

EWA TYRKIEL, BOŻENA WIADROWSKA, JAN K. LUDWICKI

PORÓWNAWCZE BADANIA WPŁYWU SYNTETYCZNYCH  
PYRETHROIDÓW NA INDUKCJĘ ZMIAN GENETYCZNYCH  
W KOMÓRKACH SOMATYCZNYCH I PŁCIOWYCH MYSZY  
W ZALEŻNOŚCI OD DROGI NARAŻENIA

COMPARATIVE STUDIES ON THE EFFECT OF SYNTHETIC PYRETHROIDS ON  
THE INDUCTION OF GENETIC CHANGES IN MICE SOMATIC AND SEX CELLS  
DEPENDING ON THE EXPOSURE ROUTE

Zakład Toksykologii Środowiskowej,  
Państwowy Zakład Higieny  
00–791 Warszawa, ul. Chocimska 24  
Kierownik: prof. dr hab. J.K. Ludwicki

*Porównano wpływ permetyryny i fenwaleratu na indukcję zmian genetycznych w komórkach somatycznych i płciowych samców myszy laboratoryjnych przy różnych drogach narażenia. Stwierdzono różnicę w oddziaływaniu ww. pyretroidów na oceniane komórki w zależności od drogi podania.*

WSTĘP

Syntetyczne pyretroidy są insektycydami o silnym działaniu neurotoksycznym, szeroko stosowanymi w ochronie owoców i warzyw, a także w higienie sanitarnej. W odróżnieniu od naturalnych pyretroidów charakteryzują się one wysoką fotostabilnością. Łączą też dużą aktywność owadobójczą i wysoką selektywność w działaniu z niską toksycznością dla ssaków, u których ulegają metabolizmowi poprzez hydrolizę wiązania estrowego, reakcje utleniania i sprzęgania nie wykazując przy tym tendencji do kumulowania się w tkankach [2, 4, 16].

W środowisku naturalnym syntetyczne pyretroidy są szybko degradowane zarówno w glebie jak i tkankach roślin. Pyretroidy są silnie absorbowane przez glebę i osady, w wyniku czego są trudno wmywane przez wodę. Z uwagi na niskie dawki aplikacyjne podyktowane wysoką toksycznością dla owadów i szybką degradację w środowisku poziomy pozostałości pyretroidów w żywności są niewielkie [4].

Pod względem budowy chemicznej są one estrami kwasu chryzantemowego lub halogenowych pochodnych tego kwasu i alkoholi pierwszo- lub drugorzędowych, zawierających w swojej cząsteczce przynajmniej jedno wiązanie podwójne [2, 20].

Na podstawie wyników testu wiązania kwasu *gamma*-aminomasłowego (GABA) przez kompleks receptor – jonofor, syntetyczne pyretroidy można podzielić na dwa typy: *alfa*-cyano-3-fenoksybenzylowe np. fenwalerat, deltametryna, cypermetryna (typ

II zespół CS), i nie posiadające ugrupowania cyjanowego np. permetryna, tetrametryna, cismeryna, bioesmetryna (typ I, zespół T) [4].

Permetryna należy do pyretroidów nie posiadających grupy *alfa*-cyjanowej. Związek ten powoduje zwiększenie częstości występowania mikrojąder w limfocytach ludzkich hodowanych *in vitro*, oraz oddziałuje na cykl podziałowy obniżając indeks mitotyczny [9]. Wykazano też, że permetryna podobnie jak DDT należy do induktorów cytochromu P-450 2B – typu fenobarbitalu [11], oraz oddziałuje na syntezę DNA, a także powoduje zwiększenie liczby dwujądrazastych hepatocytów w wątrobie szczura [12].

Fenwalerat należy do pyretroidów posiadających grupę *alfa*-cyjanową. Na podstawie wyników badań prowadzonych na hodowli fibroblastów płuc chomika chińskiego (V79) gdzie stwierdzono hamowanie komunikacji międzykomórkowej przy dawkach niecytotoksycznych, oraz wyników badań prowadzonych na szczurach, a także biorąc pod uwagę farmakologiczne i biochemiczne podobieństwo do DDT, fenwalerat zaliczono do grupy związków rozważanych jako promotory raka [8]. Natomiast informacje dotyczące potencjalnych właściwości mutagennych tego związku są niewystarczające i rozbieżne.

