

MAŁGORZATA POCIEJOWSKA¹, MAŁGORZATA NATYWA¹, ANNA GAŁĄZKA²

¹*Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Szydlowska 50, 60-656 Poznań*

²*Zakład Mikrobiologii Rolniczej
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy
Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
E-mail: gosia_pociejska@o2.pl
mnatywa@wp.pl
agalazka@iung.pulawy.pl*

STYMULACJA WZROSTU ROŚLIN PRZEZ BAKTERIE PGPR

WSTĘP

Życie i działalność mikroflory glebowej jest ściśle związana z życiem roślin. Istnienie tej współzależności przejawia się m. in. w odżywianiu roślin oraz symbiozie bakterii i grzybów z roślinami wyższymi. Podczas kiełkowania nasion i wzrostu rośliny w rozwijającej się strefie korzeniowej powiększa się liczba drobnoustrojów, w porównaniu do gleby wolnej od korzeni. Ta zwiększona liczebność mikroorganizmów utrzymuje się w tej strefie przez cały okres rozwoju rośliny. Drobnoustroje zasiedlające ten mikroekosystem wyselekcjonowane są pod wpływem wydzielin korzeniowych, tworząc specyficzne zespoły drobnoustrojów, dostarczające roślinom składników odżywczych (MONOHARACHARY i MUKERJI 2006). Wpływ korzeni roślin na mikroflorę gleby bywa bardzo różny i zależy od rodzaju rośliny, jej stadium rozwojowego, warunków glebowych i innych czynników środowiska (NANNIPIERI i współaut. 2007). Mikroflora ryzosferowa to szeroki termin obejmujący zarówno mikroorganizmy wywierające korzystny (ang. plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR), obojętny (ang. neutral rhizobacteria) lub szkodliwy (ang. deleterious rhizosphere microorganisms, DRMO) wpływ na rozwój rośliny (KUREK i KOBUS 1990). Korzystne oddziaływanie drobnoustrojów na rośliny wyższe odbywa się poprzez udostępnianie im niezbędnych składników pokarmo-

wych (biogenów), wytwarzanie substancji biologicznie czynnych (regulatory wzrostu) oraz poprawę struktury gleby (BARABASZ i VOŘÍŠEK 2002). Drobnoustroje zasiedlające ryzosferę mogą przyczyniać się do zwiększania wydzielania korzeniowego roślin (LATOUR i współaut. 1999). Związane to jest z wykorzystywaniem przez te mikroorganizmy uwalnianych przez roślinę związków oraz z wytwarzaniem hormonów roślinnych, które powodują wzrost przepuszczalności komórek korzeniowych lub poprzez fizyczną destrukcję korzeni, zwiększając ich przeciekanie (BOWEN i współaut. 1994). Mikroorganizmy te są traktowane jako biologiczne czynniki nawożeniowe (biofertilizers). Szczególne zainteresowanie biotechnologów wzbudza wprowadzanie do gleby mikroorganizmów modyfikowanych genetycznie i produkcja biopreparatów, tzn. preparatów wykorzystywanych w biologicznej ochronie roślin, które zawierają w swoim składzie mikroorganizmy antagonistyczne lub pasożytnicze w stosunku do patogenów i szkodników roślin (MARTYNIUK i KSIĘŻAK 2011). Inne drobnoustroje zwiększają plon roślin na drodze pośredniego oddziaływania, tzn. kontrolując rozwój mikroorganizmów wpływających niekorzystnie na roślinę lub usuwając z podłoża substancje hamujące wzrost roślin. Są one często nazywane biologicznymi czynnikami kontrolującymi zdrowotność roślin (KUREK i KO-

BUS 1990). Mimo iż mechanizm pobudzania wzrostu roślin przez PGPR nie jest jeszcze w pełni poznany, bakterie te posiadają wiele różnych cech odpowiedzialnych za działania stymulujące wzrost roślin (CATTELAN i współaut. 1999, HUSEN 2003). PGPR są to wolno żyjące bakterie glebowe, bytujące w strefie korzeniowej roślin lub jako endofity w powierzchniowych ich tkankach (ryzobakterie). Najliczniejszą grupę PGPR stanowią bakterie z rodzaju *Pseudomonas* (np. *P. aeruginosa*, *P. aureofaciens*, *P. cepacia*, *P. fluorescens*, *P. marginalis*, *P. putida*), a także *Bacillus* (np. *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. laterosporus*, *B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. pasteurii*, *B. sphaericus*), *Enterobacter* (*E. agglomerans*, *E. cloacae*) i *Erwinia* (*E. herbicola*). Wpływają one pozytywnie na vegetację roślin poprzez stymulowanie ich wzrostu w dwojaki sposób: bezpośredni i pośredni. Wspomaganie bezpośrednie polega między innymi na dostarczeniu roślinie składników mineralnych (np. poprzez ułatwianie pobierania azotu, rozpuszczanie związków fosforu czy wiązanie żelaza przez siderofory), syntezie fitohormonów wpływających na rozwój roślin, tj. auksyn, giberelin, cytokinin, a także powoduje obniżenie poziomu etylenu niekorzystnie wpływającego na uko-

