

WPŁYW GLIFOSATU W POSTACI SOLI AMONOWEJ NA ZAWARTOŚĆ FOSFORU PRZYSWAJALNEGO I AKTYWNOŚĆ WYBRANYCH FOSFATAZ W GLEBIE LEKKIEJ

Maciej Płatkowski¹, Arkadiusz Telesiński¹

¹ Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, e-mail: maciej.platkowski@zut.edu.pl

STRESZCZENIE

Celem podjętych badań było określenie oddziaływania soli amonowej glifosatu na aktywność wybranych enzymów biorących udział w przemianach związków fosforu w glebie: fosfomonoesterazy kwaśnej (EC 3.1.3.2), fosfomonoesterazy alkalicznej (EC 3.1.3.1), fosfotriesterazy (EC 3.1.5.1), pirofosfatazy nieorganicznej (EC 3.1.6.1) oraz zawartości fosforu, w formie przyswajalnej dla roślin. Do badań laboratoryjnych użyto glebę zaliczaną do piasku gliniastego o zawartości węgla organicznego 8,7 g·kg⁻¹. Do gleby wprowadzono wodne roztwory preparatu Avans Premium 360 SC (360 g glifosatu w postaci soli amonowej w 1 dm³). Ilość wprowadzonego glifosatu w postaci soli amonowej wynosiła 0 (kontrola), 1, 10, 50 i 100 mg·kg⁻¹ gleby. W 1., 7., 14., 28. i 56. dniu po wprowadzeniu herbicydu oznaczono spektrofotometrycznie wymienione parametry glebowe. Na podstawie przeprowadzonych badań, stwierdzono, że wprowadzenie glifosatu w formie soli amonowej spowodowało zmiany zawartości fosforu przyswajalnego oraz aktywności enzymów biorących udział w przemianach tego pierwiastka w glebie lekkiej. Nie można jednoznacznie wykazać wpływu dawki soli amonowej i dnia pomiaru na zmiany zawartości fosforu przyswajalnego oraz aktywności enzymów biorących udział w przemianach tego pierwiastka w analizowanej glebie. Spośród oznaczanych parametrów najbardziej wrażliwa na obecność soli amonowej glifosatu okazała się fosfomonoesteraza alkaliczna.

Słowa kluczowe: glifosat, gleba, fosfomonoesteraza kwaśna, fosfomonoesteraza zasadowa, fosfotriesteraza, pirofosfataza nieorganiczna, fosfor.

EFFECTS OF GLYPHOSATE AMMONIUM SALT ON THE BIOAVAILABLE PHOSPHORUS CONTENT AND THE ACTIVITY OF SELECTED PHOSPHATASES IN LOAMY SAND

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effects of glyphosate ammonium salt on the activity of some enzymes involved in the metabolism of phosphorus in the soil: acid phosphomonoesterase (EC 3.1.3.2), alkaline phosphomonoesterase (EC 3.1.3.1), phosphotriesterase (EC 3.1.5.1), inorganic pyrophosphatase (EC 3.1.6.1), and a phosphorus content in a form available to plants. The experiment was carried out on loamy sand samples with organic carbon content 8.7 g kg⁻¹. Into soil samples the aqueous solutions of Avans Premium 360 SC (360 g glyphosate ammonium salt in 1 dm³) were added. The amount of introduced glyphosate ammonium salt was 0 (control), 1, 10, 50 and 100 mg·kg⁻¹, on days 0 (1 hour after glyphosate application), 7, 14, 28 and 56 measured parameters were determined spectrophotometrically. The obtained results showed that the application of glyphosate ammonium salt resulted in changes of available phosphorus content and the activity of enzymes involved in the metabolism of this element in loamy sand. The effects glyphosate ammonium salt dosage and effect of day of experiment were ambiguous. Among the determined parameters the most sensitive to the presence of the glyphosate ammonium was alkaline phosphomonoesterase.

Keywords: glyphosate, soil, acid phosphomonoesterase, alkaline phosphomonoesterase, phosphotriesterase inorganic pyrophosphatase, phosphorus.

