

**WPLYW GLIFOSATU W POSTACI PREPARATU ROUNDUP®
NA ZBIOROWISKA MIKROFITOBENTOSU ZATOKI GDAŃSKIEJ – NOWE
DONIESIENIA**

**EFFECT OF GLYPHOSATE (ROUNDUP® FORMULATION)
ON MICROPHYTOBENTHIC COMMUNITIES OF THE GULF OF GDANSK -
NEW REPORT**

Zuzanna Sylwestrzak

Aleksandra Zgrundo

Filip Pniewski

Katarzyna Lejk

Adam Latała

Zakład Funkcjonowania Ekosystemów Morskich

Instytut Oceanografii

Wydział Oceanografii i Geografii

Uniwersytet Gdański

Al. Marszałka Piłsudskiego 46

81-378 Gdynia

e-mail: z.sylwestrzak@ug.edu.pl

Abstract: The experiments testing the toxicity of glyphosate Roundup® formulation were conducted on the natural microphytobenthic communities collected from the Gulf of Gdansk. The toxic effect of glyphosate was assessed by changes in the biomass of microphytobenthos cells [$\text{mm}^3 \cdot \text{ml}^{-1}$], chlorophyll *a* concentration and reduction of efficiency of photosystem II. Negative impact of glyphosate on microphytobenthic communities, both at the cellular and population scale, was determined. Hence it can be concluded that certain concentrations of the herbicide Roundup (glyphosate – active substance), in the marine environment may adversely impact natural microphytobenthic communities, and in consequence also other elements of the ecosystem.

Keywords: toxicological test, toxicity, herbicide, periphyton, chlorophyll *a*, biomass, photosystem II, Southern Baltic.

Wprowadzenie

Monitoring reakcji organizmów na substancje potencjalnie toksyczne wprowadzane do ekosystemu to ważny element kontroli jakości środowiska. W pracy podjęto się oceny kondycji prób naturalnego mikrofitobentosu Zatoki Gdańskiej, który poddano wpływowi glifosatu w postaci preparatu chwastobójczego Roundup®.

Glifosat jest substancją aktywną stosowaną w nieselektywnych herbicydach, to związek niezwykle skuteczny, który ma szerokie spektrum aktywności biologicznej. Wzrost potencjalnego narażenia na glifosat organizmów oraz rozwój molekularnych metod badań przyczyniają się do wzrostu badań tej substancji zarówno w kontekście jej aktywności biologicznej jak i powstających metabolitów glifosatu [12]. Glifosat jest wykorzystywany do produkcji herbicydów, w skład których wchodzi obok substancji aktywnej wiele substancji pomocniczych. Popularność herbicydu Roundup® wzrosła wraz rozpowszechnieniem w

ostatnich latach upraw roślin modyfikowanych genetycznie [28]. Bardzo ważne jest zatem badanie łącznego działania substancji czynnej – glifosatu i pozostałych składników preparatu, ponieważ jest to postać, na którą środowisko naturalne jest narażone najczęściej.

Pod względem chemicznym glifosat jest N-fosfonometryloglicyną, czyli pochodną kwasu fosfonowego, w której jeden z atomów wodoru grupy metylowej bezpośrednio połączonej z fosforem został zastąpiony przez glicynę [24]. Glifosat charakteryzuje się dużą hydrofilnością, a jego rozpuszczalność wynosi 10–15,7 g·l⁻¹ w temperaturze 25°C [22]. Glifosat po przedostaniu się do rośliny hamuje np. produkcję enzymu syntetazy EPSP (5-enolopirogroniano-szikimo-3-fosforanu).

Zahamowanie aktywności tego enzymu zatrzymuje tworzenie przez rośliny aminokwasów aromatycznych, które są ważne dla ich wzrostu oraz wchodzi w skład wielu barwników roślinnych [7]. Na budowie i aktywności chloroplastów odbija się zmniejszona ilość lub

brak barwników fotosyntetycznych [30]. Dodatkowo glifosat powoduje desykcję roślin [24].

