

Substancje przeciwbakteryjne w nawozach organicznych – potencjalny problem skażenia środowiska

Ewelina Patyra, Krzysztof Kwiatek

z Zakładu Higieny Pasz Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach

Antimicrobial substances in organic fertilizers – the potential problem of environmental contamination

Patyra E., Kwiatek K., Department of Hygiene of Animal Feedingstuffs, National Veterinary Research Institute in Pulawy

Nowadays antibiotics are broadly used not only for treating bacterial infections but also in nonmedical applications. For many years they have been used for farm animals as growth promoters. Agriculture and especially industrial animal breeding is among the main sources of environmental pollution with antimicrobials. The intensive breeding of farm animals is excessively loading the environment with excrements. The use of antibacterial substances on a large scale, excretion of unchanged forms of antibiotics with feces and urine, fertilizing of arable land with manure are causes of the environment pollution. The presence of antimicrobial substances in soil and water leads to their absorption by cultivated plants. The consumption of such plants by humans and animals leads in turn to antimicrobials spread and is one of major causes of antimicrobials resistance development. The purpose of this study is to present potential risks of organic fertilizers use in agriculture.

Keywords: antimicrobials, agriculture, liquid manure, soil, plants, bacterial resistance.

Odkrycie antybiotyków w pierwszej połowie XX wieku i wprowadzenie ich do terapii chorób zakaźnych człowieka było jednym z największych historycznych osiągnięć medycyny, które legło u podstaw opracowania sposobów ratowania życia i ochrony zdrowia milionów ludzi na całym świecie. Jednak dość szybko zaczął narastać problem oporności bakterii na antybiotyki wraz

z coraz większą, a następnie masową produkcją oraz powszechnym ich stosowaniem w medycynie oraz celach niemedyceńskich, np. w hodowli zwierząt. Zjawisko lekooporności odkryte w połowie lat 40. ubiegłego wieku dla penicyliny i streptomycyny stało się globalnym problemem i zagrożeniem (1). Alarmujące doniesienia na temat szerzącej się lekooporności wśród patogenów bakteryjnych sprawiają, że obecnie aplikowanie antybiotyków przez klinicystów coraz częściej ma charakter terapii celowanej, stosowanej po zidentyfikowaniu czynnika etiologicznego danej jednostki chorobowej. Niestety brak takiego postępowania obserwuje się w zastosowaniach innych niż medyczne, tj. w rolnictwie, hodowli zwierząt i zwierząt akwakultury (1, 2, 3). Obecnie szacuje się, że zużycie antybiotyków w celach niemedyceńskich dwukrotnie przewyższa ich wykorzystanie w leczeniu ludzi (1).

Antybiotyki stosowane w rolnictwie od lat 50. ubiegłego wieku miały za zadanie przede wszystkim profilaktykę i poprawę wykorzystania składników pokarmowych paszy oraz obniżenie kosztów jej zużycia, dzięki czemu zyskały one nazwę antybiotykowych stymulatorów wzrostu (4, 5, 6). Opisana stymulacja spowodowana jest przez zwalczanie jelitowych patogenów zwierząt – w tym enterokoków – wywołujących przewlekły nieżyt jelit zwierząt hodowlanych. W krótkim czasie stało się nagminne przepisywanie antybiotyków przez lekarzy weterynarii tylko w tym celu – bez wskazań leczenia chorób bakteryjnych (1).

Od momentu wprowadzenia zakazu stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu (ASW) u zwierząt gospodarskich w 2006 r. w krajach członkowskich

Unii Europejskiej obserwuje się wzrost zainteresowania hodowców stosowaniem antybiotyków w paszach, jako pasz leczniczych, oraz leków weterynaryjnych rozpuszczonych w wodzie do pojenia zwierząt (szczególnie dla drobiu). Zainteresowanie tym sposobem podawania substancji przeciwbakteryjnych wynika z tego, że lek może być podawany jednocześnie całej grupie zwierząt, co obniża koszty obsługi i czas pracy. Niestety w wielu pozaeuropejskich krajach stymulacja wzrostu zwierząt hodowlanych antybiotykami oraz źle rozumiana i prowadzona profilaktyka chorób zakaźnych nadal są prowadzone w sposób niekontrolowany.

Antybiotyki, oprócz szerokiego zastosowania w hodowli trzody chlewnej, bydła, królików i drobiu oraz zwierząt akwakultury, stosowane są również w uprawach owoców i warzyw oraz hodowli pszczoł (7, 8). Na uwagę zasługuje również fakt, że wiele antybiotyków stosowanych w rolnictwie było tymi samymi, których używano w lecznictwie ludzi (9).

