

## NEBEZPEČNÉ HERBICIDY

Josef FUSEK, Vladimír MĚRKA  
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně v Hradci Králové

### Souhrn

Autoři podávají přehled herbicidů používaných k vojenským účelům (jako BChL) i v zemědělství a upozorňují na jejich nebezpečí spočívající ve vedlejších účincích na necílové organismy. Zvláštní pozornost je věnována fenoxherbicidům, které obsahují příměs dioxinu. Herbicidy mohou trvale kontaminovat vnější prostředí – půdu, vodu, vzduch, a ohrozit normální vývoj rostlin, živočichů i člověka. Podrobněji jsou probrány škodlivé vlivy herbicidů na zdraví člověka.

Prokázána biodegradace některých herbicidů činností půdní mikroflóry naznačuje způsob, jak je odstranit ze životního prostředí.

**Klíčová slova:** Vedlejší účinky herbicidů; Dioxin; Agent Orange; Biodegradace herbicidů.

### Dangerous Herbicides

#### Summary

The authors provide a survey of herbicides used for military purposes (as chemical warfare agents) as well as for agriculture, and draw attention to the danger of their side effects on the non-targeted organisms. Special attention is paid to phenoxyherbicides which normally contain dioxin contaminants. Herbicides can contaminate the living environment, soil, water, and air for a very long time and they threaten the normal development of plants, animals and humans. The authors deal in detail with their deleterious influence on human health.

Experimentally proved biodegradation of some herbicides by soil microflora indicates a way of eliminating them from the living environment.

**Key words:** Side effects of herbicides; Dioxin; Agent Orange; Biodegradation of herbicides.

### Úvod

Herbicidy jsou chemické sloučeniny původně určené k potlačení růstu a k hubení plevelných rostlin v zemědělství, lesním hospodářství, zahradnictví a popř. k úplnému potlačení růstu všech rostlin na plochách sloužících technickým účelům.

V letech 1962–1971, za 2. vietnamské války, byly herbicidy použity k vojenským účelům v jižním Vietnamu Spojenými státy americkými. Šlo zejména o:

- 2,4-dichlorfenoxycetovou kyselinu (2,4-D),
- 2,4,5-trichlorfenoxycetovou kyselinu (2,4,5-T).

Vedlejším produktem při jejich výrobě je vždy dioxin – obecný název pro 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin (TCDD). Dioxin je obsažen prakticky ve všech fenoxherbicidech. Z 2. vietnamské války je jejich směs známa pod názvem Agent Orange.

Dále byla v jižním Vietnamu nasazena také

- dimetylarzinová (čili kakodylová) kyselina a její soli,
- 4-amino-3,4,5,6-trichlorpikolinová kyselina s komerčním názvem picloram,
- tordon, směs picloramu a solí 2,4-D.

V zemědělství jsou pak široce používány také organodusíkové herbicidy:

- 5-brom-3-sec-butyl-6-metylracil (bromacil),
- 3-(4-chlorfenyl)-1,1-dimetylurea (monuron),
- 3-(3,4-dichlorfenyl)-1,1-dimetylurea (diuron),
- 6-chlor-N-etyl-N'-[1-metyletyl]-1,3,5-triazin-2,4 diamin (atrazin)
- 1,1'-dimetyl-4,4'-dipyridilium dichlorid (paraquat).

Cílem vojenského použití herbicidů je defoliace lesních porostů, tj. odstranění přirozených úkrytů

pro vojenskou techniku a živou sílu, a dále ničení zemědělských kultur za účelem vyvolání nedostatku potravin.

Nebezpečí herbicidů při jejich vojenském, ale i mírovém použití, spočívá v tom, že postihují řadu necílových organismů. Jsou relativně hodně toxické i pro teplokrevné živočichy. Hodnoty LD<sub>50</sub> herbicidů 2,4-D a 2,4,5-T pro různá pokusná zvířata jsou uvedeny v tabulce 1 (4).

Tabulka 1

Hodnoty LD<sub>50</sub> herbicidů 2,4-D a 2,4,5-T

Pokusné zvíře	LD <sub>50</sub> per os v mg.kg <sup>-1</sup>	
	2,4-D	2,4,5-T
Myš	360–710	390–550
Potkan	900–1500	500
Morče	400–800	400–700
Králík	420	700
Pes	100	50–250
Opice	214	100

Fenoxyherbicidy (2,4-D a 2,4,5-T) jsou nebezpečné zejména vzhledem k příměsi dioxinu, který je jedním z nejtoxičtějších nízkomolekulárních jedů (LD<sub>50</sub> per os je u morčete 20 µg.kg<sup>-1</sup>, u opice 2 µg.kg<sup>-1</sup>) se širokým spektrem pozdních následků. Jeho toxicita je známa od 50. let 20. století. Jeho nebezpečnost spočívá v tom, že se může hromadit v lidském těle. Minimální rizikové hladiny pro chronickou expozici dioxinem u člověka byly stanoveny na 1 pg.kg<sup>-1</sup> (1.10<sup>-12</sup> g.kg<sup>-1</sup>) na den. Dioxin vzniká nejen při výrobě fenoxyherbicidů, ale i při průmyslově prováděných chloracích a při spalování komunálního odpadu ve spalovnách (79).

Jak již bylo uvedeno, dioxin je obecný název pro 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin a tento název je nesprávně užíván také pro polychlorované dibenzo-p-dioxiny (PCDD), dibenzofurany (PCDF) a pro polychlorované bifenyly. Potom se mluví o dioxinech (v plurálu).

Dioxin je klasifikován jako karcergen skupiny 1 pro člověka na základě výsledků dosažených Pracovní skupinou Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny v Lyonu (Working group at the International Agency for Research on Cancer in Lyon) (25).

V jižním Vietnamu byly roztoky herbicidů aplikovány hlavně z letadel, ale také z vrtulníků, lodí a pozemních vozidel na lesy a na zemědělskou půdu.

Během této operace, nazvané Ranch Hand, bylo v letech 1962–1971 postříkáno 12 % lesů a 5 % zemědělské půdy jižního Vietnamu. Odhaduje se, že bylo aplikováno kolem 70 000 tun různých herbicidů, nejvíce však směsi nazývané Agent Orange. Tím byly způsobeny obrovské ekologické škody (4, 62, 68).

V roce 1976 došlo v severoitalském Sevesu v chemické továrně vyrábějící fenoxyherbicidy ke katastrofě, k explozi, při níž uniklo do ovzduší v přepočtu 2,5 kg dioxinu a v důsledku toho bylo zasaženo 5000 lidí, uhynuly tisíce volně žijících zvířat a ptáků a všechna hospodářská zvířata musela být utracena. Pro srovnání, na jižní Vietnam bylo shozeno v přepočtu cca 150 kg dioxinu obsaženého v herbicidech (62).

## I. Vliv na životní prostředí, flóru a faunu

### *Půda, voda, vzduch, flóra*

Herbicidy, původně vyvinuté pro usnadnění práce zemědělců, se však i v tomto oboru stávají nebezpečím pro zemědělskou výrobu. Při jejich příliš intenzivním používání dochází k masivní kontaminaci půdy, vody, ovzduší i samotných zemědělských plodin.

Půda může být kontaminována herbicidy 2,4-D a 2,4,5-T a dioxinem až do hloubky 1 m, přičemž tyto sloučeniny jsou ve vnějším prostředí velmi stálé, což platí zejména o dioxinu (32).