Aktualnie prowadzi się wiele badań poszerzających wiedzę o stanie i zagrożeniach środowiska wodnego. Do Morza Bałtyckiego w wyniku działalności człowieka trafia wiele substancji chemicznych, które w różnym stopniu mogą przyczynić się do pogarszania stanu akwenu. Dotychczas najczęściej prowadzone są badania ekotoksykologiczne opierające się na pojedynczych monokulturach i szczepach glonów [4, 13, 14, 15, 23]. Są one niezwykle cenne, jednak dają informację na temat reakcji nielicznych, wybranych organizmów. Dopiero badania uwzględniające całe zbiorowiska umożliwiają poznanie odpowiedzi wielu organizmów w pełniejszy sposób. W związku z tym w badaniach podjęto się przeprowadzenia testów toksykologicznych na całych zbiorowiskach mikrofitobentosu pozyskanych ze środowiska. Dostarczenie informacji na temat reakcji całej formacji na substancję toksyczną, jaką mogą być np. wybrane stężenia glifosatu w postaci preparatu Roundup®, może przyczynić się do lepszego zrozumienia odpowiedzi środowiska naturalnego na wprowadzane substancje pochodzenia antropogenicznego.

Materiały i metody

Materiał wykorzystywany w testach ekotoksykologicznych stanowiły próby zbiorowiska mikrofitobentosu pozyskane ze środowiska naturalnego. Panel hodowlany eksponowano w środowisku przez okres 14 dni w lipcu 2015 roku. Zestaw ze szkiełkami umieszczano na głębokości do 2 metrów w odległości ok. 300 m od brzegu w rejonie molo w Sopocie. Następnie szkiełka wyjmowano, umieszczano w komorze transportowej i przenoszono do laboratorium.

W pierwszym etapie prac laboratoryjnych mikrofitobentos zeskrobywano z porośniętych szkiełek, homogenizowano i rozdzielano do 200 ml kolb Erlenmeyera. Aklimatyzację zbiorowisk przeprowadzano w komorze termostatycznej w ciągu 72 godzin. Warunki w komorze termostatycznej były zbliżone do tych aktualnie panujących w środowisku, zatem wartości temperatury i zasolenia ustalano każdorazowo na podstawie wyników badań przeprowadzonych *in situ*. Warunki świetlne zgodne były ze standardami hodowli mikroorganizmów roślinnych utrzymywanych w warunkach laboratoryjnych tj. natężenie napromieniowania sztucznym źródłem światła PAR wynosiło $60 \mu\text{mol fotonów m}^{-2}\text{s}^{-1}$, a fotoperiod L:D 16:8. Warunki świetlne uzyskano poprzez zastosowanie sztucznego źródła światła – lamp halogenowych Phillips (OSRAM L 36W/640-1).

Po okresie aklimatyzacji do zbiorowisk w kolbach dodawano odpowiednie stężenia roztworu glifosatu w postaci preparatu Roundup®, aby ostatecznie otrzymać testowane stężenia $0,042 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, $0,85 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ i $8,5 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$. Dla każdego stężenia wykonano trzy powtórzenia. Badania analizowanych wskaźników kondycji organizmów przeprowadzano po 1 i 7 dniach od momentu rozpoczęcia ekspozycji na działanie glifosatu. Wśród wskaźników zmian zachodzących z badanych zbioro-

wiskach wykorzystano narzędzia stosowane powszechnie w badaniach ekotoksykologicznych: zmiany w składzie taksonomicznym i strukturze zbiorowisk, koncentrację barwnika fotosyntetycznego (chlorofil *a*) oraz wydajność kwantową fotosystemu II (fluorescencja).