Pod uwagę należy wziąć fakt, że leki zarówno te stosowane w lecznictwie ludzi, jak i hodowli zwierząt nie są metabolizowane w organizmie w 100%, a ich znaczne ilości wydalane są z kałem i/lub moczem, przez co mogą trafiać do środowiska naturalnego.

Istotnym problemem w gospodarstwach utrzymujących zwierzęta rzeźne jest ilość produkowanych odchodów i sposób ich wykorzystania. Obornik czy gnojowica są bardzo dobrym nawozem organicznym stosowanym pod uprawę roślin. Ciekły odpad z produkcji trzody chlewnej, czyli tzw. gnojowica, stanowi cenny nawóz o wysokiej zawartości składników mineralnych. Gnojowica jest naturalnym, płynnym nawozem zwierzęcym, stanowiącym mieszaninę kału, moczu, resztek pokarmu i wody stosowanej do usuwania odchodów z pomieszczeń inwentarskich (10, 11, 12, 13, 14). W rolnictwie oprócz gnojowicy świńskiej stosowane są gnojowica bydłowa i pomiot z ferm drobiu, który jest bogaty w azot (zawiera go około 3-krotnie więcej niż gnojowica świńska). Należy jednak wziąć pod uwagę, że stosowane na fermach leki weterynaryjne, w tym antybiotyki i chemioterapeutyki, nawet w kilkudziesięciu procentach są wydalane z organizmu zwierząt z kałem i/lub moczem, a następnie mogą trafić jako nawóz organiczny na pola uprawne lub pastwiska (9).

Zgodnie z definicją zawartą w ustawie z 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu do nawozów naturalnych zalicza się: odchody zwierząt, gnojówkę i gnojowicę – przeznaczone do rolniczego wykorzystania. Ustawa ta określa warunki stosowania i przechowywania nawozów naturalnych. Nie reguluje natomiast kwestii związanych z występowaniem w nich substancji chemicznych wydalanych z organizmu zwierząt, np. antybiotyków i ich metabolitów (10). Według szacunków Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa całkowita roczna produkcja obornika w Polsce wynosi ok. 80 mln ton, gnojówki ok. 13 mln m³, gnojowicy ok. 7,5 mln m³. Najwięcej obornika, w przeliczeniu na hektar użytków rolnych, produkuje się na Podlasiu i w Wielkopolsce, zaś najmniej na Dolnym Śląsku i w województwach wielkopolskim i lubuskim. Natomiast najwięcej gnojówki i gnojowicy produkuje się w województwach: wielkopolskim, podlaskim i mazowieckim. Najczęściej stosowanym płynnym nawozem

naturalnym jest gnojowica bydłowa. Często rozlewana jest również gnojowica mieszana: z obory i chlewni, zwłaszcza w małych gospodarstwach (16).

Leki weterynaryjne, takie jak tetracykliny, sulfonamidy, tylozyna czy fluorochinolony, stosowane są w dużych ilościach na całym świecie. ESVAC (European Surveillance of Veterinary Antibacterial Consumption) ocenił, że w 2014 r. w krajach europejskich zostało zastosowanych 9009,5 tony antybiotyków, z czego w Polsce liczba ta wyniosła 581,3 tony (17). Leki te były lub nadal są stosowane jako nielegalne dodatki paszowe (ASW), a także w celach profilaktycznych i terapeutycznych. Leki w organizmie metabolizowane są w różnym stopniu. Biorąc pod uwagę średni stopień degradacji 50–60%, staje się oczywiste, że kilka tysięcy ton antybiotyków odprowadzanych jest do środowiska każdego roku wraz z wydalaminami zwierząt. Niektóre substancje takie jak amoksycylina lub tetracyklina tylko w 10–20% podlegają metabolizmowi, podczas gdy inne, np. sulfametoksazol, w około 85% (18). Substancje czynne są metabolizowane do koniugatów, na przykład do ich acetylowanych metabolitów, przez co stają się nieaktywne, ale po wydaleniu z organizmu grupa acetylowa może zostać odłączona, uwalniając aktywną postać leku. Ponadto wydalane związki mogą charakteryzować się podobną, a nawet większą szkodliwością niż związki macierzyste (19).

