie obserwacji zwierząt nie stwierdzono zaburzeń w koordynacji ruchowej oraz postawie ciała. Należy podkreślić, że również w przeprowadzonych badaniach histopatologicznych nie stwierdzono zmian w mięśniach. Biorąc pod uwagę wyniki obserwacji zwierząt, pomiaru siły chwytności kończyn, pomiaru aktywności ruchowej zwierząt oraz wyniki badań histopatologicznych można przypuszczać, że stwierdzona statystycznie istotnie mniejsza siła chwytności kończyn najprawdopodobniej jest zmianą przypadkową, a 2,4-D w zastosowanych stężeniach nie powoduje zmian o charakterze miotoksycznym.

Wyniki badań własnych wykazały przejściowe osłabienie siły chwytności kończyn tylnych, które wystąpiło w 6 tygodniu doświadczenia u samców otrzymujących MCPA w najwyższym stężeniu. Zmiana ta prawdopodobnie nie jest wywołana bezpośrednim wpływem MCPA na mięśnie, natomiast może być wynikiem ogólnego osłabienia zwierząt u których stwierdzono mniejszy przyrost masy ciała. W badaniach przeprowadzonych przez Mellert i wsp. (1994) u samców otrzymujących przez 90 dni MCPA w dawce 177 mg/kg m.c./dzień stwierdzono mniejszą siłę chwytności kończyn przednich w 50 dniu

doświadczenia, podczas gdy u samic otrzymujących MCPA w dawce 188 mg/kg m.c./dzień mniejszą siłę chwytności kończyn tylnych stwierdzono pod koniec doświadczenia (85 dzień).

Budowa chemiczna jest podstawowym czynnikiem wpływającym na właściwości związku chemicznego oraz jego szkodliwe działanie. Poddane badaniom dwa związki 2,4-D oraz MCPA, należą do kwasów chlorofenoksyoctowych, różniących się jedynie odmiennym podstawnikiem w pozycji 2 kwasu chlorofenoksyoctowego. 2,4-D w pozycji 2 posiada podstawnik chlorowy, natomiast MCPA - grupę metylową. Z punktu widzenia toksykologii podstawniki w związkach chemicznych można podzielić na zmniejszające lub zwiększające jego toksyczność. Do podstawników zmniejszających toksyczność związku zalicza się między innymi grupę karboksylową, która zwiększa rozpuszczalność związku. Zwiększenie rozpuszczalności warunkuje dobre wydalanie z organizmu. Zarówno podstawnik chlorowy jak i podstawnik metylowy zwiększają działanie toksyczne związków. Chlorowcopochodne węglowodory aromatyczne, których prototypem jest chlorobenzen, są znacznie silniejszymi truciznami w porównaniu z benzenem. Ponadto, im większa liczba podstawników chlorowych, tym większa toksyczność związku. Przykładem tego może być tetrachlorek węgla, który jest bardziej toksyczny niż chlorek metanu. Również liczba podstawników metylowych zwiększa toksyczność. Toluen posiadający jeden podstawnik metylowy jest mniej toksyczny od ksylenu, który posiada dwa podstawniki metylowe. Podobnie, krezol posiadający jeden podstawnik metylowy, wykazuje mniejsze właściwości toksyczne niż ksylenol zawierający dwie grupy metylowe (Jacyszyn, 2002; Bruchajzer, 2006).

Jednym z podstawowych zadań badawczych prowadzonych w niniejszej pracy było porównanie wpływu podstawnika chlorowego i metylowego na toksyczne działanie dwóch pochodnych kwasu chlorooctowego.

Porównując uzyskane wyniki w doświadczeniach po 90 - dniowym narażaniu na 2,4-D lub MCPA można stwierdzić, że zarówno podstawnik chlorowy jak i metylowy w pozycji 2 kwasu chlorofenoksyoctowego zmniejszyły przyrost masy ciała zwierząt narażanych na badane związki w najwyższych zastosowanych stężeniach. Narażanie na MCPA w stężeniu 2450 ppm, w większym stopniu niż 2,4-D hamowało przyrost masy ciała, zarówno u samców jak i samic, podczas gdy podawanie 2,4-D w stężeniu 2400 ppm hamowało przyrost masy ciała jedynie u samic.

U zwierząt narażanych na 2,4-D lub MCPA w najwyższych zastosowanych stężeniach stwierdzono zmiany w parametrach hematologicznych. Zmiany te wystąpiły jedynie u samic. Podawanie 2,4-D wywołało zmiany w większej liczbie parametrów w porównaniu do MCPA. Oba związki wpłynęły na obniżenie stężenia hemoglobiny. Natomiast 2,4-D, związek posiadający dwa podstawniki chlorowe, dodatkowo spowodował obniżenie wartości hematokrytu oraz liczby krwinek czerwonych i krwinek białych. Badania przeprowadzone przez Bukowską (2008) wykazały, że MCPA wykazuje mniejsze właściwości prooksydacyjne w stosunku do erytrocytów niż 2,4-D. Zarówno wyniki prezentowanej pracy, jak również Bukowskiej (2008) wskazują, że MCPA wykazuje słabsze oddziaływanie na elementy morfotyczne krwi niż 2,4-D.

Wyniki badań enzymatycznych oraz badań histopatologicznych wątroby wykazały, że oba badane kwasy chlorofenoksyoctowe w zastosowanych stężeniach nie wywołują zmian w tym narządzie, co wskazuje, że obecność różnych podstawników nie determinuje ich właściwości hepatotoksycznych.

Wyniki badań biochemicznych dowodzą natomiast, że narażenie na każdy z badanych związków może prowadzić do zaburzeń w gospodarce białkowej. 2,4-D w porównaniu z MCPA w większym stopniu zakłócało gospodarkę białkową u zwierząt. Narażanie na 2,4-D wywołało wzrost poziomu globulin u samic w stężeniu 600 ppm oraz u samców i samic w stężeniu 2400 ppm. Ponadto, u samic w wyżej wymienionych stężeniach, stwierdzono obniżenie stosunku albumin do globulin. U samców narażanych na stężenie 2400 ppm stwierdzono wzrost białka całkowitego. W gospodarce białkowej zwierząt narażanych na MCPA, w odróżnieniu od zwierząt narażanych na 2,4-D, stwierdzono zmiany jedynie u samic otrzymujących badaną substancję w najwyższym stężeniu. MCPA, podobnie jak 2,4-D spowodował wzrost poziomu globulin oraz obniżenie stosunku albumin do globulin.

Oba związki mogą powodować zaburzenia w gospodarce lipidowej. U zwierząt narażanych na 2,4-D jak i na MCPA stwierdzono wzrost stężenia cholesterolu całkowitego. We wszystkich grupach samic narażonych na 2,4-D stężenie cholesterolu całkowitego było podwyższone, niemniej różnice statystycznie istotne wykazano jedynie po narażeniu na 600 ppm. Natomiast u samców narażonych na 2,4-D w stężeniu 600 ppm i 2400 ppm stwierdzono nieistotne statystycznie wyższe wartości cholesterolu całkowitego. Po 90-



dniowym narażania zwierząt na MCPA stężenie cholesterolu całkowitego było statystycznie istotnie wyższe jedynie u samców narażonych na najwyższe stężenie MCPA (2450 ppm).

Z przeprowadzonych badań wynika, że 2,4-D, w odróżnieniu od MCPA, może wywoływać zaburzenia w gospodarce wodnej i sodowej. Wzrost poziomu sodu u samic narażanych na stężenie 600 ppm oraz 2400 ppm oraz zmiany w poziomie hemoglobiny oraz hematokrytu mogą wskazywać na zaburzenia w gospodarce wodnej i sodowej.

MCPA, w odróżnieniu od 2,4-D, może natomiast powodować dysfunkcję nerek. U samców i samic narażanych na MCPA w stężeniu 2450 ppm stwierdzono wzrost azotu mocznika. Jednocześnie stwierdzony w tych grupach podwyższony poziom kreatyniny może świadczyć o zaburzeniach pracy nerek u tych zwierząt. Obecność grupy metylowej w MCPA zmniejsza rozpuszczalność tego związku w wodzie i może wydłużać jego eliminację z organizmu, powodując że jest on dłużej dostępny dla organizmu. Wydłużenie okresu eliminacji MCPA z organizmu w rezultacie może być przyczyną szkodliwości tego związku dla nerek w odróżnieniu od 2,4-D.

Wyniki badań patomorfologicznych wykazały, że 90-dniowe narażenie na 2,4-D zmniejsza masę względną grasicy, podczas gdy po narażeniu na MCPA u zwierząt stwierdzono wzrost masy względnej mózgu, tarczycy i wątroby. Przeprowadzone badania histopatologiczne nie ujawniły jednak w narządach wewnętrznych zmian zależnych od podawanego 2,4-D. Odmienne, z podawaniem MCPA w najwyższym stężeniu, wiązano natomiast zmiany postępowe w płucach, rozrost tarczycy, a także zmiany zapalne w płucach i w mięśniu sercowym. Biorąc pod uwagę wyniki masy narządów, narządami szczególnie wrażliwymi na działanie MCPA są nerki, płuca, wątroba i tarczyca.