Herbicid 2,4-D je masivně používán v obilnářské oblasti, např. ve třech kanadských provinciích, Albertě, Saskačevanu a Manitobě, bylo v roce 1990 aplikováno více než 3,8 milionů kg 2,4-D. Ze silně kontaminované půdy se pak herbicid dostává do ovzduší (v průběhu suchého léta) a do vody. V létě 1990 bylo ve vzduchu v areálu hlavního města Saskačevanu, v Regině zjištěno 3,9 ng.m<sup>-3</sup> a 290 ng.l<sup>-1</sup> herbicidu ve vodě rybníka (78). V jižním Kazachstánu na bavlníkových plantážích se používají masivně fenoxyherbicidy. Ty jsou splachovány dešťovou vodou na okolní pole. Dioxin se dostává do zemědělských plodin i do potravin rostlinného i živočišného původu a dokonce i do mateřského mléka. Koncentrace dioxinu jsou zde obecně 10krát vyšší než v USA (30).

Z půdy se dioxin dostává do vody a do říčního sedimentu, a to i na velké vzdálenosti, a odtud do ryb a z ryb do lidské populace. Tento proces probíhá ještě nyní po více než 30 letech od ukončení operace Ranch Hand ve Vietnamu. Blízko jihovietnam-

ského města Bien Hoa byla v letech 1962–1971 americká letecká základna, odkud vzlétala letadla s nákladem Agent Orange a jiných herbicidů. V krevním séru obyvatel tohoto města byly ještě po více než 30 letech zjištěny koncentrace dioxinu až 271 ppt (parts per trillion), což je 135krát více než u obyvatel města Hanoi, kde Agent Orange nebyl použit. Lidé, kteří přišli do oblasti Bien Hoa po vietnamské válce, a děti narozené zde po roce 1971 měli také zvýšené koncentrace dioxinu v krevním séru. To svědčí o dlouhodobé kontaminaci půdy a také o tom, že 30leté období nepostačuje k neutralizaci těchto nebezpečných látek přírodními mechanismy a naopak zóny s nebezpečnou kontaminací se rozšiřují o stovky km od původně zamořené zóny (64, 67).

Herbicid 2,4,5-T neničí pouze plevelné rostliny, ale nepříznivě působí na některé zemědělské rostliny, snižuje jejich klíčivost a brzdí jejich růst a snižuje tedy jejich výnosy. Zatímco semena rýže, čiroku (sorghum), prosa a bobu obecného jsou poměrně odolná a tolerují koncentraci až 200 mg 2,4,5-T na litr (testování klíčivosti na filtračním papíře), rajčata a baklažán (lilek) jsou velice citlivé a koncentrace 5–10 mg 2,4,5-T na litr již podstatně snižuje jejich klíčivost a sílu semenáčku. Koncentrace 20–30 mg na litr zcela potlačuje jejich klíčení na filtračním papíře (20).

Další široce využívanou látkou je dimetylsarinová kyselina. Je známo, že fazole (*Phaseolus vulgaris*) je citlivá na dimetylsarinovou kyselinu, která snižuje výrazně výnosy lusků i semene. Obsah dimetylarsinové kyseliny zjišťovaný ve fazolích však nepřekračuje limit povolený ve Španělsku (což je 1 mg.kg<sup>-1</sup> hmotnosti čerstvých plodů), a proto konzumenti fazolí nejsou ohroženi na zdraví (2, 41).

Z půdy a vody se dostávají i jiné herbicidy do rostlinstva a dále až do potravin.

Atrazin je jedním z nejrozšířenějších herbicidů a používá se v zemědělství déle než 40 let. Z ošetřených polí se dostává do zemědělských rostlin. Byl prokázán v kukuřici a v melounech (56).

Slovenští autoři (71) prokázali herbicid bromacil dokonce i v léčivé rostlině *Echinacea angustifolia* (syn. *Rudbeckia*), z které se vyrábí v současnosti řada oblíbených léčivých přípravků.

### **Fauna, divoce žijící a hospodářská zvířata**

Necílové organismy ohrožované herbicidy představují také příslušníci fauny od mikroskopických

druhů až po savce.

Herbicid 2,4-D usmrcuje drobné vodní živočichy vířníky (Rotifera), což bylo experimentálně prokázáno na vířníku *Brachionus patulus* (60). Herbicidem 2,4-D byly krmeny housenky polyfágního motýla martináče (*Eupackardia calleta*) a osud této látky byl sledován s pomocí plynové chromatografie a hmotové spektrometrie ve všech vývojových stadiích tohoto nočního motýla. Byly zjišťovány odlišné koncentrace v zaživacím ústrojí larev, ve faeces, tělním tuku, hemolymfě a dokonce i v sekretech exokrinních integumentálních žláz. Určité množství 2,4-D bylo nalezeno i v dospělých motýlech, což znamená, že herbicid prochází celým vývojovým cyklem, který probíhá za přítomnosti herbicidu rychleji. Zároveň byla zjištěna i určitá biodegradace herbicidu (17).

Vliv herbicidů 2,4-D a 2,4,5-T na želvy *Testudo hermani* byl studován v jižním Řecku, v oblasti jejich přirozeného výskytu. Příznaky otravy u želv byly: otok očí, sekret z nosu a nepohyblivost. Na sledovaném území během 10 let došlo téměř k vyhubení želv, přičemž příčinou jejich úhynu nebyl nedostatek potravy v důsledku eliminace některých plevelných rostlin. Tato studie končí varováním před požíváním a konzervací želv přicházejících do kontaktu s 2,4-D, 2,4,5-T a s dioxinem (80).

Herbicid tordon snižuje počty chrobáků hovniválů (*Ataenius apicalis* a *Canthon cyanellus* z čeledi *Coleoptera, Scarabaeidae*), což nepříznivě ovlivňuje degradaci chlévské mrvy v zemědělské půdě (47). Atrazin ve vodě představuje vážné riziko pro žáby a další obojživelníky. Na afrických žábách (*Xenopus laevis*) bylo prokázáno, že mění u samců tvorbu testosteronu na tvorbu estrogenu. Tím vznikají hermafroditi neschopní rozmnožování. Atrazin je toxický také pro ryby a plazy (26).

V důsledku lipofilního charakteru je dioxin zjišťován v tuku hospodářských zvířat a v rybích výrobcích. Dioxin je vylučován mlékem, a proto se nalézají poměrně vysoké koncentrace v mléčných produktech s vysokým obsahem tuku. Některá opatření, jako odstraňování tukových tkání z masa, konzumace nízkotučných mléčných výrobků a také delší vaření potravin, mohou poněkud snížit nebezpečí dioxinu pro člověka (58).

## **II. Účinky na člověka**

### **Člověk**

Také člověk patří mezi necílové organismy ohro-

žené škodlivými účinky herbicidů. Více než 30 let po ukončení 2. vietnamské války (1962–1971) jsou stále předmětem vědeckého zájmu američtí veteráni i místní obyvatelstvo jižního Vietnamu. Středem pozornosti jsou zejména příslušníci amerických leteckých sil zapojení do operace Ranch Hand a vietnamská populace z míst nejvíce „bombardovaných“ herbicidy, jako je např. okolí města Bien Hoa, vesnice Binh Mi apod. V poslední době jsou zahajovány společné americko-vietnamské výzkumy s cílem vyhodnotit škody na lidském zdraví (13). Souběžně s tímto výzkumem probíhá monitorování zdravotního stavu zaměstnanců chemických továren vyrábějících herbicidy a provádějících chlorace v průmyslovém měřítku.

