Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych nr 583, 2015, 3–11

# KSZTAŁTOWANIE SIĘ CECH MORFOLOGICZNYCH I BIOCHEMICZNYCH ŁUBINU ŻÓŁTEGO ROSNĄCEGO NA GLEBIE ZANIECZYSZCZONEJ CHLOROTETRACYKLINĄ W WARUNKACH FOTOPERIODU I CIEMNOŚCI

Michał Baciak, Agnieszka I. Piotrowicz-Cieślak, Barbara Adomas Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

**Streszczenie.** W ocenie zanieczyszczenia środowiska lekami bardzo ważną rolę odgrywają badania z wykorzystaniem roślin przeznaczonych na cele konsumpcyjne. Celem pracy było określenie fitotoksyczności chlorotetracykliny (0, 1,45, 2,90, 5,80, 11,60, 23,19 i 46,38 mg kg<sup>-1</sup> gleby) obecnej w glebie wobec łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) odmiany Mister. Oceniano wybrane cechy morfologiczne łubinu oraz biochemiczne aktywności peroksydazy i katalazy w korzeniach i łodygach siewek łubinu w warunkach fotoperiodu i ciemności. Stwierdzono, że niskie stężenia chlorotetracykliny w glebie nie zmieniają długości korzeni i łodyg. Ciśnienie osmotyczne siewek łubinu w obu wariantach świetlnych przy najwyż-szym stężeniu leku (46,38 mg kg<sup>-1</sup> gleby) wzrosło około dwukrotnie w porównaniu z próbami kontrolnymi. Aktywność peroksydazy korzeni rosnących na glebie zawierającej lek w stężeniu 46,38 mg kg<sup>-1</sup>wyniosła 29 U (fotoperiod) i 24 U (ciemności. 15 U) w porównaniu do korzeni rosnących w tych samych warunkach świetlnych (12 U).

Słowa kluczowe: chlorotetracyklina, łubin żółty, fitotoksyczność, peroksydaza, katalaza

## WSTĘP

Środowisko może być zanieczyszczone różnymi ksenobiotykami, m.in.: metalami ciężkimi [Kaczyńska i in. 2011], środkami ochrony roślin [Błaszczak i Przybulewska 2011], ale także lekami. Farmaceutyki należą do grupy związków szeroko stosowanych w medycynie. Wykorzystuje się je w celu poprawy i ochrony zdrowia ludzi i zwierząt [Kim i in. 2012]. Jednym z najczęściej stosowanych leków jest chlorotetracyklina, należąca do

Adres do korespondencji – Corresponding author: Michał Baciak, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski, Wydział Kształtowania Środowiska i Rolnictwa, Katedra Chemii, e-mail: michal.baciak@ uwm.edu.pl

grupy tetracyklin – antybiotyk o szerokim spektrum oddziaływania wobec wielu bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich [Fang i in. 2014]. Lek słabo wchłania się w przewodzie pokarmowym zwierząt i w około 50–80% wydalany jest z kałem i moczem, najczęściej jako niemetabolizowany związek [Wu i in. 2011, Kong i in. 2012]. Zawartość leków na gruntach nawożonych obornikiem waha się od granic wykrywalności do poziomu 5,17 mg kg<sup>-1</sup> chlorotetracykliny, 0,553 mg·kg<sup>-1</sup> tetracykliny i 0,588 mg·kg<sup>-1</sup> oksytetracykliny [Wang i in. 2011]. Tak duże zawartości leków w glebie oddziałują fitotoksycznie na rośliny, co w konsekwencji prowadzi do obniżenia tempa wzrostu i stymulowania obronnych reakcji biochemicznych w roślinach [Sikorski i in. 2014].

Jednym z mechanizmów odporności roślin na stresy środowiskowe są reakcje wykorzystujące enzymy antyoksydacyjne, takie jak peroksydaza i katalaza. Do funkcji peroksydazy należy utrzymanie niskiego poziomu nadtlenku wodoru w komórkach [Grace i Logan 2000, Mathé i in. 2010], ochrona ścian komórkowych, tworzenie lignin, suberyn, i auksyn oraz obrona przed patogenami i owadami [Passardi i in. 2005, Cosio i Dunand 2009, Marjamaa i in. 2009]. Działanie antyoksydacyjne katalazy polega na rozkładzie nadtlenku wodoru na tlen cząsteczkowy i wodę bez produkcji wolnych rodników [Qin i Liu 2013]. Udowodniono, że tetracykliny są związkami wrażliwymi na światło, bowiem pod wpływem światła i czynników utleniających ulegają rozkładowi [Jiao i in. 2008].