Zainteresowanie występowaniem i losem oraz skutkami działania pozostałości leków występujących w środowisku naturalnym na organizm człowieka ciągle wzrasta. Badania skoncentrowane głównie na lekach stosowanych w medycynie ludzi wykazały, że związki te mogą docierać do wód powierzchniowych głównie przez odprowadzane ścieki. Obecnie około 80 różnych związków zostało zidentyfikowanych i ilościowo oznaczonych w wodach powierzchniowych (20). Badania przeprowadzone w Wielkiej Brytanii, Danii, Niemczech i Stanach Zjednoczonych wykazały, że substancje te reprezentują nową klasę organicznych zanieczyszczeń środowiska na całym świecie. Istnieją pewne obawy dotyczące ich wpływu na środowisko naturalne, w tym możliwości rozprzestrzeniania się drobnoustrojów lekoopornych i/lub wpływu na układ endokrynologiczny ze względu na zdolność niektórych z tych związków do zachowywania się jak hormony (21).

Badania przeprowadzone przez zespół naukowców z Austrii, a dotyczące oceny wydalania przez zwierzęta najczęściej stosowanych w medycynie weterynaryjnej substancji, wykazały obecność w gnojowicy wysokich stężeń antybiotyków z grupy tetracyklin (oksytetracykliny, tetracykliny, chlorotetracykliny i doksykyliny) wynoszących od 0,1 do 46 mg/kg, sulfonamidów (sulfadiazyna, sulfadymidyna i trimetoprim) w zakresie od 17 do 91 mg/kg, a także enrofloksacyny (2,8–3,8 mg/kg) i cyprofloksacyny (0,37–0,45 mg/kg) (22). Podobne wyniki badań dotyczące poziomu wydalania tetracyklin otrzymał niemiecki zespół badaczy (23). Przeprowadzone w Austrii pilotażowe badania pomiotu kurzego i indyjskiego oraz gnojowicy pochodzącej od świń wykazały, że metoda badania odchodów z ferm wielkotowarowych drobiu czy trzody chlewnej może być nieinwazyjną metodą oceny stosowania substancji przeciwbakteryjnych u zwierząt rzeźnych. Zespół

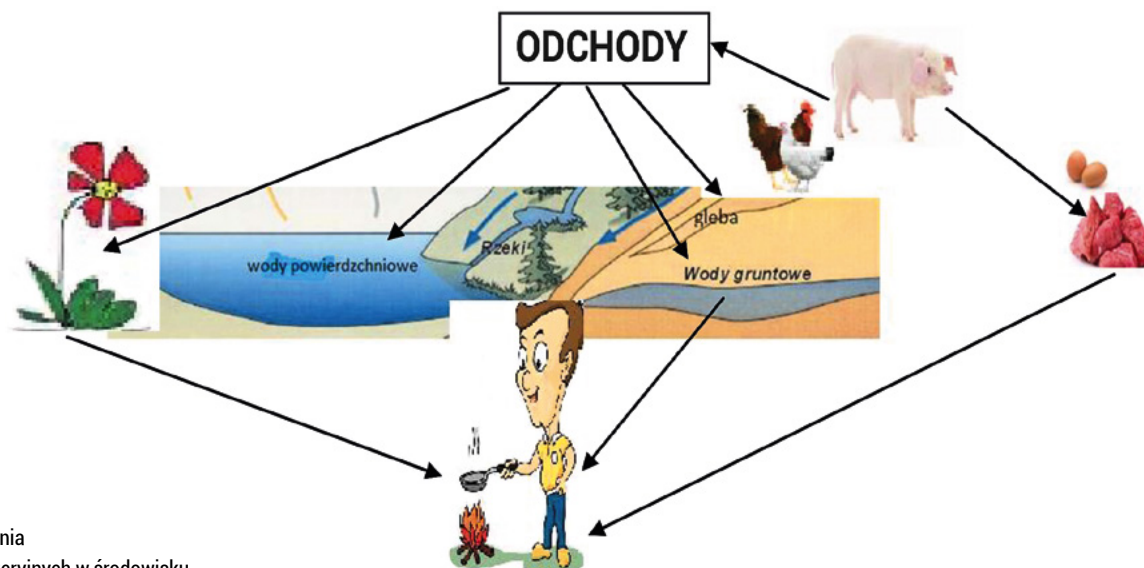
badaczy wykazał, że tetracyklina wykryta w pięciu próbkach gnojowicy pochodzącej od trzody chlewnej nie była zlecona do stosowania w tych gospodarstwach (22). Analiza gnojowicy czy pomiotu kurzego może w przyszłości być stosowana jako badanie wiarygodności np. gospodarstw ekologicznych. Pobór próbki odchodów zwierząt może dać jednoznaczny wynik co do zastosowania zakazanych w rolnictwie ekologicznym substancji oraz produktów leczniczych weterynaryjnych niezarejestrowanych w książce leczenia zwierząt przez hodowców.