Badania oddziaływania pyretroidów na materiał genetyczny zarówno zwierząt jak i roślin wykazały, że rodzaj i zakres działania mutagennego tych związków w dużej mierze zależał od drogi narażenia, wysokości stosowanej dawki, czasu ekspozycji, a także wrażliwości badanego organizmu. [1, 3, 4, 9].

W związku z tym celowym wydało się podjęcie badań, w których porównano wpływ wybranych pyretroidów: permetryny [ester 3-(fenoksy)-fenylometylowy kwasu 3(2,2-dichlorowinylo)-2,2-dimetylocyklopropanokarboksylowego)] i fenwaleratu [(*alfa*-cyjano-3-fenoksybenzylo)-2-(4-chlorofenylo)izowalerian) na indukcję zmian genetycznych w komórkach somatycznych i rozrodczych myszy laboratoryjnych przy różnych drogach narażenia.

## MATERIAŁ I METODY

### Badane związki

Do badań użyto: fenwalerat (*alfa*-cyjano-3-fenoksybenzylo)-2-(4-chlorofenylo)izowalerian) firmy Sumitomo C.O., Japonia, o czystości 96,8%, permetrynę [ester 3-(fenoksy)-fenylometylowy kwasu 3(2,2-dichlorowinylo)-2,2-dimetylocyklopropanokarboksylowego)] (95%, *cis/trans* 25:75) – firmy AgrEvo Environmental Health Ltd., Wielka Brytania, cyklofosfamid (CP) firmy SERVA.

### Materiał biologiczny i przebieg doświadczeń

Badania wykonano na dojrzałych płciowo (8–10 tygodniowych) samcach myszy szczepu Swiss/Pzh pochodzących z hodowli Centralnej Zwierzętarń Państwowego Zakładu Higieny.

Zwierzęta umieszczano w klatkach w pomieszczeniu o temp.  $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  z 12 godzinnym cyklem świetlnym i względnej wilgotności powietrza  $50\% \pm 10\%$ . Przed rozpoczęciem doświadczenia zwierzęta przechodziły dwutygodniową kwarantannę w ww. warunkach otrzymując paszę standardową i wodę wodociągową.

### Test anomalii plemnikowych

Badane związki podawano samcom myszy przez pięć kolejnych dni w następujących dawkach: fenwalerat 20 i 40 mg/kg m.c. i permetrynę 125 i 250 mg/kg m.c. drogą iniekcji dootrzewnowej w 0,1 ml DMSO, oraz fenwalerat 50 i 100 mg/kg m.c. i permetrynę 200 i 400 mg/kg m.c. w zawiesinie z oliwy *per os*. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały DMSO dootrzewnowo

w ilości 0,1 ml lub oliwę z oliwek drogą pokarmową. Kontrolę pozytywną stanowiły myszy otrzymujące cyklofosfamid w dawce wynoszącej 50 mg/kg m.c. i.p. i 150 mg/kg m.c. *per os*. Każda grupa zwierząt liczyła po 4 samce.

Po upływie 35 dni od pierwszego podania badanych związków wykonywano sekcję zwierząt. Wypreparowane gonady płukano w fizjologicznym roztworze soli i ważono. Następnie izolowano plemniki z najądrzy i umieszczano je w fizjologicznym roztworze soli. Wykonane rozmazy po wysuszeniu utrwalano w acetoalkoholu (3:1) i barwiono 0,5% roztworem eozyny Y. Następnie określano odsetek plemników o zmienionej morfologii (brak haczyka na główce, główka bananokształtna, dwuwiciowość, amorficzność) według metody *Wyrobka* i *Bruca* [23]. Na jednego samca oceniano po 1000 plemników.

#### *Test mikrojądrowy*

Zwierzętom, u których oceniano eryocyty w szpiku kostnym, fenwalerat i permetrynę podawano 2 razy w ciągu doby w odstępach 24 godzinnych drogą iniekcji dootrzewnowej lub *per os* w dawkach analogicznych jak przy teście anomalii plemnikowych. Po upływie 6 i 24 godzin od ostatniego podania badanych związków, od samców po uprzednim humanitarnym zabiciu pobierano szpik kostny z kości udowej, wykonywano rozmazy wg metody *Schmida* [14, 21, 22] i barwiono barwnikiem *Giemsa*. Następnie oceniano występowanie mikrojąder w erytocytach polichromatycznych (MNPCE). Oznaczano także stosunek erytocytów polichromatycznych do normochromatycznych (PCE/NCE) umożliwiającą ocenę cytotoksycznego działania badanych związków.