WSTĘP

Jednym z najważniejszych i najczęściej obecnie stosowanych w agrokulturach w Polsce środków ochrony roślin (po 2,4-D i jego pochodnych), jest znany od około 40 lat, glifosat. Używanie tego herbicydu gwałtownie wzrosło w ostatnich latach – np. w Niemczech od roku 1999 do 2010 aż o 100% [Steinmann i in. 2012]. Glifosat jest herbicydem nieselektywnym o działaniu systemicznym. Pod względem chemicznym jest on N-fosfonometyloglicyną, czyli pochodną kwasu fosfonowego, w której jeden z atomów wodoru grupy metylowej bezpośrednio połączonej z fosforem został zastąpiony przez glicynę [Róžański 1998]. W preparatach glifosat występuje w postaci soli amonowej, soli izopropylaminowej oraz soli potasowej. Na rynku dostępnych jest wiele środków zawierających tę substancję np.: Roundup 170 SL, Roundup 360 SL, Roundup 450 SL, Roundup 680 SG, Dominator 360 SL, Avans Premium 360 SL i wiele innych [Grygiel i in. 2012].

W wyniku występowania w cząsteczce glifosatu kwasu fosfonowego herbicyd ten może oddziaływać na metabolizm związków fosforowych w glebie [Płatkowski i Telesiński 2015a]. Jest to bardzo ważny problem, gdyż cykl biogeochemiczny fosforu jest wrażliwy na wszelkie zmiany powodowane przez rolniczą działalność człowieka. Ponadto zmiany zawartości tego pierwiastka w glebie znacząco wpływają na aktywność mikrobiologiczną i biochemiczną gleby, a w konsekwencji na przemiany i dostępność innych składników pokarmowych [Lemanowicz i 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 alkalicznej (EC 3.1.3.1), fosfotriesterazy (EC 3.1.5.1), pirofosfatazy nieorganicznej (EC 3.1.6.1) oraz zawartości fosforu w formie przyswajalnej dla roślin.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie przeprowadzono na próbkach glebowych pobranych z poziomu akumulacyjno-próchniczego gleb rdzawych właściwych Rolniczej Stacji Doświadczalnej w Lipniku (województwo zachodniopomorskie). Gleba ta posiada skład granulometryczny piasku gliniastego oraz

zawartość węgla organicznego $8,7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Pobraną glebę przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm i podzielono na 0,5 kg naważki.

Do badanej gleby wprowadzono glifosat w formie wodnego roztworu preparatu herbicydowego Avans Premium 360 SL (zawartość glifostatu w postaci soli amonowej $360 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$). Ilość wprowadzonej soli amonowej glifostatu wynosiła 0, 1, 10, 50, 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Wilgotność próbek doprowadzono do 60% maksymalnej pojemności wodnej i przechowywano w ciemności w temperaturze $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

W 1., 7., 14., 28. oraz 56. dniu doświadczenia oznaczono spektrofotometrycznie aktywność fosfomonoesterazy kwaśnej, fosfomonoesterazy alkalicznej, fosfotriesterazy, pirofosfatazy nieorganicznej oraz fosforu w formie przyswajalnej dla roślin. Pomiaru aktywności fosfomonoesterazy alkalicznej (Pal) oraz fosfomonoesterazy kwaśnej (Pac) oznaczono metodą Tabatabai i Bremnera [1969] w modyfikacji Margesin [1996]. Aktywność fosfotriesterazy (TP) oznaczono metodą Eivazi i Tabatabai [1977]. Aktywność pirofosfatazy nieorganicznej (PPi) oznaczono natomiast zgodnie z metodą Dicka i Tabatabai [1978]. Zawartość przyswajalnej dla roślin formy fosforu (P_{E-R}) oznaczono zgodnie z metodą Egnera-Riehma [Mocek i Drzymała 2010]. Do oznaczeń użyto spektrofotometru UV-1800 firmy Shimadzu.

Wszystkie analizy wykonano w trzech powtórzeniach. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji ANOVA oraz komplementarnie porównano testem post-hoc Tukey HSD, wykorzystując oprogramowanie Statistica 10.0 Statsoft. Przyjęty poziom istotności wynosił $p < 0,05$. Rzeczywiste wartości przeliczono, zgodnie ze wzorem podanym przez Chaer i in. [2009] i podano jako procentowe zmiany w stosunku do gleby kontrolnej.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wprowadzenie do gleby soli amonowej glifosatu w formie preparatu Avans Premium 360 SL spowodowało w większości przypadków istotne zmiany oznaczanych parametrów w stosunku do gleby kontrolnej (tab. 1).

