

Wpłynęło 30.09.2014 r.
Zrecenzowano 25.11.2014 r.
Zaakceptowano 18.12.2014 r.

A – koncepcja
B – zestawienie danych
C – analizy statystyczne
D – interpretacja wyników
E – przygotowanie maszynopisu
F – przegląd literatury

OCENA ODDZIAŁYWANIA GLIFOSATU NA AKTYWNOŚĆ WYBRANYCH ENZYMÓW BIORĄCYCH UDZIAŁ W PRZEMIANACH ZWIĄZKÓW FOSFORU W GLEBIE LEKKIEJ

Maciej PŁATKOWSKI^{BDEF}, Arkadiusz TELESIŃSKI^{ACDE}

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii

Streszczenie

Celem pracy była ocena oddziaływania glifosatu na aktywność wybranych enzymów, biorących udział w przemianach związków fosforu w glebie: fosfomonoesterazy kwaśnej, fosfomonoesterazy zasadowej oraz pirofosfatazy nieorganicznej, zarówno w zależności od rodzaju preparatu zawierającego glifosatu oraz dawki glifosatu, jak i temperatury inkubacji próbek gleby. Doświadczenie przeprowadzono na próbkach glebowych pobranych z poziomu akumulacyjno-próchniczego gleb rdzawych typowych, o składzie granulometrycznym piasku gliniastego oraz zawartości węgla organicznego 0,87%. Do części ziemistych wprowadzono wodne roztwory preparatów zawierających glifosatu: Roundupu 360 SL (zawartość glifosatu w postaci soli izopropiloaminowej – $360 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) oraz Roundupu TransEnergy 450 SL (zawartość glifosatu w postaci soli potasowej – $450 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$). Czynnikiem zmiennymi były: ilość wprowadzonego do gleby glifosatu (0, 1, 10, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) oraz temperatura inkubacji (przechowywania) próbek: (4, 20 i 30°C). Aktywności badanych enzymów oznaczono spektrofotometrycznie w 1., 7., 14., 28., 56. oraz 112. dniu doświadczenia.

Zastosowanie glifosatu spowodowało zmiany aktywności enzymów biorących udział w przemianach związków fosforu glebie, a zaobserwowany efekt zależał zarówno od rodzaju użytego preparatu, dawki herbicydu, temperatury inkubacji, jak i terminu pomiaru. Nie można jednoznacznie wykazać oddziaływania temperatury inkubacji, dawki glifosatu oraz rodzaju preparatu na kierunek zmian aktywności enzymów uczestniczących w metabolizmie związków fosforu w glebie. Najbardziej wrażliwa na obecność glifosatu w glebie okazała się pirofosfataza nieorganiczna, a stwierdzona inhibicja jej średniej aktywności pod wpływem wszystkich dawek glifosatu występowała w temperaturach inkubacji 4 i 30°C .

Słowa kluczowe: fosfomonoesteraza kwaśna, fosfomonoesteraza zasadowa, gleba, glifosatu, pirofosfataza nieorganiczna

Do cytowania For citation: Płatkowski M., Telesiński A. 2015. Ocena oddziaływania glifosatu na aktywność wybranych enzymów biorących udział w przemianach związków fosforu w glebie lekkiej. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 15. Z. 1 (49) s. 79–89.

WSTĘP

Glifosat (N-(fosfonometylo)-glicyna) jest nieselektywnym herbicydem stosowanym nalistnie. Jest on używany od około 40 lat, jednak dopiero wraz z rozwojem technik inżynierii genetycznej i opracowaniem roślin genetycznie modyfikowanych zyskał na popularności. Jego użycie gwałtownie wzrosło w ostatnich latach – np. w Niemczech od roku 1999 do 2010 aż o 100% [STEINMANN i in. 2012]. W Polsce należy obecnie do najczęściej stosowanych (po 2,4-D i jego pochodnych) środków ochrony roślin.

Glifosat występuje w wielu różnych formach i stężeniach. W celu zwiększenia skuteczności działania glifosatu stosuje się różne modyfikacje jego cząsteczki. Występuje on w postaci kwasu, soli amonowej, sodowej, potasowej, soli izopropylowej oraz jako sól trimetylosiarczanu. Postać soli izopropylowej glifosatu jest najbardziej popularna w preparatach pestycydowych [KWIATKOWSKA i in. 2013]. Ze względu na powszechne stosowanie, coraz częściej pojawiają się doniesienia o niekorzystnym wpływie glifosatu na różne elementy środowiska, a także organizm człowieka [BUKOWSKA i in. 2002; SANDRINI i in. 2013; WRÓBEL 2007; YANNICARI i in. 2012]. Bardzo często też substancje dodawane do preparatów w celu poprawienia efektywności działania glifosatu powodują, że staje się on bardziej toksyczny dla środowiska [KWIATKOWSKA i in. 2013].