rzenianie roślin. Natomiast pośredni sposób stymulacji polega na biologicznym zwalczaniu fitopatogenów. Od bardzo dawna łączono bezpośredni efekt stymulujący mikroflory ryzosferowej na wzrost roślin z jej zdolnością wiązania azotu. Obecnie wiadomo, że o ile efektywne asocjacje symbiotyczne motylkowatych z *Rhizobiaceae* i niemotylkowatych z promieniowcami *Frankia* mogą zaspokajać zapotrzebowanie tych roślin na azot w wyniku wiązania N_2 z atmosfery, to w przypadku drobnoustrojów wolno żyjących w ryzosferze udział wiązania N_2 przez te mikroorganizmy w zaspokajaniu zapotrzebowania azotowego roślin jest niewielki (KUREK i KOBUS 1990). Szczepienie roślin drobnoustrojami zaliczanymi do PGPR, szczególnie bakteriami z rodzaju *Pseudomonas*, pozwala złagodzić stresy powodowane czynnikami abiotycznymi oraz przyczynić się do wzrostu plonu roślin o 144% (SAHARAN i NEHRA 2011). ABDUL JALEEL i współaut. (2007) w swoich badaniach dowiedli, że szczepienie roślin bakteriami z gatunku *P. fluorescens* zwiększyło plon biomasy i zawartość alkaloidów w warunkach stresu jakim jest susza. W badaniach SANDHGA i współaut. (2010) stwierdzono wzrost ilości biomasy, zawartości wody oraz

Tabela 1. Niektóre wolno żyjące ryzobakterie stymulujące wzrost roślin – PGPR (KALITKIEWICZ i KĘPCZYŃSKA 2008).

<i>Azospirillum halopraeferens</i>	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>
<i>Azospirillum irakense</i>	<i>Enterobacter agglomerans</i>
<i>Azospirillum lipoferum</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Azospirillum brasilense</i>	<i>Erwinia herbicola</i>
<i>Azospirillum radiobacter</i>	<i>Flaoumonas oryzihabitans</i>
<i>Azotobacter chroococcum</i>	<i>Hydrogenophaga pseudoflava</i>
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	<i>Klebsiella planticola</i>
<i>Arthrobacter citreus</i>	<i>Kluyvera ascorbata</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Kluyvera cryocrescens</i>
<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Phyllobacterium rubiacearum</i>
<i>Bacillus laterosporus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Pseudomonas aureofaciens</i>
<i>Bacillus mycoides</i>	<i>Pseudomonas corrugata</i>
<i>Bacillus pasteurii</i>	<i>Pseudomonas cepacia</i>
<i>Bacillus polymyxa</i>	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
<i>Bacillus pumilus</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Bacillus sphaericus</i>	<i>Pseudomonas marginalis</i>

zmniejszenia utraty wody przez liście roślin kukurydzy szczepionych *Pseudomonas* spp. Inokulowane rośliny wykazywały ponadto wyższy poziom proliny i cukrów w warunkach suszy (NATYWA i SELWET 2012). SHAHARONA i współaut. (2006), badając reakcję roślin na szczepienie PGPR u kukurydzy zwyczajnej (*Zea mays*) w warunkach nawożenia azotowego i przy jego braku, odnotowali znaczący wzrost wysokości roślin, masy korzeni i całkowitej biomasy. Wyniki pokazały, że nawet w obecności optymalnego poziomu nawożenia azotowego, szczepienie PGPR może być skuteczne w celu poprawy wydajności kiełkowania i wzrostu inokulowanych roślin. Obecność w ryzosferze mikroorganizmów (*Azospirillum*, *Azotobacter*) wiążących azot, wprowadzonych w postaci szczepionki, powoduje wzrost plonu roślin, nawet przy stosunkowo wysokim nawożeniu

azotowym. KAPULNIK i współaut. (1985) uzyskali średni wzrost plonu ziarna kukurydzy zwyczajnej o 17% po zastosowaniu szczepienia *Azospirillum brasilense* przy nawożeniu 240 kg N ha⁻¹. Rośliny szczepione bakteriami *Azospirillum* spp. i hodowane w sterylnych lub niesterylnych warunkach wytwarzają więcej włośników korzeniowych i korzeni bocznych niż nieszczepione (KUREK i KOBUS 1990). PGPR przyczyniają się także do zwiększenia w glebie materii organicznej i składników odżywczych, wpływając na wzrost uwalniania składników pokarmowych, zmniejszając tym samym potrzebę nawożenia azotem i fosforem (HAYAT i współaut. 2010). PGPR przyczyniają się wzrostu roślin, zwiększenia plonów, a także ochrony wobec niektórych patogenów i szkodników (Tabela 1) (KUMAR i współaut. 2012).