Aktywność fosfomonoesterazy kwaśnej po zastosowaniu herbicydu uległa przede wszystkim obniżeniu. Po wprowadzeniu glifosatu w dawce $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ największa inhibicja aktywności

wystąpiła w 1. dniu doświadczenia (33,33%), w dawce 10 i 50 mg·kg⁻¹ w 28. dniu doświadczenia (odpowiednio 8,44 i 27,48%), a w dawce 100 mg·kg⁻¹ w 7. dniu doświadczenia (47,22%). Istotną statystycznie stymulację fosfomonoestazy kwaśnej wykazano jedynie w 14. dniu doświadczenia w glebie z dodatkiem herbicydu w ilości 1 mg·kg⁻¹ (21,45%) oraz w 1. dniu doświadczenia w glebie zawierającej glifosat w ilości 10 mg·kg⁻¹ (14,28%) (rys. 1).

Podobnie jak w przypadku fosfomonoestazy kwaśnej wprowadzenie do gleby glifosatu spowodowało przede wszystkim obniżenie aktywności fosfomonoestazy alkalicznej. Jednakże wykazana inhibicja była zdecydowanie

większa dla tego enzymu i wynosiła maksymalnie dla dawki 1 mg·kg⁻¹ 87,85% (1. dzień doświadczenia), 10 mg·kg⁻¹ 94,62% (56. dzień doświadczenia) 50 mg·kg⁻¹ 72,20% (56. dzień doświadczenia) oraz 100 mg·kg⁻¹ 84,44% (7. dzień doświadczenia). Istotny statystycznie wzrost aktywności tego enzymu zanotowano jedynie w glebie z dodatkiem glifosatu w dawce 1 i 10 mg·kg⁻¹ odpowiednio w 14. i 28. dniu doświadczenia (66,67 i 20,13%) (rys. 2).

Także aktywność pirofosfatazy nieorganicznej w większości terminów pomiarów uległa obniżeniu po zastosowaniu glifosatu. Wprowadzenie herbicydu w dawce 1 mg·kg⁻¹ wywołało inhibicję aktywności tego enzymu w trak-

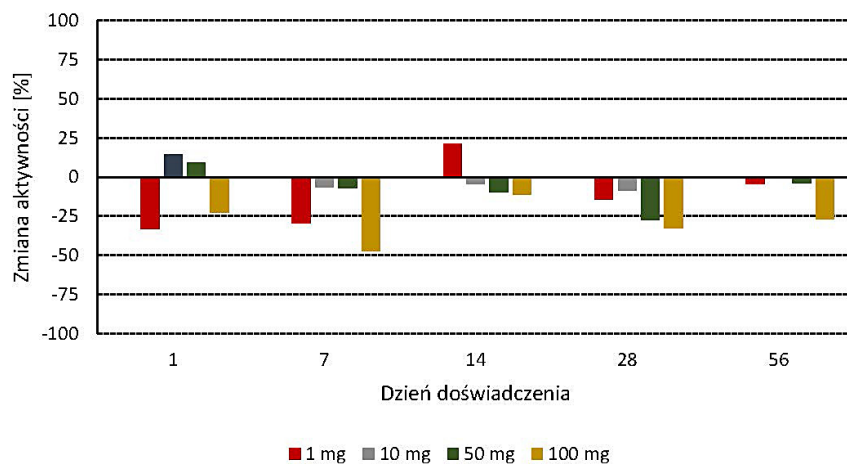
Tabela 1. Zmiany oznaczanych parametrów metabolizmu fosforu w piasku gliniastym po wprowadzeniu soli amonowej glifosatu

Table 1. Changes of measured parameters of phosphorus metabolism in loamy sand after treatment of glyphosate ammonium salt