Pomimo tego, że glifosat jest stosowany dolistnie, znaczące ilości tego herbicydu dostają się do gleb [LANE i in. 2012]. Ze względu na obecność w cząsteczce reszt kwasu fosfonowego, w środowisku glebowym łatwo wiąże się on z minerałami ilastymi i uwodnionymi tlenkami [HANEY i in. 2000]. Innym aspektem obecności reszt kwasu fosfonowego jest możliwość oddziaływania glifosatu na metabolizm związków fosforowych w glebie. Jest to bardzo ważny problem, ponieważ cykl biogeochemiczny fosforu jest podatny na wszelkie zmiany powodowane rolniczą działalnością człowieka. Ponadto zmiany zawartości tego pierwiastka w glebie wpływają znacząco na aktywność mikrobiologiczną i biochemiczną gleby, a w konsekwencji – na przemiany oraz dostępność innych składników pokarmowych [LEMANOWICZ, KOPER 2009].

Celem niniejszej pracy była ocena oddziaływania glifosatu na aktywność wybranych enzymów, biorących udział w przemianach związków fosforu w glebie: fosfomonoesterazy kwaśnej (EC 3.1.3.2), fosfomonoesterazy zasadowej (EC 3.1.3.1) oraz pirofosfatazy nieorganicznej (EC 3.1.6.1), zarówno w zależności od preparatu zawierającego glifosat oraz dawki glifosatu, jak i temperatury inkubacji próbek.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Doświadczenie przeprowadzono na próbkach glebowych pobranych z poziomu akumulacyjno-próchniczego gleb rdzawych typowych w Rolniczej Stacji Do-

świadczalnej w Lipniku (województwo zachodniopomorskie). Gleba ta ma skład granulometryczny piasku gliniastego oraz zawartość węgla organicznego 0,87%. Pobraną glebę przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm i podzielono na 0,5 kg naważki.

W doświadczeniu przeprowadzono dwie serie pomiarów w zależności od wprowadzonego, w postaci wodnego roztworu, preparatu: I – Roundup 360 SL (zawartość glifosatu w postaci soli izopropylaminowej – $360 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$); II – Roundup TransEnergy 450 SL (zawartość glifosatu w postaci soli potasowej – $450 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$). W każdej serii czynnikami zmiennymi były:

- ilość wprowadzonego do gleby glifosatu: 0, 1, 10, 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$;
- temperatura inkubacji (przechowywania) próbek: 4, 20 i 30°C .

Wilgotność próbek doprowadzono do 60% maksymalnej pojemności wodnej.

W 1., 7., 14., 28., 56. oraz 112. dniu doświadczenia oznaczono spektrofotometrycznie aktywność fosfomonoesterazy kwaśnej, fosfomonoesterazy zasadowej oraz pirofosfatazy nieorganicznej. Aktywność fosfomonoesterazy alkalicznej oraz fosfomonoesterazy kwaśnej oznaczono metodą TABATABAI i BREMNERA [1969] w modyfikacji MARGESIN [1996], a aktywność pirofosfatazy nieorganicznej (EC 3.1.6.1) – metodą DICKA i TABATABAI [1978].

Wszystkie analizy wykonano w trzech powtórzeniach. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji ANOVA oraz komplementarnie porównano testem post-hoc Tukeya HSD, wykorzystując oprogramowanie Statistica 10.0. Przyjęty poziom istotności wynosił $p < 0,05$. Obliczenia wykonano niezależnie dla każdego preparatu w kolejnym terminie pomiaru.

WYNIKI I DYSKUSJA

Aktywność badanych enzymów po wprowadzeniu glifosatu, zarówno w postaci preparatu Roundup 360 SL, jak i Roundup TransEnergy 450 SL, w większości przypadków uległa istotnym zmianom (tab. 1–3).

W 1. dniu doświadczenia największą aktywność fosfomonoesterazy kwaśnej stwierdzono w glebie kontrolnej inkubowanej w temperaturze 30°C . W kolejnych terminach pomiarów aktywność fosfomonoesterazy kwaśnej była największa w temperaturze 20°C i wielokrotnie odnotowano to w próbkach z dodatkiem glifosatu (tab. 1). Aktywność fosfomonoesterazy alkalicznej we wszystkich terminach pomiarów była największa w temperaturze 30°C . W przypadku obu preparatów zawierających glifosat maksymalne wartości aktywności notowano w glebie kontrolnej lub w glebie z dodatkiem $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ glifosatu (tab. 2).