Problematyczne staje się zagospodarowanie dużych ilości wydaliny zwierząt z ferm wielkotowarowych. W Polsce odchody zwierząt wykorzystywane są głównie jako wspomniany nawóz organiczny na pola uprawne. Stosowanie ich, oprócz zagrożeń mikrobiologicznych czy parazytologicznych, stwarza problem dla środowiska naturalnego. Substancje przeciwbakteryjne w odchodach zwierząt mogą docierać do górnych warstw gleby, gdzie są gromadzone lub zostają spłukane do wód powierzchniowych, a także mogą przedostać się do wód gruntowych. Obecnie w Unii Europejskiej nie istnieją żadne obowiązujące przepisy dotyczące maksymalnych limitów pozostałości dla antybiotyków w glebie. EMEA (1996) ustaliła wartość progową dla pozostałości leków weterynaryjnych w glebach i wodach gruntowych odpowiednio na: 100 µg/kg i 0,1 µg/l. Jednak wartość graniczna stężeń dotyczy nowo zatwierdzanych substancji (24). W badaniach przeprowadzonych przez Hamschera i wsp. (25, 26) na terenie Niemiec w latach 2000–2001 potwierdzono obecność tetracyklin w glebie w stężeniu do 300 µg/kg gleby, wykazując, że ta używana na całym świecie klasa antybiotyków jest trwała i może gromadzić się w glebie po nawożeniu obornikiem pochodzącym z intensywnej hodowli zwierzęcej. Prowadzone badania nie dały dowodów, że związki te przemieszczają się do głębszych warstw ziemi lub wód gruntowych ze względu na silną sorpcję tej grupy leków w glebie. We Włoszech i Stanach Zjednoczonych przeprowadzone badania terenowe potwierdziły obecność tetracyklin w glebie po zastosowaniu gnojowicy (27). W badaniach naukowców z Turcji we wszystkich

próbkach gleby nawożonej gnojowicą pochodzącą z ferm trzody chlewnej stwierdzono obecność oksytetracykliny w maksymalnym stężeniu wynoszącym 500 µg/kg gleby (28).

Z kolei w badaniach przeprowadzonych przez Huang i wsp. (29) na terenach rolniczych Chin, obejmujących dwie grupy chemioterapeutyków – fluorochinolony i tetracykliny, w glebach nawożonych gnojowicą pochodzącą z ferm świńskich stwierdzono wszystkie poddane analizie substancje przeciwbakteryjne, tj. tetracyklinę, oksytetracyklinę, chlorotetracyklinę, cyprofloksacynę, enrofloksacynę i ofloksacynę, przy czym najwyższe stężenia odnotowano dla enrofloksacyny – 637,3 µg/kg i chlorotetracykliny – 2668,9 µg/kg. W Niemczech wykonano wstępne badania przesiewowe, pobierając 14 próbek gleby w celu wykrycia sulfonamidów. Autorzy stwierdzili, że jedynym wykrywalnym sulfonamidem w glebie jest sulfametazy-na, której obecność potwierdzono w czterech z czterestu pobranych próbek. Zawartość sulfametazy w glebie wynosiła około 11 µg/kg gleby (30). Schlüsener i wsp., (31) używając techniki chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas, wykryli śladowe stężenia tiamuliny (0,7 µg/kg gleby) w dwóch badanych próbkach gleby.

Problem stosowania nawozów organicznych pochodzących z ferm wielkotowarowych stwarza również ryzyko, że substancje przeciwbakteryjne zawarte w odchodach zwierząt po wymieszaniu z glebą uprawną mogą przenikać do roślin. Wyniki badań światowych, a także przeprowadzonych badań laboratoryjnych w Polsce wskazują, że rośliny wraz z wodą pobierają substancje przeciwbakteryjne, szczególnie tetracykliny i je akumulują. Badania przeprowadzone przez Margas i wsp. (32) na siewkach łubinu żółtego wykazały, że antybiotyki tetracyklinowe wykazują działanie toksyczne. Toksyczność leku wyrażała się zahamowaniem wzrostu elongacyjnego, spadkiem zawartości chlorofilu oraz wzrostem aktywności peroksydazy gwajakolowej. Rośliny strączkowe mają również zdolność do pobierania z zanieczyszczonej gleby sulfametazy. Wyniki badań opisane przez Ziółkowską (33) wykazały, że stężenie leku w roślinie zależy