Dzień doświadczenia	Ilość glifosatu [mg·kg ⁻¹]	Pac	Pal	PPi	TP	P _{E-R}
1	0	101,83jk	70,45b	137,37bcde	14,18ijk	16,20klm
	1	67,89lm	8,56lm	80,21jk	16,04abcde	15,80klm
	10	116,38fghi	8,84lm	141,38bcd	16,31abc	15,69klm
	50	110,96hij	39,93efg	67,68k	13,11k	15,43klm
	100	78,73l	63,61bc	150,90abc	14,61fghij	12,12klm
7	0	112,96ghij	38,51efg	152,41abc	14,51ghij	18,03hij
	1	79,58l	12,56klm	120,82defg	17,07a	17,85ijk
	10	105,54ijk	42,22ef	82,22ijk	15,65bcdefg	18,73ghi
	50	105,25ijk	10,55klm	113,80fgh	14,92efghij	19,38fghi
	100	59,62m	5,99lm	64,67k	13,91jk	18,75ghi
14	0	160,88bc	57,33c	114,81fgh	16,12abcd	20,29efg
	1	195,39a	95,56a	100,77ghij	16,32abc	20,23efg
	10	154,03cde	57,33c	114,30fgh	13,95jk	16,94jkl
	50	145,19de	20,82hijk	70,69k	14,00ijk	23,82b
	100	143,19e	30,52fgh	131,50cdef	16,08abcd	22,17bcd
28	0	172,29b	45,35de	157,92ab	14,14ijk	20,60def
	1	147,18cde	17,11jkl	96,26hij	15,80bcde	21,93cde
	10	157,74cd	54,48cd	119,32defg	15,69bcdef	19,66fgh
	50	124,64fg	29,09ghi	122,33defg	15,43cdefgh	20,75def
	100	116,09fghi	39,63efg	153,91ab	15,12defghi	27,71a
56	0	128,64f	63,61bc	118,94efg	15,66bcdefg	16,57jklm
	1	123,22fgh	42,79de	104,28ghi	16,99a	23,26bc
	10	128,64f	3,42m	103,40ghi	14,18hij	12,20n
	50	123,51fgh	17,68ijkl	168,45a	16,67ab	20,95def
	100	94,13k	25,67hij	155,91ab	15,82bcde	19,44fghi

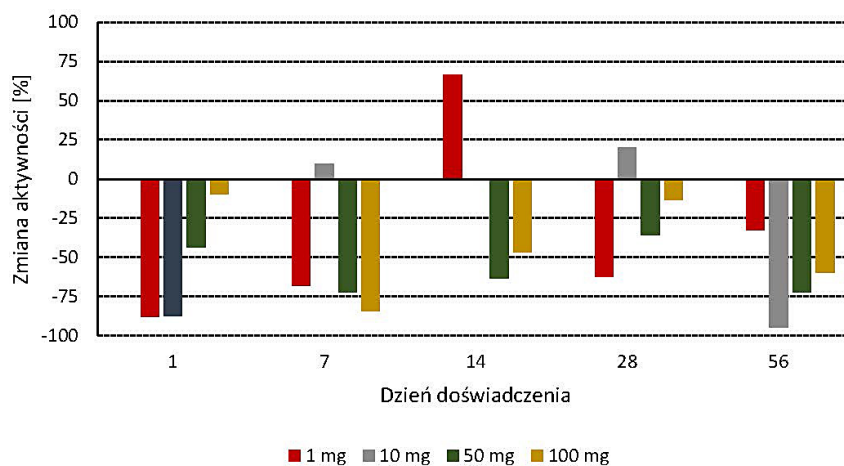
Pac – fosfomonoestaza kwaśna [mg p-NP·(kg s.m.·h)⁻¹], Pal – fosfomonoestaza zasadowa [mg p-NP·(kg s.m.·h)⁻¹], PPi – pirofosfataza nieorganiczna [mg P-PO₄³⁻·(kg s.m.·h)⁻¹], TP – fosfotriesteraza [mg p-NP·(kg s.m.·h)⁻¹], P – zawartość fosforu przyswajalnego dla roślin [mg P·kg⁻¹]