Największą aktywność pirofosfatazy nieorganicznej w 1. dniu zaobserwowano w glebie kontrolnej w temperaturze 4°C . W pozostałych terminach aktywność tego enzymu była największa w temperaturze 20°C w próbkach z dodatkiem obu preparatów, tj.: Roundupu 360 SL oraz Roundupu TransEnergy 450 SL. Stymulacja lub

Tabela 1. Aktywność fosfomonoesterazy kwaśnej w glebie z dodatkiem glifosatu**Table 1.** Acid phosphomonoesterase activity in soil containing glyphosate

Temperatura inkubacji Incubation temperature °C	Ilość glifosatu Glyphosate dose mg·kg ⁻¹	Aktywność w dniu doświadczenia, µg p-NP·(g s.m.·h) ⁻¹ Activity on the day of experiment, µg p-NP·(g d.m.·h) ⁻¹					
		1.	7.	14.	28.	56.	112.
Roundup 360 SL							
4	0	122,99cd	115,40ef	132,25d	120,37c	108,66e	101,08e
	1	111,72de	104,45f	155,84bc	117,09c	130,01d	110,35e
	10	103,05ef	146,99d	131,83d	99,40d	101,65d	129,16d
	100	86,48f	88,87g	99,82e	84,52e	70,76f	100,80e
20	0	105,29e	203,79a	164,92ab	149,93a	184,63ab	206,57a
	1	98,84ef	167,42c	143,68cd	140,77ab	193,24a	169,64c
	10	105,51e	188,24b	154,37bc	115,78c	156,87c	169,09c
30	100	105,37e	208,51a	172,70a	145,76a	175,75b	183,61b
	0	155,42a	155,84cd	137,21d	127,66bc	133,82d	189,72b
	1	129,30bc	167,70c	165,16ab	148,64a	131,84d	167,70c
	10	140,31ab	167,27c	154,15bc	144,83a	123,66d	186,22b
	100	99,52ef	115,20e	128,74d	115,29c	123,65d	138,48d
Roundup TransEnergy 450 SL							
4	0	122,99bc	115,40d	132,25def	120,04def	108,66ef	101,08fg
	1	58,97h	146,87d	141,80bcde	112,88ef	95,19fg	120,46ef
	10	82,83fg	117,09e	153,31abcd	106,42f	83,85g	108,94f
	100	90,13ef	106,98e	120,88ef	87,32g	71,04h	84,24g
20	0	105,23de	203,79b	164,92ab	149,93b	184,63a	206,57ab
	1	71,63gh	191,16b	173,67a	144,51bc	172,00ab	176,86c
	10	101,90de	221,56a	128,69ef	135,77bcd	158,26b	210,18ab
30	100	113,70cd	190,33bc	165,48a	169,50a	166,59b	216,29a
	0	155,42a	155,84d	137,21cde	127,66cde	133,82c	176,86bc
	1	135,09b	92,74	155,84abc	106,29f	117,16de	138,34de
	10	132,13b	176,73c	162,19ab	120,27def	114,62de	147,65d
	100	138,05ab	115,40e	110,95f	110,95ef	127,64cd	173,63c

Objaśnienie: wartości średnie zaznaczone takimi samymi literami w obrębie kolumn nie różnią się istotnie statystycznie.

Explanation: mean values denoted by the same letters within a column do not differ statistically.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

inhibicja pirofosfatazy nieorganicznej nie zawsze była proporcjonalna do wielkości wprowadzonej dawki (tab. 3).

Wpływ glifosatu na aktywność fosfomonoesteraz oraz pirofosfatazy nieorganicznej w dużym stopniu zależał zarówno od rodzaju preparatu, jego dawki i temperatury inkubacji, jak również od terminu pomiaru. Zmienność oddziaływania

Tabela 2. Aktywność fosfomonoesterazy alkalicznej w glebie z dodatkiem glifosatu**Table 2.** Alkaline phosphomonoesterase activity in soil containing glyphosate