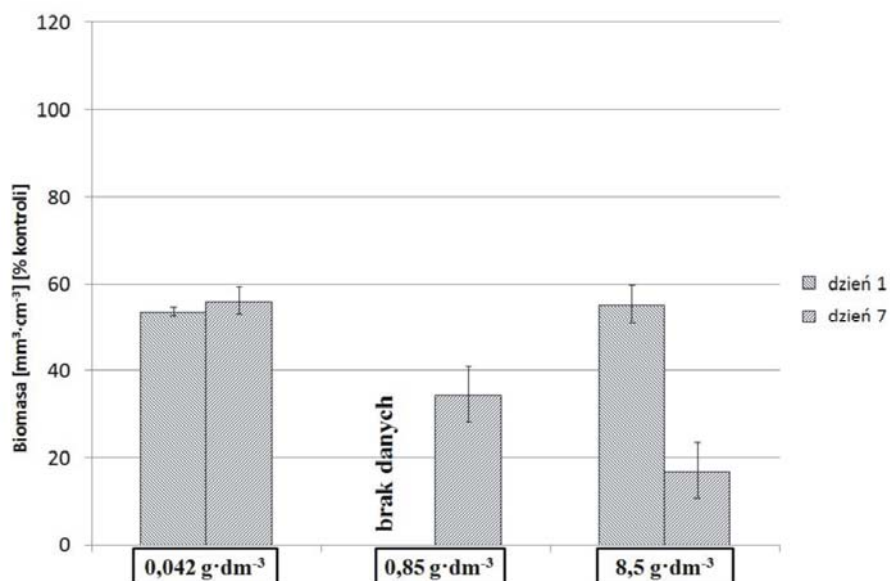
Obserwację zmian w składzie i strukturze zbiorowisk mikrofitobentosu przeprowadzono z wykorzystaniem mikroskopu Nikon Eclipse 80i wyposażonego w kamerę Nikon DSU2. Biomasa komórek obliczano na podstawie wzorów stosowanych do obliczania objętości brył odpowiadającym kształtom komórek [11]. Do analizy koncentracji barwników fotosyntetycznych zastosowano metodę spektrofotometryczną z wykorzystaniem spektrofotometru firmy Beckman. Materiał do ekstrakcji barwników przygotowano według metodyki podanej w pracy [29]. Stężenia barwników wyliczono z wykorzystaniem wzorów opracowanych przez Jeffrey'a i Humphrey'a [9]. W przeprowadzonych doświadczeniach do pomiaru fluorescencji zastosowano metodę pulsacyjnej modulacji amplitudy (PAM), do której użyto fluorymetru firmy Hansatech FSM-1 [2]. Przed pomiarami fluorescencji, jednakowe ilości roztworu tj. 5 ml pobrano z hodowli właściwych i przesączono przez sączki z bibuły szklanej Whatman GF/C. Następnie sączki dodatkowo pokryto cienką warstwą roztworu pobranego z hodowli w celu zapewnienia środowiska płynnego i umieszczano w termostatywowanej komorze DW2/2. Przed rozpoczęciem pomiarów próby przetrzymywano w ciemności przez 15 minut [2].

Do obróbki uzyskanych danych wykorzystano program MS Excel. Do wykonania analiz statystycznych zastosowano metody zawarte w pakiecie komputerowym STATISTICA wersja 10.

