

FITOTOKSYCZNOŚĆ GLIFOSATU WOBEC SIEWEK ŁUBINU ŻÓŁTEGO (*LUPINUS LUTEUS* L.)*

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

Streszczenie. Celem badań było określenie fitotoksyczności glifosatu w stężeniach: 1, 3, 7, 20, 40, 100, 500, 1000 μM wobec siewek łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) odmiany ‘Mister’ poprzez ocenę wybranych cech morfologicznych i zawartości w tkankach węglowodanów rozpuszczalnych. Stwierdzono, że glifosat zanieczyszczający glebę wraz ze wzrostem stężeń zmniejszał długość korzeni zarodkowych i łodyg siewek łubinu. Dowiedziono, że glifosat w zalecanym do aplikacji stężeniu polowym (3 l/ha), co odpowiada testowanemu stężeniu 7 μM , był fitotoksyczny wobec kiełkujących siewek łubinu. Obecne w tkankach łubinu cyklitole (*myo*-inozytol, *D-chiro*-inozytol) były dobrym wskaźnikiem pobierania wody z gleby oraz szybkości kiełkowania nasion. Zawartość węglowodanów rozpuszczalnych w siewkach łubinu żółtego była wprost proporcjonalna do badanych stężeń glifosatu. Badania dowiodły, że łubin żółty może być stosowany jako biowskaźnik do oceny zanieczyszczenia gleby glifosatem. W celu uzyskania pełnej odpowiedzi o zanieczyszczeniu środowiska przyrodniczego metody biologiczne powinny być uzupełnione metodami biochemicznymi.

Słowa kluczowe: glifosat, łubin żółty, fitotoksyczność, węglowodany rozpuszczalne

WSTĘP

Herbicydy są to związki chemiczne, celowo wprowadzane do środowiska. Stosowane w większości bezpośrednio do gleby mogą przedostać się do wód powierzchniowych. Z gleby, wody i powietrza herbicydy migrują do roślin [Adomas i in. 2008a, Adomas i in. 2008b, Piotrowicz-Cieślak i Adomas 2012], przez co nie pozostają bez wpływu na procesy fizjologiczne roślin czy jakość ich plonu [Marczewski i in. 2010].

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

Adres do korespondencji – Corresponding author: lukasz.sikorski@uwm.edu.pl

Działanie chwastobójcze glifosatu polega na hamowaniu enzymu syntazy 5-enolopirogroniano-szikimowo-3-fosforanowej, a w konsekwencji biosyntezy: fenyloalaniny, tyrozyny, tryptofanu [Moldes i in. 2012]. Glifosat wpływa niekorzystnie na metabolizm węgla i fotosyntezę, a także translokację sacharozy w roślinach [Cakmak i in. 2009]. Ponadto stosowany w fazie dojrzewania roślin (jako desykant) może hamować kiełkowania nasion i wzrost siewek [Clay i Griffin 2000, Piotrowicz-Cieślak i in. 2010].

W warunkach stresu rośliny gromadzą między innymi węglowodany [Ortbauer i Popp 2008], które stanowią jedne z najbardziej skutecznych związków w wykształcaniu odporności roślin na stresy środowiskowe. Zapewniają właściwy potencjał osmotyczny komórki, a także tworzą warstwę ochronną wokół makromolekuł [Rontein i in. 2002, Piotrowicz-Cieślak i Adomas 2012]. Rośliny w odpowiedzi na zmiany wilgotności i temperatury modyfikują zawartości rozpuszczalnych węglowodanów między innymi z rodziny rafinozy (RFO), polihydroksyalkoholi, takich jak ich formy cykliczne: *myo*-inozytol, *D-chiro*-inozytol, *D*-pinitol. Węglowodany chronią struktury komórkowe i białka dzięki zawartym w ich cząsteczce grupom hydroksylowym, które mogą zastępować wodę [Adomas i Piotrowicz-Cieślak 2004, Piotrowicz-Cieślak 2005b] oraz odpowiadają za transdukcje sygnałów u roślin [Loewus i Murthy 2000]. Węglowodany rozpuszczalne mogą być pomocne w określeniu zahamowania wzrostu roślin, gdyż podczas kiełkowania łubinu dochodzi do całkowitego rozkładu węglowodanów z rodziny rafinozy (RFO) oraz galaktozylocyklitolu [Lahuta i in. 2000].