WPŁYW BAKTERII PGPR NA POZIOM ENDOGENNYCH HORMONÓW W ROŚLINACH

Bakterie PGPR mają zdolność produkcji fitohormonów, tym samym mogą wpływać na wzrost roślin poprzez zwiększenie w nich endogennej puli regulatorów wzrostu. Do grupy takich regulatorów należą: gibereliny, auksyny i cytokininy (KALITKIEWICZ i KĘPCZYŃSKA 2008). Gibereliny wpływają na przerywanie spoczynku, kiełkowanie nasion, wzrost łodygi na długość, indukują kwitnienie oraz rozwój kwiatów, zwiększają żywotność pyłku i przyspieszają rozwój owoców. Ponadto, stymulują wzrost korzenia oraz indukują wzrost włośników korzeniowych (KING i EVANS 2003, KALITKIEWICZ i KĘPCZYŃSKA 2008). W grupie bakterii PGPR zdolność produkcji giberelin mają takie szczepy bakterii jak: *Acetobacter diazotrophicus*, *Bacillus* sp. oraz *Azospirillum* sp. Wytwarzanie substancji giberelino-podobnych było potwierdzone u szczepu *A. brasilense* Sp13t. Ekstrakty otrzymane z supernatantu powodowały elongacje hipokotylu sałaty (*Lactuca sativa* L.). Produkcja auksyn (IAA) przez bakterie PGPR jest szeroko rozpowszechniona, ponieważ biorą one udział w nawiązaniu kontaktu bakterii z rośliną. Bakterie PGPR, podobnie jak rośliny, syntetyzują IAA z tryptofanu przez kwas indolilopirogronowy. IAA u fitopatogenów produkowany z indoliloacetamidu bierze udział w tworzeniu guzów (*Agrobacterium tumefaciens*) i narośli (*Pseudomonas syringae*) (PATTEN i GLICK 2002).

Działanie auksyn roślinnych w czasie wzrostu korzenia jest wspomagane przez IAA, który jest wydzielany przez bakterie (LI i współaut. 2000, KALITKIEWICZ i KĘPCZYŃSKA 2008). Niski poziom bakteryjnego kwasu indololo-3-octowego stymuluje wydłużanie korzeni, zaś wysoki wpływa na formowanie korzeni bocznych i przybyszowych. Bakteryjny IAA reguluje poziom etylenu w roślinach poprzez zwiększenie transkrypcji i aktywności syntetazy ACC (LI i współaut. 2000) katalizującej syntezę prekursora etylenu w roślinach, kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksylowego (ACC). W ten sposób podwyższony jest poziom etylenu, określanego jako inhibitor wzrostu korzeni siewek. IAA stymuluje także aktywność deaminazy ACC w bakteriach (LI i GLICK 2001), której obecność jest korzystna dla roślin z uwagi na warunki stresowe (zanieczyszczenie, metale ciężkie, obecność fitopatogenów oraz susza) w środowisku. Stres powoduje, iż rośliny produkują większe ilości etylenu, który hamuje ich wzrost. Dlatego też dąży się do zwiększenia odporności roślin na szkodliwe działanie etylenu poprzez obniżenie jego poziomu, co można osiągnąć traktując rośliny bakteriami zawierającymi deaminazę ACC (GLICK 2005). Mikroorganizmy, w tym PGPR, produkują oprócz giberelin i auksyn, również cytokininy (KALITKIEWICZ i KĘPCZYŃSKA 2008).