Temperatura inkubacji Incubation temperature °C	Ilość glifosatu Glyphosate dose mg·kg ⁻¹	Aktywność w dniu doświadczenia, µg p-NP·(g s.m.·h) ⁻¹ Activity on the day of experiment, µg p-NP·(g d.m.·h) ⁻¹					
		1.	7.	14.	28.	56.	112.
Roundup 360 SL							
4	0	48,44fg	55,17ef	25,27e	39,03f	46,34ef	36,78ef
	1	39,17gh	55,39ef	37,06de	46,33e	31,59g	41,28e
	10	56,02ef	57,38e	42,81d	51,66de	45,27ef	52,23d
	100	34,96h	85,08d	46,33cd	31,48g	46,33ef	27,80fg
20	0	61,22e	60,80e	58,58c	51,23de	46,92e	40,55e
	1	59,97e	43,03f	77,46b	54,15d	81,35d	36,10ef
	10	87,46d	81,90d	81,35b	35,82fg	34,96fg	17,49gh
30	100	77,46d	49,98ef	56,89c	48,31de	34,95fg	14,16h
	0	194,52a	168,12b	133,82a	217,67a	201,58a	231,78b
	1	166,00b	182,10a	131,84a	195,93b	213,01a	261,15a
	10	190,57a	162,33b	123,65a	188,87b	167,27b	226,98b
	100	142,01c	121,96c	123,66a	126,48c	125,77c	177,01c
Roundup TransEnergy 450 SL							
4	0	48,44hi	55,17cde	25,27f	39,03g	46,33d	36,78e
	1	58,12gh	56,72cde	23,87f	41,28fg	23,87ef	40,43e
	10	42,27i	45,77e	32,43f	48,30ef	35,66de	16,26f
	100	25,27j	68,11c	21,58f	29,76h	21,34f	6,46f
20	0	61,22fg	60,80cd	58,85e	51,22e	46,92d	40,55e
	1	79,91de	49,71de	84,12d	77,05d	67,88c	36,65d
	10	85,71d	66,65c	70,80e	42,43fg	63,86c	58,58d
30	100	72,36ef	51,36de	56,63e	49,96e	43,58d	35,26e
	0	194,52a	168,12a	133,82a	217,67a	201,58a	231,78a
	1	183,79ab	174,19a	117,16bc	193,95b	185,06b	211,32b
	10	176,45b	176,73a	112,93c	220,63a	174,90b	218,09b
	100	157,96c	137,21b	127,61ab	140,03c	175,74b	181,25c

Objaśnienie: wartości średnie zaznaczone takimi samymi literami w obrębie kolumn nie różnią się istotnie statystycznie.

Explanation: mean values denoted by the same letters within a column do not differ statistically.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

glifosatu w czasie wynika prawdopodobnie z jego rozkładu i powstawania metabolitów. Podstawowym metabolitem powstającym podczas rozkładu glifosatu jest kwas aminometylofosfonowy (AMPA), który może mieć większy wpływ na procesy biochemiczne w organizmach niż substancja wyjściowa [DING i in. 2011; REDDY i in. 2004]. Dlatego też, w celu określenia sumarycznego oddziaływania glifosatu

Tabela 3. Aktywność pirofosfatazy nieorganicznej w glebie z dodatkiem glifosatu**Table 3.** Inorganic pyrophosphatase activity in soil containing glyphosate

Temperatura inkubacji Incubation temperature °C	Ilość glifosatu Glyphosate dose mg·kg ⁻¹	Aktywność w dniu doświadczenia, $\mu\text{g P-PO}_4^{3-}\cdot(\text{g s.m.}\cdot\text{h})^{-1}$ Activity on the day of experiment, $\mu\text{g P-PO}_4^{3-}\cdot(\text{g d.m.}\cdot\text{h})^{-1}$					
		1.	7.	14.	28.	56.	112.
Roundup 360 SL							
4	0	190,99a	129,55f	168,78d	144,42d	202,83ab	181,43ab
	1	68,60f	110,30g	135,22fg	125,84e	215,17a	133,06d
	10	65,14f	146,57e	57,13i	38,99h	188,52b	190,31a
	100	60,70f	165,44bcd	41,95j	20,73i	63,66g	168,60bc
20	0	152,25bc	173,47b	252,69c	195,61b	160,30c	180,80ab
	1	135,42cd	196,66a	294,40b	179,89c	145,34cd	183,97ab
	10	126,06d	167,62bc	305,64b	208,21b	146,66cd	158,83c
30	100	92,96e	186,00a	363,50a	324,60a	134,68de	128,83d
	0	170,44ab	149,93e	147,37ef	174,53c	201,70ab	125,54d
	1	153,32bc	155,65de	127,27g	66,99fg	122,81e	75,92e
	10	136,95cd	161,51cd	153,68e	62,52g	129,51de	66,99ef
	100	135,21cd	118,09g	102,73h	77,90f	86,34f	51,11f
Roundup TransEnergy 450 SL							
4	0	190,99a	129,55d	168,78e	144,42d	202,83a	181,43b
	1	68,60g	145,95c	136,08fg	107,58e	140,65c	148,81c
	10	60,69g	82,17e	122,88h	134,91d	107,79d	146,88c
	100	55,26g	71,06f	86,61i	106,57e	91,79de	176,25b
20	0	152,25cd	173,47b	252,69d	195,61b	160,30b	180,80b
	1	100,28e	166,89b	302,35b	166,49c	132,57c	222,73a
	10	115,65e	150,79c	282,69c	206,33b	163,46b	178,60b
30	100	139,08d	145,66c	355,03a	224,99a	161,34b	209,35a
	0	170,44b	149,93c	147,37f	174,53c	201,70a	125,54d
	1	165,50bc	133,97d	124,19gh	64,24f	86,34ef	97,75e
	10	166,23bc	188,31a	145,16f	67,00f	71,45f	78,15e
	100	189,80a	175,65b	136,21fg	75,92f	72,94f	80,38e