Celem przeprowadzonych badań było określenie fitotoksyczności glifosatu wobec siewek łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) odmiany 'Mister' poprzez ocenę wybranych cech morfologicznych i zawartości w tkankach węglowodanów rozpuszczalnych.

MATERIAŁ I METODY

Nasiona łubinu żółtego odmiany 'Mister' kiełkowano przez 9 dni w plastikowych płytkach testu Phytotoxkit (MicroBio Test Inc., Belgia). Kiełkowanie prowadzono w kontrolowanych warunkach: 8 godzin (temp. 16°C – noc), 16 godzin (temp. 20°C, 140 $\mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ PAR – dzień). Glebę kontrolną nasączono 27 ml wody destylowanej, pozostałe próby: 1, 3, 7, 20, 40, 100, 500, 1000 μM glifosatu. W 9. dniu oceniono procent skielkowanych nasion, długość korzeni i łodyg, zawartości świeżej i suchej masy według ISTA [1999]. Potencjał osmotyczny łodyg określono za pomocą konsoli osmotycznej (Soil Moisture Equipment Corp, Santa Barbara, CA, USA), zawartość chlorofilu mierzono chlorofilometrem SPAD-502 na podstawie indeksu zieloności liścia (test SPAD – Soil Plant Analysis System). Doświadczenie prowadzono w 9 powtórzeniach, zgodnie z normą ISO [PN-ISO 11269-1:1998]. Glifosat zastosowano w formie preparatu handlowego Roundup 360 SL [Karta charakterystyki środka Roundup 360 SL].

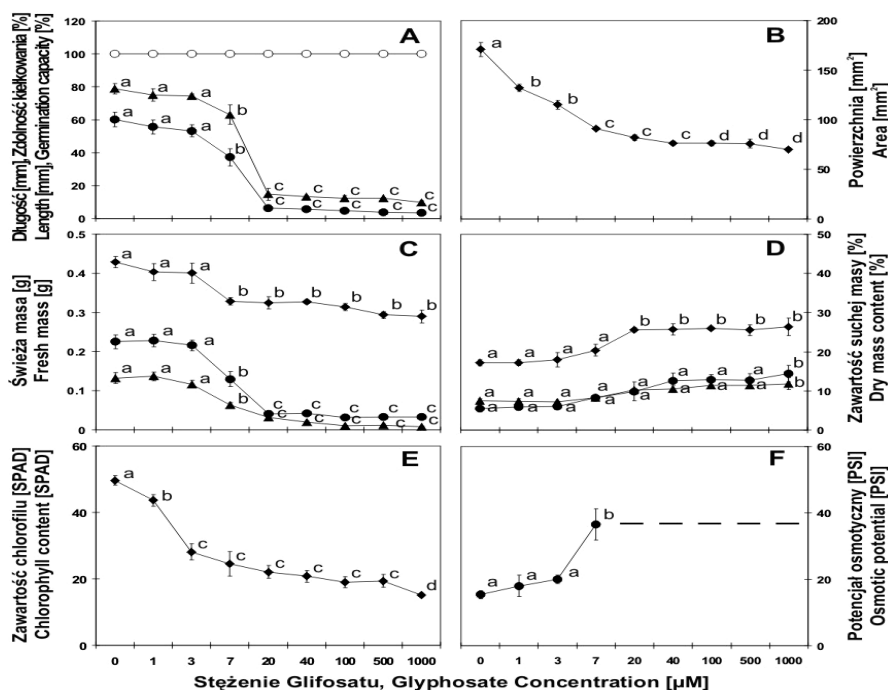
Zawartość węglowodanów rozpuszczalnych w siewkach korzeni, łodyg i liścieni łubinu żółtego analizowano, używając wysokosprawnej chromatografii gazowej (GC), zgodnie z metodyką Piotrowicz-Cieślak [2005a].