Vojenské použití herbicidů ve Vietnamu s krycími názvy Agent Orange, White, Pink, Blue apod. je spojeno s mnoha kontroverzními názory. Je to dáno tím, že s výzkumem případných škodlivých účinků těchto látek se začalo poměrně pozdě, až po problémech a volání amerických veteránů z Vietnamu trpících různými neduhy s nejasnou etiologií a dožadujících se odškodnění. Dioxin je kancerogen obsažený v Agent Orange v koncentraci kolem 2 mg/kg. Při posuzování kauzální souvislosti mezi expozicí na Agent Orange a výskytem sarkomu měkkých tkání a nonhodgkinského lymfomu a řady jiných onemocnění je vyhodnocení mohutnosti expozice herbicidu (dioxinu) po 20 a více letech jedním z největších problémů. Jedním ze způsobů řešení je založení banky se vzorky krevního séra, tukové tkáně, řezů z tumoru v parafinových blocích a kvantitativní stanovení dioxinu v nich. Byl vytvořen kinetický model vyjadřující osud dioxinu v lidském organismu, který vychází ze zjištěné koncentrace dioxinu v biologických vzorcích a předpokládaného vylučování z těla a poločasu jeho rozpadu. Extrapolací pak lze přibližně určit nejvyšší koncentraci dosaženou v době krátce po expozici (27, 40).

Většina literárních údajů se shoduje v tom, že veteráni z vietnamské operace Ranch Hand mají statisticky významně vyšší sérové hladiny dioxinu (36). Koncentrace dioxinu v krevním séru a v krevních lipidech je totiž významným indikátorem pro posouzení stupně ohrožení zdraví.

### **Kancerogenní vlastnosti**

Výsledky některých epidemiologických studií týkajících se rizika karcinomu v souvislosti s expozicí na Agent Orange a další herbicidy byly zmanipulovány a špatně interpretovány zejména austral-

skou královskou komisí určenou k prostudování vlivu těchto sloučenin na zdraví australského vojenského personálu nasazeného ve Vietnamu. Kromě toho kniha vydaná australskou federální vládou pod názvem „Medicína za války“ znovu opakuje některé nesprávné interpretace přes zcela opačné hodnocení australských a amerických odborníků. Tyto zavádějící informace jsou v rozporu se současnou klasifikací dioxinu jako kancerogenu pro člověka skupiny 1, vypracovanou Pracovní skupinou Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny v Lyonu (25).

Co se týče kancerogenního účinku dioxinu, resp. Agent Orange ve Vietnamu, jsou hodnocení různá. V práci některých amerických autorů nebyla zjištěna příčinná souvislost mezi Agent Orange a rakovinou plic a prostaty u amerických veteránů z 2. vietnamské války (44, 82). Jiní američtí autoři potvrdili souvislost mezi Agent Orange a sarkomem měkkých tkání, nonhodgkinským lymfomem, Hodgkinovou nemocí, rakovinou prostaty, plic a hrtanu (68). U gynekologických zhoubných nádorů u vietnamských žen nebyla prokázána kauzální souvislost s rozprašováním Agent Orange (23).

Ruští dělníci v Ufě, hlavním městě Baškirské autonomní republiky, pracující ve výrobě 2,4,5-T, měli v roce 1992 průměrnou koncentraci dioxinu v krevních lipidech 166 ppt, u některých dosahovaly koncentrace až 500 ppt. Tyto hodnoty jsou 10–30krát vyšší než u obyvatel, kteří nepřicházejí do styku s výrobou fenoxysterbicidů. Podobné hodnoty byly zjištěny také u výrobců herbicidu 2,4-D. Zvýšené hladiny dioxinu byly zjištěny i u administrativního personálu továrny a dokonce i u dětí výrobců fenoxysterbicidů (59).

Herbicidy 2,4-D a 2,4,5-T se používají k potlačení růstu plevelů na rýžových polích v severní Itálii. Území s nejvyšší koncentrací fenoxysterbicidů v půdě a vodě se vyznačuje nejvyšší incidencí nonhodgkinského lymfomu u obyvatel trvale zde žijících a pracujících na rýžových polích (19).

Rozsáhlá epidemiologická kohortová studie provedená péčí Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny v Lyonu ve 12 zemích na více než 21 000 pracovníků vyrábějících fenoxysterbicidy prokázala souvislost mezi dioxinem a mnoha druhy rakovinového bujení (sarkom měkkých tkání, lymfomy, nonhodgkinský lymfom, karcinom plic) (39). Retrospektivní kohortová studie provedená v holandském Bilthovenu na souboru dělníků pracujících ve výrobě fenoxysterbicidů ukázala, že jsou vystaveni zvýšenému riziku rakoviny plic (29). U německých výrobců fenoxysterbicidů byla prokázána souvislost

mezi dioxinem, polychlorovanými dibenzo-p-dioxiny (PCDD) a dibenzofurany (PCDF) a zvýšenou úmrtností na rakovinná onemocnění (rakovina plic, ústní dutiny, hltnu a nonhodgkinský lymfom) (6, 7, 18). Na krysách byl studován vliv herbicidu „Pielnik“ (polsky plečka), což je sodná sůl 2,4-dichlorfenoxyoctové kyseliny, na dynamiku růstu tumoru Guerinova karcinomu a na stupeň malignity (metastázy do lymfatických uzlin). Bylo zjištěno, že tento polský herbicid urychluje vývoj Guerinova karcinomu a zkracuje dobu přežití krys exponovaných v prenatalním období a krys mladých. Neovlivňuje však podstatně rychlost růstu karcinomu u starých krys (69).

Anorganické sloučeniny arzenu jsou nebezpečným kancerogenem pro člověka. V těle savců, včetně člověka, často podléhají metylaci za tvorby dimetyl-arsinové kyseliny (DMA), která byla ve Vietnamu používána k defoliaci pod názvem Agent Blue. Poslední výzkumy ukázaly, že DMA je pro hlodavce a větší savce (psy, opice) kompletním kancerogenem. U krys vyvolává karcinom močového měchýře, ledvin, jater a štítné žlázy a u myší tumory v plicích (38, 76).

Atrazin se používá k hubení plevelu déle než 40 let. V poslední době byl na lidských lymfocytech prokázán určitý cytotoxický účinek a také byly popsány jeho kancerogenní a imunotoxické vlastnosti (54, 57).

### **Účinek na imunitní systém**

Imunosupresivní vlastnosti fenoxysteroidů dioxinu byly prokázány výraznou leukocytózou, morfologickými a funkčními změnami T-lymfocytů, poklesem počtu T- i B-lymfocytů a sníženým fagocytárním indexem. U pracovníků dvou amerických továren vyrábějících fenoxysteroidy byly vyšší koncentrace dioxinu v krevním séru (9–22 ppt) doprovázeny nižším počtem buněk CD26, tj. aktivovaných T-lymfocytů, a jejich sníženou schopností proliferace (24, 67, 77).

Dimethylamoniová sůl 2,4-dichlorfenoxyoctové kyseliny je široce používaným herbicidem, který je považován za poměrně bezpečný. Nicméně bylo prokázáno, že usmrcuje lidské lymfocyty tím, že iniciuje apoptózu přímým účinkem na mitochondrie. Otrava tímto herbicidem vede k těžkému poškození lymfatických orgánů, thymu a sleziny (34, 35).