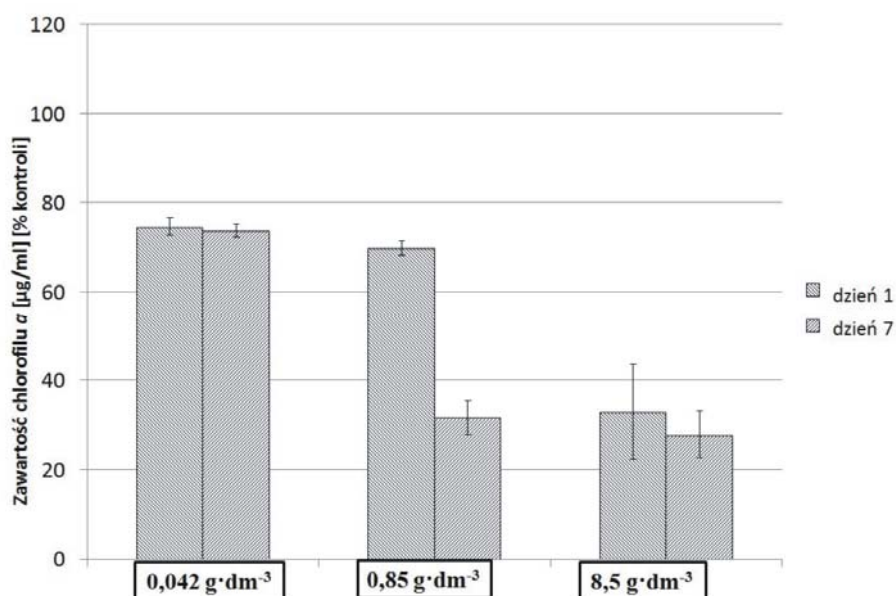
Wyniki

W teście prowadzonym na próbach naturalnego zbiorowiska mikrofitobentosu poddanego działaniu glifosatu w stężeniu $0,042 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ w pierwszej dobie zaobserwowano zmniejszenie biomasy komórek w stosunku do kontroli do wartości 53%. W siódmej dobie biomasa testowanych zbiorowisk była podobna i miała wartości 56%. W stężeniu $0,85 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ glifosatu w siódmej dobie obserwowano biomasa zbiorowisk na poziomie 35% w stosunku do roztworu kontrolnego. Największe zmniejszenie biomasy (17% w stosunku do roztworu kontrolnego) obserwowano w siódmej dobie w stężeniu $8,5 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ (rys. 1).

W trakcie testów analizowano też koncentrację barwnika fotosyntetycznego – chlorofilu *a*. W stężeniu glifosatu $0,042 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ wartości chlorofilu obserwowano na poziomie około 76% w stosunku do roztworu kontrolnego). W stężeniu $0,85 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ od pierwszej doby testów obserwowano zmniejszanie się wartości koncentracji chlorofilu i było ono większe od omówionego powyżej. W najwyższym testowanym stężeniu już od pierwszej doby wartości tego parametru wynosiły jedynie ok. 30% wartości w roztworze kontrolnym i utrzymywały się na tym poziomie (rys. 2).



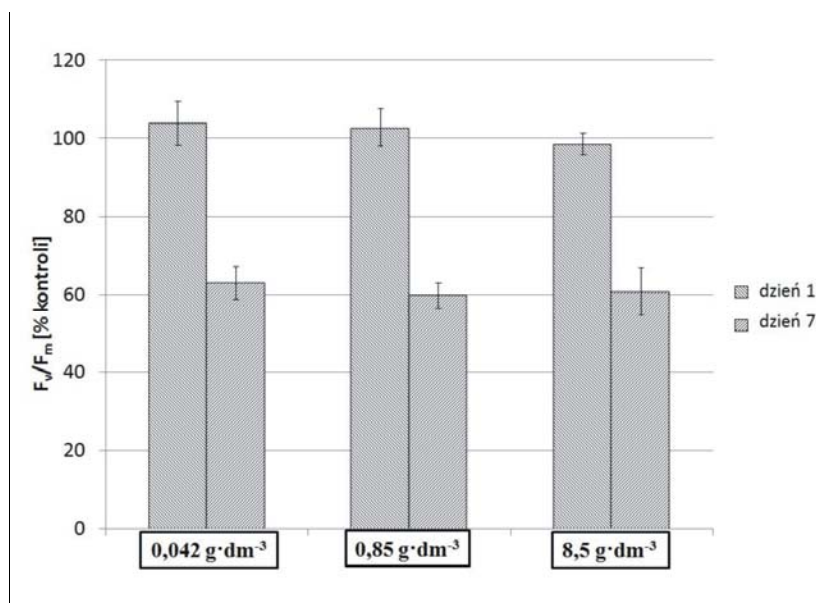
Rys. 1. Zmiany w wartościach biomasy zbiorowisk mikrofitobentosu w stężeniach glifosatu w postaci preparatu Roundup® wyrażone, jako procent biomasy w stosunku do kontroli w kolejnych dobach eksperymentu (na wykresie przedstawiono zakres wartości odchylenia standardowego).