Do statystycznego opracowania wyników zastosowano metodę analizy wariancji (test F) typową dla doświadczeń dwuczynnikowych laboratoryjnych. Istotność zróżnicowania uzyskanych wartości średnich względem kontroli badano testem *t* SNK (Studenta-

-Newmana-Keulsa). Wyniki przedstawiają wartości średnie oraz odchylenia standardowe (\pm SD) dla 9 powtórzeń. Wartości wskaźnika EC_{50} wyznaczono, wykorzystując obliczony stopień zahamowania wzrostu roślin z każdej płytki (każdego stężenia) i wyznaczonej krzywej zależności dawka – efekt według metody Alexandra [1999].

WYNIKI I DYSKUSJA

Glifosat obecny w glebie nawet w najwyższym z badanych stężeń (1000 μ M) nie hamował zdolności kiełkowania nasion (rys. 1A). Torres i inni [2003] stwierdzają, że glifosat zmniejsza wzrost łodyg, lecz nie osłabia zdolności kiełkowania nasion soi.



Rys. 1. Zdolność kiełkowania nasion (\circ), długość korzeni (\blacktriangle) i łodyg (\bullet) łubinu żółtego odmiany 'Mister' rosnącego na glebie zawierającej różne stężenia glifosatu od 0 do 1000 μ M – A; powierzchnia liścieni (\blacklozenge) – B; świeża masa korzeni (\blacktriangle), łodyg (\bullet), liścieni (\blacklozenge) – C; zawartość suchej masy korzeni (\blacktriangle), łodyg (\bullet), liścieni (\blacklozenge) – D; zawartość chlorofilu liścieni (\blacklozenge) – E; potencjał wodny łodyg (\bullet) – F (zbyt krótkie łodygi łubinu uniemożliwiły pomiar potencjału osmotycznego). Wyniki przedstawiają wartości średnie oraz odchylenia standardowe (\pm SD) dla 9 powtórzeń

Fig. 1. Germination capacity (\circ), roots (\blacktriangle) and stems (\bullet) length of yellow lupin cv. 'Mister' growing in soil contaminated with glyphosate from 0 to 1000 μ M – A; cotyledon area (\blacklozenge) – B; roots (\blacktriangle), stems (\bullet) and cotyledons (\blacklozenge) fresh mass – C; roots (\blacktriangle), stems (\bullet) and cotyledons (\blacklozenge) dry mass content – D; cotyledons chlorophyll content (\blacklozenge) – E; stems water potential (\bullet) – F (too short seedlings to measure osmotic potential). Data points represent the means and standard deviation (\pm SD) for 9 replicate samples

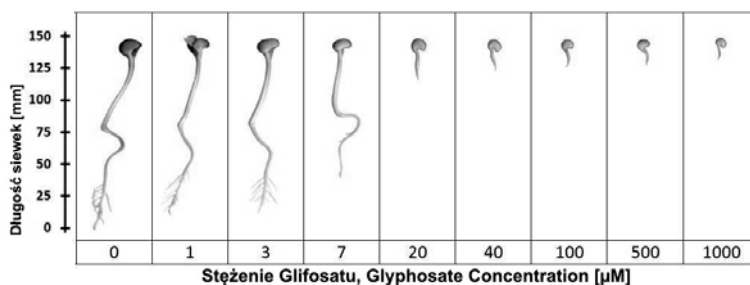
Do zmniejszenia o 15% zdolności kiełkowania nasion rzeżuchy siewnej (*Lepidium sativum* L.), gorczycy białej (*Sinapis alba*), sorga cukrowego (*Sorghum saccharatum*), rzepaku (*Brassica napus*), owsa zwyczajnego (*Avena sativa* L.) i łubinu żółtego (*Lupinus luteus* L.) dochodzi dopiero w obecności 2000 μM glifosatu w glebie [Piotrowicz-Cieślak i in. 2010]. Odnotowano, że korzenie i łodygi siewek były wrażliwe na obecność herbicydu, co skutkowało istotnym (średnio o 30%) zmniejszeniem ich długości od stężenia 7 μM . Stężenie glifosatu hamujące wzrost korzeni i łodyg w 50% wynosiło odpowiednio 12,1 i 9,3 μM (rys. 1A).