POBUDZANIE KORZENI DO POBIERANIA ZWIĄZKÓW MINERALNYCH

PGPR mogą poprawić przyswajanie składników mineralnych przez korzenie. Proces zwiększenia stymulatorów wzrostu korzeni, tj. auksyn, giberelin, cytokinin oraz obniżenia ilości etylenu, skutkuje przyrostem masy korzeni. Powierzchnia kontaktowa rośliny z glebą zostaje zwiększona, co prowadzi do wzmożonego przyjmowania przez nie składników odżywczych, a tym samym „promowania” jej wzrostu. Stwierdzono, iż rośliny zaszczerpione bakteriami z rodzaju *Azospirillum* pobierają więcej N, P, K z gleby. Bakterie z rodzaju *Azospirillum* wiążą wolny azot, kiedy dostarczanie azotu związanego w podłożu staje się ograniczone. Wiązanie azotu u *Azospirillum* spp. jest regulowane (na poziomie transkrypcji) przez produkty genów zlokalizowanych na operonie *nifLA* oraz system regulatorowy (*ntr*) składający się z białek będących produktami pięciu genów. Wieloletnie badania naukowców pozwoliły na ustalenie ich kolejności i zmapowanie genów *nif* na chromosomie (KRÓL i ZIELEWICZ-DUKOWSKA 2005, KALITKIEWICZ i KĘPCZYŃSKA 2008). U bakterii z rodzaju *Azospirillum* wszystkie geny *nif* zostały zlokalizowane w genomie, wyjątek stanowi gatunek *A. brasilense*. Operony, takie jak: *nifHDKY*, *nifENX*, *nifUSV*, *nifW* i *fixABCX* zlokalizowano w regionie o 30 kb DNA (KRÓL i ZIELEWICZ-DUKOWSKA 2005). Region zawierający geny *nifA* oraz *nifB* zajmuje odrębną lokalizację w genomie, natomiast geny *draTG* znajdują się powyżej operonu *nifHDKY*. Operony *nif* podlegają pozytywnej kontroli przez samą syntetazę glutaminową (GS) lub przez produkt genu *rpoN*, który sprawdza syntezę tego enzymu. Regulacja genu *nif* u bakterii rodzaju *Azospirillum* jest sprzężona z regulacją asymilacji amoniaku i wiązania azotu u *Klebsiella pneumoniae*. W kaskadzie systemu regulacyjnego wiązania wolnego azotu biorą udział również operon *nifLA* oraz produkty białkowe pięciu innych genów, tj.: *ntrA*, *rpoN*, *ntrB*, *ntrC*, *glnB* i *glnD* (KRÓL i ZIELEWICZ-DUKOWSKA 2005, KALITKIEWICZ i KĘPCZYŃSKA 2008). Geny *rpoN* i *ntrA* kodują czynnik transkrypcyjny σ^{54} regulujący ekspresję wielu genów kodujących białka wchodzących w skład operonu *nif*. Liczne badania pokazały, że bakterie z mutacją w genie *rpoN* nie były zdolne do wiązania azotu, asymilacji azotanów i amoniaku. Najlepiej udokumentowany jest gatunek *Azospirillum brasilense* Sp7. W tym

szczepie oznaczono geny strukturalne i regulatorowe odpowiedzialne za asymilację NH_3 i wiązanie wolnego azotu (*nifA*, *ntrBC*, *glnA*, *glnB* i *draTG*).

Wiązanie azotu cząsteczkowego wymaga dużego wkładu energii. W pierwszym etapie elektrony są przenoszone na nitrogenazę za pośrednictwem flawodoksyny i ferredoksyny, a następnie z równoczesnym zużyciem 16 moli ATP na mol N_2 do nitrogenazy (KRÓL i ZIELEWICZ-DUKOWSKA 2005). Redukcja molekularnego azotu do 2 moli NH_3 wymaga 16 moli ATP (powyżej 40% całego komórkowego ATP). Molibdenowe nitrogenazy składają się z białka żelazowego (Fe-proteina) oraz białka molibdenowo-żelazowego (Mo-Fe-proteina). Fe-proteina stanowi dimer zawierający dwie podjednostki Fe_4S_4 (P-klaster). Pierwsze białko jest początkowo redukowane przez flawodoksynę lub ferredoksynę, a następnie elektron jest przenoszony na drugie białko, Mo-Fe-proteinę. Białko molibdenowo-żelazowe składa się z 4 podjednostek, które są parami, dwóch różnych typów w tetramerze - $\alpha_2\beta_2$. Podjednostki α i β składają się z 491-522 aminokwasów i zawierają 30 atomów żelaza. Dwa atomy molibdenu i labilne atomy siarki, rozdzielają się w dwa klastry: żelazo-molibden-kofaktor (Fe-Mo-Co) i klaster P. Enzymy są aktywowane drogą Fe-Mo-Co i kofaktor Co, który prawdopodobnie jest miejscem wiązania N_2 . Aktywna forma reduktazy nitrogenazowej składa się z dwóch różnych polipeptydów o m.c. 31 i 35 kDa. Aktywność reduktazy nitrogenazowej może być hamowana przez amoniak lub inne związki azotowe, np. chlorek amonowy, co było udokumentowane u bakterii *A. brasilense*, *A. lipoferum* i *A. amazonense*. Zahamowanie aktywności transkrypcyjnej operonu *nif* jest spowodowane reakcją jaka zachodzi pomiędzy N-końcem białka *nifA* (regulator transkrypcji operonu *nifHDK*) a cząsteczką amoniaku. W następstwie tej sytuacji dochodzi do inaktywacji białka regulatorowego. Czynnikiem ochronnym przed inaktywacją białka *nifA* w obecności amoniaku czy niskiego stężenia azotu jest białko P_{II} , produkt genu *glnB*.