Rys. 2. Zmiany w koncentracji chlorofilu *a* w kolejnych dobach eksperymentu w zastosowanych stężeniach glifosatu w postaci preparatu Roundup® wyrażone jako procent stężenia chlorofilu *a* w stosunku do kontroli w kolejnych dobach eksperymentu (na wykresie przedstawiono zakres wartości odchylenia standardowego).

Ostatnim testowanym parametrem pozwalającym na ocenę kondycji badanych zbiorowisk była maksymalna wydajność fotosystemu PSII. W trzech badanych roztworach glifosatu w siódmej dobie obserwowano

maksymalną wydajność fotosystemu PSII na podobnym poziomie około 60% w stosunku do roztworu kontrolnego (rys. 3).



Rys. 3. Zmiany w maksymalnej wydajności kwantowej fotosystemu II w zastosowanych stężeniach glifosatu w postaci preparatu Roundup® w kolejnych dobach eksperymentu wyrażone jako procent wydajności kwantowej fotosystemu II w stosunku do kontroli w kolejnych dobach eksperymentu (na wykresie przedstawiono zakres wartości odchylenia standardowego).

Podsumowanie

Postępujące uprzemysłowienie rolnictwa powoduje wykorzystywanie coraz większych ilości herbicydów, które mogą wywoływać niepożądane skutki w ekosystemach wodnych [17], na przykład powodując niedobory tlenu lub spadek produkcji pierwotnej [3, 6, 31]. Podjęte badania pozwoliły na przetestowanie wpływu powszechnie stosowanego herbicydu na całe zbiorowisko mikrofitobentosu pozyskane z naturalnego środowiska. W testach zastosowano herbicyd Roundup® w skład, którego wchodzi glifosat, który ma szerokie spektrum biologicznej aktywności. Substancja ta jest niezwykle skuteczna, mechanizm działania obejmuje hamowanie jednego z podstawowych szlaków metabolicznych roślin [26] zakłóca, bowiem proces fotosyntezy poprzez zahamowanie aktywności enzymu syntetazy EPSP (5-enolopirogronianiano-szikimo-3-fosforanu) [7].

Dotychczas testy ekotoksykologiczne dawały informację o reakcji pojedynczych szczepów glonów w warunkach laboratoryjnych na działanie różnorodnych substancji. Podjęte badania miały na celu wykazanie toksycznego działania glifosatu w postaci preparatu Roundup® na całym zbiorowisku mikrofitobentosu pozyskanym z Zatoki Gdańskiej. Poprzez zastosowanie różnorodnych wskaźników wykazano negatywny wpływ glifosatu na badaną formację na poziomie zarówno komórkowym jak i populacyjnym.

W rejonie Bałtyku nielicznie prowadzono prace, które wykorzystywały jedynie zbiorowiska wykształcające się w zasoleniu charakterystycznym dla wód morskich 32-36 PSU [1, 25]. Badania zbiorowisk mikrofitobentosu pozyskiwanego w rejonie Zatoki Gdańskiej o zasoleniu oscylującym wokół 7 PSU będzie interesującym wkła-

dem w dotychczasową wiedzę. Niskie zasolenie wpływa negatywnie na funkcjonowanie organizmów i skutkuje m.in. zubożeniem zbiorowisk tam się rozwijających, stąd uzyskane wyniki badań mogą stanowić istotny wkład w stan wiedzy na temat reakcji zbiorowisk mikrofitobentosu pod wpływem substancji wprowadzanych przez człowieka do środowiska.