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



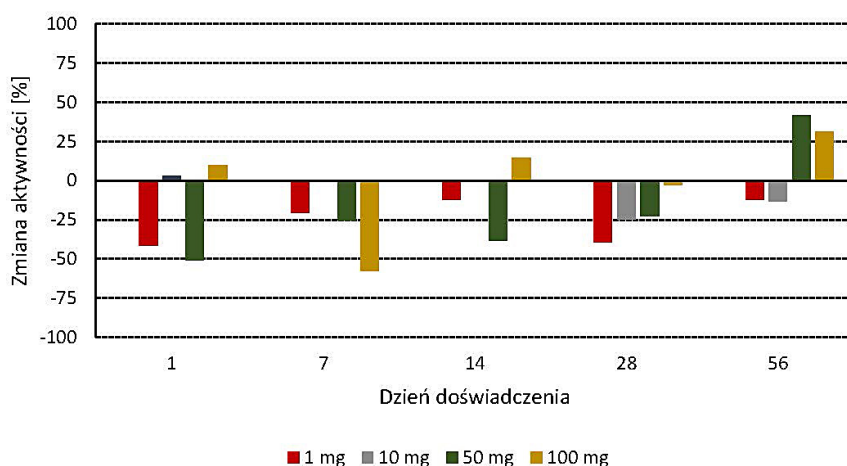
Rys. 1. Procentowe zmiany aktywności fosfomonoesterazy kwaśnej w piasku gliniastym po wprowadzeniu soli amonowej glifosatu

Fig. 1. Percentage changes of acid phosphomonoesterase activity in loamy sand after treatment of glyphosate ammonium salt



Rys. 2. Procentowe zmiany aktywności fosfomonoesterazy alkalicznej w piasku gliniastym po wprowadzeniu soli amonowej glifosatu

Fig. 2. Percentage changes of alkaline phosphomonoesterase activity in loamy sand after treatment of glyphosate ammonium salt



Rys. 3. Procentowe zmiany aktywności pirofosfatazy nieorganicznej w piasku gliniastym po wprowadzeniu soli amonowej glifosatu

Fig. 3. Percentage changes of inorganic pyrophosphatase activity in loamy sand after treatment of glyphosate ammonium salt

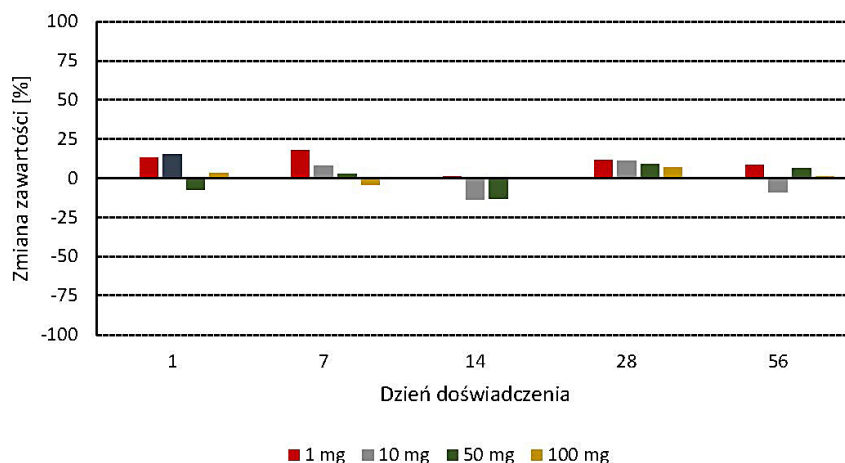
cie trwania całego doświadczenia na poziomie 12,23–41,61%. W glebie zawierającej glifosat w ilości $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ istotny statystycznie spadek aktywności pirofosfatazy nieorganicznej odnotowano w 28. i 56. dniu doświadczenia (odpowiednio 24,44 i 13,07%). Inhibicja aktywności enzymu w glebie z dodatkiem glifosatu w dawce $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ utrzymywała się do 28. dnia doświadczenia (22,54–50,73%). Natomiast w ostatnim terminie pomiaru stwierdzono aktywację pirofosfatazy nieorganicznej o 41,62% w stosunku do gleby kontrolnej. Natomiast po wprowadzeniu glifosatu w dawce $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ istotne statystycznie zmiany aktywności wykazano jedynie w 7. dniu doświadczenia (inhibicja o 57,25%) i w 56. dniu doświadczenia (stymulacja o 31,08%) (rys. 3).