Wśród bakterii spotykamy dwa systemy asymilacji żelaza. Pierwszy z nich, to system niskiego powinowactwa oparty na swobodnej dyfuzji, który jest czynny przy stężeniach żelaza rzędu 10 μM i wyższych (KRÓL i ZIELEWICZ-DUKOWSKA 2005). Drugi, to system wy-

sokiego powinowactwa do żelaza, działający w warunkach niedoboru tego pierwiastka, składający się z dwóch elementów: sideroforu i systemu aktywnego transportu. Z definicji sideroforów wynika, że należą one do niskocząsteczkowych związków o charakterze niebiałkowym i nieporfirynowym, wiążącym z dużą specyficznością jony żelazowe (III) (PENROSE i GLICK 2003). Są one wytwarzane przez grzyby i bakterie w warunkach niedoboru żelaza, a główną ich funkcją jest pozyskiwanie tego pierwiastka z jego trudno dostępnych związków kompleksowych, przeprowadzanie go w formę rozpuszczalną i udział w jego transporcie do komórek drobnoustrojów. Synteza przez bakterie sideroforów, o tak dużym powinowactwie do jonów żelaza, jak np. piowerdyny, ułatwia nie tylko ich przeżywanie i namnażanie się w glebie,

ale również kolonizację korzeni roślin (JANKIEWICZ 2009). Bakterie z rodzaju *Azospirillum* syntetyzują siderofory, które są głównie związkami hydroksamowymi lub fenolowymi i mają duże powinowactwo do Fe^{3+} (KRÓL i ZIELEWICZ-DUKOWSKA 2005). W procesie wiązania azotu cząsteczkowego, Fe i Mo są głównie potrzebne do budowy i funkcjonowania nitrogenazy. W większości przypadków u *A. lipoferum* siderofory były identyfikowane jako pochodne kwasu dihydroksybenzoowego (DHBA) – 2,3-DHBA i 3,5-DHBA. U *A. brasilense* RG, kwas 2,3-dihydroksybenzoowy związany z ornityną i seryną tworzy związek zwany spirillobaktyną. Związki te pośredniczą nie tylko w systemie transportu żelaza u mikroorganizmów, ale również biorą udział w procesach dysocjacji membranowej Fe^{3+} w komórkach roślin.

DZIAŁANIE POŚREDNIE – BIOLOGICZNE ZWALCZANIE PATOGENÓW ROŚLIN UPRAWNYCH

Do mechanizmów obronnego działania PGPR wobec roślin należą: konkurencja o niszę ekologiczną i o składniki odżywcze, produkcja antybiotyków i enzymów lizujących ściany patogenów roślinnych, produkcja metabolitów zwalczających patogeny i wywoływanie indukowanej systemicznej odporności (ang. induced systemic resistance, ISR) w roślinach gospodarza (PENROSE i GLICK 2003, COMPANT i współaut. 2005) lub stresów abiotycznych (PENROSE i GLICK 2003). Wokół korzeni znajdują się bogate w składniki odżywcze nisze przyciągające mnóstwo różnych drobnoustrojów, z uwzględnieniem fitopatogenów. PGPR ochrania rośliny przed fitopatogenami przez konkurencję o niszę i składniki w nich zawarte (COMPANT i współaut. 2005). Przeprowadzono badania dotyczące produkcji przez bakterie w warunkach *in vitro* przeciwgrzybowych i przeciwbakteryjnych metabolitów w tym antybiotyków. Wśród nich są: amoniak, butyrolakton, 2,4-diacetylochloroglucyna (DAPG), HCN, kwas fenazyno-1-karboksylowy (PCA), wiskozynamid, kanozamina, oligomycyna A, oomycyna A, ksantobakcyna i piowerdyna, jak również kilka innych nieznanych związków (DUFFY 2001, COMPANT i współaut. 2005). 2,4-DAPG jest jednym z najefektywniejszych metabolitów wtórnych i odgrywa ważną rolę w zwalczaniu chorób (grzybowych, bakteryjnych). Produkcja 2,4-DAPG została stwierdzona w kilku bakteryjnych szczepach z rodza-

ju *Pseudomonas*. Gen *phlD* jest włączony w biosyntezę DAPG i jest używany jako marker genetyczny w wykrywaniu produkcji DAPG wśród ryzobakterii (KALITKIEWICZ i KĘPCZYŃSKA 2008). Za pomocą metabolitów wykazujących aktywność antybiotyczną, jak np. pyrrolnitriny (Prn) czy pyoluteoriny (Plt), mikroorganizmy te są w stanie ograniczyć rozwój grzybów *Fusarium oxysporum*, *F. tabacinum*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium* sp. oraz bakterii *Erwinia* sp. czy *Streptomyces* sp. (LIGOCKA i współaut. 2005). Piowerdyna jest typowym sideroforem wytwarzanym przez fluoryzujące szczepy *Pseudomonas* (JANKIEWICZ 2010). Metabolity te stanowią skuteczne narzędzie hamowania wzrostu fitopatogenów, ponieważ właściwość piowerdyny ogranicza w znacznym stopniu dostęp zwalczanego mikroorganizmu do żelaza. Na syntezę antybiotyków przez mikroorganizmy wpływa dostępność składników odżywczych, a także zawartość makro- i mikroelementów, typ źródła węgla i jego zapas, pH, temperatura (DUFFY i współaut. 2003). Niektóre szczepy należące do rodzaju *Pseudomonas* wykazują zdolność do produkcji kwasu cyjanowodorowego (HCN), który posiada właściwości fungistatyczne i przyczynia się do eliminacji ze środowiska grzybów patogenicznych (DAVID i O'GARA 1994, SRIVASTAVA 2008). Interakcje między roślinami i patogenem powodują infekcję roślin przez patogeny, tzw. interakcję kompatybilną albo odporność rośliny