Analizy statystycznej otrzymanych wyników dokonano stosując metodę *Kastenbaum-Bowmana* [10]. Średnie ciężary gonad porównywano stosując test *t Studenta*.

## WYNIKI

Wyniki badań wpływu fenwaleratu i permetryny na komórki płciowe samców myszy szczepu Swiss przy różnych drogach narażenia przedstawiono na rycinie 1a i 1b.

W wykonanych doświadczeniach wykazano, że zarówno fenwalerat w dawce 40 mg/kg m.c. jak i permetryna w dawce 250 mg/kg m.c. podawane dootrzewnowo powodowały statystycznie istotny wzrost odsetka plemników ze zmienioną morfologią. Przy dawkach niższych wynoszących dla fenwaleratu 20 mg/kg m.c. i dla permetryny 125 mg/kg m.c. obserwowany wzrost liczby plemników z anomaliami morfologicznymi nie był statystycznie znamieny.

Badane pyretroidy aplikowano również drogą pokarmową w postaci zawiesiny w oliwie. Fenwalerat podawany samcom myszy *per os* przy żadnej ze stosowanych dawek nie powodował uszkodzeń w budowie plemników. Natomiast permetryna w dawce 400 mg/kg m.c. powodowała statystycznie znamienne zwiększenie się liczby uszkodzonych plemników w odniesieniu do zwierząt nie otrzymujących pyretroidu. Samce otrzymujące cyklofosfamid stanowiły kontrolę pozytywną, u zwierząt tych zanotowano istotne zwiększenie liczby plemników z anomaliami, zarówno przy podawaniu tego związku drogą *per os* jak i drogą iniekcji dootrzewnowej.

Ciężar gonad samców myszy narażonych na działanie badanych pyretroidów przedstawiono na rycinach 2A i 2B. Zmiany ciężaru jąder mogą być spowodowane toksycznym działaniem podawanych związków chemicznych. Stwierdzono nieznaczny spadek średniego ciężaru gonad przy dootrzewnowym podawaniu fenwaleratu i permetryny. Przy dawce fenwaleratu wynoszącej 40 mg/kg m.c. spadek ten był statystycznie zamienny. Przy narażeniu badanych drogą *per os* na badane związki takiego efektu nie obserwowano.

Ryc. 1a

Ryc. 1b

Ryc. 2. Toksyczne działanie permetyryny i fenwaleratu na gonady samców myszy przy różnych drogach narażenia. A – narażenie drogą doustną, B – narażenie drogą dootrzewnową  
Toxic effect of permethrin and fenvalerate in the testis of the male mice. A – *per os* route, B – intraperitoneal route