Inną tendencję można zauważyć analizując zmiany aktywności fosfotriesterazy w glebie po wprowadzeniu glifosatu. Aplikacja herbicydu w dawce $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ wywołała istotną statystycznie stymulację aktywności enzymu w trakcie trwania prawie całego doświadczenia (z wyjątkiem 14. dnia doświadczenia), na poziomie 8,47–17,63%. Również po dodaniu glifosatu w dawce $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ w większości terminów pomiarów odnotowano istotne statystycznie zmiany aktywności fosfotriesterazy: inhibicję w 14. i 56. dniu doświadczenia (odpowiednio 13,47 i 8,65%) oraz stymulację w 1. i 28. dniu doświadczenia (odpowiednio 15,01 i 10,93%). Istotny statystycznie wpływ glifosatu w dawce $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ na aktywność fosfotriesterazy wykazano jedynie w 14. i 28. dniu doświadczenia (odpowiednio obniżenie o 13,15% i wzrost o 9,05%). Natomiast w glebie zawierającej herbicyd w ilości $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ aktywność enzymu nie uległa istotnym zmianom (rys. 4).

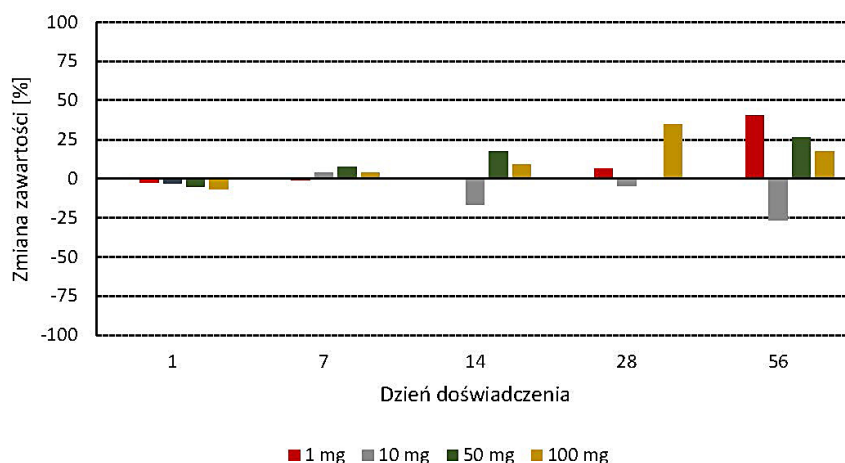
Zastosowanie glifosatu we wszystkich dawkach nie spowodowało istotnych zmian zawartości fosforu przyswajalnego w 1. i 7. dniu doświadczenia. W pozostałych terminach pomiarów wykazano istotne statystycznie obniżenie zawartości fosforu przyswajalnego po wprowadzeniu herbicydu w dawce $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ w 14. i 56. dniu doświadczenia (odpowiednio 16,48 i 26,41%). Natomiast zwiększenie zawartości tego składnika stwierdzono w glebie z dodatkiem glifosatu w dawce $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ w 56. dniu doświadczenia (40,34%), $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ w 14. i 56. dniu doświadczenia (odpowiednio: 17,48 i 26,41%) oraz $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ w 14., 28. i 56. dniu doświadczenia (odpowiednio: 9,23, 34,52 i 17,27%) (rys. 5).

W celu określenia sumarycznego oddziaływania glifosatu na oznaczane parametry glebowe obliczono średnie ich zmiany ze wszystkich terminów pomiarów i przedstawiono na rysunku 6. Pozwoliło to na określenie tendencji zmian w zależności od zastosowanej dawki herbicydu. Porównując procentowe zmiany oznaczanych parametrów stwierdzono, że wprowadzenie glifosatu w postaci soli amonowej we wszystkich dawkach działało inhibującą na aktywność fosfomonoesterazy alkalicznej. Obniżenie średniej aktywności wykazano również dla fosfomonoesterazy kwaśnej przy dawkach 1, 50 i $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ oraz dla pirofosfatazy nieorganicznej przy dawkach 1, 10 i $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Średnia aktywność fosfotriesterazy oraz średnia zawartość fosforu przyswajalnego uległa natomiast niewielkim zmianom, które nie przekraczały zazwyczaj 10% w odniesieniu do gleby kontrolnej.