przeciw patogenom, tzw. interakcję niekompatybilną (KALITKIEWICZ i KĘPCZYŃSKA 2008). Odpowiedź lokalną (odporność miejscowa) zauważa się w organie rośliny pierwotnie zainfekowanym, a odporność systemiczną w odległym, jeszcze niezainfekowanym. Odporność systemiczna dzieli się na: 1) odporność indukowaną systemiczną (ang. induced systemic resistance, ISR) i 2) odporność nabytą systemiczną (ang. systemic acquired resistance, SAR) roślin przeciw fitopatogenom. Termin odporności indukowanej określono jako indukcję biotyczną wywołaną mikroorganizmami, jak i abiotyczną wywołaną przez substancje chemiczne (KALITKIEWICZ i KĘPCZYŃSKA 2008). Fenotypowe skutki szczepienia bakteriami mogą być podobne do wzbudzenia odporności czynnikami chemicznymi. ISR jest terminem używanym, by podkreślić, że jest to odporność wywołana przez biotyczne czynniki niechorobotwórcze, saprofity tj. PGPR, w której nie uwzględnia się syntezy kwasu salicylowego i produkcji białek obronnych (VAN LOON i współaut. 1998). Aktywacja

„odporności indukowanej systemicznej” przez niepatogenne drobnoustroje jest odmienna od nabytej odporności systemicznej (SAR), gdzie obecny jest bezpośredni kontakt rośliny z patogenami. Substancjami inicjującymi reakcje obronne i prowadzące do uruchomienia mechanizmu ISR są lipopolisacharydy (LPS) obecne w ścianie komórkowej bakterii Gram (-) (OKORSKI 2007). W tym celu zastosowano indukcję ISR fragmentem ściany komórkowej *Pseudomonas fluorescens* oraz oczyszczonym lipopolisacharydem dowodząc, iż tak samo aktywowały reakcję obronną jak zastosowanie szczepów ryzobakterii. Do likwidacji patogenów roślinnych przyczyniają się także enzymy lityczne produkowane przez niektóre PGPR. W badaniach GŁĄŻEWSKIEJ-MANIEWSKIEJ i współaut. (2004) analizowane szczepy bakterii z rodzaju *Arthrobacter* poprzez wytwarzanie enzymów proteolitycznych, przyczyniły się do hamowania wzrostu grzybów z rodzaju *Fusarium*. Podobne rezultaty uzyskały w swoich doświadczeniach KUREK i JAROSZUK (1997).

PODSUMOWANIE

Rynek biopreparatów stanowi niespełna 1% globalnego rynku pestycydów (OKORSKI 2007). Tak niewielki procent związany jest z problemem rejestracji preparatów biologicznych, wysokim kosztem jej prowadzenia, a także brakiem odpowiednich przepisów regulujących możliwość stosowania tej formy ochrony roślin. W Europie biologiczna ochrona stosowana jest w nieznacznym zakresie z uwagi na dostępność zaledwie kilku preparatów na rynku. Z kolei odwrotna sytuacja jest np. w USA, gdzie wybór podobnego rodzaju preparatów biologicznych jest znaczny. Obecnie bakterie PGPR wykorzystuje się w branżach związanych z rolnictwem i ogrodnictwem, aczkolwiek znajdują również

zastosowanie w bioremediacji środowiska (LUCY i współaut. 2004). W celu poznania działania bakterii PGPR prowadzone są testy polowe na szeroką skalę, które wykazują faktyczne zwiększenie plonów, np. sorga, pszenicy i jęczmienia nawet o 26%. W Polsce uprawy zbóż i innych roślin uprawnych są narażone na infekcje wieloma grzybowymi patogenami szczególnie z rodzaju *Fusarium* i *Alternaria* (JANKIEWICZ 2010). Stosowane chemicznych środków w zwalczaniu fitopatogenów jest kosztowne i szkodliwe dla środowiska naturalnego. Dlatego w ostatnich latach, obserwuje się wzmożone zainteresowanie biopreparatami, które mogą stanowić doskonałą alternatywę dla pestycydów.