MCPA w porównaniu do 2,4-D wykazuje mniejszą zdolność do indukowania uszkodzeń naczyniowo – mózgowych (Elo i wsp., 1988, Tyynelä i wsp., 1990), a w związku z tym może w mniejszym stopniu prowadzić do zmian w układzie nerwowym. Przeprowadzone badania zachowania się zwierząt wykazały jedynie wzrost aktywności ruchowej samic narażanych na 2,4-D w stężeniu 2400 ppm, podczas gdy MCPA nie wywołuje analogicznych zmian. Oba związki nie spowodowały zmian w zachowaniu się zwierząt, które mogłyby wskazywać na zaburzenia w funkcjonowaniu układu nerwowego.

W oparciu o wyniki uzyskane w przeprowadzonych badaniach toksyczności przy powtarzonym 90 – dniowym narażeniu na 2,4-D i MCPA wyznaczono najwyższe stężenia,

przy których nie stwierdza się wzrostu częstości lub nasilenia skutków szkodliwych (NOAEL). Wartości NOAEL stanowią podstawę do ustalenia toksykologicznych wartości referencyjnych takich jak: ADI czy NDP. Ponieważ toksykologiczne wartości referencyjne wyrażane są w jednostce mg/kg m.c. zachodzi konieczność przeliczenia zastosowanych stężeń badanych substancji w paszy na dawki wyrażone w mg badanej substancji kg m.c. zwierzęcia. W trakcie przeliczenia stosuje się współczynnik 20 rekomendowany przez Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Repeated Dose Toxicity Study (2000) uwzględniający użyty w badaniu gatunek zwierząt.

Opierając się na przedstawionych w niniejszej pracy wynikach badań stwierdzono, że 90-dniowe narażenie na 2,4-D w stężeniu 150 ppm nie wywołuje istotnych zmian w badanych parametrach. Zastosowanie czterokrotnie wyższego stężenia tj. 600 ppm spowodowało wystąpienie zmian w parametrach biochemicznych, w masie narządów wewnętrznych wskazujących na szkodliwy wpływ 2,4-D na szczura. W związku z powyższym wyznaczona dla 2,4-D wartość NOAEL wynosi 7,5 mg/kg m.c./dzień. Wyjaśnienia wymagają ewentualne działania immunotoksyczne oraz miotoksyczne 2,4-D. W tym celu niezbędne jest przeprowadzenie bardziej szczegółowych dalszych badań, które potwierdzą lub wykluczą takie działanie. Wyznaczona w badaniach własnych wartość NOAEL dla 2,4-D jest dwukrotnie niższa od wartości NOEL wyznaczonej w badaniach toksyczności przy powtarzanym 90 dniowym podawaniu doustnym 2,4-D przeprowadzonych przez Charles i wsp. (1996), ustalonej na poziomie 15 mg/kg/dzień. W badaniach tych po zastosowaniu wyższego poziomu dawkowania (100 mg/kg/dzień) u samców stwierdzono mniejszą średnią masę ciała, obniżoną liczbę płytek krwi oraz obniżony poziom T4, wyższą masę względną tarczycy, nerek, wątroby a także przerost kory nadnerczy. Ponadto u samic stwierdzono mniejszą liczbę płytek krwi, obniżony poziom T3 i T4, a także wzrost masy względnej nerek.

W przeprowadzonych badaniach własnych stwierdzono, że 90-dniowe narażenie na MCPA w stężeniu 700 ppm nie wywołuje istotnych zmian. Natomiast po narażeniu zwierząt na MCPA w stężeniu 2450 ppm stwierdzono zmiany w parametrach hematologicznych, biochemicznych, masie ciała oraz masie niektórych narządów wewnętrznych. W związku z powyższym wyznaczona dla MCPA wartość NOAEL wynosi 35 mg/kg m.c./dzień.

W badaniach toksyczności przy powtarzanym 90-dniowym podawaniu doustnym MCPA przeprowadzonych przez Mellert i wsp. (1994) ustalono wartość NOAEL na poziomie



500 ppm. W badaniu tym, w grupie o wyższym poziomie narażenia stwierdzono następujące zmiany: mniejszą masę ciała i wolniejszy przyrost masy ciała, zmiany patologiczne w wątrobie, zmiany w parametrach biochemicznych i hematologicznych, zmiany w aktywności ruchowej oraz atrofię jąder.

Podsumowując, w świetle uzyskanych wyników badań własnych i wyznaczonych wartości NOAEL, wynoszących 7,5 mg/kg m.c. dla 2,4-D oraz 35 mg/kg m.c. dla MCPA, można wnioskować, że podstawnik chlorowy w pozycji 2 kwasu chlorofenoksyoctowego, w większym stopniu niż podstawnik metylowy, wpływa na kierunek i toksyczne działanie związku. Również wyznaczone wartości bezpiecznych poziomów narażenia (NOAEL, NOEL) w badaniach innych autorów wydają się potwierdzać tę hipotezę (NOEL dla 2,4-D wynosił 15 mg/kg/dzień, Charles i wsp., 1996 oraz NOAEL dla MCPA wynosił 500 ppm, Mellert i wsp., 1994).

## 7. WNIOSKI

1. 2,4-D i MCPA w żadnym z zastosowanym stężeniu nie wpływają na śmiertelność narażonych zwierząt.
2. 2,4-D oraz MCPA w zastosowanych stężeniach nie wpływają istotnie na częstość występowania objawów klinicznych.
3. 2,4-D (2400 ppm) i MCPA (2450 ppm) zmniejszają przyrost masy ciała narażanych zwierząt.
4. 2,4-D (2400 ppm) i MCPA (2450 ppm) wpływają na parametry hematologiczne u samic. 2,4-D obniża poziom hemoglobiny, hematokrytu oraz liczbę erytrocytów i leukocytów. MCPA obniża stężenie hemoglobiny.
5. 2,4 – D (150 ppm i 600 ppm) zwiększył liczbę eozynocytów, co może świadczyć o jego właściwościach uczulających.
6. 2,4-D i MCPA w badanych stężeniach nie działają hepatotoksycznie.
7. 2,4-D (600 ppm u samic oraz 2400 ppm u samców i samic) powoduje wzrost poziomu globulin oraz zmniejsza w tych stężeniach u samic stosunek albumin/globulin. MCPA (2450 ppm) podwyższa u samic poziom globulin oraz obniża stosunek albuminy/globulin.
8. 2,4-D (600 ppm u samic) i MCPA (2450 ppm u samców) powodują niewielkie zaburzenia w gospodarce lipidowej ujawniające się wzrostem poziomu cholesterolu.
9. 2,4-D w żadnym z badanych stężeń nie zaburza funkcji nerek; MCPA wykazuje takie działanie u samic i samców narażonych na 2450 ppm.
10. 2,4-D i MCPA powodują zmiany w masach względnych niektórych narządów wewnętrznych. 2,4-D (2400 ppm) spowodował spadek masy względnej grasicy u samic natomiast płuc u samców (600 ppm, 2400 ppm). MCPA (2450 ppm) zwiększał masę mózgu u samców, tarczycy u samic i samców oraz masę wątroby u samic.
11. 2,4-D nie powoduje zmian histopatologicznych w narządach wewnętrznych; z podawaniem MCPA (2450 ppm) związane są zmiany postępowe w płucach, rozrost tarczycy, a także zmiany zapalne w płucach i w mięśniu sercowym.
12. 2,4-D i MCPA w żadnym z badanych stężeń nie powodują zmian w zachowaniu się zwierząt wskazujących na działanie neurotoksyczne.

- 
13. MCPA w zastosowanych stężeniach nie powoduje zmian o charakterze miotoksycznym. Możliwość miotoksycznego działania 2,4-D wymaga przeprowadzenia dalszych badań.
  14. Podstawnik chlorowy w pozycji 2 kwasu chlorofenoksyoctowego (2,4-D), w większym stopniu niż podstawnik metylowy (MCPA), wpływa na kierunek i szkodliwe działanie związku.
  15. Wyznaczony w badaniu toksyczności na szczurach przy powtarzanym 90-dniowym podawaniu doustnym poziom bez obserwowanego działania szkodliwego (NOAEL) dla 2,4-D wynosi 7,5 mg/kg m.c./dzień
  16. Wyznaczony w badaniu toksyczności na szczurach przy powtarzanym 90-dniowym podawaniu doustnym poziom bez obserwowanego działania szkodliwego (NOAEL) dla MCPA wynosi 35 mg/kg m.c./dzień.

## 8. STRESZCZENIE

W dostępnych na rynku polskim preparatach chwastobójczych powszechnie wykorzystuje się, jako substancje aktywne, kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) oraz kwas 4-chloro-2-metylofenoksyoctowy (MCPA). Szeroka skala stosowania obu związków stwarza potencjalne niebezpieczeństwo wystąpienia niekorzystnych skutków dla zdrowia człowieka i dla środowiska. W związku z powyższym niezbędna jest ocena ryzyka narażenia na 2,4-D i MCPA, zarówno w odniesieniu do narażenia zawodowego osób produkujących oraz stosujących środki ochrony roślin jak i konsumentów narażonych na pozostałości substancji czynnych w wodzie i żywności. Obydwa związki poddane zostały wielu badaniom toksykologicznym, jednak większość dotychczas przeprowadzonych badań była oparta o niejednorodne metody badawcze utrudniające interpretację uzyskanych wyników. Ponadto badane uprzednio substancje, produkowane wg starych technologii, zawierały znacznie wyższy poziom zanieczyszczeń, a także niższą zawartość składników czynnych, co mogło istotnie wpłynąć na ich właściwości toksykologiczne.