Celem pracy było określenie fitotoksyczności chlorotetracykliny zanieczyszczającej glebę wobec łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) odmiany Mister rosnącego w warunkach fotoperiodu i ciemności, poprzez oznaczenie wybranych cech morfologicznych oraz aktywności peroksydazy i katalazy w korzeniach i łodygach.

### **MATERIAŁ I METODY**

Nasiona łubinu żółtego odmiany Mister kiełkowano przez osiem dni na plastikowych płytkach testu Phytotoxkit (MicroBio Test, Inc., Belgium), w badaniach uwzględniono następujące stężenia chlorotetracykliny: 0, 1,45, 2,90, 5,80, 11,60, 23,19 i 46,38 mg·kg<sup>-1</sup> gleby. Doświadczenie prowadzono w 10 powtórzeniach w warunkach fotoperiodu i ciemności.

## Oznaczenie aktywności peroksydazy [EC 1.11.1.7]

Naważkę korzeni i łodyg (100 mg) homogenizowano w 2 ml mieszaniny ekstrakcyjnej, w skład której wchodzą: 0,1 M Tris-HCl, zawierający 8,75% poliwinylopirolidonu (PVP), 0,1 M KCl oraz 0,28% Triton X-100. Następnie homogenat odwirowano, a otrzymany supernatant filtrowano przez filtr membranowy Filter-Bio Sterile Syringe Filter o średnicy porów 0,22 µm. Aktywność peroksydazy badano spektrofotometrycznie przy długości fali 470 nm w temperaturze pokojowej w obecności gwajakolu. Aktywność została obliczona jako wskaźnik wzrostu absorbancji na minutę i wyrażona w jednostkach na gram białka. Jedna jednostka (1 Unit, U) oznacza redukcję 1 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> w czasie jednej minuty, przy pH 7,0 w temperaturze pokojowej. Zawartość białka oznaczono metodą Lowry'ego [Lowry i in. 1951].

#### Oznaczenie aktywności katalazy [EC 1.11.1.6]

Naważkę korzeni i łodyg (200 mg) homogenizowano w 1 ml 50 mM buforu fosforanowego (pH 7,0), zawierającego 1 g PVP (na 100 ml roztworu do ekstrakcji), 0,2 mM EDTA oraz Triton X-100 (1 ml na 100 ml ekstraktora). Homogenat wirowano przy 12 000× g przez 20 min. Mieszanina reakcyjna zawierała: 15 mM  $H_2O_2$  w 50 mM buforze fosforanowym (pH 7,0) oraz 10 µl ekstraktu. Spadek ekstynkcji mierzono przy długości fali 240 nm. Jedna jednostka (1 U) rozkłada 1 µM  $H_2O_2$  w czasie 1 min, przy pH 7,0, w temperaturze pokojowej, na 1 mg białka. Zawartość białka oznaczono metodą Lowry'ego i innych [1951].

#### Analiza statystyczna wyników

Do statystycznego opracowania wyników zastosowano metodę analizy wariancji (test F) typową dla doświadczeń dwuczynnikowych laboratoryjnych. Istotność zróżnicowania średnich względem kontroli badano testem t SNK (Studenta-Newmana-Keulsa). Wyniki przedstawiają średnie oraz odchylenia standardowe (±SD) dla 10 powtórzeń.

#### WYNIKI I DYSKUSJA

W ocenie zanieczyszczenia środowiska lekami bardzo ważną rolę odgrywają badania z wykorzystaniem roślin przeznaczonych do żywienia zwierząt. Testowano bardzo niskie stężenia chlorotetracykliny w porównaniu do podawanych w literaturze [Wang i in. 2011] oraz różne warunki świetlne - fotoperiod i ciemność. Oceniona po ośmiu dniach długość korzeni siewek roślin łubinu rosnących na glebie zanieczyszczonej antybiotykiem była nieco mniejsza w warunkach fotoperiodu (75,71 mm) w porównaniu do korzeni rosnących w ciemności (83,13 mm) - rysunek 1A. Łodygi siewek łubinu rozwijające się w ciemności na glebie zanieczyszczonej 1,45 mg chlorotetracykliny były krótsze od łodyg kontrolnych o 12 mm, a łodygi uzyskane z gleby zanieczyszczonej 46,38 mg antybiotyku – o 16 mm. Łubin rosnący w ciemności miał dłuższe łodygi średnio o 22 mm od łodyg rosnących w warunkach zachowanego fotoperiodu (rys. 1B). Z przeprowadzonych badań wynika, że niskie stężenia chlorotetracykliny nie wpłynęły istotnie na długości części nadziemnej i podziemnej łubinu żółtego (rys. 1A, 1B). Wyniki doświadczeń prowadzonych przez Zhao-jun i innych [2011] dowodzą natomiast, że niskie stężenia oksytetracykliny (OTC) zmniejszają długość korzeni i łodyg pszenicy (Triticum aestivum L.), tym samym obniżają ich biomasę.