Zvýšená prevalence chronických infekčních onemocnění horních dýchacích cest a plic u lidí v kontaktu s fenoxysteroidy je podle Sofronova (67)

vyvolána tzv. skrytým imunodeficientním stavem.

Na myších byl prokázán imunosupresivní účinek tordonu (8).

### **Vliv na nervový systém**

Jedním z toxických příznaků herbicidů 2,4,5-T a 2,4-D je redukce metabolických pochodů s následujícím opožděním růstu. Acetylcholin slouží jako základní růstový faktor, když zprostředkovává transport aminokyselin a tím podporuje růst plodu. V pokusech na krysách bylo zjištěno, že vzniká 2,4,5-trichlorfenoxyacetylcholin, resp. 2,4-dichlorfenoxyacetylcholin. Fenoxysteroidy vytvářejí tedy falešné cholinergní messengery v nervech, svalech i v placentě. Tyto falešné messengery mohou vznikat na muskarinových i nikotinových synaptických zakončeních a také v non-neuronových buňkách, kde acetylcholin hraje významnou regulační úlohu jako lokální hormon, a mohou působit jako blokující agens. Tyto poznatky mohou částečně vysvětlit myotonii, ventrikulární fibrilaci a opožděný růst plodu, jevy vyvolané těmito herbicidy (61).

U amerických veteránů z vietnamské války (1961–1972) zapojených do operace Ranch Hand bylo na základě měření rychlosti vedení nervového podráždění s vysokou koncentrací dioxinu v krvi zjištěno zvýšené riziko periferní neuropatie a snížená funkce verbální paměti (5, 49).

U dělníků pracujících v české továrně na herbicidy byla nalezena korelace mezi koncentrací dioxinu (200 pg/g plazmových lipidů) a abnormálním elektromyografickým a elektroencefalografickým nálezem. Významně zhoršená byla kognitivní výkonnost, zejména paměť (53). Zvýšený výskyt neurologických poruch (neuralgie, poruchy spánku) u výrobců fenoxysteroidů byl pozorován také v Rakousku (51, 52).

### **Dermatologické změny**

Příčinnou souvislost mezi kontaktem s Agent Orange u účastníků 2. vietnamské války a výskytem chlorakné, akné a keratóz ruští autoři (67) potvrzují, američtí popírají (9).

U výrobců fenoxysteroidů bylo konstatováno, že pacienti s chronickou chlorakné mají významně vyšší hladinu dioxinu v krevní plazmě (51, 52, 53).

### **Cytogenetická analýza**

U osob v kontaktu s dioxinem (v Agent Orange)

byly zjištěny změny v nukleoproteinovém komplexu lymfocytů a epitelocytů, zvýšený výskyt chromozomálních aberací a polyploidních lymfocytů (67).

U obyvatel vesnice Binh Mi v jižním Vietnamu, silně postižené rozprašováním a postřikem Agent Orange, epitel ústní dutiny vykazoval výrazně zvýšený počet buněk s poškozenou chromatinovou strukturou a fragmentací chromatinu. V buňkách odlupujících se ze sliznice ústní dutiny byla často pozorována mikrojádra, dále buňky se 2 jádry nebo s defektními jádry (85).

Tyto cytologické změny svědčí o cytotoxickém působení dioxinu. Stav se zjištěnými lézemi ve stavbě chromozomů může pak potencovat působení jiných biologicky aktivních látek s genotoxickým účinkem (67). Na pokusných zvířatech byl prokázán teratogenní účinek dioxinu (58).

V pokusech na myších byl prokázán silný cytotoxický a mutagenní efekt herbicidu 2,4-D, zatímco 2,4,5-T vykazoval jen slabý mutagenní účinek (75). V pokusech na *Drosophila melanogaster* (octomilka) bylo zjištěno, že 2,4,5-T zvyšuje frekvenci výskytu mutací (37).

Epidemiologické práce provedené na vietnamských veteránech a na místním obyvatelstvu jižního Vietnamu jsou ve svých závěrech nejednotné. U účastníků operace Ranch Hand nebyl prokázán vliv herbicidu Agent Orange na tvorbu testosteronu ani na počet spermatozoidů ani na výskyt abnormálních či poškozených spermatozoidů (28). Schechter a spol. (65) zjistili u amerických veteránů z Vietnamu ještě 30 let po expozici na Agent Orange zvýšené koncentrace dioxinu (20 ppt a více) v krevních lipidech (u neexponované populace 4 ppt) a dokonce prokázali dioxin i ve spermatu. Michalek a spol. (48) neprokázali souvislost mezi dioxinem a předčasným porodem či mrtvě narozenými dětmi žen účastníků operace Ranch Hand. Celkem tři epidemiologické studie prokázaly zvýšený výskyt spina bifida (rozštěp páteře) u dětí zplozených americkými veterány-účastníky operace Ranch Hand (68). Ve skupině vietnamských žen vystavených působení Agent Orange byl zjištěn zvýšený počet předčasných porodů, téměř 2/3 jejich dětí měly vrožené malformace (42).

U amerických výrobců fenoxherbicidů s vysokou koncentrací dioxinu v krevním séru (254 ppt) nebyl zjištěn zvýšený výskyt předčasných porodů u jejich manželek (66).

Mateřské mléko žen žijících v blízkosti spalovny komunálních odpadů v Japonsku obsahuje dio-

xin, PCDD a PCDF (79). Dioxin v mateřském mléce byl nalezen také v jižním Kazachstánu, kde jsou zdrojem dioxinu zřejmě fenoxherbicidy, jimiž jsou mohutně ošetřovány zdejší bavlníkové plantáže (30).

Klinické práce provedené na ženách z jihovietnamské vesnice Binh Mi, těžce zasažené aplikací herbicidu Agent Orange, potvrzují laboratorní nálezy svědčící o poškození genetického aparátu. Byly pozorovány četné poruchy reprodukčních funkcí, poruchy menstruace, opožděná menarche, rizikové těhotenství, patologické porody, zánětlivá onemocnění pohlavních orgánů (zvýšená incidence kolpitid a endocervitid nespecifické etiologie) (67).

Herbicid paraquat blokuje koenzymy vitamínu B v Krebsově cyklu. Volné radikály ruší vodíkové vazby DNA chromozomů ve spermatozoidech i ve vajíčku. Tím se zvětšuje pravděpodobnost přenosu genetické malformace na potomstvo (1).

Lidské spermatozoidy jsou velice citlivé na některé herbicidy, např. na diuron. Proto mohou být indikátorem toxicity herbicidů (45).

#### **Vliv na endokrinní systém**

Herbicid 2,4-D obsahující dioxin rozvrací hormonální stav krys, mění se hladiny thyroïdálních hormonů, inzulinu, kortizolu, testosteronu a estradiolu jako důsledek toxického působení herbicidu na endokrinní orgány (22).

Vysoké koncentrace dioxinu v krevních lipidech u amerických veteránů z Vietnamu (15 ppt) jsou často spojeny s hyperinzulinémií a zvýšenou prevalencí diabetes mellitus (11, 43).

Samci bílé krysy subakutně otrávení herbicidem 2,4-D (s příměsí dioxinu) vykazovali známky zvýšené produkce steroidů v Leydigových buňkách a pokles koncentrace steroidů v plazmě (84).