Objaśnienie: wartości średnie zaznaczone takimi samymi literami w obrębie kolumn nie różnią się istotnie statystycznie.

Explanation: mean values denoted by the same letters within a column do not differ statistically.

Źródło: wyniki własne. Source: own study.

na aktywność badanych enzymów, oznaczone wartości tych aktywności przeliczono na wartości względne, przyjmując za 100% aktywność w glebie bez dodatku herbicydu, a następnie obliczono średnie ze wszystkich terminów pomiarów procentowe zmiany aktywności enzymów. Otrzymane wyniki przedstawiono w postaci wykresów półlogarytmicznych: na osi odciętych w skali logarytmicznej przed-

stawiono dawki wprowadzonego glifosatu, a na osi rzędnych – średnią procentową aktywność w odniesieniu do gleby kontrolnej (rys. 1). Taki układ odzwierciedla tendencję zmian aktywności oznaczanych enzymów w zależności od zastosowanej dawki herbicydu.

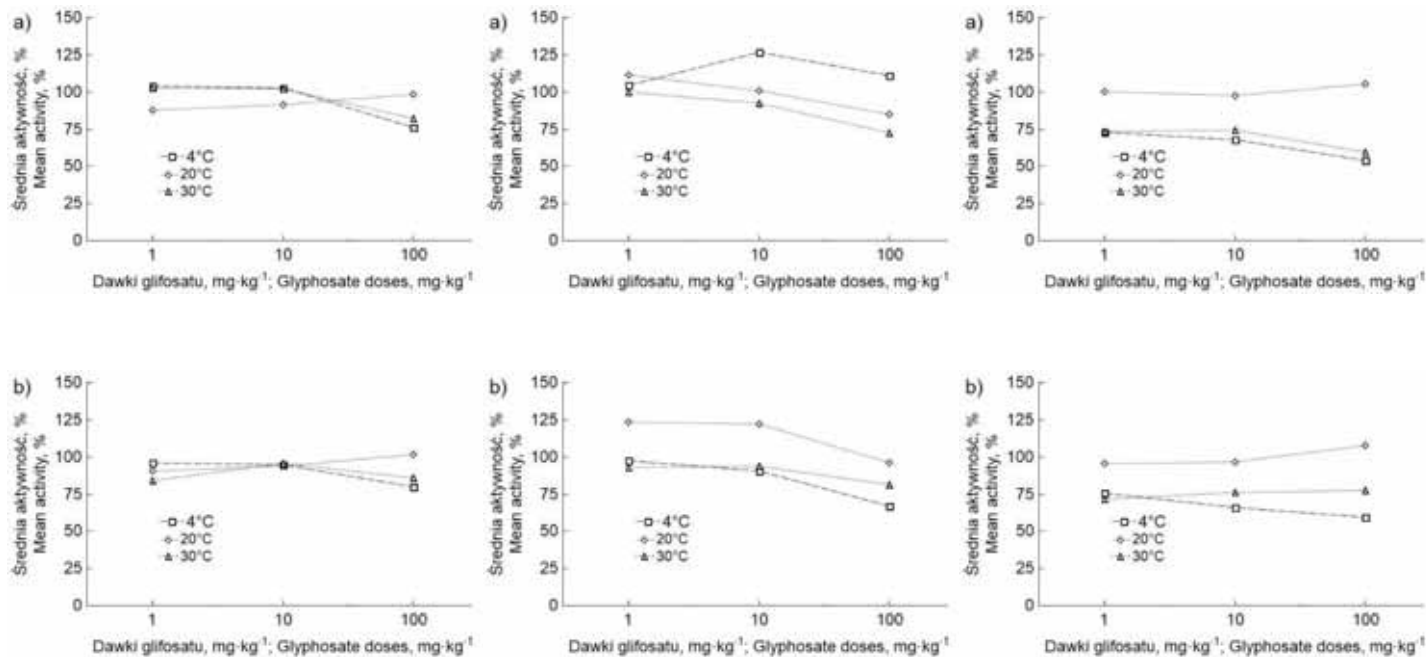
Analizując wpływ glifosatu wprowadzonego w postaci preparatu Roundup 360 SL, stwierdzono, że wielokrotnie, przy różnych dawkach oraz w różnych temperaturach inkubacji, aktywność badanych enzymów była zbliżona do wartości notowanej w glebie kontrolnej. Najczęściej obserwowanym efektem była inhibicja aktywności enzymatycznej. Po wprowadzeniu herbicydu w dawce $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ zmniejszenie średniej aktywności wykazano w przypadku fosfomonoesterazy kwaśnej w próbkach inkubowanych w temperaturze 20°C (o 12%) oraz w przypadku pirofosfatazy nieorganicznej – w próbkach inkubowanych w temperaturze 4 i 30°C (o 27%). Podobną tendencję odnotowano po aplikacji glifosatu w dawce $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, a wykazana inhibicja maksymalnie osiągała wartości: w przypadku fosfomonoesterazy kwaśnej – 9% (20°C), pirofosfatazy nieorganicznej – 32% (4°C) i fosfomonoesterazy zasadowej – 25% (30°C). W glebie z dodatkiem herbicydu w dawce $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ zmniejszenie średniej aktywności fosfomonoesterazy kwaśnej i pirofosfatazy nieorganicznej stwierdzono w próbkach inkubowanych w temperaturze 4°C (odpowiednio o 24 i 46%) oraz 30°C (odpowiednio o 18 i 41%), podczas gdy zmniejszenie średniej aktywności fosfomonoesterazy zasadowej odnotowano w próbkach inkubowanych w temperaturze 20°C (o 15%) i 30°C (o 18%). Aktywację enzymu odnotowano jedynie w przypadku fosfomonoesterazy zasadowej w próbkach z dodatkiem $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ herbicydu przechowywanych w temperaturze 20°C (o 11%) oraz z dodatkiem 10 i $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ herbicydu przechowywanych w temperaturze 4°C (odpowiednio o 27 i 10%) (rys. 1a).