Nowa jakość produkowanych 2,4-D i MCPA oraz możliwość zastosowania w badaniach toksykologicznych ujednoliconych wytycznych OECD (408 i 424) stanowiły podstawę do przeprowadzenia badań toksyczności podprzewlekłej, ze szczególnym uwzględnieniem działania neurotoksycznego. Badania przeprowadzono zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej zapewniając tym samym jakość, stabilność oraz porównywalność uzyskanych wyników.

Celem pracy była ocena toksykologiczna 2,4-D i MCPA w badaniu podprzewlekłym umożliwiającym wyznaczenie najwyższego poziomu narażenia, przy którym nie stwierdza się istotnego wzrostu częstości lub nasilenia efektów szkodliwych (NOAEL). Szczególną uwagę zwrócono na wczesne objawy neurotoksyczności. Ponadto, podjęto próbę porównania działania toksycznego obu związków, celem wyjaśnienia czy obecność odmiennego podstawnika w pozycji 2 kwasu chlorofenoksyoctowego wpływa na właściwości toksykologiczne tych związków.

Badania przeprowadzono na 160 szczurach o symbolu Imp: WIST, podzielonych na grupy liczące po 20 samców i 20 samic w każdej. Zwierzętom podawano przez 90 dni w paszy 2,4-D w stężeniach 150 ppm, 600 ppm, 2400 ppm lub MCPA w stężeniach 200 ppm,

700 ppm i 2450 ppm. Zwierzęta grup kontrolnych karmiono paszą nie zawierającą badanych substancji.

W trakcie doświadczenia zwierzęta poddawano szczegółowym obserwacjom klinicznym oraz badaniom czynnościowym (przed pierwszym narażeniem oraz pod koniec drugiego, szóstego, dziesiątego i trzynastego tygodnia narażenia) obejmującym: obserwację zwierząt w otwartym polu, ocenę reakcji czuciowo – ruchowych na bodźce, pomiar siły chwytności kończyn przednich i tylnych oraz pomiar aktywności ruchowej.

Po zakończeniu narażenia w krwi pobranej z serca zwierząt oznaczono liczbę krwinek białych i krwinek czerwonych, płytek krwi, stężenie hemoglobiny, hematokryt oraz wyliczono wskaźniki czerwonekrwinkowe: MCV, MCH, MCHC. W badaniu mikroskopowym oceniono rozmazy krwi obwodowej oraz szpiku kostnego. W osoczu krwi oznaczono stężenia: białka całkowitego, albumin, globulin, cholesterolu całkowitego, azotu mocznika (BUN), kreatyniny, glukozy oraz sodu i potasu. Ponadto oznaczono: aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST), aktywność aminotransferazy alaninowej (ALT), aktywność fosfatazy zasadowej (AP).

Zwierzęta padłe w trakcie doświadczenia oraz wszystkie zwierzęta po zakończeniu doświadczenia poddano szczegółowym badaniom makroskopowym, obejmującym ocenę wizualną zewnętrznej powierzchni ciała, naturalnych otworów ciała oraz narządów wewnętrznych. Po zakończeniu doświadczenia wykonano szczegółowe badania sekcyjne i pobrano do badań mikroskopowych następujące narządy: mózg, rdzeń kręgowy, przysadkę mózgową, tarczycę z przytarczycami, grasicę, przełyk, ślinianki, żołądek, jelito cienkie i grube, wątrobę, trzustkę, nerki, nadnercza, śledzionę, serce, tchawicę, płuca, gonady (jądra i jajniki), macicę, dodatkowe gruczoły płciowe, pęcherz moczowy, węzły chłonne, mięsień szkieletowy, nerw obwodowy, skórę. Ponadto określono masę narządów wewnętrznych: mózg, serce, płuca, wątrobę, śledzionę, nerki, nadnercza, grasicę, tarczycę, przysadkę mózgową i gonady (jądra lub jajniki).

Uzyskane wyniki (zmienne jakościowe i ilościowe) poddano analizie statystycznej, wykorzystując program komputerowy STATISTICA 8.0 PL. W ocenie statystycznej przyjęto poziom istotności statystycznej  $p \leq 0,05$ .

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że 2,4-D i MCPA nie powodują wzrostu częstości występowania objawów klinicznych oraz śmiertelności zwierząt. 90 - dniowe narażenie na 2,4-D i MCPA w najwyższych stężeniach (2400 ppm i 2450 ppm) spowodowało mniejszy przyrost masy ciała narażanych zwierząt.

Wykazano, że 2,4-D i MCPA w najwyższych zastosowanych stężeniach istotnie wpłynęły na parametry hematologiczne jedynie u samic. 2,4-D obniżył stężenie hemoglobiny, hematokryt oraz liczbę erytrocytów i leukocytów natomiast MCPA obniżał stężenie hemoglobiny. Ponadto 2,4 – D (150 ppm i 600 ppm) wywołał wzrost liczby eozynocytów co może świadczyć o jego uczulających właściwościach.

Przeprowadzone badania enzymatyczne i badania histopatologiczne wątroby wykazały, że oba związki w zastosowanych stężeniach nie działają hepatotoksycznie.

W oparciu o uzyskane wyniki badań biochemicznych wykazano, że 2,4-D (600 ppm u samic oraz 2400 ppm u samców i samic) powoduje wzrost poziomu globulin oraz zmniejsza u samic w ocenianych stężeniach stosunek albumin do globulin. MCPA (2450 ppm) podwyższa u samic poziom globulin oraz obniża stosunek albumin do globulin. Ponadto, 2,4-D (600 ppm u samic) i MCPA (2450 ppm u samców) powodują niewielkie zaburzenia w gospodarce lipidowej ujawniające się wzrostem stężenia cholesterolu całkowitego.

Po 90 - dniowym podawaniu 2,4-D nie stwierdzono zaburzeń funkcji nerek w żadnym z badanych stężeń. Odmiennie, u samic i samców narażonych na MCPA w stężeniu 2450 ppm stwierdzono działanie nefrotoksyczne.

2,4-D i MCPA powodują zmiany w masach względnych niektórych narządów wewnętrznych. 2,4-D (2400 ppm) spowodował spadek masy względnej grasicy u samic natomiast płuc u samców (600 ppm, 2400 ppm). MCPA (2450 ppm) zwiększył masę mózgu u samców, tarczycy u samic i samców oraz masę wątroby u samic.

W badaniach histopatologicznych wykazano, że 2,4-D nie powoduje zmian w narządach wewnętrznych. Odmiennie, z podawaniem MCPA (2450 ppm) związane są zmiany postępowe w płucach, rozrost tarczycy, a także zmiany zapalne w płucach i w mięśniu sercowym.

Ocena funkcjonowania układu nerwowego z wykorzystaniem technik badania zachowania się zwierząt wykazała, że 2,4-D i MCPA w żadnym z badanych stężeń nie powodują działania neurotoksycznego. Ponadto, MCPA w zastosowanych stężeniach nie powodują zmian o charakterze miotoksycznym. Możliwość miotoksycznego działania 2,4-D wymaga przeprowadzenia dalszych badań.

Opierając się na uzyskanych wynikach badań stwierdzono, że 90-dniowe narażenie na 2,4-D w stężeniu 150 ppm oraz MCPA w stężeniu 700 ppm nie wywołuje istotnych zmian w parametrach hematologicznych, biochemicznych, masie ciała oraz masie narządów

wewnętrznych. W związku z powyższym wyznaczona dla 2,4-D wartość NOAEL wynosi 7,5 mg/kg m.c./dzień natomiast dla MCPA - NOAEL wynosi 35 mg/kg m.c./dzień.

W świetle uzyskanych wyników badań własnych i wyznaczonych wartości NOAEL, wynoszących 7,5 mg/kg m.c. dla 2,4-D oraz 35 mg/kg m.c. dla MCPA stwierdzono, że podstawnik chlorowy w pozycji 2 kwasu chlorofenoksyoctowego, w większym stopniu niż podstawnik metylowy, wpływa na kierunek i toksyczne działanie związku.

## SUMMARY

### **Toxicological evaluation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid in the sub-chronic toxicity study.**

2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA) are common active substances used in herbicides available on Polish market. Wide range of application of both compounds creates potential danger of occurrence of unfavorable effects for human health and environment. In this connection risk evaluation for 2,4-D and MCPA is necessary with reference to occupational exposure of plant protection products manufacturers and users as well as consumers exposed to active substances remains in water and food. Both compounds were put to many toxicological studies, however most of them based on heterogeneous test methods making interpretation of results difficult. Furthermore, the previously tested substances, produced according to old technologies, contained considerably higher level of impurities with lower contents of active substances, what could significantly influence their toxicological properties.

New quality of produced 2,4-D and MCPA as well as possibility of use of the unified OECD Guidelines (408 and 424) in toxicological studies underlay sub-chronic toxicity study, in which special attention was paid to neurotoxic effects. The studies were performed in compliance with Principles of Good Laboratory Practice in order to ensure quality, stability and comparability of obtained results.

This work was performed in order to evaluate 2,4-D and MCPA in sub-chronic study, making determination of no observed adverse effect level (NOAEL) possible. Special attention was paid to early signs of neurotoxicity. Furthermore, an effort was made to compare toxic influence of both compounds in order to explain, if a presence of different substituent in position 2 of chlorophenoxyacetic acid has an influence on toxicological properties of these compounds.