Świeża masa korzeni kontrolnych rosnących w warunkach fotoperiodu i w ciemności wynosiła odpowiednio 119 i 157 mg, zaś korzeni uzyskanych z gleby zawierającej najwyższe z badanych stężeń była mniejsza i wynosiła odpowiednio 108 i 140 mg (rys. 2A). Świeża masa łodyg roślin rosnących na glebie zawierającej lek w stężeniu 46,38 mg kg<sup>-1</sup>gleby w warunkach fotoperiodu była mniejsza o 21,8%, zaś w ciemności o 30,8%, w stosunku do łodyg kontrolnych (rys. 2B). Sucha masa badanych łodyg nieznacznie zwiększała się wraz ze wzrostem stężeń chlorotetracykliny w podłożu i była większa o 9,7% u roślin rosnących w fotoperiodzie i o 14,2% u roślin rosnących w ciemności (rys. 2C, D). Zmniejszenie świeżej masy oraz nieznaczne zwiększenie suchej masy łubinu żółtego, grochu i soczewicy rosnących na glebie zanieczyszczonej diklofenakiem odnotowali Ziółkowska i inni [2014].



Jednakowe litery oznaczają grupy homogenicznie nieróżniące się w ujęciu statystycznym przy  $\alpha = 0.05$ ; słupki błędu pokazują wartości odchyleń standardowych

The same letters mean homogeneans groups, not diffening in a statistical approach,  $\alpha = 0.05$ ; error bars represent standard deviations

- Rys.1. Długość korzeni (A) i łodyg (B) łubinu żółtego rosnącego w warunkach fotoperiodu ( $\circ$ ) i ciemności ( $\bullet$ ) na glebie zanieczyszczonej chlorotetracykliną
- Fig. 1. Roots length (A) and stems length (B) of yellow lupin plants grown under photoperiod (○) or in dark (●) in soil contaminated of chlortetracycline



Jednakowe litery oznaczają grupy homogenicznie nieróżniące się w ujęciu statystycznym przy  $\alpha = 0.05$ ; słupki błędu pokazują wartości odchyleń standardowych

The same letters mean homogeneans groups, not diffening in a statistical approach,  $\alpha = 0.05$ ; error bars represent standard deviations

- Rys. 2. Świeża masa korzeni (A) i łodyg (B) oraz sucha masa korzeni (C) i łodyg (D) łubinu żółtego rosnącego w warunkach fotoperiodu (○) i ciemności (●) na glebie zanieczyszczonej chlorotetracykliną
- Fig. 2. The fresh weight of the roots (A) and stems (B) and dry weight of roots (C) and stems (D) of yellow lupin plants grown under photoperiod (○) or in dark (●) in soil contaminated of chlortetracycline

Reakcją roślin na zanieczyszczenie gleby jest zmiana potencjału osmotycznego, który informuje o pobieraniu wody i powstawaniu suszy fizjologicznej. Ciśnienie osmotyczne mierzone w siewkach łubinu było istotnie różnicowane zawartością antybiotyku w podłożu, rosło ze wzrostem stężenia leku. W ciemności wartość potencjału osmotycznego była większa, niż w fotoperiodzie. W obu warunkach świetlnych przy najwyższym stężeniu leku (46,38 mg·kg<sup>-1</sup>gleby) ciśnienie osmotyczne siewek łubinu wzrosło prawie dwukrotnie (20 psi) w porównaniu z próbami kontrolnymi (11 psi) – rysunek 3. Podobne wyniki podaje de Maria i inni [2005], dowodząc obniżenia turgoru komórek łubinu białego (*Lupinus albus* L.) narażonego na działanie glifosatu.