Analizując oddziaływanie glifosatu wprowadzonego do gleby w postaci preparatu Roundup TransEnergy 450 SL, stwierdzono, że średnia aktywność badanych enzymów w wielu przypadkach również była zbliżona do aktywności w glebie kontrolnej. Aktywność fosfomonoesterazy kwaśnej uległa zmniejszeniu po aplikacji herbicydu w dawce $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ w próbkach inkubowanych w temperaturze 20°C (o 10%) i 30°C (o 16%) oraz w dawce $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ w próbkach inkubowanych w temperaturze 4°C (o 20%) i 30°C (o 14%). Średnia aktywność fosfomonoesterazy zasadowej uległa inhibicji w glebie przechowywanej w temperaturze 4°C z dodatkiem herbicydu w dawce 10 i $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (odpowiednio o 10 i 33%) oraz w glebie przechowywanej w temperaturze 30°C z dodatkiem herbicydu we wszystkich dawkach (6–19%). Zmniejszenie aktywności pirofosfatazy nieorganicznej odnotowano po wprowadzeniu glifosatu we wszystkich dawkach w próbkach inkubowanych w temperaturze 4°C (25–40%) oraz 30°C (23–29%). Stymulację aktywności zaobserwowano tylko w temperaturze 20°C w przypadku fosfomonoesterazy zasadowej w glebie z dodatkiem herbicydu w dawkach 1 i $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (o 22 i 23%)

Fosfomonoesteraza kwaśna
Acid phosphomonoesterase

Fosfomonoesteraza zasadowa
Alkaline phosphomonoesterase

Piروفosfataza nieorganiczna
Inorganic pyrophosphatase



Rys. 1. Aktywność wybranych enzymów biorących udział w metabolizmie związków fosforu w glebie po wprowadzeniu glifosatu w formie preparatów: Roundup 360 SL (a) i Roundup 450 SL (b); źródło: wyniki własne

Fig. 1. Activity of selected enzymes of phosphorus metabolism in soil treated with glyphosate introduced as: Roundup 360 SL (a) and Roundup 450 SL (b); source: own study

oraz w przypadku pirofosfatazy nieorganicznej w glebie z dodatkiem herbicydu w dawce $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (o 8%) (rys. 1b).