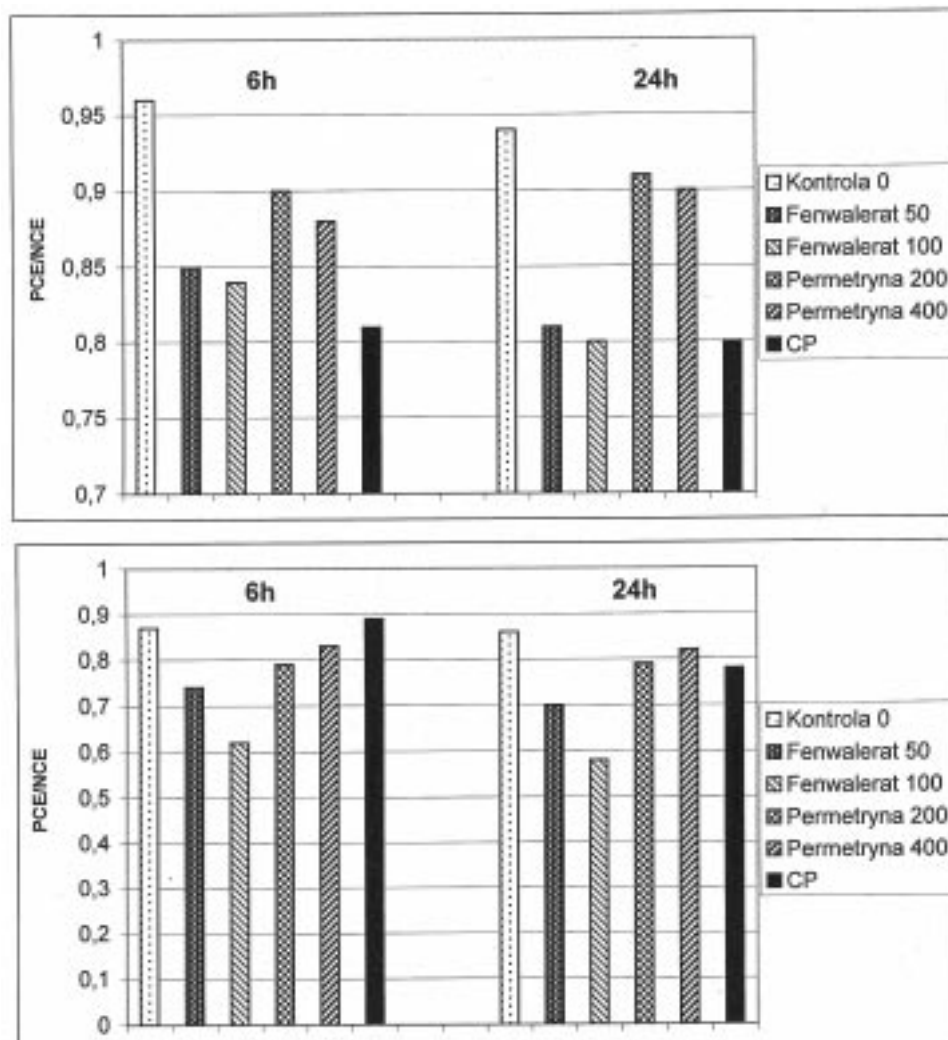
Wyniki badań wpływu badanych pyretroidów na materiał genetyczny komórek somatycznych (komórki szpiku kostnego) przedstawiono na rycinach 3A i 3B.

Na podstawie oceny częstości występowania mikrojąder w erytrocytach polichromatycznych szpiku kostnego, można stwierdzić, że fenwalerat przy żadnej ze stosowanych dawek, niezależnie od drogi podania nie indukował uszkodzeń prowadzących do

Ryc. 3a

Ryc. 3b





Ryc. 4. Cytotoksyczne działanie permetryny i fenwaleratu na komórki szpiku kostnego samców myszy przy różnych drogach narażenia. A – narażenie drogą doustną, B – narażenie drogą dootrzewnową

Cytotoxic effect of permethrin and fenvalerate on bone marrow cells. A – *per os* route, B – intraperitoneal route

wzrostu częstości występowania mikrojąder. Można było natomiast zauważyć wyraźne cytotoksyczne działanie tego związku na komórki szpiku kostnego przy podaniu dootrzewnowym w dawce wynoszącej 40 mg/kg m.c. po 24 godzinach (ryc. 4B). Permetryna podawana samcom myszy dootrzewnowo w dawce 250 mg/kg m.c. nie powodowała statystycznie istotnego wzrostu częstości występowania mikrojąder w erytrocytach polichromatycznych szpiku kostnego zarówno po 6 jak i po 24 godzinach od pierwszego

podania pyretroidu. Jednakże przy narażeniu zwierząt drogą *per os* (400 mg/m.c.) obserwowano statystycznie znamienne wzrost liczby komórek z mikrojądrami (ryc. 3A). Nie notowano natomiast działania cytotoksycznego wyrażonego stosunkiem erytrocytów polichromatycznych do normochromatycznych (ryc. 4A).