Korzenie soi (*Glycine max* L.) narażone na działanie glifosatu od 100 do 5000 μM były krótsze o 33,2 do 51,9% [Marchiosi i in. 2009]. Podobnie zawartość świeżej masy młodych liści soi obniża się do 103 i 40 mg w wyniku narażenia na glifosatu odpowiednio w stężeniach od 19 do 189 μM [Cakmak i in. 2009]. Fitotoksyczność glifosatu wobec łubinu potwierdziła również analiza powierzchni liścieni, która była ograniczana przez glifosatu już w najniższym z badanych stężeń (1 μM) (rys. 1B). Podobnie jak długość korzeni i łodyg zawartość świeżej masy istotnie malała od stężenia 7 μM glifosatu w glebie. Glifosatu w ilości 2,37, 5,5 oraz 26,3 μM zahamował wzrost powierzchni liścieni łubinu odpowiednio o 50, 70, i 90% (rys. 1C).

Zawartość suchej masy korzeni i łodyg nieznacznie rosła, wykazując zbliżoną tendencję odpowiednio 7 i 5% (kontrola) oraz 11 i 14% (1000 μM glifosatu). Glifosatu hamuje pobieranie wody z gleby. Korzenie łubinu żółtego narażone na glifosatu zanieczyszczający glebę od 1 do 2000 μM charakteryzuje stały wzrost zawartości suchej masy wraz ze wzrostem zanieczyszczenia [Piotrowicz-Cieślak i in. 2010]. Liścienie były bardziej odwodnione niż korzenie i łodygi, a zawartość suchej masy wzrosła z 17 do 26% (rys. 1D).

Na podstawie przeprowadzonych badań liścienie kontrolne były trzykrotnie intensywniej zielone aniżeli liścienie siewek rosnących na glebie zanieczyszczonej glifosatem w stężeniu 1000 μM (rys. 1E, rys. 2). Już 2,45 μM glifosatu ograniczyło syntezę chlorofilu w tkankach liścieni łubinu w 50% (EC_{50}) (EC stężenie efektywne) i było niższe prawie trzykrotnie aniżeli zalecane do stosowania w polu (rys. 1E).

Ponadto glifosatu w stężeniu od 1000 do 10 000 μM uszkadza ultrastrukturę chloroplastów w łubinie białym [De Maria i in. 2005], co może być wynikiem hamowania przez herbicydu syntezę kwasu 5-aminolewulinowego, który jest prekursorem porfiryny [Moldes i in. 2008].