Ryc. 1. Schemat krążenia substancji przeciwbakteryjnych w środowisku

od zawartości leku w glebie i wzrasta wraz ze zwiększeniem się zawartości. Również badania przeprowadzone przez Kumara i wsp. (27) wykazały, że antybiotyki zawarte w nieprzetworzonych nawozach organicznych były przyswajane przez trzy testowane gatunki roślin jadalnych, takich jak: cebula, kapusta oraz kukurydza. Może to stwarzać zagrożenie dla ludzi spożywających żywność roślinną ze względu na pobieranie niskich stężeń substancji przeciwbakteryjnych obecnych w roślinach, a co za tym idzie – stać się przyczyną alergii, reakcji toksycznych czy rozwoju drobnoustrojów lekoopornych. Na rycinie 1 przedstawiono schemat obiegu substancji przeciwbakteryjnych w środowisku.

Przedstawione dane skłaniają do zwrócenia uwagi na problem niewątpliwie nadmiernego stosowania antybiotyków oraz pojawiania się ich w różnych środowiskach. Przemysłowy chów zwierząt wiąże się ze stosowaniem preparatów medycznych i antybiotyków. Ich użytkowanie w nadmiernych ilościach jest elementem hodowli mającym za zadanie utrzymanie przy życiu zwierząt stłoczonych na niewielkiej powierzchni budynków inwentarskich (10). W samej Unii Europejskiej rocznie podaje się kilka tysięcy ton antybiotyków, których obecność w odchodach staje się przyczyną skażenia wód i gleb oraz powstawania groźnych, opornych na farmaceutyki szczepów drobnoustrojów. Problemem wydaje się brak świadomości zagrożeń płynących z zanieczyszczenia środowiska antybiotykami oraz nieodwracalnych zmian w populacji bakterii środowiskowych i klinicznych, wywołanych podprogowymi dawkami tych preparatów. Konieczne staje się więc prowadzenie badań nad występowaniem substancji leczniczych pochodzących z hodowli zwierząt w środowisku naturalnym oraz nad możliwościami zagospodarowania i przetwarzania nawozów organicznych pochodzących od zwierząt w taki sposób, aby zminimalizować ilości wprowadzanych leków weterynaryjnych do środowiska naturalnego.