The studies were conducted on 160 rats with Imp symbol: WIST, divided into groups comprised of 20 males and 20 females each. For 90 days animals were given in food: 2,4-D in concentrations of 150 ppm, 600 ppm, 2400 ppm or MCPA in concentrations of 200 ppm, 700 ppm and 2450 ppm. Animals of control groups were given food without any substances.



During the experiment animals were subjected to detailed clinical observations and functional examinations (pretreatment and in the latter part of second, sixth, tenth and thirteenth week of treatment) comprising: open field observation of animals, evaluation of sensori-motor reactions to stimuli, fore and hind limbs grip strength measurement as well as measurement of locomotor activity.

After termination of treatment period the following endpoints were determined in blood collected from heart of animals: number of leukocytes, erythrocytes and thrombocytes, concentration of hemoglobin, hematocrit as well as erythrocyte indices such as: MCV, MCH and MCHC. Circulatory blood and bone-marrow smears were evaluated in microscopic examination. Concentrations of the following endpoints were determined in blood plasma: total protein, albumin, globulin, total cholesterol, urea nitrogen (BUN), creatinine, glucose, sodium and potassium. Activity of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (AP) were also estimated.

Animals which died spontaneously during the experiment and all animals after termination of experiment were subjected to detailed gross necropsy comprising visual evaluation of external body surface, natural body openings and internal organs. After termination of experiment detailed dissection was performed and the following organs were collected for microscopic examination: brain, spinal cord, pituitary, thyroid with parathyroids, thymus, esophagus, salivary glands, stomach, small and large intestine, liver, pancreas, kidneys, adrenals, spleen, heart, trachea, lungs, gonads (testes and ovaries), uterus, accessory sex glands, urinary bladder, lymph nodes, skeletal muscle, peripheral nerve, skin. Furthermore, weight of the following internal organs was determined: brain, heart, lungs, liver, spleen, kidneys, adrenals, thymus, thyroid, pituitary and gonads (testes and ovaries).

The obtained results (qualitative and quantitative variables) were statistically analyzed using computer program STATISTICA 8.0 PL. Statistically significant level of  $p \leq 0.05$  was used in statistical analysis.

On the ground of obtained results, no increase in frequency of clinical signs and mortality of animals due to 2,4-D and MCPA was stated. 90-day treatment with 2,4-D and MCPA in the highest concentrations (2400 ppm and 2450 ppm) caused lower body weight gain of treated animals.

It was demonstrated that 2,4-D and MCPA in the highest used concentrations significantly influenced hematological endpoints only in females. 2,4-D decreased concentration of hemoglobin, hematocrit as well as number of erythrocytes and leukocytes, whereas MCPA decreased concentration of hemoglobin. Furthermore, 2,4-D (150 ppm and 600 ppm) caused increase in number of eosinocytes, what can be an evidence for its sensitizing properties.

The performed enzymatic investigations and histopathological examinations of liver did not indicate any hepatotoxic influence of both compounds in the used concentrations.

On the ground of the obtained results of biochemical investigations, it was demonstrated that 2,4-D (600 ppm in females and 2400 ppm in males and females) causes increase in level of globulin and decrease in albumin to globulin ratio in females in the evaluated concentrations. MCPA (2450 ppm) increases level of globulin in females and decreases albumin to globulin ratio. Furthermore, 2,4-D (600 ppm in females) and MCPA (2450 ppm in males) cause slight disturbances in lipid balance manifesting in increase in concentration of total cholesterol.

Following 90-day administration of 2,4-D no disturbances in kidneys function were stated in any of test concentrations. Unlikely, nephrotoxic influence of MCPA in concentration of 2450 ppm was stated in treated females and males.

2,4-D and MCPA cause changes in relative weights of some internal organs. 2,4-D caused decrease in relative weight of thymus in females (2400 ppm) and of lungs in males (600 ppm, 2400ppm). MCPA (2450 ppm) increased weight of brain in males, thyroid in females and males as well as liver in females.

Histopathological examination revealed that 2,4-D does not cause changes in internal organs. Unlikely, administration of MCPA (2450 ppm) is connected with progressive changes in lungs, hyperplasia of thyroid as well as inflammatory changes in lungs and heart muscle.

Evaluation of nervous system functioning with the use of behavioral testing techniques demonstrated that 2,4-D and MCPA do not cause neurotoxic influence in any of the used concentrations. Furthermore, MCPA in the used concentrations does not cause mitotoxic changes. Possible mitotoxic influence of 2,4-D requires more detailed studies.

Based on obtained results one may state that, 90-day treatment with 2,4-D in concentration 150 ppm and MCPA in concentration of 700 ppm do not cause any significant changes in hematological and biochemical endpoints as well as body weight and weight of internal organs. In this connection the determined value of NOAEL for 2,4-D amounts to 7.5 mg/kg b.w./day whereas for MCPA amounts to 35 mg/kg b.w./day.

In the light of the obtained results of studies and the determined NOAEL values amounting to 7.5 mg/kg b.w./day for 2,4-D and 35 mg/kg b.w./day for MCPA, one may state that the chlorine substituent in position 2 of the chlorophenoxyacetic acid influences direction and toxic influence of compound to a higher degree than a methyl substituent.

## 9. PIŚMIENNICTWO

Argese E., Bettiol C., Marchetto D., de Vettori S., Zambon A., Miana P., Ghetti P.F.: Study on the toxicity of phenolic and phenoxy herbicides using the submitochondrial particle assay. *Toxicol In Vitro* 2005; 19: 1035-1043

Axelrad J.C., Howard C.V., McLean W.G.: Interactions between pesticides and components of pesticides formulations in an in vitro neurotoxicity test. *Toxicology* 2002; 173: 259-268.

Aydin H., Baran A., Demirel G., Yildirim M.: Effects of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) treatment on the epididymal spermatozoa, blood serum transaminases and its accumulation in liver of rats. *Medycyna Wet.* 2006; 62 (12): 1378-1380.

Baillie T.A., Slatter J.G.: Glutathione: a vehicle for the transport of chemically reactive metabolites in vivo. *Acc Chem Res.* 1991; 24: 264-270.

Bellet E.M., van Ravenzwaay B., Pigott G., Leemings N.: Chronic dietary toxicity and oncogenicity evaluation of MCPA (4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid) in rodents. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1999; 30 (3): 223-32.

Ben-Dyke R., Sanderson, D.M. and Noakes, D.N. Acute toxicity data for pesticides. *World Rev. Pestic. Control*, 1979; 9: 119-127, cyt . za 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA) in Drinking Water. *Environmental and Workplace Health*. 2009  
[http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/consult/\\_2009/mcpa/kinetics-cinetique-draft-ebauche-eng.php#p9](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/consult/_2009/mcpa/kinetics-cinetique-draft-ebauche-eng.php#p9)

BjØrling-Poulsen M., Andersen H.R., Grandjean P.: Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environ Health*. 2008; 7: 50.

Bolognesi C., Morasso G.: Genotoxicity of pesticides: potential risk for consumer. *Trends Food Sci Tech.* 2000; 11: 182-187.

Bolognesi C.: Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res.* 2003; 543: 251-272.

Bongiovanni B., De Lorenzi P., Ferri A., Konjuh C., Rassetto M., Evangelista De Duffard A.M., Cardinali D.P., Duffard R.: Melatonin decreases the oxidative stress produced by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rat cerebellar granule cells. *Neurotox Res.* 2007; 11 (2): 93-99.

Boobis A.R., Fawthrop D. J., Davies D.S.: Mechanisms of cell death. *Trends Pharmacol Sci.* 1989; 10 (7): 275-280.

Bradberry S.M., Watt B.E., Proudfoot A.T., Vale J.A.: Mechanisms of toxicity, clinical features, and management of acute chlorophenoxy herbicide poisoning: a review. *Clin toxicol.* 2000; 38 (2): 111-122.

Bräunlich H., Bernhardt H., Berndhart I.: Renal handling of 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA) in rats. *J. Appl. Toxicol.* 1989; 9 (4): 255-258.

Bruchajzer E.: Toksykometria. W. Podstawy toksykologii. Red. Piotrowski J.K. Warszawa: Wydawnictwa Naukowo-Techniczne 2006. S. 30-62.

Brzeziński J., Szutowski M.: Toksykologia pestycydów. W: Toksykologia współczesna. Red. Seńczuk W. Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2005. S. 538-595.

Brzeziński J.: Rys historyczny, współczesne uwarunkowania rozwoju toksykologii. W: Toksykologia. Re., Seńczuk W. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2002a. S.19-23.

Brzeziński J.: Toksykologia pestycydów. W: Toksykologia. Red, Seńczuk W. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2002b. S.605-660.

Buczyńska A., Szadkowska - Stańczyk I.: Identification of health hazards to rural population living near pesticide dump sites in Poland. *Int J Occup Environm Health*, 2005; 18 (4): 331-339.

Bukowska B.: Effects of 2,4-D and its metabolite 2,4-dichlorophenol on antioxidant enzymes and level of glutathione in human erythrocytes. *Comp Biochem Physiol. Part C*, 2003; 135 (4): 435-441.