W testach badających wpływ herbicydu Roundup® na mikroorganizmy roślinne [16] prowadzonych przez okres 3 dni przy stężeniu 0,0021 g·dm⁻³ Roundupu® obserwowano zmniejszenie się o 50% biomasy zielenicy *Selenastrum capricornutum*, a wartość NOEC (ang. *no observed effect level*) wynosiła zaledwie 0,00073 g·dm⁻³. W pracy [27] wykazano, iż w trakcie 96 godzin prowadzenia testów stężenie 0,1 g·dm⁻³ glifosatu powodowało całkowite zahamowanie wzrostu *Scenedesmus quadricauda*. Natomiast w pracy [8] wskazano, że w badaniach prowadzonych przez okres 7 dni, gatunek zielenicy *Chlorella pyrenoidosa* jest bardziej odporny na działanie tego preparatu, ponieważ EC₅₀ dla tego gatunku wynosi 0,189 g·dm⁻³. W niniejszych badaniach stężenie 0,042 g·dm⁻³ wywoływało zmniejszenie biomasy zbiorowisk o ok. 50% w siódmej dobie testów, a znacznie wyższe stężenie 8,5 g·dm⁻³ powodowało zmniejszenie biomasy zbiorowisk do wartości 18% w stosunku do roztworu kontrolnego. Obserwowane różnice w koncentracji chlorofilu *a* w testowych hodowlach pod wpływem działania glifosatu, mają podobny charakter jak zmiany biomasy. Spowodowane jest to faktem, iż glifosat hamuje produkcję enzymu syntetazy EPSP, a tym samym powodując zahamowanie wytwarzania przez rośliny aminokwasów aromatycznych, które są bardzo ważne dla ich wzrostu i wchodzi

w skład wielu barwników roślinnych, flawonoidów i antocyjanin [7].

Wyniki uzyskane na podstawie pomiaru fluorescencji potwierdziły również długofalowy negatywny wpływ glifosatu na sprawność fotosyntezy w tym wypadku wydajność fotosystemu II (parametr F_v/F_m). Interesującym jest fakt, iż Roundup® może być źródłem węgla lub azotu i w niewielkich stężeniach stymulować wzrost komórek mikroglonów [19, 21]. W podjętych badaniach potwierdzono to poprzez zmierzony wzrost fluorescencji w pierwszej dobie w stężeniach $0,042 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ oraz $0,85 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. Pomimo to glifosat długofalowo negatywnie oddziałuje na zbiorowiska mikrofitobentosu. W testowanych stężeniach najniższą wartość F_v/F_m zaobserwowano w siódmej dobie testu (ok. 60% w stosunku do roztworu kontrolnego). Obniżenie aktywności fotosyntezy poprzez zmniejszoną wydajność PSII może być spowodowane hamowaniem syntezy białek w chloroplastach [20]. W badaniach nad toksycznością innego herbicydu bentazonu na morską okrzemkę *Skeletonema costatum* wykazano, iż zmniejszenie się wartości F_v/F_m następuje znacznie szybciej niż zahamowanie wzrostu glonów co potwierdza doniesienia, że F_v/F_m jest

parametrem bardziej wrażliwym niż hamowanie wzrostu lub zmiany w biomase [18]. Stąd podkreśla się znaczenie maksymalnej wydajności fotosyntezy jako parametru, który odzwierciedla stres fizjologiczny organizmu jednokomórkowego [5, 10].

Glifosat skutecznie niszczy niepożądane chwasty w uprawach, jednak niezwykle istotne jest to, aby zrozumieć wpływ tej substancji na organizmy inne niż docelowe, szczególnie na organizmy wodne [31]. W dalszym ciągu nie zweryfikowano wystarczająco wpływu tej substancji na rozwój organizmów wodnych. Stąd, aby uzyskać bardziej jednoznaczne informacje dotyczące toksyczności tego herbicydu powinno się prowadzić dalsze eksperymenty na szerokim spektrum organizmów roślinnych, również morskich. Pomimo, iż Roundup® jest nietrwałym związkiem w środowisku, niezwykle istotny jest fakt, że działa toksycznie na organizmy wodne zarówno roślinne jak i zwierzęce, powodując długotrwałe zmiany w ekosystemie. Wzrost użycia związków herbicydowych niesie ze sobą konieczność prowadzenia szerszych badań dotyczących wpływu tych substancji na różne układy ekologiczne.