#### **Vliv na krvetvorbu**

Agent Orange vyvolává poruchy ve funkci hemopoetického systému. Navozuje snížený počet erytrocytů se sníženou koncentrací hemoglobinu a s velmi nízkou hladinou železa v krevním séru. U exponovaných osob byla pozorována chemicky vyvolaná chronická hepatoporfyrie. Koproporfyriurie korelovala s mohutností expozice. Kmenové buňky jevíly změny v diferenciaci a proliferaci. Poznatky od účastníků 2. vietnamské války jsou srovnatelné s výsledky získanými od výrobců fenoxherbicidů v Německu, USA a Rusku anebo od

lidí postižených katastrofou s únikem dioxinu (Seveso, Itálie) (67). Působení herbicidu 2,4-D (součást Agent Orange) na lidské erythrocyty bylo studováno s pomocí rastrovací elektronové mikroskopie a byly zjištěny změny tvaru erythrocytů vyvolané interakcí s vnější vrstvou erythrocytární membrány (70).

### III. Eliminace herbicidů z životního prostředí

#### *Rozklad herbicidů in vitro a in vivo*

Rozklad fenoxherbicidů a zejména pak dioxinu ve vnějším prostředí probíhá velmi pomalu. V přírodě však existují určité mechanismy vedoucí k jejich degradaci, a to v důsledku činnosti půdní mikroflóry i fyzikálně-chemických faktorů.

Dánští autoři (3) konstatují, že v anaerobních podmínkách písčitéch vodonosných vrstev půdy, v hloubce 2–3 metrů pod povrchem probíhá rozklad herbicidu 2,4,5-T a atrazinu, a to jednak působením různých oxidoredukčních potenciálů abiotickou degradací, jednak biodegradací v důsledku působení půdní mikroflóry. Určitý rozklad herbicidu 2,4-D v povrchových vrstvách zemědělské půdy probíhá v důsledku účinku slunečního světla (fotodekompozice) a působením půdní mikroflóry, jak prokázali španělská autoři (12). Experimentálně bylo prokázáno, že fotolýza, resp. fotohydrolyza, a chemická oxidace je urychlována ultrafialovým světlem o vlnové délce 253,7 nm a peroxidem vodíku (33). Humusové substance jsou schopny katalyzovat degradaci herbicidu 2,4-D na dichlorfenol a octovou kyselinu při neutrálním pH, což bylo prokázáno v laboratorních podmínkách (55).

Biodegradace herbicidu 2,4-D probíhá v kalu čističky odpadních vod švýcarského typu pracující v aerobním i anaerobním režimu. Po 17denní inkubaci v anaerobním prostředí je 2,4-D zcela rozštěpena na dichlorfenol a částečně až na monochlorfenol. Biodegradace však probíhá i za aerobních podmínek (83).

Mikroorganismy a fyzikálně-chemické faktory v říční vodě jsou schopny postupně rozkládat organodusíkové herbicidy monuron a diuron. Kinetika tohoto procesu byla studována ve vodě řeky Neris, protékající Vilniusem (10).

Řada mikroorganismů (*Burkholderia cepacia* AC 1100; *Pseudomonas aeruginosa* PA 01; některé kmeny *E. coli* a *Acinetobacter calcoaceticus* aj.) v přírodě vytvořila nové geny kódující katabolické enzymy specifické pro chlorované aromatické sub-

stráty. Tyto enzymy jim umožňují využívat chlorované sloučeniny jako zdroj energie a uhlíku. Pochopení evolučních mechanismů zahrnujících získání takových genů může usnadnit vývoj mikroorganismů se zvýšenou schopností biodegradace vysoce chlorovaných a ve vnějším prostředí velice stálých sloučenin, jako je např. 2,4,5-T nebo 2,4-D (14, 16, 31).

Je intenzivně studován mechanismus biodegradčního účinku *Burkholderia cepacia* AC 1100 na herbicid 2,4,5-T a s pomocí molekulární biologie a genového inženýrství jsou dále tyto vlastnosti zlepšovány (14, 21). Na biodegradaci 2,4,5-T mikroorganismem *Burkholderia cepacia* AC 1100 se podílí řada enzymů, oxygenáz i reduktáz, mezi nimiž hraje významnou úlohu chlorfenol-4-monooxygenáza (46). Geny kódující tyto enzymy jsou klonovány a jsou studovány sekvence jejich aminových kyselin. Jsou popisovány další biodegradční enzymy, které se vyskytují i v jiných mikroorganismech (14).

Dechlorační metabolizace herbicidu 2,4,5-T probíhá v těchto krocích: 2,4,5-trichlorfenoxyoctová kyselina; 2,4,5-trichlorfenol; 5-chlorhydroxychinon; hydroxychinon; maleylacetát; betaoxoadipát; octová kyselina (15, 31, 81).

Po vysvětlení biodegradčního účinku *Burkholderia cepacia* na některé fenoxherbicidy na úrovni laboratorních pokusů se přistoupilo k aplikaci těchto poznatků v praxi. V rámci popisu postižení necílových organismů z říše rostlinné jsme uvedli, že rajčata a baklažán (lilek) neklíčí a nerostou v půdách kontaminovaných 2,4,5-T. Zemědělské půdy takto znehodnocené lze však detoxikovat očkováním půdní bakterií *Burkholderia cepacia* AC 1100 alespoň 7 dnů před setím rajčat a lilku, které pak klíčí a rostou normálně. Tyto studie provedené s *Burkholderia cepacia* ukazují cestu, jak lze ekologické škody způsobené nerozumným, nadměrným používáním herbicidů snížit a někdy i odstranit (20). Bohužel nepodařilo se nám v literatuře najít údaj o biodegradčním působení *Burkholderia cepacia* přímo na dioxin.

Z grampozitivního mikroorganismu *Nocardioi-des simplex* 3E, který byl kultivován na půdě s herbicidem 2,4-D, jako jediným zdrojem uhlíku, byl ruskými autory izolován a purifikován enzym maleylacetát-reduktáza, zodpovědný za štěpení 2,4-D v konečné fázi její biodegradace. Jde o enzym velice labilní, optimální pH pro jeho zachování je 7,0–7,1. Z téhož mikroorganismu byl dále získán enzym hydroxychinon-1,2-dioxygenáza, který katalyzuje

štěpení aromatického kruhu hydrochinonu v průběhu biodegradace 2,4-D a 2,4,5-T. Tento enzym je pravděpodobně dimer složený ze dvou identických podjednotek o molekulové hmotnosti 37 kDa (72, 73).

Z lokality rumišť silně kontaminovaného fenoxherbicidy byl izolován německými autory gram-negativní mikroorganismus *Comamonas acidovorans*, kmen MC 1, který je schopen štěpit svým enzymatickým vybavením některé fenoxherbicidy jako 2,4-D, dichlorprop, mecoprop (- chlorované fenoxypromionáty) a různé chlorfenoly (50).

Ze vzorků půdy v jižním Vietnamu odebraných v oblasti silně kontaminované herbicidem Agent Orange a tedy i dioxiny vyizolovali ruští výzkumníci mikroskopickou houbu tvořící fenoloxydázy. Jde o rychle rostoucí nesporeující kmen nazvaný *Mycelia sterilia* INBI 2-26. Při podrobnějším studiu enzymů byly purifikovány dvě katecholoxidázy, které jsou stabilní v rozmezí pH 3–8 (74).