Bukowska B.: Aktualne kierunki badań herbicydów fenoksyoctowych. VIII Polskie Sympozjum: Proekologiczne pestycydy, Suche 16-20 czerwiec 2008.

Bukowska B., Hutnik K.: 2,4-D and MCPA and their derivatives: effect on the activity of membrane erythrocytes acetylcholinesterase (in vitro). *Pestic Biochem Physiol.* 2006; 85: 174-180.

Bukowska B.: Funkcje glutationu oraz czynniki zmniejszające jego stężenie. *Med. Pr.* 2005; 56 (1): 69-80.

Bukowska B., Reszka E., Duda W.: Influence of phenoxyherbicides and their metabolites on the form of oxy- and deoxyhemoglobin of vertebrates. *Biochem Mol Biol Int.* 1998; 45 (1): 47-59.

Bukowska B., Rychlik B., Krokosz A., Michałowicz J: Phenoxyherbicides induce production of free radicals in human erythrocytes: Oxidation of dichlorodihydrofluoresceine and dihydrorhodamine 123 by 2,4-D-Na and MCPA-Na. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46: 359-367.

Bus J. S., Hammond L.E.: Regulatory progress, toxicology, and public concerns with 2,4-D: Where do we stand after two decades? *Crop Protection.* 2007; 26: 266-269.

Charles J.M., Bond D.M., Jeffries T.K., Yano B.L., Stott W.T., Johnson K.A., Cunny H.C., Wilson R.D., Bus J.S.: Chronic dietary toxicity/oncogenicity studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic Acid in Rodents. *Fundam Appl Toxicol.* 1996a; 33: 166-172.

Charles J.M., Cunny H.C., Wilson R.D., Bus J.S.: Comparative subchronic studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, amine, and ester in rats. *Fundam Appl Toxicol.*, 1996b; 33: 161-165.

Chmielnicka J.: Trucizny, zatrucia i ich przyczyny. W: *Toksykologia*. Red. Seńczuk W. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2002. s.30-39.

Chruścielska K.: Toksyczność pre- i postnatalna enolofosforanów o działaniu insektobójczym z uwzględnieniem zaburzeń funkcjonalnych ośrodkowego układu nerwowego szczurów. *Organika. Prace naukowe Instytutu Przemysłu Organicznego*. Wydanie specjalne z.2, 1992.

Cserhádi T., Forgács E., Deyl Z, Miksik I.: Effect of molecular parameters on the binding of phenoxyacetic acid derivatives to albumins. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 2001 Mar 25; 753 (1): 87-92.

Czerniakowski Z., Czerniakowski Z.W.: *Herbicydy*. Kraków: Akademia Rolnicza im. H. Kołłątaja, 1993.

Danon J.M., Karpati G., Carpenter S.: Subacute skeletal myopathy induced by 2,4-dichlorophenoxyacetate in rats and guinea pigs. *Muscle and Nerve* 1:89-102 za Dost F.N.: Toxicology and potential health risk of chemicals that may be encountered by workers using forest vegetation management options. Part III: Risk to workers using 2,4-D formulations. 2003.

Deregowski K, Sulik M, Kemon A, Stefańska-Sulik E.: Distribution and elimination of C-14-2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in rat tissues in acute poisoning. *Rocz Panstw Zakł Hig.* 1990; 41 (1-2): 71-4.

- Di Paolo O., Evangelista de Duffard A. M., Duffard R.: In vivo and in vitro binding of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid to a rat liver mitochondrial protein. *Chem Biol Intract.* 2002; 137: 229-241.
- Duchnowicz P, Koter M., Duda W.: Damage of erythrocyte by phenoxyacetic herbicides and their metabolites. *Pest Biochem Physiol.* 2002; 74: 1-7.
- Duchnowicz P., Koter M.: Damage to the erythrocyte membrane caused by chlorophenoxyacetic herbicides. *Cell Mol Biol Lett.* 2002; 8 (1): 25-30.
- Dux E., Toth I., Dux L., Joo F., Kiszely G.: The possible cellular mechanism of 2,4-dichlorophenoxyacetate-induced myopathy. *FEBS Letters* 82: 219-222 za Dost F.N.: Toxicology and potential health risk of chemicals that may be encountered by workers using forest vegetation management options. Part III: Risk to workers using 2,4-D formulations. 2003.
- Elo H. A., MacDonald E.: Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on biogenic amines and their acidic metabolites in brain and cerebrospinal fluid of rats. *Arch Toxicol.* 1989; 63: 127-130.
- Elo H.A. Hervonen H, Ylitalo P.: Comparative study on cerebrovascular injuries by three chlorophenoxyacetic acids (2,4-D; 2,4,5-T and MCPA) *Comp Biochem Physiol C.* 1988; 90 (1): 65-68.
- Fawthrop, D.J., Boobis A.R., Davies D.S. Mechanisms of cell death. *Arch Toxicol* 1991; 65: 437 – 444.
- Gorshkov A. I.: Hygienic evaluation of chlorocholine chloride (preparation CCC) and its combination with 2,4-D amine salt. *Hyg.Sanit.* 1972, 36 (10-12) za WHO: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Environmental Health Criteria* 29., 1984.



Guidance document on the recognition, assessment, and use of clinical signs as humane endpoints for experimental animals used in safety evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 19, Paris 2000.

Guidance Notes for Analysis and Evaluation of Repeated Dose Toxicity Study OECD Environmental Health and Safety Publications. Series on Testing and Assessment No. 32, Paris 2000

Gurd, M.R., Harmer, G.L.M. and Lessel, B.: Acute toxicity and 7-month feeding studies with mecoprop and MCPA. Food Cosmet. Toxicol., 1965; 3: 883-885 za 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA) in Drinking Water. Environmental and Workplace Health. 2009 [http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/consult/\\_2009/mcpa/kinetics-cinetique-draft-ebauche-eng.php#p9](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/consult/_2009/mcpa/kinetics-cinetique-draft-ebauche-eng.php#p9)

Gruś B.: Jakość roku 2009 dla Rokity-Agro S.A. Zdrowy Plon. Kwartalnik Rolniczy Makhteshim-Agan 2010; 5: 2-3.

Hattula M.L., Elo H., Reunanen H., Arstila A.U.: Acute and subchronic toxicity of 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA) in male rat. I. Light microscopy and tissue concentrations of MCPA. Bull Environ Contam Toxicol. 1977; 18 (2): 152-158.

Hayes W.J., Laws E. R.: Handbook of Pesticide Toxicology. Vol. 3. San Diego: Academic Press, 1991. s. 1319-1336.

Heene R.: Elektronenmikroskopische Befunde bei experimenteller Myopathie durch 2,4-Dichlorphenoxyacetat (2,4-D) beim Warmblüter: Zur Entwicklung der Früveränderungen bei Myopathien. Dtsch Z Nervenheilkd 1968, 193: 265-278 za Bradberry S.M., Watt B.E., Proudfoot A.T., Vale J.A.: Mechanisms of toxicity, clinical features, and management of acute chlorophenoxy herbicide poisoning: a review. Clin Toxicol. 2000; 38 (2): 111-122.

Hernandez A.F., Lopez O., Rodrigo L., Gil F., Pena G., Serrano J.L., Parron T., Alvarez J.C. Lorente J., Pla A.: Changes in erythrocyte enzymes in humans longterm exposed to pesticides. Influence of several markers of individual susceptibility. Toxicol Lett. 2005; 159: 13-21.

Hervonen H., Elo H.A., Ylitalo P.: Blood-brain barrier damage by 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid herbicide in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1982; 65 (1): 23-31.

Hill E.V., Carlisle H.: Toxicity of 2,4-D for experimental Animals. *J. Ind. Toxicol.*, 1947, 29(2): 85-89 za WHO: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Environmental Health Criteria* 29, 1984.

Ignatowicz K., Struk-Sokołowska J.: Sezonowe wahania zanieczyszczeń agrotechnicznych w rzece Narwi ze szczególnym uwzględnieniem herbicydów fenoksyoctowych. *Roczniki Ochrony środowiska, Wydawnictwo Środkowo-Pomorskiego Towarzystwa Naukowego Ochrony Środowiska* 2004 tom 6, S. 189-205.

Inomata N., Yoshida H., Aoki Y., Tsunoda M., Yamamoto M.: Effects of MCPA and other phenoxyacid compounds on hepatic xenobiotic metabolism in rats. *Tohoku J Exp Med.*, 1991; 165 (3): 171-182.

Iyer V.G., Ranish N.A., Fenichel G.M.: Ionic conductance and experimentally induced myotonia. *J Neurolog. Sci.*, 1981; 49: 159-164 za Dost F.N.: Toxicology and potential health risk of chemicals that may be encountered by workers using forest vegetation management options. Part III: Risk to workers using 2,4-D formulations. 2003.

Jacyszyn K.: Czynniki warunkujące toksyczność. W: *Toksykologia*. Red, Seńczuk W. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2002. S.40-80.

Jodynis-Liebert J., Seńczuk W.: Toksykometria. W: *Toksykologia*. Red, Seńczuk W. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2002. S.222-263.

Kaioumowa D., Susal C., Opelz G.: Induction of apoptosis in human lymphocytes by the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Human Immunol.* 2001; 62, 64.

Kallman M.J, Fowler S.C.: Assessment of alterations in motor function. W: Chang L.W., ed. Principles of neurotoxicology. Marcel Dekker, New York. 1995 s.373-396.