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wyniki badań potencjalnych mutagennych właściwości pyretroidów wskazują, że wiele z nich oddziałuje na materiał genetyczny organizmów żywych. *Chauhan* i wsp. [3] wykazali, że deltametryna w komórkach merystematycznych stożka wzrostu u *Allium cepa* istotnie obniża indeks mitotyczny, indukuje c-mitozy, wielobiegunowe anafazy oraz opóźnia rozejście się chromosomów, a w wysokich dawkach wpływa na wzrost częstości występowania mikrojąder i aberracji chromosomowych. Supercyprmetryna jak wykazała *Miadokova* i wsp. [15] u *Saccharomyces cerevisiae* indukuje konwersje genowe w lokus tryptofanowym i mutacje genowe w lokus izoleucyny, a także zwiększa częstość zakłóceń w rozejściu się chromosomów w stadium anafazy i telofazy w komórkach merystematycznych u *Hordeum vulgare* i *Vicia faba*. *Amer* i wsp. [1] w swoich badaniach stwierdzili, że cypermetryna u myszy powoduje wzrost częstości występowania mikrojąder w komórkach szpiku kostnego. U *Drosophila melanogaster* związek ten indukuje recesywne mutacje sprzężone z płcią [5].

Na podstawie wyników uzyskanych w wykonanych doświadczeniach można było zauważyć różnicę w oddziaływaniu badanych pyretroidów na materiał genetyczny ocenianych komórek, a także zależność tego działania od drogi narażenia.

Permetryna należąca do grupy pyretroidów nie posiadających grupy *alfa* cyjanowej indukowała zmiany w komórkach płciowych niezależnie od drogi narażenia. W odniesieniu do szpiku kostnego obserwowano zwiększenie częstości występowania mikrojąder w erytrocytach polichromatycznych przy podaniu tego związku *per os*. Przy narażeniu samców myszy drogą dootrzewnową takiego działania nie obserwowano. Indukcja mikrojąder, oraz zmian morfologicznych plemników nie łączyła się z cytotoksycznym działaniem permetryny.

Stwierdzone różnice w oddziaływaniu permetryny na komórki szpiku kostnego w zależności od drogi narażenia są zbieżne z obserwacjami *Amer* i wsp. [1], którzy badali oddziaływanie innego pyretroidu, cypermetryny, na komórki szpiku kostnego myszy. Preparat ten podawano zwierzętom drogą doustną, dermalną i dootrzewnową. Wykazano, że cypermetryna indukuje wzrost częstości występowania mikrojąder w erytrocytach polichromatycznych szpiku kostnego po podaniu doustnym, niezależnie od czasu narażenia na badany związek, natomiast przy podaniu tego związku drogą iniekcji dootrzewnowej nie notowano uszkodzeń prowadzących do pojawienia się mikrojąder.

Badania wykonane przez *Herrera* i wsp. [9] wykazały, że permetryna indukuje mikrojądra oraz SCE (wymianę chromatyd siostrzanych) w limfocytach hodowanych *in vitro* bez dodatku do medium inkubacyjnego frakcji S9, a więc do uzyskania efektu w postaci uszkodzeń nie była potrzebna aktywacja metaboliczna.

Fenwalerat należący do pyretroidów posiadających grupę *alfa* cyjanową w wykonanych badaniach indukował uszkodzenia w komórkach płciowych powodując zmiany w morfologii plemników tylko przy narażeniu zwierząt doświadczalnych drogą dootrzewnową. Nie stwierdzono natomiast wzrostu częstości występowania mikrojąder w ery-

trocytach polichromatycznych szpiku kostnego zarówno przy podaniu dootrzewnowym jak i *per os*. Przy podaniu badanego pyretroidu drogą dootrzewnową notowano działanie cytotoksyczne zarówno na komórki płciowe jak i komórki szpiku kostnego.

*Pati* i wsp. [18] po podaniu fenwaleratu w łącznej dawce 100, 150, 200, mg/kg m.c w pięciu podzielonych dawkach (5x20, 5x30 i 5x40 mg/kg m.c.) również obserwował zwiększenie liczby anomalii plemnikowych, natomiast otrzymał odmienne wyniki dotyczące oddziaływania fenwaleratu na komórki szpiku kostnego. Wykazał on, że fenwalerat w łącznej dawce podawanej dwukrotnie, wynoszącej 200, 300 i 400 mg/kg m.c. indukował aberracje chromosomowe oraz zwiększał częstość występowania mikrojąder w erytrocytach polichromatycznych zarówno przy podaniu dootrzewnowym jak i przy podaniu drogą pokarmową. Różnice w otrzymanych rezultatach w odniesieniu do szpiku kostnego są być może spowodowane zdolnością tolerancji badanych zwierząt na wysokość aplikowanej dawki.