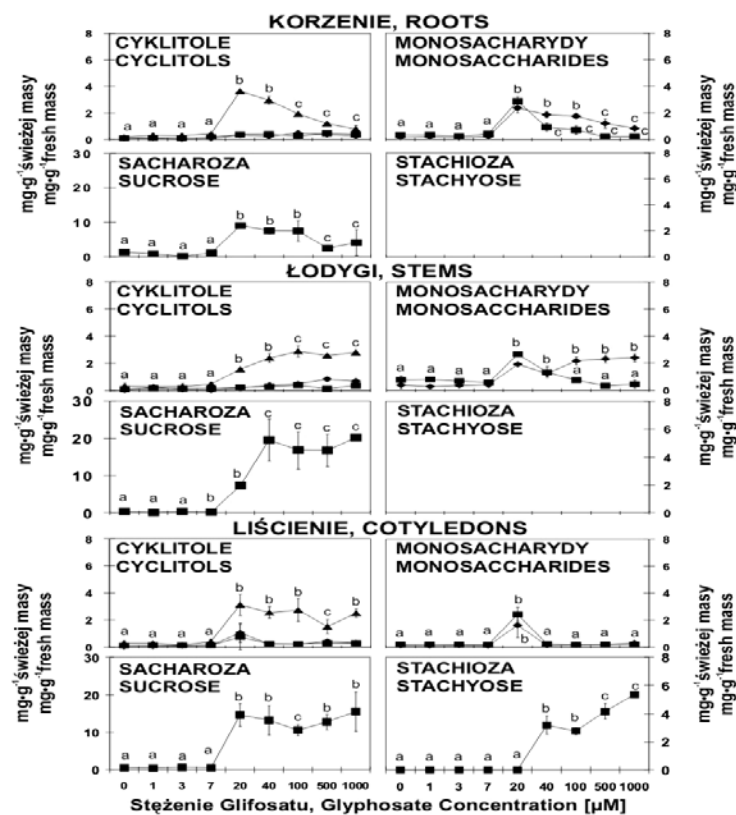


Rys. 2. Łubin żółty (*Lupinus luteus* L.) odmiany 'Mister' rosnący na glebie zawierającej różne stężenia glifosatu po 9 dniach trwania testu

Fig. 2. Yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) cv. 'Mister' growing in soil contaminated with different glyphosate concentration after 9 days of test

Młode liście soi (*Glycine max* L.) w odpowiedzi na glifosat od 19 do 189 μM reagują obniżeniem chlorofilu w tkankach z poziomu 31,9 do 12 SPAD [Cakmak i in. 2009]. De Maria i inni [2005] dowodzą, że turgor liści łubinu białego rosnącego na glebie zanieczyszczonej glifosatem od 1000 do 10 000 μM po 24 godzinach narażenia zmniejsza się. Potencjał osmotyczny łądy siewek rosnących na glebie zanieczyszczonej glifosatem w stężeniu połowym (7 μM) był dwukrotnie wyższy aniżeli łądy kontrolnych (rys. 1F).

Glifosat modyfikuje zawartość węglowodanów rozpuszczalnych w tkankach siewek łubinu żółtego. W korzeniach łubinu rosnących na glebie z glifosatem stwierdzono obecność: *D-chiro*-inozytolu, *myo*-inozytolu, galaktozy, glukozy i sacharozy oraz galaktinolu i rafinozy (rys. 3, tab. 1). Stachioza i werbaskoza w korzeniach łubinu nie wystąpiły.



Rys. 3. Zawartość cyklitolu (■ – *D-chiro*-inozytol, ◆ – *D*-pinitol, ▲ – *myo*-inozytol), monosacharydów (■ – glukoza, ◆ – galaktoza), sacharozy i stachiozy w korzeniach, łądygach i liścieniach łubinu żółtego odmiany ‘Mister’ rosnącego na glebie zawierającej różne stężenia glifosatu od 0 do 1000 μM . Wyniki przedstawiają wartości średnie oraz odchylenia standardowe ($\pm\text{SD}$) dla 9 powtórzeń

Fig. 3. Cyclitols (■ – *D-chiro*-inozytol, ◆ – *D*-pinitol, ▲ – *myo*-inozytol), monosaccharides (■ – glucose, ◆ – galactose), sucrose and stachyose content in roots, stems and cotyledons of yellow lupin cv. ‘Mister’ growing in soil contaminated with glyphosate from 0 to 1000 μM . Data points represent the means and standard deviation ($\pm\text{SD}$) for 9 replicate samples

Tabela 1. Zawartość galaktinolu, rafinozy i werbaskozy w siewkach łubinu żółtego odmiany 'Mister' rosnącego na glebie zawierającej różne stężenia glifosatu od 0 do 1000 μM Table 1. Galactinol, raffinose and verbascose content in yellow lupin seedlings cv. 'Mister' growing in soil contaminated with glyphosate from 0 to 1000 μM