Karta charakterystyki niebezpiecznej substancji chemicznej 2,4-D, 2010  
<http://www.sigmaldrich.com/catalog/DisplayMSDSContent.do>

Karta charakterystyki niebezpiecznej substancji chemicznej MCPA, 2010  
<http://www.sigmaldrich.com/catalog/DisplayMSDSContent.do>

Karta charakterystyki niebezpiecznej substancji chemicznej MCPA Techniczny 95%,  
Nr KCh/PS/8, 2006; [http://www.ciech.com/PL/Produkty/Produkty/MCPA\\_tech\\_95.pdf](http://www.ciech.com/PL/Produkty/Produkty/MCPA_tech_95.pdf)

Kim C.S., Keizer R.F., Pritchard J.B.: 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid intoxication increases its accumulation within the brain. Brain Res. 1988; 224: 209-212.

Kita K., Szewczyk A., Kobes S., Kondzielnik E., Kita I.: MCPA techniczny. Badanie toksyczności na szczurach (28-dniowy test z paszą). Instytut Przemysłu Organicznego Oddział w Pszczynie, 2000 (praca niepublikowana)

Krzemieńska – Ławkowicz J., Maj S.: Atlas hematologii klinicznej. PZWL, Warszawa, 1993.

Lappin G.J., Hardwick T.D., Stow R., Pigott G.H., van Ravenzwaay B.: Absorption, metabolism and excretion of 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA) in rat and dog. Xenobiotica. 2002; 32 (2): 153-163.

Loktionov V.N., Budarkov V.A., Kuznetsov A.E. Kuznetsova N.V.: Toxicological characteristics of 2,4-D derivatives. Veterinariya 1973; 5: 107-109 za WHO: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Environmental Health Criteria 29., 1984.

Ludwicki J.K.: Bezpieczeństwo chemiczne - rozwiązania prawne. W: Toksykologia. Red, Seńczuk W. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL 2002. S.308-329.

Łomnicki A.: Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników PWN, Warszawa 2003.

Mały rocznik statystyczny Polski 2010. Główny Urząd Statystyczny. Warszawa.  
<http://www.stat.gov.pl>

Mały rocznik statystyczny Polski 2011. Główny Urząd Statystyczny. Warszawa.  
<http://www.stat.gov.pl>

Mariańska B., Fabijańska – Mitek J., Windyga J.: Badania laboratoryjne w hematologii. PZWL, Warszawa 2006.

Mattson J.L., Charles J.M., Yano B.L., Cunny H.C., Wilson R.D., Bus J.S.: Single –Dose and chronic dietary neurotoxicity screening studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats. *Fundam Appl Toxicol.* 1997; 40: 111-119.

Mellert W., Deckart K., Kaufmann W., Hilderbrand B.: MCPA acid: Subchronic oral dietary and neurotoxicity study in Wistar rats. Department of Toxicology BASF Aktiengesellschaft, Ludwigshafen/Rhein, Germany, 1994 December 27. Praca niepublikowana. Cytowane za US. EPA (2003) MCPA: Toxicology chapter for RED (Reregistration Eligibility Decision). Office of prevention, pesticide and toxic substances, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, July 1 (Document ID: EPA-HQ-OPP-2004-0239-0019). [www.regulations.gov/fdmspublic/component/main](http://www.regulations.gov/fdmspublic/component/main)

Meyer O.A., Tilson H. A., Byrd W.C., Riley M.T.: A method for the routine assessment of fore- and hindlimb grip strength of rats and mice. *Neurobehavioral Toxicology*, 1979; Vol. 1: 233-236.

NBRP Rat Kyoto: Rat Strain Phenotype Site <http://www.anim.med.kyoto-u.ac.jp/nbr/phenotype>

Oliveira, G.H., Palermo-Neto J.: Effects of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on Open-Field behavior and neurochemical parameters of rats. *Pharmacol Toxicol.* 1993; 73: 79-85.

Palmeira C.M., Moreno A.J., Madeira V.M.C.: Metabolic alterations in hepatocytes promoted by herbicides paraquat, dinoseb and 2,4-D. *Arch Toxicol* 1994; 68: 24-31.

Palmeira C.M., Moreno A.J., Madeira V.M.C.: Effects of paraquat, dinoseb and 2,4-D on intracellular calcium and on vasopressin-induced calcium mobilization in isolated hepatocytes. *Arch Toxicol* 1995; 69: 460 – 466.

Paulino C.A., Guerra J.L., Oliveira G.H., Palermo-Neto J.: Acute, subchronic and chronic 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) intoxication in rats. *Vet. Hum. Toxicol.* 1996; 38(5): 348-352.

Przybyła M., Kita K., Szewczyk A., Sornat R., Czerwionka A., Kondzielnik E., Kita I.: Kwas 2,4-D. Badanie toksyczności na szczurach (28 - dniowy test z paszą). Instytut Przemysłu Organicznego Oddział w Pszczynie, 2004 (praca niepublikowana)

Reiter L.W., MacPhail R. C: Motor Activity: A Survey of Methods with Potential Use in Toxicity Testing. *Neurobehavioral Toxicology*, Vol. 1, Suppl. 1: 53-66, ANKHO International Inc., 1979.

Review report for the active substance 2,4-D, Finalised in the Standing Committee on Plant Health at its meeting on 1 October 2001 in view of the inclusion of 2,4-D in Annex I of Directive 91/414/EEC

Richardson V.C.G.: Choroby małych gryzoni domowych. Warszawa. SIMA WLW. 2004

Rocznik statystyczny rolnictwa 2009. Główny Urząd Statystyczny. Warszawa 2010.  
[www.stat.gov.pl](http://www.stat.gov.pl)

Rosso S.B., Caceres A.O., de Duffard A.M., Duffard R.O., Quiroga S.: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid disrupts the cytoskeleton and disorganizes the Golgi apparatus of cultured neurons. *Toxicol Sci* 2000; 56: 133-140.

Rosso S.B., Gonzalez M., Bagatolli L.A., Duffard R.O., Fidelio G.D.: Evidence of a strong interaction of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide with human serum albumin. *Life Sciences*, 1998; 63 (26): 2343-2351.

Rowe V.K., Hymas T.A.: Summary of toxicological information on 2,4-D and 2,4,5-T type herbicides and an evaluation of the hazards to livestock associated with their use. *Am.J.Vet. Res.*, 1954 15: 622-629 za WHO: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Environmental Health Criteria* 29., 1984.

Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie szczegółowych zasad wydawania zezwoleń na dopuszczenie środka ochrony roślin do obrotu i stosowania z dnia 5.03.2002. *Dz. U. Nr 24 poz. 250.*

Różański L.: *Przemiany pestycydów w organizmach żywych i środowisku.* Poznań: AGRA-ENVIRO LAB, 1998.

RTECS: Registry of Toxic Effects of Chemical Substances: MCPA. CAS # 94-74-6. RTECS No.: AG1575000. Chemical profiles created by Canadian Centre for Occupational Health and Safety, 2005, Hamilton, Ontario. <http://www.ccohs.ca>

Rydzynski K.: Przegląd zmian w metodach toksykometrycznych zalecanych przez OECD i Unię Europejską; metody alternatywne. *Med Pr.*, 1996; XLVII, 5, Suplement 6: 17- 30.

Sadowski J., Kucharski M.: Monitoring pozostałości herbicydów stosowanych w uprawie zbóż w wodach na terenach rolniczych. *Postępy w Ochronie Roślin*, 2006; 46 (1): 520-526.

Sastry B.V.R., Clark C.P., Janson V.R.: Formation of 2,4-dichlorophenoxyacetylcholine (2,4-D-Ach) in human placenta and fetal growth retardation. *Neurotoxicology* 1995; 16: 763.

Schulze G.: 2,4-D n-butyl ester (2,4-D) induced ataxia in rats: role for n-butanol formation. *Neurotoxicol Teratol.* 1988; 10: 81-84.

Schulze G., Dougherty J.A.: Neurobehavioral toxicity of 2,4-D-n-butyl ester (2,4-D ester): Tolerance and lack of cross-tolerance. *Neurotoxicol Teratol.* 1988; 10: 75-79.

Siemiński M.: Środowiskowe zagrożenia zdrowia. PWN. Warszawa 2001.

Sprzedaż i zapasy środków ochrony roślin – dane od producentów i importerów, 2008; 2009; <http://www.bip.minrol.gov.pl>

Squibb R.E., Tilson H.A., Mitchell C.L.: Neurobehavioral assessment of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in rats. *Neurobehav. Toxicol. Teratol.* 1983; 5: 331-335.

Staller J.A., Faraone S.V.: Targeting the dopamine system in the treatment of attention-deficit/hyperactivity disorder. *Expert Rev Neurother.* 2007; 7: 351-62

Stanisz A.: Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem STATISTICA PL na przykładach z medycyny. StatSoft Polska. Kraków 2006.

Struciński P., Górlaczyk K., Czaja K., Hernik A., Korcz W., Ludwicki J.K.: Ocena ryzyka związana z narażeniem na pozostałości pestycydów w żywności pochodzenia roślinnego na etapie rejestracji środka ochrony roślin. *Rocz Panstw Zakł Hig.* 2006; 57 (4): 303-315.