Izolace a další studium výše uvedených mikroorganismů dává předpoklad, že v budoucnosti bude proveditelná také biodegradace dioxinu, této vysoce toxické nízkomolekulární sloučeniny. Zatím jediným spolehlivým a velmi drahým způsobem odstraňování dioxinu z kontaminovaného materiálu je pyrolýza s použitím velmi vysokých teplot.

Intenzivní používání i dalších jiných herbicidů v zemědělské velkovýrobě USA vedlo ke kontaminaci půdy v takové míře, že je jimi ovlivňován normální vývoj některých kulturních rostlin. Jedním z perspektivních způsobů odstranění tohoto stavu je očkování zemědělské půdy určitými půdními bakteriemi schopnými metabolizovat nežádoucí herbicidy. Američtí autoři zjistili, že *Streptomyces*, kmen PS 1/5 je schopen rozkládat celou řadu herbicidů, jako atrazin, bromacil, alachlor, metolachlor a další. Po laboratorních pokusech přistoupili k terénním pokusům, v nichž zemědělská půda kontaminovaná atrazinem v koncentraci 20 µg/g byla očkovaná kmenem PS 1/5 *Streptomyces*. Po 28 dnech bylo metabolizováno 78 % atrazinu. Tento mikroorganismus je na základě dosažených výsledků navrhován k asanaci zemědělské půdy silně kontaminované zmíněnými herbicidy (63).

### Závěr

Herbicidy, původně vyvinuté k ničení plevelů chemickou cestou se staly nebezpečím při jejich nerozumném, příliš intenzivním používání pro

vnější prostředí, půdu, vodu, ovzduší, pro některé kulturní rostliny, drobné živočichy, divoce žijící i domácí zvířata a také samotného člověka.

Herbicidy byly zneužity Američany k vedení chemické války ve Vietnamu (1962–1971) a způsobily zde obrovské ekologické škody. Největším nebezpečím jsou fenoxherbicidy s příměsí dioxinu, který představuje nejtoxičtější nízkomolekulární substanci. V důsledku intenzivní zemědělské výroby je dioxin prokazován nejen ve vnějším prostředí, ale také v potravinách, rybách, zvířecích a lidských tkáních.

Jsou popsány toxické vlastnosti dioxinu a ostatních nejvýznamnějších herbicidů zahrnující jejich kancerogenní, imunosupresivní, cytotoxické, genotoxické vlastnosti a škodlivé účinky na nervový a endokrinní systém, kůži a krvetvorbu.

Některé půdní mikroorganismy, nejlépe prostudována je *Burkholderia cepacia*, jsou schopny svým enzymatickým systémem rozkládat řadu herbicidů. To bylo prokázáno v laboratorních podmínkách a jsou také již první nadějně výsledky z praktické asanace půdy silně kontaminované fenoxherbicidy.

### Literatura

1. ALTAMAR-RIOS, J. Los herbicidas y las malformaciones congenitas en el Meta, Colombia. *An. otorrinolaringol. IberoAm.*, 2002, vol. 29, no. 1, p. 1–20.
2. ARACIL, P., et al. Total Arsenic accumulation in edible pods and seeds of *Phaseolus vulgaris*. *J. Environ. Sci. Health, Part B*, 2001, vol. 36, no. 6, p. 849–861.
3. ARILDSKOV, NP. – PEDERSEN, PG. – ALBRECHTSEN, HJ. Fate of the herbicides 2,4,5-T, atrazine and DNOC in a shallow, anaerobic aquifer. *Ground Water*, 2001, vol. 39, no. 6, p. 819–830.
4. BAJGAR, J. – FUSEK, J. – HRDINA, V. *Vojenská toxicologie*. Hradec Králové, VLA JEP, 1991. 266 s.
5. BARRETT, DH., et al. Serum dioxin and cognitive functioning among veterans of Operation Ranch Hand. *Neurotoxicol.*, 2001, vol. 22, no. 4, p. 491–502.
6. BECHER, H. – FLESCHE-JANY, D., et al. Cancer mortality in German male workers exposed to phenoxyherbicides and dioxins. *Cancer causes control.*, 1996, vol. 7, no. 3, p. 312–321.
7. BECHER, H. – STEINDORF, K., et al. Quantitative cancer risk assessment for dioxins using an occupational cohort. *Environ. Health Perspect.*, 1998, vol. 106, Suppl. 2, p. 663–670.
8. BLAKLEY, BR. Effect of roundup and tordon 202 C herbicides on antibody production in mice. *Vet. Hum. Toxicol.*, 1997, vol. 39, no. 4, p. 204–206.
9. BURTON, JE. – MICHALEK, JE. – RAHE, AJ. Serum dioxin, chloracne and acne in veterans of Operation Ranch Hand. *Arch. Environ. Health*, 1998, vol. 53, no. 3, p. 199–204.