Piśmiennictwo

- Zabłotni A., Jaworski A.: Źródła antybiotyków w środowiskach naturalnych i ich rola biologiczna. *Postępy Hig. Med. Dośw.* 2014, **68**, 1040–1049.
- Eltayb A., Barakat S., Marrone G., Shaddad S., Stålsby Lundborg C.: Antibiotic use and resistance in animal farming: a quantitative and qualitative study on knowledge and practices among farmers in Khartoum, Sudan. *Zoonoses Public Health*, 2012, **59**, 330–338.
- Labella A., Gennari M., Ghidini V., Trento I., Manfrin A., Borrego J.J., Lleo M.M.: High incidence of antibiotic multi-resistant bacteria in coastal areas dedicated to fish farming. *Mar. Pollut. Bull.*, 2013, **70**, 197–203.
- Cromwell G.L.: Why and how antibiotics are used in swine production. *Anim. Biotechnol.* 2002, **13**, 7–27.
- Dibner J.J., Richards J.D.: Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Sci.*, 2005, **84**, 634–643.
- Przeniosło-Siwczyńska M., Kwiatek K.: Dlaczego zakazano stosowania w żywieniu zwierząt antybiotykowych stymulatorów wzrostu? *Życie Wet.*, 2013, **88**, 104–108.
- Kümmerer K.: Resistance in the environment. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2004, **54**, 311–320.
- McManus P.S., Stockwell V.O., Sundin G.W., Jones A.L.: Antibiotic use in plant agriculture. *Annu. Rev. Phytopathol.* 2002, **40**, 443–465.
- Aarestrup F.M.: Sustainable farming: get pigs of antibiotics. *Nature* 2012, **486**, 465–466.
- Marszałek M., Banach M., Kowalski Z.: Wpływ gnojowicy na środowisko naturalne – potencjalne zagrożenia. *J. Ecol. Health.* 2011, **2**, 66–70.
- Pawelczyk A., Muraviev D.: Zintegrowana technologia oczyszczania ciekłych odpadów z hodowli trzody chlewnej. *Przemysł Chemiczny*. 2003, **82**, 2–4.
- Sorensen P., Amato M.: Remineralisation and residua effect of N after application of pig slurry to soil. *Eur. J. Agronomy*. 2002, **16**, 81–95.
- Suresh A., Choi H.L., Oh D.I.: Prediction of the nutrients value and biochemical characteristics of swine slurry by measurement of EC-Electrical conductivity. *Bioresource Technology*. 2009, **100**, 4683–4689.
- Suersh A., Choi H.L., Lee J.H.: Swine slurry characterization and prediction equations for nutrients on South Korean farms. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*. 2009, **52**, 267–273.
- Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu.
- www.agronews.com.pl/artukul/wykorzystanie-nawozow-naturalnych-pod-uprawy/.
- European Medicines Agency, 2015. European surveillance of veterinary antimicrobial consumption, 2017. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2015'. (EMA/184855/2017). Accessed on the 10th of October, 2017. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2017/10/WC500236750.pdf.
- Zhao L., Dong Y.H., Wang H.: Residues of veterinary antibiotics in manures from feedlot livestock in eight provinces of China. *Sci. Tot. Envir.* 2010, **408**, 1069–1075.
- Christian T., Schneider R.J., Farber H.A., Skutlarek D., Meyer M.T., Goldbach H.E.: Determination of antibiotic residua in manure, soil, and surface waters. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 2003, **31**, 36–41.
- Wallace J.S., Aga D.S.: Enhancing extraction and detection of veterinary antibiotics in solid and liquid fractions of manure. *J. Environ. Qual.* 2016. doi:10.2134/jeq2015.05.0246.
- Gothwal R., Shashidhar T.: Antibiotic pollution in the environment: A Review. *Clean – Soil, Air, Water*. 2015, **43**, 479–489.
- Martinez-Carballo E., Gonzalez-Berreiro C., Scharf S., Gans O.: Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soil in Austria. *Environmental Pollution*. 2007, **148**, 570–579.
- Winckler C., Engels H., Hund-Rinke K., Luckow T., Simon M., Stefens G.: 2003 Verhalten von Tetracyclinen und anderen Veterinarantibiotika in Wirtschaftsdünger und Boden. UFOPLAN 2003, Berlin.
- EMA, 1996. Note for guidance: environmental risk assessment for veterinary medicinal products other than gmo-containing and immunological products. EMA/CVMP/055/96-final, London.
- Hamscher G., Szczesny S., Höper H., Nau H.: Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Anal. Chem.* 2002, **74**, 1509–1518.
- Hamscher G., Pawelzick H.T., Höper H., Nau H.: Different behaviour of tetracyclines and sulfonamides in sandy soils after repeated fertilization with liquid manure. *Environ. Toxicol. Chem.* 2005, **24**, 861–868.
- Kumar K., Gupta S.C., Baidoo S.K., Chander Y., Rosen C.J.: Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. *J. Environ. Qual.* 2005, **34**, 2082–2085.
- Karacı A., Balcioglu A.A.: Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey. *Sci. Tot. Envir.* 2009, **407**, 4652–4664.
- Huang X., Liu Ch., Li K., Liu F., Liao D., Liu L., Zhu G., Liao J.: Occurrence and distribution of veterinary antibiotics and tetracycline resistance genes in farmland soils around swine feedlots in Fujian Province, China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2013, **20**, 9066–9074.
- Hoper H., Kues J., Nau H., Hamscher G.: Eintrag und Verbleib von Tierarzneimittelwirkstoffen in Boden. *Bodenschutz*. 2002, **7**, 141–148.
- Schlusener M.P., Bester K., Spittler M.: Determination of antibiotics from soil by pressurized liquid extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 2003, **1003**, 21–28.
- Margas M., Ziółkowska A., Dobiesz M., Rydzynski D., Piotrowicz-Cieślak A.I., Adomas B.: Ocena oddziaływania niskich stężeń tetracykliny na procesy biologiczne w siewkach łubinu żółtego (*Lupinus luteus*). *Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu*. 2015, **11**, 31–41.
- Ziółkowska A., Piotrowicz-Cieślak A.I., Rydzynski D., Adomas B., Nałęcz-Jawecki G.: Biomarkers of leguminous plant viability in response to soil contamination with diclofenac. *Pol. J. Environ. Stud.* 2014, **23**, 263–269.

Dr inż. Ewelina Patyra, e-mail: ewelina.patyra@piwet.pulawy.pl