Jednakowe litery oznaczają grupy homogenicznie nieróźniące się w ujęciu statystycznym przy  $\alpha = 0.05$ ; słupki błędu pokazują wartości odchyleń standardowych

The same letters mean homogeneans groups, not diffening in a statistical approach,  $\alpha = 0.05$ ; error bars represent standard deviations

- Rys. 3. Potencjał osmotyczny roślin łubinu żółtego rosnącego w warunkach fotoperiodu ( $\circ$ ) i ciemności ( $\bullet$ ) na glebie zanieczyszczonej chlorotetracykliną
- Fig. 3. Osmotic potential of yellow lupin plants grown under photoperiod (○) or in dark (●) in soil contaminated of chlortetracycline

Leki weterynaryjne oraz inne ksenobiotyki mogą wpływać na aktywność różnych enzymów antyoksydacyjnych. Z badań przeprowadzonych przez Pereira i innych [2010] wynika, że aktywności askorbinianu peroksydazy (APX) i dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) wzrastają w odpowiedzi na niskie poziomy glinu w podłożu. Jednak spadek aktywności APX przy najwyższym z badanych stężeń opóźnia usunięcie H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, co powoduje wzrost peroksydacji lipidów. Niski poziom SOD przy najwyższym stężeniu może być związany z inaktywacją grup tiolowych tego enzymu przez H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, [Bowler i in. 1992].

Aktywność peroksydazy w korzeniach łubinu była większa, w porównaniu do łodyg. Wzrastające stężenia chlorotetracykliny modyfikowały aktywność enzymu, która malała w badanych tkankach ze wzrostem stężeń antybiotyku w glebie, aby przy najwyższym stężeniu leku osiągnąć wartość 29 U (fotoperiod) i 24 U (ciemność). Odmiennie kształtowała się aktywność peroksydazy w tkankach łodyg łubinu, która w warunkach fotoperiodu zmniejszała się. Podobną reakcję obserwowano w doświadczeniu prowadzonym w ciemności (rys. 4B). Wzrost stężenia chlorotetracykliny w glebie powodował stopniowy wzrost aktywności katalazy w korzeniach łubinu żółtego rosnących w warunkach fotoperiodu. Najwyższe stężenie leku obniżyło aktywność tego enzymu w tkankach korzeni rosnących w ciemności (rys. 5A). Aktywność katalazy w łodygach łubinu żółtego rosnących w fotoperiodzie na glebie o stężeniu 1,455 mg·kg<sup>-1</sup>gleby wzrosła istotnie. W kolejnych, wyższych stężeniach stopniowo malała. Aktywność katalazy korzeni rosnących w ciemności na glebie zawierającej najniższe stężenia chlorotetracykliny nieznacznie rosła, a od stężenia 5,80 mg·kg<sup>-1</sup> gleby – malała (rys. 5B). W doświadczeniu przeprowadzonym przez Liu



Jednakowe litery oznaczają grupy homogenicznie nieróźniące się w ujęciu statystycznym przy  $\alpha = 0.05$ ; słupki błędu pokazują wartości odchyleń standardowych

The same letters mean homogeneans groups, not diffening in a statistical approach,  $\alpha = 0.05$ ; error bars represent standard deviations

- Rys. 4. Aktywność peroksydazy w korzeniach (A) i łodygach (B) łubinu żółtego rosnącego w warunkach fotoperiodu (○) i ciemności (●) na glebie zanieczyszczonej chlorotetracykliną
- Fig. 4. Peroxidase activity in roots (A) and stems (B) of yellow lupin plants grown under photoperiod (○) or in dark (●) in soil contaminated of chlortetracycline



Jednakowe litery oznaczają grupy homogenicznie nieróżniące się w ujęciu statystycznym przy  $\alpha = 0.05$ ; słupki błędu pokazują wartości odchyleń standardowych

The same letters mean homogeneans groups, not diffening in a statistical approach,  $\alpha = 0.05$ ; error bars represent standard deviations

- Rys. 5. Aktywność katalazy w korzeniach (A) i łodygach (B) łubinu żółtego rosnącego w warunkach fotoperiodu (○) i ciemności (●) na glebie zanieczyszczonej chlorotetracykliną
- Fig. 5. Catalase activity in roots (A) and stems (B) of yellow lupine growing under photoperiod (○) or in dark (●) in soil contaminated of chlortetracycline

Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych

i innych [2012] odnotowano wpływ chlorowodorków ciprofloksacyny, oksytetracykliny oraz sulfametazyny na trzcinę pospolitą (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud). Autorzy stwierdzili, że wzrost stężeń zastosowanych leków w roztworach wodnych przyczynia się do znacznego spadku aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i katalazy (CAT), zaś najwyższe stężenia leków (1000 mg·l<sup>-1</sup>) hamują aktywność SOD i CAT odpowiednio o 53 i 54%.