Zawartość cukrów Sugars content	Stężenie glifosatu – Glyphosate concentration [μM]									
	0	1	3	7	20	40	100	500	1000	
Korzenie – Roots										
Galaktinol – Galactinol					*	*	*	**	**	
Rafinoza – Raffinose						*	*	*	*	
Werbaskoza – Verbascose										
Łodygi – Stems										
Galaktinol – Galactinol								**	**	
Rafinoza – Raffinose								*	**	
Werbaskoza – Verbascose										
Liścienie – Cotyledons										
Galaktinol – Galactinol					*	*	*	*	*	
Rafinoza – Raffinose					*	*	**	**	**	
Werbaskoza – Verbascose							*	*	*	

* 0,5–1 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ś.m./ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ f.m., ** 1–5 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ś.m./ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ f.m.

Wymienione związki ze wzrostem stężeń herbicydu nieznacznie rosły. W łodygach łubinu oznaczono wszystkie badane cyklitole. Najwięcej zidentyfikowano *myo*-inozytolu (średnio 1,50 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ś.m.). Odnotowano wzrost sacharozy od stężenia 20 μM , przy najwyższym stężeniu herbicydu sacharoza osiągnęła poziom 19,57 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ś.m. (rys. 3).

Liścienie siewek łubinu zawierały takie same węglowodany rozpuszczalne jak łodygi, przy czym dodatkowo zidentyfikowano stachiozę, której zawartość była najwyższa (5,35 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ś.m.) przy najwyższej zawartości herbicydu w glebie (1000 μM). W liścieniach wyrosłych na glebie zawierającej pięć najwyższych stężeń glifosatu odnotowano niewielkie ilości galaktinolu, rafinozy i stachiozy, odpowiednio w granicach od 0,5 do 1, od 1 do 5 i od 5 do 10 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ś.m. (rys. 3, tab. 1). Najwyższą sumaryczną zawartość węglowodanów rozpuszczalnych odnotowano w łodygach, najniższą natomiast w korzeniach łubinu – odpowiednio 3,64 i 1,78 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ś.m.

Piotrowicz-Cieślak i inni [2010] podają, że zawartość: *D-chiro*-inozytolu, *myo*-inozytolu i *D*-pinitolu rosła wraz ze wzrostem glifosatu w glebie od 1 do 2000 μM w sześciu roślinach: rzeżusze siewnej, gorczycy białej, sorgu cukrowym, rzepaku, owsie zwyczajnym i łubinie żółtym. Zawartość glukozy i galaktozy w nasionach łubinu żółtego podanego suszy glebowej zmniejsza się o 44%, a sacharozy jedynie o 18% [Zalewski i in. 2001]. Według Matłok i innych [2014], zawartość cukrów prostych i sacharozy jest cechą odmianową cebuli (*Allium cepa* L.). Coraz wyższe zanieczyszczenie gleby herbicydem powoduje unieruchomienie wody glebowej, w wyniku czego wzrasta zawartość sacharozy jako osmoprotektanta [Ibraheem i in. 2011].

WNIOSKI

1. Badania wykazały, że glifosat obecny w glebie wraz ze wzrostem stężeń zmniejszał długość korzeni i łodyg, powierzchnię i zawartość chlorofilu w liścieniach oraz podwyższał potencjał osmotyczny łodyg siewek łubinu żółtego odmiany 'Mister'.
2. Dowiedziono, że stężenie połowe glifosatu (7 μ M) zalecane przez producenta do zwalczania chwastów było fitotoksyczne wobec siewek łubinu żółtego.
3. Wzrost elongacyjny korzeni i łodyg łubinu był lepszym wskaźnikiem fitotoksyczności glifosatu aniżeli zdolność kiełkowania nasion.
4. Zawartość węglowodanów rozpuszczalnych w siewkach łubinu żółtego była wprost proporcjonalna do badanych stężeń glifosatu.
6. Do oceny zanieczyszczenia gleby glifosatem z powodzeniem może być stosowany łubin żółty. W celu uzyskania pełnej odpowiedzi o zanieczyszczeniu środowiska przyrodniczego metody biologiczne powinny być uzupełnione metodami biochemicznymi.