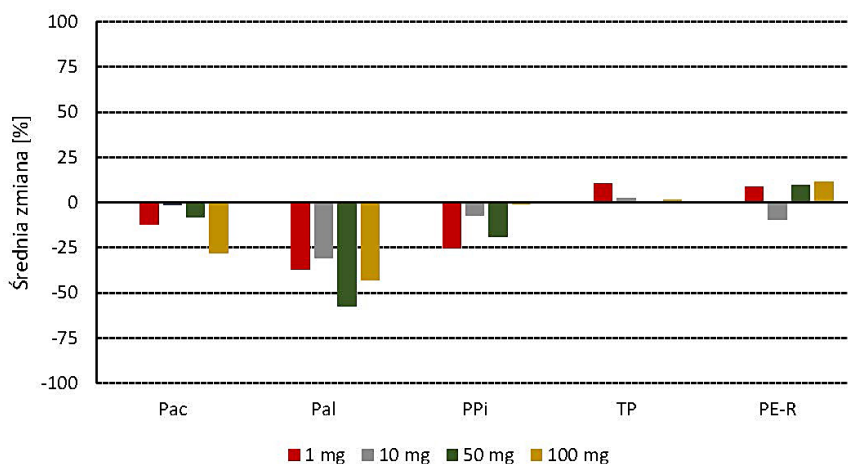
Z otrzymanych wyników badań wynika, że wpływ glifosatu w postaci soli amonowej na zawartość fosforu przyswajalnego oraz wybranych enzymów biorących udział w przemianach tego pierwiastka w glebie lekkiej był zróżnicowany i zależał zarówno od dawki herbicydu, jak i dnia pomiaru. Podobną tendencję wykazano badając oddziaływanie soli izopropylaminoowej oraz potasowej glifosatu na aktywność fosfomonoesterazy kwaśnej, fosfomonoesterazy alkalicznej oraz pirofosfatazy nieorganicznej [Płatkowski i Telesiński 2015a], a także fosfodiesterazy i fosfotriesterazy [Płatkowski i Telesiński 2015b]. W literaturze przedmiotu można znaleźć doniesienia o braku zmian aktywności fosfataz glebowych pod wpływem glifosatu [Nakatani i in. 2014, Cherni i in. 2015], jak i stymulacji [Floch i in. 2011, Ying i in. 2011] oraz inhibicji aktywności tych enzymów [Sannino i Gianfreda 2001]. Według Speir'a i Ross'a [1978] zahamowanie aktywności fosfataz spowodowane jest obecnością w cząsteczce glifosatu grupy fosfonowej. Zdaniem Ying i in. [2011] aktywność fosfatazy kwaśnej może być użyta jako biochemiczny wskaźnik rozkładu glifosatu. Glifosat może być wykorzystywany przez Gram-dodatnie i Gram-ujemne bakterie jako źródło fosforu, węgla oraz azotu [Van Eerd i in. 2003]. Dlatego też może on oddziaływać na aktywność nie tylko enzymów biorących udział w przemianach fosforu, ale też i innych pierwiastków, co potwierdzają badania wielu autorów [Bennicelli i in. 2009, Penettieri i in. 2013, Nakatani i in. 2014, Cherni i in. 2015].



Rys. 4. Procentowe zmiany aktywności fosfotriesterazy w piasku gliniastym po wprowadzeniu soli amonowej glifosatu
Fig. 4. Percentage changes of acid phosphotriesterase activity in loamy sand after treatment of glyphosate ammonium salt



Rys. 5. Procentowe zmiany zawartości fosforu przyswajalnego w piasku gliniastym po wprowadzeniu soli amonowej glifosatu
Fig. 5. Percentage changes of available phosphorus content in loamy sand after treatment of glyphosate ammonium salt



Rys. 6. Sumaryczne oddziaływanie glifosatu na oznaczane parametry glebowe ze wszystkich terminów pomiarów
Fig. 6. The total impact of glyphosate on soil parameters determined from measurements of all terms

WNIOSKI

1. Wprowadzenie glifosatu w formie soli amonowej spowodowało zmiany zawartości fosforu przyswajalnego oraz aktywności enzymów biorących udział w przemianach tego pierwiastka w piasku gliniastym.
2. Nie można jednoznacznie wykazać wpływu dawki soli amonowej i dnia pomiaru na zmiany zawartości fosforu przyswajalnego oraz aktywności enzymów biorących udział w przemianach tego pierwiastka w glebie lekkiej.
3. Spośród oznaczanych parametrów najbardziej wrażliwa na obecność soli amonowej glifosatu okazała się fosfomonoesteraza alkaliczna.
4. Otrzymane wyniki wskazują na konieczność prowadzenia dalszych badań nad oddziaływaniem różnych soli glifosatu na metabolizm związków fosforu w różnych typach gleb.