Z badań wynika, że wpływ glifosatu na aktywność enzymów biorących udział w przemianach związków fosforu w glebie jest zróżnicowany. W literaturze przedmiotu można znaleźć doniesienia zarówno o braku zmian aktywności fosfatyz w glebie pod wpływem tego związku [DAVIES, GREAVES 1981], jak również o inhibicji aktywności tych enzymów [SANINO, GIANFREDA 2001]. SPEIR i ROSS [1978] podają, że zmniejszenie aktywności fosfatyz wynika z obecności w cząsteczce glifosatu grupy fosfonowej. Obecność glifosatu w glebie może jednak stymulować aktywność innych enzymów: dehydrogenaz, β -glukozydazy [PANETTIERI i in. 2013] czy inwertazy i ureazy [SANINO, GIANFREDA 2001].

Oddziaływanie glifosatu na aktywność fosfomonoesteraz i pirofosfatazy nieorganicznej zależało zarówno od temperatury inkubacji, jak i rodzaju preparatu. KWIATKOWSKA i in. [2003] podają, że toksyczność preparatów pestycydowych, takich jak np. Roundup, jest 17–32 razy większa niż czystego glifosatu. Główną przyczyną tego zjawiska są związki powierzchniowo czynne, które zmieniają właściwości herbicydu [PIENIAŻEK i in. 2003]. Nie zawsze też większe stężenie glifosatu w preparacie oznacza jego większą toksyczność, co potwierdzają przedstawione wyniki badań własnych. GASNIER i in. [2009] wykazali, że preparat zawierający glifosat w stężeniu $400 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ był bardziej toksyczny dla ludzkich komórek wątroby niż preparat o stężeniu $450 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. SIHTMÄE i in. [2013] stwierdzili również różne ekotoksykologiczne oddziaływanie na organizmy wodne dwóch preparatów zawierających glifosat, w zależności od rodzaju ich formułacji.

WNIOSKI

1. Zastosowanie glifosatu spowodowało zmiany aktywności enzymów biorących udział w przemianach związków fosforu glebie, a zaobserwowany efekt zależał zarówno od rodzaju użytego preparatu, dawki herbicydu, temperatury inkubacji, jak i terminu pomiaru.

2. Nie można jednoznacznie wykazać oddziaływania temperatury inkubacji, dawki glifosatu oraz rodzaju preparatu na kierunek zmian aktywności enzymów uczestniczących w metabolizmie związków fosforu w glebie.

3. Spośród oznaczanych enzymów najbardziej wrażliwa na obecność glifosatu w glebie jest pirofosfataza nieorganiczna, a stwierdzona inhibicja średniej aktywności tego enzymu pod wpływem glifosatu we wszystkich dawkach występowała w temperaturach inkubacji 4 i 30°C .