LITERATURA

- Adomas B., Piotrowicz-Cieślak A.I., 2004. Amino acid composition, hemicellulose and soluble sugars content in narrow-leaved lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.) under the effect of Reglone Turbo 200 SL. EJPAU, Agron. 7(2), 1–9.
- Adomas B., Piotrowicz-Cieślak A.I., Michalczyk D.J., Sadowski J., 2008a. Residues of dimethipin in pods and seed of narrow-leaved (*Lupinus angustifolius* L.) and yellow (*Lupinus luteus* L.) lupin. Fresen. Environ. Bull. 17(9), 1288–1293.
- Adomas B., Piotrowicz-Cieślak A.I., 2008b. Yellow Lupin is a good bioindicator of soil contamination with sulfamethazine. Lupin for Health and Wealth. Proc. of the 12th International Lupin Conference, Fremantle, Western Australia, 14–18 September 2008, 362–367.
- Alexander B., Browse D.J., Reading S.J., Benjamin I.S., 1999. A simple and accurate mathematical method for calculation of the EC₅₀. J. Pharmacol. Toxicol. 41(2–3), 55–58.
- Cakmak I., Yazici A., Tutus Y., Ozturk L., 2009. Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean. Eur. J. Agron. 31, 114–119.
- Clay P.A., Griffin J.L., 2000. Weed seed production and seedling emergence responses to late-season glyphosate applications. Weed Sci. 48, 481–486.
- De Maria N., De Felipe M.R., Fernández-Pascual M., 2005. Alternation induced by glyphosate on lupin photosynthetic apparatus and nodule ultrastructure and some oxygen diffusion related proteins. Plant Physiol. Biochem. 43, 985–996.
- Ibraheem O., Dealtry G., Roux S., Bradley G., 2011. The effect of drought and salinity on the expressional levels of sucrose transporters in rice (*Oryza sativa* Nipponbare) cultivar plants. Plant Omics 4(2), 68–74.
- ISTA, International rules for seed testing 1999. Seed Sci. Tech., Supplement 27, 1.
- Karta charakterystyki środka Roundup 360 SL, www.monsanto.pl/download/.../roundup_360_sl_amber.pdf (data dostępu: 14.04.2011).
- Lahuta L., Górecki R., Michalczyk D., Piotrowicz-Cieślak A. 2000., Alpha-D-galactosidase activity in stored yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) seeds. EJPAU, Agron. 3(1), art. 5, <http://www.ejpau.media.pl/series/volume3/issue1/agronomy/art05.html>.
- Loewus F. A., Murthy P.P.N., 2000. *myo*-Inositol metabolism in plants. Plant Sci. 150(1), 1–19.