STYMULACJA WZROSTU ROŚLIN PRZEZ BAKTERIE PGPR

Streszczenie

W strefie ryzosfery, zdefiniowanej jako objętość gleby będącą pod bezpośrednim wpływem korzeni roślin, występuje wiele drobnoustrojów mogących wywierać korzystny, neutralny lub niekorzystny wpływ na rośliny. Bakterie kolonizujące korzenie wywierają korzystny wpływ na wzrost gospodarza poprzez mechanizmy bezpośrednich lub pośrednich

zmian określanych jako promowanie wzrostu roślin (PGPR). Interakcje pomiędzy rośliną a mikroorganizmami w glebie odpowiadają za wzrost roślin, a także wpływają na zdrowotność i żyzność gleby. Mikroorganizmy te, określane jako biologiczne czynniki nawożenia (biofertilizers), stanowią korzystną alternatywę dla nawozów sztucznych.

STIMULATION OF PLANT GROWTH BY BACTERIA PGPR

Summary

In the zone of the rhizosphere, defined as the volume of soil that is under the direct influence of the roots of plants, there are many microorganisms that can have a positive, neutral or negative effect on plants. The bacteria that colonize the roots exert a positive impact on the growth of the host by direct or indirect mechanisms of change known as

plant growth promoting (PGPR). The interactions between the plants and soil microorganisms are responsible not only for the growth of plants, but affect also their health and fertility. These microorganisms, known as biofertilizers, represent a valuable alternative to chemical fertilizers.

LITERATURA

- ABDUL JALEEL C., MANIVANNAN P., SANKAR B., KISHORE-KUMAR A., GOPI R., SOMASUNDARAM R., PANNEERSELVAM R., 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids Surf. B* 60, 7–11.
- BARABASZ W., VOŘÍŠEK K., 2002. *Bioróżnorodność mikroorganizmów w środowiskach glebowych. [W:] Aktywność drobnoustrojów w różnych środowiskach.* BARABASZ W. (red.). Wyd. AR Kraków, 23–34.
- BOWEN G. D., 1994. *The ecology of ectomycorrhiza formation and functioning.* *Plant Soil* 159, 61–67.
- CATTELAN A. J., HARTEL P. G., FUHRMANN J. J., 1999. *Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth.* *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 1670–1680.
- COMPANT S., DUFFY B., NOWAK J., CLÉMENT C., BARKA E. A., 2005. *Use of plant growth promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects.* *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 4951–4959.
- DAVID N. D., O'GARA F., 1994. *Metabolites of Pseudomonas involved in the biocontrol of plant diseases.* *Trends Biotech.* 12, 133–141.
- DUFFY B. K., 2001. *Competition.* [W:] *Encyclopedia of plant pathology.* MALOY O. C., MURRAY T. D. (red.). John Wiley & Sons, Inc., New York, 243–244.
- DUFFY B. K., SCHOUTEN A., RAAIJMAKERS J. M., 2003. *Pathogen self-defence: mechanisms to counteract microbial antagonism.* *Annu. Rev. Phytopathol.* 41, 501–538.
- GLICK B. R., 2005. *Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase.* *FEMS Microbiol. Lett.* 251, 1–7.
- GLĄŻEWSKA-MANIEWSKA R., MACIEJEWSKA A., MELECH A., 2004. *Występowanie bakterii glebowych z rodzaju *Arthrobacter* ssp. w uprawie żyta ozimego oraz ich enzymatyczne i antagonistyczne właściwości.* *Acta Sci. Pol., Agricultura* 3, 129–137.
- HAYAT R., ALI S., AMARA U., KHALID R., AHMED I., 2010. *Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review.* *Ann. Microbiol.* DOI 10.1007/s.13213-010-0117-1.
- HUSEN E., 2003. *Screening of soil bacteria for plant growth promotion activities in vitro.* *Indon. J. Agricult. Sci.* 4, 27–31.
- JANKIEWICZ U., 2009. *Charakterystyka i znaczenie piowerdyn bakterii z rodzaju *Pseudomonas*.* *Post. Mikrobiol.* 48, 243–254.
- JANKIEWICZ U., 2010. *Bioaktywne metabolity ryzosferowych bakterii *Pseudomonas*.* *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie* 10, 83–92.
- KALITKIEWICZ A., KĘPCZYŃSKA E., 2008. *Wykorzystanie ryzobakterii do stymulacji wzrostu roślin.* *Biotechnologia* 2, 102–114.
- KAPULNIK Y., FELDMAN M., OKON Y., HENIS Y., 1985. *Contribution of nitrogen fixed Azospirillum to the N nutrition of spring wheat in Israel.* *Soil Biol. Biochem.* 17, 509–515.
- KING R. W., EVANS L. T., 2003. *Gibberellins and flowering of grasses and cereals: prizing open the lid of the "florigen" black box.* *Ann. Rev. Plant Biol.* 54, 307–328.
- KUMAR A., KUMAR A., DEVI S., PATIL S., PAYAL CH., NEGI S., 2012. *Isolation, screening and characterization of bacteria from Rhizospheric soils for different plant growth promotion (PGP) activities: an in vitro study.* *Rec. Res. Sci. Technol.* 4, 1–5.
- KUREK E., KOBUS J., 1990. *Korzystne i szkodliwe oddziaływanie mikroflory ryzosferowej na wzrost i rozwój roślin.* *Post. Mikrobiol.* 29, 103–119.
- KUREK E., JAROSZUK J., 1997. *The in vitro antagonism between Rhizobacteria nad Fusarium strains.* *Acta Microbiol. Pol.* 46, 65–73.
- KRÓL M. J., ZIELEWICZ-DUKOWSKA J., 2005. *Genetyka i biologia molekularna wiązania N bakterii z rodzaju *Azospirillum*.* *Post. Mikrobiol.* 44, 47–56.
- LATOUR X., PHILIPPOT L., CORBERAND T., LEMANCEAU P., 1999. *The establishment of an introduced community of fluorescent pseudomonas in the soil and in the rhizosphere is affected by the soil type.* *FEMS Microbiol. Ecol.* 30, 163–170.
- LI J., GLICK B. R., 2001. *Transcriptional regulation of the *Enterobacter cloacae* UW4 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase gene (*acdS*).* *Can. J. Microbiol.* 47, 359–367.
- LI J., OVAKIM D. H., CHARLES T. C., GLICK B. R., 2000. *An ACC Deaminase minus mutant of *Enterobacter cloacae* UW 4 no longer promotes root elongation.* *Curr. Microbiol.* 41, 101–105.
- LIGOCKA A., BAUZA-KASZEWSKA J., PALUSZAK Z., 2005. *Enzymatyczne i antagonistyczne właściwości fluoryzujących pałeczek z rodzaju *Pseudomonas*, wyizolowanych z ryzoplany lnu włóknistego.* *Acta Scientiarum Pol. Agricultura* 4, 47–55.
- LUCY M., REED E., GLICK B. R., 2004. *Applications of free living plant growth-promoting rhizobacteria.* *Antonie van Leeuwenhoek* 86, 1–25.
- MARTYNIUK S., KSIEŻAK J., 2011. *Ocena pseudomikrobiologicznych biopreparatów stosowanych w uprawie roślin.* *Pol. J. Agronom.* 6, 27–33.
- MONOHARACHARY C., MUKERJI K. G., 2006. *Rhizosphere Biology – an Overview.* [W:] *Microbial activity in the rhizosphere.* MUKERJI K. G., MONOHARACHARY C., SINGH J. (red.). Soil Biol. 7, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1–15.
- NANNIPIERI P., ASCHNER J., CECCHERINI M. T., LANDI L., PIETRAMELLARA G., RENELA G., VALORI F., 2007. *Microbial diversity and microbial activity in the rhizosphere.* *Ci Suelo (Argentina)* 25, 89–97.
- NATYWA M., SELWET M., 2012. *Wpływ nawożenia azotowego i deszczowania na liczebność bak-*