10. CETKAUSKAITE, A. – GRIGONIS, U. – BERZINSKIENE, I. Biodegradation – selection of suitable model. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 1998, vol. 40, no. 1/2, p. 19–28.
11. CRANMER, M., et al. Exposure to TCDD is associated with hyperinsulinemia and insulin resistance. *Toxicol. Sci.*, 2000, vol. 56, no. 2, p. 431–436.
12. CRESPIAN, MA., et al. Study of the degradation of 2,4-D and MCPA at different depths in contaminated agricultural soil. *Environ. Sci. Technol.*, 2001, vol. 35, no. 21, p. 4265–4270.
13. CYRANOSKI, D. US and Vietnam join forces to count cost of Agent Orange. *Nature*, 2002, vol. 416, 6878, p. 252.
14. DANGANAN, CE., et al. Nucleotide sequence and functional analysis of the genes encoding 2,4,5-T oxygenase in *Pseudomonas cepacia* AC 1100. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, vol. 60, no. 11, p. 4100–4106.
15. DAUBARAS, DL. – SAIDO, K. – CHAKRABARTY, AM. Purification of hydroxyquinol 1,2-dioxygenase and maleylacetate reductase. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, vol. 62, no. 11, p. 4276–4279.
16. DAUBARAS, DL., et al. Biodegradation of 2,4,5-T by *Burkholderia cepacia* AC 1100 evolutionary insight. *Gene*, 1996, vol. 179, no. 1, p. 1–8.
17. DEML, R. – DETTNER, K. Biodegradation and transfer of ingested 2,4-D by a polyphagous saturniid caterpillar. *Chemosphere*, 2001, vol. 45, no. 6/7, p. 783–789.
18. FLESCHE-JANY, D., et al. Estimation of the cumulated exposure to PCDD and standardized mortality ratio analysis of cancer mortality. *Environ. Health Perspect.*, 1998, vol. 106, Suppl. 2, p. 655–662.
19. FONTANA, A., et al. Incidence rates of lymphomas and environmental measurements of phenoxyherbicides. *Arch. Environ. Health*, 1998, vol. 53, no. 6, p. 384–387.
20. GANGADHARA, KP. – KUNHI, AA. Protection of tomato seed germination from the inhibitory effect of 2,4,5-T. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, vol. 48, no. 9, p. 4314–4319.
21. GHADI, SC. – SANGODKAR, UM. Identification of a meta-clearage pathway for metabolism of phenoxyacetic acid and phenol in *Pseudomonas cepacia* AC 1100. *Biochem. Biophys. Res. Com.*, 1994, vol. 204, no. 2, p. 983–993.
22. GILMANOV, AŽ., et al. Vlijanje dioksinsodržašegog herbicida 2,4-D na gormonalnyj status eksperimentalnyh životnyh. *Med. Tr. Prom. Ekol.*, 1997, 8, s. 15–18.
23. HA, MC., et al. Agent Orange and the risk of gestational trophoblastic disease in Vietnam. *Arch. Environ. Health*, 1996, vol. 51, no. 5, p. 368–374.
24. HALPERIN, W., et al. Immunological markers among workers exposed to TCDD. *Occup. Environ. Med.*, 1998, vol. 55, no. 11, p. 742–749.
25. HARDELL, L. – ERIKSSON, M. – AXELSON, O. Agent Orange in war medicine, an aftermath myth. *Int. J. Health Serv.*, 1998, vol. 28, no. 4, p. 715–724.
26. HAYES-TYRONE, B., et al. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to atrazine. *Proc. NATO. Acad. Sci. USA*, 2002, vol. 99, no. 8, p. 5476–5480.
27. HEEDERIK, D. – HOOIVELD, M. – BUENO-DE-MESQUITA, HB. Modelling of TCDD levels in a cohort of workers with exposure to phenoxyherbicides and chlorophenols. *Chemosphere*, 1998, vol. 37, no. 9/12, p. 1743–1754.
28. HENRIKSEN, GL., et al. Serum dioxin, testosterone and gonadotropins in veterans of operation Ranch Hand. *Epidemiology Cambridge-Mass.*, 1996, vol. 7, no. 4, p. 352–357.
29. HOOIVELD, M., et al. Second follow-up of a Dutch cohort occupationally exposed to phenoxyherbicides. *Am. J. Epidemiol.*, 1998, vol. 147, no. 9, p. 891–901.
30. HOOPER, K., et al. Analysis of breast milk to assess exposure to chlorinated contaminants in Kazakhstan, sources of TCDD exposures in agricultural region of southern Kazakhstan. *Environ. Health Perspect.*, 1999, vol. 107, no. 6, p. 447–457.
31. HUBNER, A., et al. Genes for 2,4,5-T metabolism in *Burkholderia cepacia* AC 1100. *Appl. Environ. Microbiol.* (USA), 1998, vol. 64, no. 6, p. 2086–2093.
32. CHIZBULIN, FF., et al. Zagriznenost' selskochozjajstvennyh landšaftov Baškirostana gerbicidom 2,4-D i dioksinami. *Med. Tr. Prom. Ekol.*, 1997, 8, s. 26–31.
33. CHU, W. Modelling the quantum yields of herbicide 2,4-D decay in UV - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> process. *Chemosphere*, 2001, vol. 44, no. 5, p. 935–941.
34. KAIUOMOVA, D. – SUSAL, C. – OPELZ, G. Induction of apoptosis in human lymphocytes by the herbicide 2,4-D. *Human Immunol.*, 2001, 62, 1, p. 64–74.
35. KAIUOMOVA, D., et al. Toxic effects of 2,4-D on lymphoid organs of the rat. *Chemosphere*, 2001, vol. 43, no. 4/7, p. 801–805.
36. KANG, HK., et al. US Army Chemical Corps Vietnam veterans health study. *Chemosphere*, 2001, vol. 43, no. 4/7, p. 943–949.
37. KAYA, B., et al. Use of the *Drosophila* wing spot test in the genotoxicity testing of different herbicides. *Environ. Mol. Mutagen.*, 2000, vol. 36, no. 1, p. 40–46.
38. KENYON, EM. – HUGHES, MF. A concise review of the toxicity and carcinogenicity of dimethylarsinic acid. *Toxicology*, 2001, vol. 160, no. 1/3, p. 227–236.
39. KOGEVINAS, M., et al. Cancer mortality in workers exposed to phenoxyherbicides, chlorophenols and dioxins. *Am. J. Epidemiol.*, 1997, vol. 145, no. 12, p. 1061–1075.
40. KRAMAROVA, E., et al. Exposure to Agent Orange and occurrence of soft-tissue sarcomas or non-Hodgkin lymphomas in Vietnam. *Environ. Health Perspect.*, 1998, vol. 106, Suppl. 2, p. 671–678.
41. LARIO, Y., et al. Methylarsinic and dimethylarsinic acids toxicity and total arsenic accumulation in edible bush beans, *Phaseolus vulgaris*. *Food Addit. Contam.*, 2002, vol. 19, no. 5, p. 417–426.
42. LE, TN. – JOHANSSON, A. Impact of chemical warfare with Agent Orange on women's reproductive lives in Vietnam. *Reprod. Health Matters*, 2001, vol. 9, no. 18, p. 156–164.
43. LONGNECKER, MP. – MICHALEK, JE. Serum dioxin level in relation to diabetes mellitus among Air Force veterans with background levels of exposure. *Epidemiology*, 2000, vol. 11, no. 1, p. 44–48.
44. MAHAN, CM., et al. A case-control study of lung cancer among Vietnam veterans. *J. Occup. Environ. Med.*, 1997, vol. 39, no. 8, p. 740–747.
45. MALPUECH-BRUGERE, C., et al. Effets sur le sperma-