Suvalsky M., Benites M., Vilelena F., Aguilar F., Sotomayor C.P.: Interaction of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) with cell and model membranes. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1285: 267-276.

Szewczyk A., Kita K., Kita I.: Kwas 2,4-D. Badanie działania uczulającego na skórę. 1999 (praca niepublikowana).

Timchalk Ch.: Comparative inter-species pharmacokinetics of phenoxyacetic acid herbicides and related organic acids. Evidence that the dog is not a relevant species for evaluation of human health risk. *Toxicology.* 2004; 200: 1-19.

Tucker M.J.: Diseases of the Wistar Rat. Taylor & Francis, London, 1997.

Tyynelä K., Elo H.A., Ylitalo P.: Distribution of three common chlorophenoxyacetic acid herbicides into the rat brain. Arch Toxicol. 1990; 64: 61-65.

van Ravenzwaay B., Hardwick T.D., Needham D., Pethen S., Lappin G.J.: Comparative metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in rat and dog. Xenobiotica. 2003 Aug; 33 (8): 805-821.

van Ravenzwaay B., Mellert W., Deckardt K., Küttler K.: The comparative toxicology of 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid and its plant metabolite 4-chloro-2-carboxyphenoxyacetic acid in rats. Regul Toxicol Pharmacol. 2005 Jun; 42 (1): 47-54.

van Ravenzwaay B., Pigott G., Leibold E.: Absorption, distribution, metabolism and excretion of 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid (MCPA) in rats. Food Chem Toxicol. 2004; 42: 115–125.

US Environment Protection Agency: Overview of the 2,4-D Risk Assessments. 2004 [www.wripmc.org/NewsAlerts/executivesummary24d](http://www.wripmc.org/NewsAlerts/executivesummary24d)

US Environment Protection Agency: Reregistration Eligibility Decision for 2,4-D. 2005 [http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/24d\\_red.pdf](http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/24d_red.pdf)

US Environment Protection Agency: Human Health Risk Assessment for the MCPA Reregistration Eligibility Decision Document. 2004 [http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/mcpa\\_red.pdf](http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/mcpa_red.pdf)

US Environment Protection Agency: Registration on standard for pesticide products containing MCPA as the active ingredient. Government Reports Announcement and Index (GRA & I), Issue 07. U.S. Environmental Protection Agency (NTIS/PB90-146556) 1990. za 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA) in Drinking Water. Environmental and Workplace Health. 2009 <http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/consult/2009/mcpa/kinetics-cinetique-draft-ebauche-eng.php#p9>



Ustawa o ochronie roślin z dnia 18.12.2003. Dz.U. 2008 Nr 133, Poz. 849.

Weed Science Society of America, Herbicide handbook. 6th edition. Weed Science Society of America, Champaign, IL. 1989 pp. 171-173. za 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA) in Drinking Water. Environmental and Workplace Health. 2009 [http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/consult/\\_2009/mcpa/kinetics-cinetique-draft-ebauche-eng.php#p9](http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/consult/_2009/mcpa/kinetics-cinetique-draft-ebauche-eng.php#p9)

WHO: Environmental Health Criteria 29., 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Geneva, World Health Organization, 1984.

Wytyczna OECD do Badań Substancji Chemicznych nr 408. Badania toksyczności na gryzoniach przy powtarzanym 90-dniowym podawaniu doustnym. W: Wytyczne OECD do Badań Substancji Chemicznych. Tom II. Instytut Medycyny Pracy Zdrowia Środowiskowego. Sosnowiec. 1998.

Wytyczna OECD do Badań Substancji Chemicznych nr 424. Badania neurotoksyczności na gryzoniach. W: Wytyczne OECD do Badań Substancji Chemicznych. Tom II. Instytut Medycyny Pracy Zdrowia Środowiskowego. Sosnowiec. 1997.

Zawistowski S.: Technika histopatologiczna, histologia oraz podstawy histopatologii. PZWL. Warszawa. 1986.

---

## 10. SPIS TABEL

- Tabela 1.** Właściwości fizykochemiczne kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) i kwasu 4-chloro-2-metylofenoksyoctowego (MCPA)
- Tabela 2.** Zestawienie wyników badań toksyczności ostrej po podaniu dożołądkowym dla 2,4-D i MCPA dla różnych gatunków zwierząt.
- Tabela 3.** Stężenia 2,4-D w paszy i liczba zwierząt użytych w badaniu.
- Tabela 4.** Stężenia MCPA w paszy i liczba zwierząt użytych w badaniu.
- Tabela 5.** Objawy kliniczne obserwowane u zwierząt w trakcie narażania na 2,4-D.
- Tabela 6.** Objawy kliniczne obserwowane u zwierząt w trakcie narażania na MCPA.
- Tabela 7.** Średnia masa ciała (g) zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. - maks.)
- Tabela 8.** Średnia masa ciała (g) zwierząt narażanych na 2,4-D - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. - maks.)
- Tabela 9.** Masa ciała (g) zwierząt narażanych na MCPA - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 10.** Masa ciała (g) zwierząt narażanych na MCPA - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. - maks.)
- Tabela 11.** Średnie spożycie paszy (g/szczura/dobę) przez zwierzęta narażane na 2,4-D - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 12.** Średnie spożycie paszy (g/szczura/dobę) przez zwierzęta narażane na 2,4-D - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 13.** Średnie spożycie paszy (g/szczura/dobę) przez zwierzęta narażane na MCPA - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 14.** Średnie spożycie paszy (g/szczura/dobę) przez zwierzęta narażane na MCPA - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 15.** Rodzaj zmian i liczba zwierząt narażanych na 2,4-D, u których obserwowano zmiany w zachowaniu się w trakcie obserwacji w otwartym polu - samce.
- Tabela 16.** Rodzaj zmian i liczba zwierząt narażanych na 2,4-D, u których obserwowano zmiany w zachowaniu się w trakcie obserwacji w otwartym polu - samice.
- Tabela 17.** Rodzaj zmian i liczba zwierząt narażanych na MCPA, u których obserwowano zmiany w zachowaniu się w trakcie obserwacji w otwartym polu - samce.
- Tabela 18.** Rodzaj zmian i liczba zwierząt narażanych na MCPA, u których obserwowano zmiany w zachowaniu się w trakcie obserwacji w otwartym polu - samice.
- Tabela 19.** Liczba bolusów kału pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

- Tabela 20.** Liczba bolusów kału pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 21.** Liczba bolusów kału pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 22.** Liczba bolusów kału pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 23.** Liczba kałuż moczu pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 24.** Liczba kałuż moczu pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 25.** Liczba kałuż moczu pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 26.** Liczba kałuż moczu pozostawionych w otwartym polu przez zwierzęta narażane na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 27.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na 2,4-D. Przebyta droga [m] – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 28.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na 2,4-D. Liczba wzniesień – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 29.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na 2,4-D. Przebyta droga [m] – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 30.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na 2,4-D. Liczba wzniesień – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 31.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na MCPA. Przebyta droga [m] – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 32.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na MCPA. Liczba wzniesień – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 33.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na MCPA. Przebyta droga [m] – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 34.** Aktywność ruchowa w otwartym polu zwierząt narażanych na MCPA. Liczba wzniesień – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 35.** Wyniki oceny reakcji czuciowo-ruchowych zwierząt narażanych na 2,4-D
- Tabela 36.** Wyniki oceny reakcji czuciowo-ruchowych zwierząt narażanych na MCPA

- Tabela 37.** Siła chwytności kończyn przednich (p) zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 38.** Siła chwytności kończyn przednich zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 39.** Siła chwytności kończyn przednich zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 40.** Siła chwytności kończyn przednich zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 41.** Siła chwytności kończyn tylnych zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 42.** Siła chwytności kończyn tylnych zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 43.** Siła chwytności kończyn tylnych zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 44.** Siła chwytności kończyn tylnych zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 45.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 46.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 47.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 48.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 49.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 50.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 51.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 52.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

- Tabela 53.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 54.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 55.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 56.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 57.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 58.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na 2,4 D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 59.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 60.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 61.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 62.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 63.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 64.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 65.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 66.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 67.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 68.** Aktywność ruchowa. Przebyta droga [m] w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

- Tabela 69.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 70.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 71.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 72.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 73.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 74.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 0-10 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 75.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 10-20 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 76.** Aktywność ruchowa. Liczba wzniesień w czasie 20-30 min. zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 77.** Wyniki badań hematologicznych zwierząt narażanych na 2,4-D- samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 78.** Wyniki badań hematologicznych zwierząt narażanych na 2,4-D- samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 79.** Wyniki badań hematologicznych zwierząt narażanych na MCPA - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 80.** Wyniki badań hematologicznych zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 81.** Skład odsetkowy krwinek białych zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 82.** Skład odsetkowy krwinek białych zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 83.** Skład odsetkowy krwinek białych zwierząt narażanych na MCPA – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 84.** Skład odsetkowy krwinek białych zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