- terii z rodzaju *Pseudomonas* w glebie. Ekol. i Tech. 20, 115–124.
- OKORSKI A., 2007. *Biologiczna ochrona roślin przed chorobami-mechanizmy i perspektywy rozwoju*. Postępy Nauk Rolniczych. 5, 21–36.
- PATTEN C. L., GLICK B. R., 2002. *Role of Pseudomonas putida indoleacetic acid in development of the host plant root system*. Appl. Environ. Microbiol. 68, 3795–3801.
- PENROSE D. M., GLICK B. R., 2003. *Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria*. Physiol. Plant. 118, 10–15.
- SAHARAN B. S., NEHRA V., 2011. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review*. LSMR 21, 1–30.
- SANDHGA V., ALI S. Z., GROVER M., REDDY G., VENKATESWARLU B., 2010. *Effect of plant growth promoting Pseudomonas spp. on compatible solutes, antioxidant status and plant growth of maize under drought stress*. Plant Growth Regul. 62, 21–30.
- SHAHAROONA B., ARSHAD M., ZAHIR Z. A., KHALID A., 2006. *Performance of Pseudomonas spp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of maize (Zea mays L.) in the presence of nitrogenous fertilizer*. Soil Biol. Biochem. 38, 2971–2975.
- SRIVASTAVA R., 2008. *Antifungal activity of Pseudomonas fluorescens against different plant pathogenic fungi*. Electron. J. Envir. Agricult. Food Chem. 7, 2789–2796.
- VAN LOON L. C., BAKKER P. A. H. M., PIETERSE M. J., 1998. *Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria*. Annu. Rev. Phytopath. 36, 453–483.