- tozoide humain du diuron et de l'un de ses produits de transformation, la 3,4-dichloroaniline. *Andrologie*, 2001, vol. 11, no. 2, p. 69–75.
46. MARTIN, G., et al. Hydroxylation reaction catalyzed by the Burkholderia cepacia AC 1100. *Eur. J. Biochem.*, 1999, vol. 261, no. 2, p. 533–539.
47. MARTINEZ, IM. – LUMARET, JP. – CRUZ, MR. Suspected side effects of a herbicide on dung beetle populations (Coleoptera, Scarabaeidae). *Comptes rendus de l'Academie des Sciences*, serie III., 2001, vol. 324, no. 11, p. 989–994.
48. MICHALEK, JE. – RAHE, AJ. – BOYLE, CA. Paternal dioxin, pretherm birth, intrauterine growth retardation, and infant death. *Epidemiology*, 1998, vol. 9, no. 2, p. 161–167.
49. MICHALEK, JE., et al. Serum dioxin and peripheral neuropathy in veterans of operation Ranch Hand. *Neurotoxicology*, 2001, vol. 22, no. 4, p. 479–490.
50. MÜLLER, RH., et al. Comamonas acidovorans, strain MC1, a new isolate capable of degrading the herbicides dichlorprop, mecoprop, 2,4-D and MCPA. *Microbiol. Res.*, 1999, vol. 154, no. 3, p. 241–246.
51. NEUBERGER, M. – KUNDI, M. – JÄGER, R. Chloracne and morbidity after dioxin exposure. *Toxicol. Lett.*, 1998, 96/97, p. 347–350.
52. NEUBERGER, M., et al. Persistent health effects of dioxin contamination in herbicide production. *Environ. Res.*, 1999, vol. 81, no. 3, p. 206–214.
53. PELCLOVÁ, D., et al. Biochemical, neuropsychological and neurological abnormalities following TCDD exposure. *Arch. Environ. Health*, 2001, vol. 56, no. 6, p. 493–500.
54. PENSABENE, JW. – FIDDLER, W. – DONOGHUE, DJ. Supercritical fluid extraction of atrazine and other triazine herbicides from fortified and incurred eggs. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, vol. 48, no. 5, p. 1668–1672.
55. PICCOLO, A., et al. Combined effects of an oxidative enzyme and dissolved humic substances on <sup>13</sup>C-labelled 2,4-D herbicide as revealed by high resolution <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. *J. Ind. Microbiol.-Biotechnol.*, 2001, vol. 26, no. 1/2, p. 70–76.
56. PRAKASH, JS. – BAIG, MA. – MOHANTY, P. Age dependent alterations in photosystem acceptor side in Cucumis sativus cotyledonary leaf thylakoids, analysis of binding of herbicide atrazine. *Indian J. Biochem. Biophys.*, 1999, vol. 36, no. 1, p. 10–13.
57. RIBAS, G., et al. Lack of genotoxicity of atrazine in cultured human lymphocytes. *Mut. Res.*, 1998, vol. 416, no. 1/2, p. 93–99.
58. ROEDER, RA. – GARBER, MJ. – SCHELLING, GT. Assessment of dioxins in foods from animal origins. *J. Anim. Sci.*, 1998, vol. 76, no. 1, p. 142–152.
59. RYAN, JJ. – SCHECTER, A. Exposure of Russian phenoxyherbicide producers to dioxins. *J. Occup. Environ. Med.*, 2000, vol. 42, no. 9, p. 861–870.
60. SARMA, SS., et al. Combined effects of food concentration and the herbicide 2,4-D on the population dynamics of Brachionus patulus. *Ecotoxicology*, 2001, vol. 10, no. 2, p. 91–99.
61. SASTRY, BV., et al. Cellular toxicity of 2,4,5-T, formation of 2,4,5-trichlorophenoxyacetylcholine. *Cell. Mol. Biol. Noisy-le Grand*, 1997, vol. 43, no. 4, p. 549–557.
62. SEAGRAVE, S. *Yellow rain*. London, Abacus, 1982. 312 s.
63. SHELTON, DR., et al. Metabolism of 12 herbicides by Streptomyces. *Biodegradation*, 1996, vol. 7, no. 2, p. 129–136.
64. SCHECTER, A. – DAI, LC., et al. Recent dioxin contamination from Agent orange in residents of a southern Vietnam city. *J. Occup. Environ. Med.*, 2001, vol. 43, no. 5, p. 435–443.
65. SCHECTER, A. – MCGEE, M., et al. Dioxins and dioxin-like chemicals in blood and semen of American Vietnam veterans from the state of Michigan. *Am. J. Ind. Med.*, 1996, vol. 30, no. 6, p. 647–654.
66. SCHNORR, TM., et al. Spontaneous abortion, sex ratio and paternal occupational exposure to TCDD. *Environ. Health Perspect.*, 2001, vol. 109, no. 11, p. 1127–1132.
67. SOFRONOV, G., et al. The long-term health consequences of Agent Orange in Vietnam. *Voj. zdrav. Listy*, 2001, vol. 70, Suppl. 2, p. 54–69.
68. STEPHENSON, J. New IOM report links Agent Orange exposure to risk of birth defect in Vietnam veterans children. *JAMA*, 1996, vol. 275, no. 14, p. 1066–1067.
69. SULIK, M., et al. The effect of a herbicide, sodium salt of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on Guerin carcinoma. *Roczniki Akad. Medycznej w Białymstoku*, 1996, vol. 41, no. 2, p. 347–362.
70. SUWALSKY, M., et al. Interaction of 2,4-D with cell and model membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1996, 1285, no. 2, p. 267–276.
71. TEKEL, J. – TAHOTNA, S. – VAVERKOVÁ, S. Gas chromatographic method for determination of uracil herbicides in roots of Echinacea angustifolia. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1998, vol. 16, no. 5, p. 753–758.
72. TRAVKIN, VM. – LINKO, EV. – GOLOVLEVA, LA. Purification and characterization of maleylacetate reductase from Nocardioides simplex 3E utilizing phenoxyacetic herbicides 2,4-D and 2,4,5-T. *Biochemistry (Mosc.)*, 1999, vol. 64, no. 6, p. 625–630.
73. TRAVKIN, VM., et al. Characterization of an intradiol dioxygenase involved in the biodegradation of the chlorophenoxyherbicides 2,4-D and 2,4,5-T. *FEBS-Lett.*, 1997, vol. 407, no. 1, p. 69–72.
74. VASILČENKO, LG., et al. Vydělení i charakteristika mikromiceta, producenta nejtrálnych fenoloxidaz iz tropičeskich počv s vysokim soděržaniem dioksinov. *Príkl. Biochim. Mikrobiol.*, 2000, 36, 4, s. 412–421.
75. VENKOV, P., et al. Genotoxic effect of substituted phenoxyacetic acids. *Arch. Toxicol.*, 2000, vol. 74, no. 9, p. 560–566.
76. VIJAYARAGHAVAN, M., et al. Dimethylarsinic acid induces 8-hydroxy-2-deoxyguanosine formation in the kidney of NCI-Black-Reiter rats. *Cancer Letters*, 2001, vol. 165, no. 1, p. 11–17.
77. VINEIS, P. Incidence and time trends for lymphomas, leukemias and myelomas, hypothesis generation. *Leukemia Res.*, 1996, vol. 20, no. 4, p. 285–290.
78. WAITE, DT., et al. Environmental concentrations of agricultural herbicides: 2,4-D and triallate. *J. Environ. Qual.*, 2002, vol. 31, no. 1, p. 129–144.
79. WATANABE, S. – KITAMURA, K. – NAGAHASHI, M. Effects of dioxins on human health, review. *J. Epidemiol. Japan Epid. Assoc.*, 1999, vol. 9, no. 1, p. 1–13.

80. WILLEMSSEN, RE. – HAILEY, A. Effect of spraying the herbicides 2,4-D and 2,4,5-T on a population of the tortoise *Testudo hermani* in southern Greece. *Environ. Pollut.*, 2001, vol. 113, no. 1, p. 71–78.
81. ZABORINA, O., et al. Novel pathway for conversion of chlorohydroxyquinol to maleylacetate in *Burkholderia cepacia* AC 1100. *J. Bacteriol.*, 1998, vol. 180, no. 17, p. 4667–4675.
82. ZAFAR, MB. – TERRIS, MK. Prostate cancer detection in veterans with a history of Agent Orange exposure. *J. Urol.*, 2001, vol. 166, no. 1, p. 100–103.
83. ZIPPER, C., et al. Fate of the herbicides mecoprop, dichlorprop and 2,4-D in aerobic and anaerobic sewage sludge as determined by laboratory batch studies and enantiomer – specific analysis. *Biodegradation*, 1999, vol. 10, no. 4, p. 271–278.
84. ŽAVORONKOV, AA., et al. Morfofunkcionalnaja charakteristika semmenikov bělych kryš pri vozďejstvii dioksin-soděržaščego gerbicida 2,4-D. *Archiv patologii*, 1998, 60, no. 2, s. 51–53.
85. ŽULEVA, LJ. – UMNOVA, NV. – RUMAK, VS. Registracija mikrojadér v slupivajuščichsja kletkach slizistoj rotovoj polosti čelověka na teritorii južnogo Vietnamu. *Genetika*, 1996, 32, no. 12, s. 1700–1704.

Korespondence: Prof. MUDr. Josef Fusek, DrSc.  
Katedra toxikologie  
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně  
Tøebešská 1575  
500 01 Hradec Králové  
e-mail: fusek@pmfhk.cz

Do redakce došlo 28. 7. 2003

---