PIŚMIENNICTWO

1. Bennicelli R.P., Szafranek-Nakoneczna A., Wolińska A., Stępniewska Z., Bogudzińska M. 2009. Influence of pesticide (glyphosate) on dehydrogenase activity, pH, Eh and gases production in soil (laboratory conditions). *International Agrophysics* 23, 117–122.
2. Chaer G., Fernandes M., Myrold D., Bottomley P. 2009. Comparative resistance and resilience of soil microbial communities and enzyme activities in adjacent native forest and agricultural soils. *Microbial Ecology* 58, 414–424.
3. Chemi A.E., Trabelsi D., Chebil S., Barchoumi F., Rodriguez-Llorente I.D., Zribi K. 2015. Effect of glyphosate on enzymatic activities, *Rhizobiaceae* and total bacteria; communities in an agricultural Tunisian soil. *Water, Air and Soil Pollution* 226, 145–155.
4. Dick W.A., Tabatabai M.A. 1978. Inorganic pyrophosphatase activity of soils. *Soil Biology and Biochemistry* 10, 59–65.
5. Eivazi F., Tabatabai M.A. 1977. Phosphatases in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 9, 167–172.
6. Floch C., Chevremont A.C., Joanico K., Capowicz Y., Criquet S. 2011. Indicators of pesticide contamination: Soil enzyme compared to functional diversity of bacterial communities via biology ecoplates. *European Journal of Soil Biology* 47(4), 256–263.
7. Grygieł K., Sadowski J., Snopczyński T., Wysocki A. 2012. Pozostałości herbicydów w płodach rolnych i glebie. *Journal of Ecology and Health* 16(4), 159–163.
8. Lemanowicz J., Koper J. 2009. Zawartość wybranych form fosforu w glebie i koniczynie łąkowej oraz aktywność fosfatyz glebowych na tle zróżnicowanego nawożenia mineralnego i organicznego. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie* 9, 4(28), 119–139.
9. Margesin R. 1996. Acid and alkaline phosphomonoesterase with the substrate p-nitrophenyl phosphate. [W:] F. Schinner, E. Öhlinger, E. Kandeler, R. Margesin (red.) *Methods in soil biology*. Springer Verl. Berlin, 217–223.
10. Mocek A., Drzymała S. 2010. Geneza, analiza i klasyfikacja gleb. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, 244–250.
11. Nakatani A.S., Fernandes M.F., de Souza R.A., da Silva A.P., dos Reis-Junior F.-B., Mendes I.C., Hungria M. 2014. Effects of the glyphosate-resistance gene and of herbicides applied to the soybean crop on soil microbial biomass and enzymes. *Field Crops Research* 62, 20–29.
12. 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* 133, 16–24.
13. Płatkowski M., Telesiński A. 2015a. Ocena oddziaływania glifosatu na aktywność wybranych enzymów biorących udział w przemianach związków fosforu w glebie lekkiej. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie* 15(1), 79–89.
14. Płatkowski M., Telesiński A. 2015b. Effect of different glyphosate salts on phosphodiesterase and phosphotriesterase activities in soil with the reference to ecological importance of soil pollution. A laboratory experiment. *Environmental Protection and Natural Resources* 26(2), 9–14.
15. Różański L. 1998. Przemiany pestycydów w organizmach żywych i środowisku. Wydawnictwo Agra-Enviro Lab, Poznań, 311–313.
16. Sannino F., Gianfreda L. 2001. Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere* 45, 417–425.
17. Speir T.W., Ross D.F. 1978. Soil phosphatase and sulphatase. [W:] R.G. Burns (red.) *Soil enzymes*. Academic Press. Londyn, 197–250.
18. Steinmann H.H., Dickeduisberg M., Theuvsen L. 2012. Uses and benefits of glyphosate in German arable farming. *Crop Protection* 42, 164–169.
19. Tabatabai M.A., Bremner J.M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1(4), 301–307.
20. Van Eerd L.L., Hoagland R.E., Zablotowicz R.M., Hall J.C. 2003. Pesticide metabolism in plants and microorganisms. *Weed Science* 51, 472–495.
21. Ying Y., Haijun Z., Qixing Z. 2011. Using soil available P and activities of soil dehydrogenase and phosphatase as indicators for biodegradation of organophosphorus pesticide methamidophos and glyphosate. *Soil and Sediment Contamination* 20, 688–701.