LITERATURA

- BUKOWSKA B., PIENIAŻEK D., DUDA W. 2002. Hemolysis and lipid peroxidation in human erythrocytes incubated with Roundup. *Current Topics in Biophysics*. Vol. 26. Iss. 2 s. 245–249.
- DAVIES H.A., GREAVES M.P. 1981. Effects of some pesticides on soil enzymatic activities. *Weed Research*. Vol. 21 s. 205–209.
- DICK W A, TABATABAI M.A. 1978. Inorganic pyrophosphatase activity of soils. *Soil Biology and Biochemistry* Vol. 10 s. 59–65.
- DING W., REDDY K.N., ZABLOTOWIC R.M., BELLALOU M., BRUNS H.A. 2011. Physiological response of glyphosate resistant and glyphosate sensitive soybean to aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate. *Chemosphere*. Vol 83 s. 593–598.
- GASNIER C., DUMONT C., BANACHOUR N., CLAUER E., CHANGON M. 2009. Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology*. Vol. 262 s. 184–191.
- HANEY R., SENSEMAN S., HONS F., ZUBERER D. 2000. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed Science*. Vol. 48 s. 89–93.
- KWIATKOWSKA M., JAROSIEWICZ P., BUKOWSKA B. 2013. Glifosat i jego preparaty – toksyczność, narażenie zawodowe i środowiskowe. *Medycyna Pracy*. Nr 64(5) s. 717–729.
- LANE M., LORENZ N., SAXENA J., RAMSIEER C., DICK R.P. 2012. The effect of glyphosate on soil microbial activity, microbial community structure, and soil potassium. *Pedobiologia*. Vol. 55 s. 335–342.
- LEMANOWICZ J., KOPER J. 2009. Zawartość wybranych form fosforu w glebie i koniczynie łąkowej oraz aktywność fosfataz glebowych na tle zróżnicowanego nawożenia mineralnego i organicznego. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*. T. 9. Z. 4(28) s. 119–139.
- MARGESIN R. 1996. Acid and alkaline phosphomonoesterase with the substrate p-nitrophenyl phosphate. W: *Methods in soil biology*. Pr. zbior. Red. F. Schinner, E. Öhlinger, E. Kandeler, R. Margesin. Berlin. Springer Verl. s. 213–217.
- PANETTERIERI M., LAZARO L., LOPEZ-GARRIDO L., MURILLO J.M., MADEJON E. 2013. Glyphosate effect on soil biochemical properties under conservation tillage. *Soil and Tillage Research*. Vol. 133 s. 16–24.
- PIENIAŻEK D., BUKOWSKA B., DUDA W. 2003. Glifosat – nietoksyczny pestycyd? *Medycyna Pracy*. Nr 54(6) s. 579–583.
- REDDY K.N., DUKE S.O., RIMANDO A.M. 2004. Aminomethylphosphonic acid, a metabolite of glyphosate cause injury in glyphosate-treated, glyphosate resistant soybean. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 52 s. 5139–5143.
- SANINO F., GIANFREDA L. 2001. Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere*. Vol. 45 s. 417–425.
- SANDRINI J.Z., ROLA C.R., LOPES F.M., BUFFON F.H., FREITAS M.M., MARTINS C., DE ROSA C. 2013. Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*: *In vitro* studies. *Aquatic Toxicology*. Vol. 130–131 s. 171–173.
- SIHTMÄE M., BLINOVA I., KUNNIS-BERES K., KANARBIK L., HEINLAAN M., KAHRU A. 2013. Ecotoxicological effects of different glyphosate formulation. *Applied Soil Ecology*. Vol. 72 s. 215–224.
- SPEIR T.W., ROSS D.F. 1978. Soil phosphatase and sulphatase. W: *Soil enzymes*. Pr. zbior. Red. R.G. Burns Londyn. Academic Prss. s. 197–250.
- STEINMANN H.H., DICKEDUISBERG M., THEUVSEN L. 2012. Uses and benefits of glyphosate in German arable farming. *Crop Protection*. Vol. 42 s. 164–169.
- TABATABAI M.A., BREMNER J.M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*. Vol. 1. Iss. 4 s. 307–310.
- WRÓBEL S. 2007. Reakcja roślin ziemniaka na glifosat zastosowany do desykcji naci. *Postępy Ochrony Roślin*. Nr 47(3) s. 316–320.

YANNICARI M., ISTILART C., GIMENEZ D.O., CASTRO A.M. 2012. Effects of glyphosate on the movement of assimilates of two *Lolium perenne* L. populations with differential herbicide sensitivity. Environmental and Experimental Botany. Vol. 82 s. 14–19.

Maciej PŁATKOWSKI, Arkadiusz TELESIŃSKI

THE ASSESSMENT OF GLYPHOSATE EFFECT ON ACTIVITY OF SOME ENZYMES INVOLVED IN PHOSPHORUS TRANSFORMATIONS IN LOAMY SAND

Key words: acid phosphomonoesterase, alkaline phosphomonoesterase, glyphosate, inorganic pyrophosphatase, soil

S u m m a r y

The aim of the study was to assess glyphosate effect on the activity of selected enzymes involved in the metabolism of phosphorus compounds in soil: acid phosphomonoesterase, alkaline phosphomonoesterase and inorganic pyrophosphatase in relation to the type of glyphosate preparation, applied doses and the temperature of incubation. The experiment was carried out in soil samples taken from typical rusty soils (loamy sand, $C_{org} = 0.87\%$). Aqueous solutions of glyphosate in: Roundup 360 SL ($360 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ of glyphosate as isopropylamine salt) and Roundup TransEnergy 450 SL ($450 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ of glyphosate as potassium salt) were added to soil samples. In each series the variable factors were: glyphosate doses 0, 1, 10, 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and incubation (storage) temperature 4°C, 20°C and 30°C. On day 1, 7, 14, 28, 56 and 112 the activities of acid phosphomonoesterase, alkaline phosphomonoesterase and inorganic pyrophosphatase were measured spectrophotometrically

Application of glyphosate changed the activity of enzymes involved in the metabolism of phosphorus compounds in soil and the observed effect depended on the type of preparation, herbicide dose, incubation temperature and the term of measurement. The effects of incubation temperature, form and dose of glyphosate on enzymatic activity in the soil were ambiguous. The most sensitive to glyphosate in soil was inorganic pyrophosphatase; the inhibition of mean enzyme activity occurred with all glyphosate doses incubated at temperatures of 4°C and 30°C.

Adres do korespondencji: mgr inż. M. Płatkowski, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin; tel. +48 91 449 62 84, e-mail: Maciej.Platkowski@zut.edu.pl