- Marchiosi R., De Lourdes Lucio Ferrarese M., Bonini E.A., Fernandes N.G., Ferro A.P., Ferrarese-Filho O., 2009. Glyphosate-induced metabolic changes in susceptible and glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.) roots. *Pestic. Biochem. Phys.* 93, 28–33.
- Marczewski K., Rola H., Biskupski A., Sumińska J., 2010. Wpływ herbicydów stosowanych w uprawie żyta ozimego na wartość technologiczną ziarna wybranych odmian. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 556, 165–174.
- Matłok N., Gorzelany J., Bilek M., Pieniążek R., Kuźniar P., Kaniuczak J., 2014. Ocena zawartości fruktozy, glukozy i sacharozy w wybranych odmianach cebuli uprawianych w trzech gospodarstwach hodowlano-nasiennych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 576, 79–87.
- Moldes C.A., Medici L.O., Abrahão O.S., Tsai S.M., Azevedo R.A., 2008. Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. *Acta Physiol. Plant.* 30, 469–479.
- Moldes C.A., Camiña J.M., Medici L.O., Tsai S.M., Azevedo R.A., 2012. Physiological effects of glyphosate over amino acid profile in conventional and transgenic soybean (*Glycine max*). *Pestic. Biochem. Phys.* 102(2), 134–141.
- Ortbauer M., Popp M., 2008. Functional role of polyhydroxy compounds on protein structure and thermal stability studied by circular dichroism spectroscopy. *Plant Physiol. Biochem.* 46, 428–434.
- Piotrowicz-Cieślak A.I., 2005a. Changes in soluble carbohydrates in yellow lupin seed under prolonged storage. *Seed Sci. Technol.* 33, 141–145.
- Piotrowicz-Cieślak A.I., 2005b. Rola fizjologiczna i przemiany metaboliczne węglowodanów rozpuszczalnych w nasionach łubinu (*Lupinus* sp.). *Post. Nauk Rol.* 4, 103–116.
- Piotrowicz-Cieślak A.I., Adomas B., Michalczyk D., 2010. Different glyphosate phytotoxicity to seeds and seedlings of selected plant species. *Polish J. Environ. Stud.* 19(1), 123–129.
- Piotrowicz-Cieślak A.I., Adomas B., 2012. Herbicide phytotoxicity and resistance to herbicides in legume plants. *Herbicides – Environmental impact studies and management approaches*. R. Alvarez-Fernandez (ed.), InTech., 19–44.
- PN-ISO 11269-1:1998. Jakość gleby – oznaczanie wpływu zanieczyszczeń na florę glebową – Metoda pomiaru hamowania wzrostu korzeni.
- Rontein D., Basset G., Hanson A.D., 2002. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. *Metab. Engin.* 4, 49–56.
- Torres A.C., Nascimento W.M., Paiva S.A.W., De Argão F.A.S., 2003. Bioassay for detection of transgenic soybean seeds tolerance to glyphosate. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 38(8), 1053–1057.
- Zalewski K., Lahuta L., Horbowicz M., 2001. The effect of soil drought on the composition of carbohydrates in yellow lupin seeds and triticale kernels. *Acta Physiol. Plant.* 23(1), 73–78.

PHYTOTOXICITY OF GLYPHOSATE TO YELLOW LUPIN SEEDLINGS (*LUPINUS LUTEUS* L.)

Summary. Glyphosate is one of the most widely used herbicides making up approximately 60% of the global herbicide sale. Although quite effective against weeds, it shows a strong adsorption in soil and may also affect plants that are not its immediate targets. To counteract environmental stresses, plants activate various defense mechanisms. For example, they can accumulate various metabolites, including soluble carbohydrates, which maintain osmotic balance, and protect cell and enzyme structure. The aim of this study was to determine the phytotoxicity of glyphosate (at concentrations of 1, 3, 7, 20, 40, 100, 500, 1000 μM) to

yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) cv. 'Mister'. Seedling morphological features and soluble carbohydrate contents were analyzed. Increasing concentrations of glyphosate in soil inhibited length of yellow lupin roots and stems. Soil glyphosate at the level of 20 μ M strongly inhibited elongation of yellow lupin shoots. Glyphosate at 7 μ M concentration (i.e. the level recommended by its producer to control weeds in fields, orchards and water reservoirs) was already phytotoxic towards yellow lupin, a protein-rich plant. The content of osmoprotectants in plant tissues, especially *myo*-inositol, *D-chiro*-inositol and sucrose, increased with increasing concentration of glyphosate in soil. Cyclitols (*myo*-inositol and *D-chiro*-inositol) present in the tissues of yellow lupin were important indicators of water absorption from the soil environment. The content of soluble sugars was a good predictor of how fast the seeds germinate. The research showed for the first time that in order to assess glyphosate soil contamination, lupin seedlings grown in Phytotoxkit™ can be conveniently applied as bioindicators. Biological methods should best be supplemented with biochemical analyses to get the most reliable estimates of herbicide impacts on the environment.

Key words: glyphosate, yellow lupin, phytotoxicity, soluble carbohydrates