## **WNIOSKI**

1. Chlorotetracyklina obecna w glebie w stężeniach od 1,45 do 46,38 mg·kg<sup>-1</sup> gleby nie zmieniała długości korzeni i łodyg łubinu żółtego.

2. Ciśnienie osmotyczne siewek zwiększało się ze wzrostem stężenia antybiotyku w glebie. W ciemności wartości potencjału osmotycznego były większe niż w warunkach z zachowanym fotoperiodem.

3. Obecność chlorotetracykliny w glebie zmieniała aktywność peroksydazy i katalazy w korzeniach i łodygach łubinu. Aktywność enzymów zwiększała się w tkankach korzeni i łodyg wyrosłych na glebie skażonej 46,38 mg chlorotetracykliny na 1 kg gleby.

4. Aktywność peroksydazy i katalazy korzeni oraz łodyg, a także potencjał osmotyczny okazały się bardziej wrażliwymi wskaźnikami oceny narażenia siewek łubinu żółtego na niskie stężenia chlorotetracykliny niż długość korzeni i łodyg oraz ich masy (świeża i sucha).

#### Podziękowania

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego nr 2011/01/B/NZ9/02646 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

## LITERATURA

- Błaszczak M., Przybulewska K., 2011. Wpływ pestycydów triazynowych na mikroorganizmy glebowe. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 567, 21-28.
- Bowler C., Camp V.W., Montagu V., Inzé D., 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43, 83-116.
- Cosio C., Dunand C., 2009. Specific functions of individual class III peroxidase genes. J. Exp. Bot. 60(2), 391-408.
- Fang H., Han Y.L., Yin Y.M., Pan X., Yu Y.L., 2014. Variations in dissipation rate, microbial function and antibiotic resistance due to repeated introductions of manure containing sulfadiazine and chlortetracycline to soil. Chemosphere 96, 51-56.
- Grace S.C., Logan B.A., 2000. Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. Philos. Trans. R Soc. Lond. B. Biol. Sci. 355(1402), 1499-1510.
- Jiao S., Zheng S., Yin D., Wang L., Chen L., 2008. Aqueous photolysis of tetracycline and toxicity of photolytic products to luminiscent bacteria. Chemosphere 73(3), 377-382.
- Kaczyńska G., Szudrewicz A., Hawryluk U., Strachel R., 2011. Reakcja drobnoustrojów i enzymów na zanieczyszczenie gleby miedzią. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 567, 105-116.