W badaniach prowadzonych przez *Pluijmen* i wsp. w warunkach *in vitro* na bakteriach *S. typhimurium*, szczep TA 100 i TA 98 w obecności i przy braku frakcji S9 przy zastosowaniu testu płytkowego i fluktuacyjnego, oraz na hodowli komórek V79 chomika chińskiego stwierdzono, że fenwalerat nie wykazuje działania mutagennego [19].

Fenwalerat jest bardzo szybko absorbowany i przenoszony do tkanek, następnie metabolizowany i wydalany. *Mumtaz* i wsp. [17] stwierdzili, że okres półtrwania fenwaleratu przy dawce 30 mg/kg m.c. u myszy wynosi 12–14 godzin. Ze względu na brak kumulacji tego związku w organizmie wydaje się konieczne kontynuowanie badań oddziaływania tego pyretroidu na materiał genetyczny zwierząt laboratoryjnych przy przedłużonej ekspozycji, a także określenie w jakim stopniu zmiany morfologii plemników wpływają na zdolności reprodukcyjne badanych zwierząt.

#### WNIOSKI

1. Permetryna i fenwalerat różniły się w oddziaływaniu na komórki płciowe i somatyczne.
2. Klastogenne działanie permetryny na komórki szpiku kostnego zależało od drogi narażenia badanych zwierząt.
3. Zmiany w morfologii plemników indukowane przez fenwalerat mogą być wynikiem toksycznego działania tego pyretroidu.

E. Tyrkiel, B. Wiadrowska, J.K. Ludwicki

#### COMPARATIVE STUDIES ON THE EFFECT OF SYNTHETIC PYRETHROIDS ON THE INDUCTION OF GENETIC CHANGES IN MICE SOMATIC AND SEX CELLS DEPENDING ON THE EXPOSURE ROUTE

#### Summary

Synthetic pyrethroid insecticides are widely used in the protection of fruits and vegetables as well as in the public hygiene due to their strong neurotoxic activity against insects.

The induction of genetic changes in somatic and sex cells in male mice after different routes of exposure to permethrin and fenvalerate was studied. The male 8-10 weeks old mice were intraperitoneally exposed to 20 and 40 mg/kg bw of fenvalerate and 125 and 250 mg/kg bw of permethrin. Another groups of mice were exposed *per os* to fenvalerate and permethrin in the doses of 50, 100 and 200, 400 mg/kg bw respectively. For the sperm anomalies testing the

exposure was repeated for five consecutive days followed by the 35 days waiting period after which the gonads were removed and spermatozoa prepared from the epididymis. The changed spermatozoa were counted in the smears after staining in the 0.5% eosin Y solution and the results compared with the number of normal cells. For the testing of the effect of pyrethroids on the micronuclei frequency in the bone marrow cells the tested substances were administered twice in 24 hours intervals and the bone marrow was sampled after 6 and 24 hours from the femur bone. The polychromatic erythrocytes and the presence of micronuclei were evaluated in the bone marrow smears.

The results showed the difference in the action of the pyrethroids on the genetic material of the tested cells and the effect of the route of exposure. Permethrin induced the lesions in the sex cells regardless the route of exposure, however a substantial increase in the micronuclei frequency in the bone marrow was observed after oral exposure only. No signs of cytotoxicity accompanied the sperm anomalies and micronuclei induction.