Literatura

1. Blanck, H., Eriksson, K.M., Grönvall, F., Dahl, B., Guijarro, K.M., Birgersson, G., Kylin, H., A retrospective analysis of contamination and periphyton PICT patterns for the antifoulant irgarol 1051, around a small marina on the Swedish west coast, *Marine Pollution Bulletin*, 2009.
2. Campbell, D., Hurry, V., Clarke, A.K., Gustafsson, P., Öquist, G., Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation, *Microbiology and molecular biology reviews*, 1998, 62(3), pp. 667-683.
3. Campanella, L., Cubadda, F., Sammartino, M.P., Saoncella, A., An algal biosensor for the monitoring of water toxicity in estuarine environments, *Water Research*, 2000, 25, pp. 69-76.
4. Chobot, M., Brucka, M., Latała, A., The toxic effect of ionic liquid BMMICL in the rate of photosynthesis and chlorophyll A fluorescence in selected strains of batic microalgae in: *Microorganisms in the environment and environmental engineering from ecology to technology* Olańczuk-Neyman K., Mazur-Marzec H. (red.), 2010.
5. Choi, C.J., Berges, J.A., Young, E.B., Rapid effects of diverse toxic water pollutants on chlorophyll a fluorescence: variable responses among freshwater microalgae, *Water Research*, 2012, 46(8), pp. 2615-2626.
6. Fargasova, A., Inhibitive effect of organotin compounds on the chlorophyll content of the green freshwater alga *Scenedesmus quadricauda*, *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 1996, 57, pp. 99-106.
7. Franz, J.E., Mao, M.K., Sikorski, J.A., Glyphosate A Unique Global Herbicide. ACS Monograph 189. American Chemical Society, Washington CD, 1997.
8. Hernando, F., Royuela, M., Munoz-Rueda, A., Gonzalez-Murua, C., Effects of glyphosate on the greening process and photosynthetic metabolism in *Chlorella pyrenoidosa*, *Journal of Plant Physiology*, 1989, 134, pp. 26-31.
9. Jeffrey, S.T., Humphrey, G.F., New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton, *Biochem Physiol Pflanz BPP*, 1975.
10. Kudela, R., Roberts, A., Armstrong, M., Laboratory analyses of nutrient stress and toxin production in *Pseudo-nitzschia* spp. from Monterey Bay, California, *Harmful algae*, 2002, pp. 136-138.
11. Kruk-Dowgiałło, L., Brzeska, P., Opióła, R., Kuliński, M., Makroglony i okrytozależkowe, W: *Przewodniki metodyczne do badań terenowych i analiz laboratoryjnych fitoplanktonu, innej flory wodnej i makrobezkręgowców bentosowych w wodach przejściowych i przybrzeżnych*, Inspekcja Ochrony Środowiska, Warszawa, 2010, s. 33-63.
12. Kwiatkowska, M., Jarosiewicz, P., Bukowska, B., Glifosat i jego preparaty – toksyczność, narażenie zawodowe i środowiskowe, *Medycyna Pracy*, 2013, 64, pp. 717-729.
13. Latała, A., Stepnowski, P., Nędzi, M., Mroziak, W., Marine toxicity assessment of imidazolium ionic liquids: Acute effects on the Baltic algae *Oocystis submarina* and *Cyclotella meneghiniana*, *Aquatic toxicology*, 2005, 73, pp. 91-98.
14. Latała, A., Nędzi, M., Stepnowski, P., Toxicity of imidazolium and pyridinium based ionic liquids towards algae. *Bacillaria pacillariapaxillifer* (a microphytobenthic diatom) and *Geitlerinema amphibium* (a microphytobenthic blue green alga), *Green Chemistry*, 2009, 11, pp. 1371-1376.