- Kim Y.K., Lim S.J., Han M.H., Cho J.Y., 2012. Sorption characteristics of oxytetracycline, amoxicillin, and sulfathiazole in two different soil types. Geoderma 185-186, 97-101.
- Kong W., Li Ch., Dolhi J.M., Li S., He J., Qiao M., 2012. Characteristics of oxytetracycline sorption and potential bioavailability in soils with various physical-chemical properties. Chemosphere 87(5), 542-548.
- Liu L., Liu Y., Liu Ch., Wang Z., Dong J., Zhu G., Huang X., 2012. Potential effect and accumulation of veterinary antibiotics in *Phragmites australis* under hydroponic conditions. Ecol. Eng. 53, 138-143.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265-275.
- de Maria N., de Felipe M.R., Fernandez-Pascual M., 2005. Alternation induced by glyphosate on lupin photosynthetic apparatus and nodule ultrastructure and some oxygen diffusion related proteins. Plant Physiol. Biochem. 43(10-11), 985-996.
- Marjamaa K., Kukkola E.M., Fagerstedt K.V., 2009. The role of xylem class III peroxidases in lignification. J. Exp. Bot. 60(2), 367-376.
- Mathé C., Barre A., Jourda C., Dunand C., 2010. Evolution and expression of class III peroxidases Arch. Biochem. Biophys. 500(1), 58-65.
- Passardi F., Cosio C., Penel C., Dunand C., 2005. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. Plant Cell Rep. 24(5), 255-265.
- Pereira L.B., de A. Mazzanti C.M., Gonçalves J.F., Cargnelutti D., Tabaldi L.A., Becker A.G., Calgaroto N.S., Farias J.G., Battisti V., Bohrer D., Nicoloso F.T., Morsch V.M., Schetinger M.R.C., 2010. Aluminum-induced oxidative stress in cucumber. Plant Physiol. Bioch. 48(8), 683- 689.
- Qin P., Liu R., 2013. Oxidative stress response of two fluoroquinolones with catalase and erythrocytes: A combined molecular and cellular study. J. Hazard. Mater. 252-253, 321-329.
- Sikorski Ł., Adomas B., Dobiesz M., Baciak M., Piotrowicz-Cieślak A.I., 2014. Morphological and biochemical responses of *Lemna minor* L. (common duckweed) to ciprofloxacin. Fresen. Environ. Bull. 23(2), 363-371.
- Wang Y., Sun R., Xiao A., Wang S., Zhou D., 2011. Phosphate affects the adsorption of tetracycline on two soils with different characteristics. Geoderma 156(3-4), 237-242.
- Wu X., Wei Y., Zheng J., Zhao X., Zhong W., 2011. The behavior of tetracyclines and their degradation products during swine manure composting. Bioresource Technol. 102(10), 5924-5931.
- Zhao-jun Li, Xiao-yu X., Shu-qing Z., Yong-chao L., 2011. Negative effects of oxytetracycline on wheat (*Triticum aestivum* L.) growth, root activity, photosynthesis, and chlorophyll contents. Agricultural Sciences in China 10(10), 1545-1553.
- Ziółkowska A., Piotrowicz-Cieślak A.I., Rydzyński D., Adomas B., Nałęcz Jawecki G., 2014. Biomarkers of leguminous plant viability in response to soil contamination with diclofanac. Pol. J. Environ. Stud. 23(1), 263-269.

# MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF YELLOW LUPIN GROWING ON SOIL CONTAMINATED WITH CHLORTETRACYCLINE IN PHOTOPERIOD AND DARKNESS

**Summary.** Veterinary antibiotics are important measures for the treatment of diseases in production animals. However, the annual increase in their use in cattle and poultry production is disturbing. Tetracyclines, including tetracycline, chlortetracycline and oxytetracycline, are among the most commonly used antibiotics worldwide. Since they are poorly

absorbed and excreted in substantial amounts in the digestive tract of animals (about 50-80%) with faeces and urine, chlortetracycline, oxytetracycline and tetracycline are detected in manure and slurry. They are sensitive to light and are degraded by light and oxidative factors. The studies were conducted under photoperiodic conditions and constant darkness in order to establish whether solar light has an impact on the uptake of chlortetracycline by 8-day-old yellow lupin seedlings. In addition, it was investigated whether chlortetracycline in soil (under photoperiod or darkness) influences the activity of peroxidase and superoxide dismutase, i.e. the enzymes that neutralize free radicals, in yellow lupin roots and stems. Research using plants typically intended for consumption plays a very important role in the evaluation of environment contaminated with drugs. The aim of the study was to investigate the phytotoxicity low concentration of chlortetracycline (0, 1.45, 2.90, 5.80, 11.60, 23.19 and 46.38 mg·kg<sup>-1</sup> of soil) to yellow lupin (Lupinus luteus L.) cv. Mister. Morphological characteristics and biochemical reactions (peroxidase and catalyze activities) yellow lupin seedlings growing in a photoperiod and in darkness were evaluated. It was found that chlortetracycline was phytotoxic to yellow lupin. The average length of roots growing on soil contaminated with the tested concentrations of chlortetracycline was 76 mm (photoperiod) and 82 mm (darkness). Lupin produced significantly shorter roots compared to the control growing in darkness on soil contaminated with 1.45, 2.90, and 5.80 mg·kg<sup>-1</sup> of soil. It was found that low concentrations of chlortetracycline in soil were not changed roots and stems length, and in contrast to the dark photoperiod to prolong the test organs. The osmotic pressure of lupin seedlings in both light conditions at the highest concentration of the drug (46.38 mg·kg<sup>-1</sup> of soil) was increased about twice compared with controls. Peroxidase activity was achieved the value of 29 U (photoperiod) and 24 U (dark) at the highest concentration of the drug (46.38 mg·kg<sup>-1</sup> of soil). Catalase activity was higher in the stems of yellow lupin grown in the dark (15 U) compared to the roots grown in the same conditions of light (12 U).

Key words: chlortetracycline, yellow lupin, phytotoxicity, peroxidase, catalase