- Tabela 85.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Układ czerwonokrwinkowy – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 86.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Układ czerwonokrwinkowy – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 87.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Układ czerwonokrwinkowy – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 88.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Układ czerwonokrwinkowy – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 89.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Układ białokrwinkowy – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 90.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Układ białokrwinkowy – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 91.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Układ białokrwinkowy – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 92.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Układ białokrwinkowy – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 93.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Komórki różne - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 94.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na 2,4-D. Komórki różne - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 95.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Komórki różne – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 96.** Wyniki badań szpiku kostnego zwierząt narażanych na MCPA. Komórki różne - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 97.** Wyniki badań biochemicznych osocza zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 98.** Wyniki badań biochemicznych osocza zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 99.** Wyniki badań biochemicznych osocza zwierząt narażanych na MCPA - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 100.** Wyniki badań biochemicznych osocza zwierząt narażanych na MCPA - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)

- Tabela 101.** Wyniki badań enzymatycznych zwierząt narażanych na 2,4-D. – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 102.** Wyniki badań enzymatycznych zwierząt narażanych na 2,4-D. – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 103.** Wyniki badań enzymatycznych zwierząt narażanych na MCPA. – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 104.** Wyniki badań enzymatycznych zwierząt narażanych na MCPA – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 105.** Masa bezwzględna narządów wewnętrznych (mg) zwierząt narażanych na 2,4-D - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 106.** Masa bezwzględna narządów wewnętrznych (mg) zwierząt narażanych na 2,4-D - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 107.** Masa bezwzględna narządów wewnętrznych (mg) zwierząt narażanych na MCPA - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 108.** Masa bezwzględna narządów wewnętrznych (mg) zwierząt narażanych na MCPA - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 109.** Masa względna narządów wewnętrznych (%) zwierząt narażanych na 2,4-D – samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 110.** Masa względna narządów wewnętrznych (%) zwierząt narażanych na 2,4-D – samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 111.** Masa względna narządów wewnętrznych (%) zwierząt narażanych na MCPA - samce;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 112.** Masa względna narządów wewnętrznych (%) zwierząt narażanych na MCPA - samice;  $\bar{x} \pm SD$ ; (min. – maks.)
- Tabela 113.** Zmiany histopatologiczne zwierząt narażanych na 2,4-D
- Tabela 114.** Zmiany histopatologiczne zwierząt narażanych na MCPA



**11. SPIS RYCIN**

- Rycina 1.** Wzory strukturalne kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) i kwasu 2-metylo-4-chlorofenoksyoctowego (MCPA)
- Rycina 2.** Aparat TSE ActiMot do pomiaru aktywności ruchowej zwierząt
- Rycina 3.** Aparat TSE Grip Strength Metter do pomiaru siły chwytności kończyn przednich
- Rycina 4.** Przyrost masy ciała (g) zwierząt narażanych na 2,4-D - samce
- Rycina 5.** Przyrost masy ciała (g) zwierząt narażanych na 2,4-D - samice
- Rycina 6.** Przyrost masy ciała (g) zwierząt narażanych na MCPA - samce
- Rycina 7.** Przyrost masa ciała (g) zwierząt narażanych na MCPA - samice

**Załącznik 1.**

Klasyfikacja wyników szczegółowych obserwacji klinicznych zwierząt

postawa ciała:

0 – bez zmian

1 – grzbiet zaokrąglony, nawet kiedy spaceruje,

2 – leży na boku, kończyny w powietrzu

3 – zwierzę jest rozciągnięte z brzuchem przyciśniętym do podłogi

ruch mimowolny – kloniczny

0 – bez zmian

1 – powtarzany ruch pyskiem/szczękami

2 – drżenie (kurczenie) kończyn, małżowin usznych, głowy

3 – ogólne drżenie

4 – ataki konwulsji

5 – drżenie, trzęsienie się

ruch mimowolny - toniczny

0 – bez zmian

1 – kończyna lub kończyny rozciągają się i stają się sztywne

2 – toniczne rozciągające konwulsje

3 – widoczne toniczne drgawki z oddechowym wyczerpaniem, napad lub śmierć

wokalizacja

0 – brak wokalizacji/bez zmian

1 – zauważona wokalizacja

zamknięcie powieki

0 – otwarta

1 – nieznacznie przymknięta/pół zamknięta (powieka nieznacznie opada)

2 – zamknięta

reaktywność (łatwość, z którą zwierzę można przenieść z jego klatki)

- 0 – łatwo, normalnie (zwierzę nie stawia oporu)
- 1 – bardzo łatwo (zwierzę siedzi lub leży, pozwala się podnieść i zabrać)
- 2 – nieco trudniej (zwierzę stawia niewielki opór)
- 3 – trudno (zwierzę kuli się i staje się sztywne lub biega i jest trudne do uchwycenia)
- 4 – bardzo trudno (zwierzę atakuje)

łzawienie

- 0 – bez zmian
- 1 – wilgoć tylko wokół oczu
- 2 – łzy płyną z oczu

ślinienie

- 0 – brak ślinienia/bez zmian
- 1 – wilgoć tylko wokół pyska
- 2 – ślina płynie z pyska

oddychanie

- 0 – normalnie, bez zmian
- 1 – szmery oddechowe
- 2 – przyśpieszony oddech
- 3 – trudne oddychanie z wyraźną pracą zwierzęcia
- 4 – charczenie, oddychanie z otwartym pyskiem
- 5 – słaby oddech (oddychanie bardzo krótkie)

sposób chodzenia

- 0 – normalny: głowa w poziomie, brzuch nieznacznie uniesiony nad podłogą, ciało podnosi się i opuszcza podczas chodzenia
- 1 – zwierzę wlecze ciało, brzuch dotyka podłogi, ciało chwieje się
- 2 – zwierzę rozciąga lub wlecze kończyny tylne, niezdolne jest do utrzymania masy ciała
- 3 – grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca

4 – zwierzę chodzi na palcach

5 – utrata koordynacji ruchowej, kołysanie, zwierzę przechyla się i kołysze w czasie chodzenia.

rozbudzenie

0 – bez zmian (utrzymuje postawę obronną i angażuje aktywność poznawczą)

1 – lekki spadek (czasami nie rusza się, ale angażuje aktywność poznawczą)

2 – umiarkowany spadek (łagodnie zdrętwiały, tylko rusza głową)

3 – silny spadek (paraliż, śpiączka)

4 – lekki wzrost (łagodnie pobudzony lub napięty; raptownie przechyla się do przodu i pozostaje w bezruchu)

5 – silny wzrost (bardzo czujny; biega i raptownie rusza z miejsca)

**Załącznik 2**

Klasyfikacja wyników obserwacji klinicznych zwierząt w otwartym polu

ruch mimowolny – kloniczny

- 0 - bez zmian
- 1 - powtarzalny ruch pyskiem/ szczękami
- 2 - kurczenie kończyn, małżowin usznych, głowy
- 3 - ogólne drżenie
- 4 - ataki konwulsji
- 5 - drżenie, trzęsienie się

ruch mimowolny – toniczny

- 0 - bez zmian
- 1 - kończyna lub kończyny rozciągają się i stają się sztywne
- 2 - toniczne rozciągające konwulsje
- 3 - widoczne toniczne drgawki z oddechowym wyczerpaniem, napad lub śmierć.

sposób chodzenia

- 0 - bez zmian (głowa w poziomie, brzuch nieznacznie uniesiony nad podłogą, ciało podnosi się i opuszcza podczas chodzenia)
- 1 - zwierzę wlecze ciało, brzuch dotyka podłogi, zwierzę chwieje się
- 2 - zwierzę rozciąga lub wlecze kończyny tylne, niezdolne jest do utrzymania masy ciała
- 3 - grzbiet zaokrąglony lub zwierzę kuca
- 4 - zwierzę chodzi na palcach
- 5 - utrata koordynacji ruchowej, kołysanie, zwierzę przechyla się i kołysze w czasie chodzenia.

rozbudzenie

- 0 - bez zmian (utrzymuje postawę obronną i angażuje aktywność poznawczą)
- 1 - lekki spadek (czasami nie rusza się, ale angażuje poznawczą aktywność)
- 2 - umiarkowany spadek (łagodnie zdrętwiały, tylko rusza głową)
- 3 - silny spadek (paraliż, śpiączka)
- 4 - lekki wzrost (łagodnie pobudzony lub napięty; raptownie przechyla się do przodu i pozostaje w bezruchu)
- 5 - silny wzrost (bardzo czujny; biega i raptownie rusza z miejsca)

**Załącznik 3.**

Kryterium wyników oceny reakcji czuciowo-ruchowych zwierząt

odpowiedź zbliżenia do przedmiotu

0 - normalna reakcja /lekkie zbliżenie, wąchanie i ciągnięcie grzbietu

1 - brak reakcji

2 - napięcie mięśni i/lub drżenia

3 - okazuje gwałtowną reakcję taką jak skok, gryzienie, piszczenie lub atak

odpowiedź na dotyk

0 - normalna reakcja / powolny odwrót

1 - brak reakcji

2 - napięcie mięśni i/lub drżenia

3 - okazuje gwałtowną reakcję taką jak skok, gryzienie, piszczenie lub atak

odpowiedź na dźwięk

0 - normalna reakcja / powolny odwrót

1 - brak reakcji

2 - napięcie mięśni i/lub drżenia

3 - okazuje gwałtowną reakcję taką jak skok, gryzienie, piszczenie lub atak

odpowiedź na szczypanie podstawy ogona pęsetą

0 - normalna reakcja / powolny odwrót

1 - brak reakcji

2 – napięcie mięśni i/lub drżenia

3 - okazuje gwałtowną reakcję taką jak skok, gryzienie, piszczenie lub atak