15. Latała, A., Nędzi, M., Steponowski, P., Toxicity of imidazolium and pyridinium based ionic liquids towards algae. *Chlorella vulgaris*, *Oocystis submarina* (green algae) and *Cyclotella meneghiniana*, *Skeletonema marinoi* (diatoms), *Green Chemistry*, 2009, 11, pp. 574-579.
16. LISEC, Alga, growth inhibition test. Effect of MON 2139 on the growth of *Selenastrum capricorutum*. Monsanto unpublished study XX-89-093, Study Centre for Ecology and Forestry, Bokrijk, Belgium, 1989.
17. Maa, J., Wangc, S., Wangb, P., Mab, L., Chena, X., Xua, R., Toxicity assessment of 40 herbicides to the green alga *Raphidocelis subcapitata*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2006, 63, pp. 456-462.
18. Macedo, R.S., Lombard, A.T., Omachi, C.Y., Rörig, L.R., Effects of the herbicide bentazon on growth and photosystem II maximum quantum yield of the marine diatom *Skeletonema costatum*, *Toxicology in Vitro*, 2008, 22(3), pp. 716-722.
19. Malik, J., Barry, G., Kishore, G., The herbicide glyphosate, *Biofactor*, 1989, 2, pp. 7-25.
20. Matorin, D.N., Osipov, V.A., Seifullina, N.K., Venediktov, P.S., Rubin, A.B., Increased toxic effect of methylmercury on *Chlorella vulgaris* under high light and cold stress conditions, *Microbiology*, 2009, 78(3), pp. 321-327.
21. Marsalek, B., Rojickova, R., Stress factors enhancing production of algal exudates: A potential self-protective mechanism? *Journal of Biosciences*, 1996, C 51, pp. 646-650.
22. Modesto, A.K., Martinez, B.C.R., Roundup causes oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish *Prochilodus lineatus*, *Chemosphere*, 2010, 78, pp. 294-299.
23. Peterson, H.G., Boutinb, C., Martinc, P.A., Freemarkb, K.E., Rueckera, N.J., Moodya, M.J., Aquatic phyto-toxicity of 23 pesticides applied at expected environmental concentrations, *Aquatic Toxicology*, 1994, Vol. 28, Issues 3-4, pp. 275-292.
24. Pieniżek, D., Bukowska, B., Duda, W., 2003. Glifosat – nietoksyczny pestycyd? *Medycyna Pracy*, 2003, 54, pp. 579- 583.
25. Roubex, V., Mazzella, N., Schouler, L., Fauvelle, V., Morin, S., Coste, M., Delmas, F., Margoum, C., Variations of periphytic diatom sensitivity to the herbicide diuron and relation to species distribution in a contamination gradient: implications for biomonitoring, *J. Environ. Monit.*, 2011, 13, 1768-1774.
26. Różański, L., Przemiany glifosatu, W: Kozłowska, D., Jakubczak, E., Mielcarek, M., [red.] Przemiany pestycydów w organizmach żywych i środowisku, Agra-Enviro Lab, Poznań, 1998, s. 311-313.
27. Sáenz, M.E., Di Marzio, W.D., Alberdi, J.L., del Carmen Tortorelli, M., Effects of technical grade and a commercial formulation of glyphosate on algal population growth, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 1997, 59, pp. 638-644.
28. Steinmann, H.H., Dickeduisberg, M., Theuvsen, L., Uses and benefits of glyphosate in German arable farming, *Crop Protection-Guildford*, 2012, 42, pp. 164-169.
29. Strickland, I.D.H., Parsons, T.R., A practical handbook of seawater analysis, Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, 1972.
30. Sylwestrzak, Z., Zgrundo, A., Latała, A., Wpływ cieczy jonowej [BMIM]Cl na bałtycką okrzemkę *Navicula ramosissima* (C. Agardh) Cleve w eksperymencie laboratoryjnym na naturalnych zbiorowiskach mikrofitobentosu Zatoki Gdańskiej, Zagadnienia aktualnie poruszane przez młodych naukowców, cz.3, 2015.
31. Wong, P.K., Effects of 2,4-D, glyphosate and paraquat on growth, photosynthesis and chlorophyll a synthesis of *Scenedesmus quadricauda* Berb 614, *Chemosphere*, 2000, 41, pp. 177-182.