Fenvalerate induced changes in sperm cells after intraperitoneal exposure only. No increase in the micronuclei frequency in the polychromatic erythrocytes of the bone marrow was observed after *per os* or intraperitoneal exposure. The intraperitoneal exposure to this pyrethroid resulted in cytotoxicity in both bone marrow and sex cells.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Amer Soheir M., Ezzat I. *Aboul-ela.*: Cytogenetic effects of pesticides. III. Induction of micronuclei in mouse bone marrow by the insecticides: cypermethrin and rotenone. *Mutation Res.* 1985, 155, 135–142.
2. Casida J. E.: Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. *Environ. Health Perspect.* 1976, 14, 15–28.
3. Chauhan L. K. S., Dikshith T. S. S., Sundararaman V.: Effect of deltamethrin on plant cells. I. Cytological effects on the root meristems of *Allium cepa*. *Mutation Res.* 1986, 171, 25–30.
4. *Environmental Health Criteria 95*. Fenvalerate. WHO Geneva 1990.
5. *Kryteria zdrowotne środowiska 82*. Cypetryna. MZiOS, IMP.
6. Flodstrom S., Warngard L., Ljungqis S., Ahlborg U.G.: Inhibition of metabolic cooperation *in vitro* and enhancement of enzyme altered foci incidence in rat liver by the pyrethroid insecticide fenvalerate. *Carcinogenesis* 1988, 218–223.
7. Heddle J. A., Stuart E., Salomone M. F.: The bone marrow micronucleus test. In: *Handbook of mutagenicity test procedures*. II ed. Kilbey B. S., Legator M., Nichols W., Ramel C. 1984, 441–457.
8. Heming H., Flodstrom S., Warngard L.: Enhancement of altered hepatic foci in rat liver and inhibition of intercellular communication *in vitro* by the pyrethroid insecticides fenvalerate, flucytrinate and cypermethrin. *Carcinogenesis* 1993, 14, 2531–2535.
9. Herrera A., Barrueco C., Caballo C., de la Pena E.: Effect of permethrin on induction of sister chromatid exchanges and micronuclei in cultured human lymphocytes. *Environ. Health Perspect.* 1992, 20, 218–222.
10. Kastenbaum M. A., Bowman K. O.: Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies. *Mutation Res.* 1970, 9, 527.
11. Kostka G., Palut D., Wiadrowska B.: Wpływ permetryny na aktywność form molekularnych cytochromu P-4501A i 2B w wątrobie szczura. *Roczn. PZH* 1997, 48, 229–237.
12. Kostka G., Palut D., Kopeć-Szłęzak J., Ludwicki J. K.: Early hepatic changes in rats induced by permethrin in comparison with DDT. *Toxicology* 2000, 142, 135–143.
13. Lawrence L. J., Casida J. E.: Stereoscopic action of pyrethroid insecticides on the gamma-aminobutyric acid receptor ionophore complex. *Science* 1982, 221, 1399–1401.
14. Mac Gregor J. I., Heddle J. A., Margolin B. H., Salamone M. F., Tice R. R., Wild D.: Guidelines for the conduct of micronucleus in mammalian bone marrow erythrocytes. *Mutation Res.* 1987, 189, 103.

15. *Miadokova E. V., Vlckova, Duhova V., Trebaticka M., Garajova L., Grolmus J., Podstavkova S., Vlcek D.*: Effect of supercypermethrin, a synthetic developmental pyrethroid, on four biological test systems. *Mutation Res.* 1992, 280, 164–168.
16. *Miyamoto J.*: Degradation, metabolism and toxicity of synthetic pyrethroids. *Environ. Health Perspect.* 1976, 14, 15–28.
17. *Mumtaz M. M., Menzer R. E.*: Comparative metabolism and fate of fenvalerate in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) and rats (*Rattus norvegicus*). *J. Agr. Food Chem.* 1986, 34, 929–936.
18. *Pati P.C., Bhunya S. P.*: Cytogenetic effects of fenvalerate in mammalian *in vivo* test system. *Mutation Res.* 1989, 222, 149–154.
19. *Pluijmen M., Drevon C., Montesano R., Malaveille Ch., Hautefeuille A., Bartsch H.*: Lack of mutagenicity of synthetic pyrethroids in *Salmonella typhimurium* strains and in V79 Chinese hamster cells. *Mutation Res.* 1984, 137, 7–15.
20. *Różański L.*: Metabolizm, degradacja i toksyczność pestycydów. III. Syntetyczne insektycydy pyretroidowe. *Wiadomości Chem.* 1985, 39, 427–449.
21. *Schmid W.*: Micronucleus test. *Mutation Res.* 1975, 31, 9–14.
22. *Schmid W.*: The micronucleus for cytogenetic analysis. In: *Chemical mutagens, principles and method for their detection.* 1976, vol. 4, 31–53.
23. *Wyrobek A. J., Gordon L. A., Burkhart J. G., Francis M. W., Kapp R. W., Letz Jr. G., Mallin, H. V., Topham J. C., Whorton M. D.*: An evaluation of the mouse sperm morphology test and other sperm tests in non-human mammals. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Res.* 1983, 115, 1–72.

Otrzymano: 2000.11.25