

MONOGRAFIE I ROZPRAWY NAUKOWE

66

A large, stylized graphic of a green leaf, curved and pointing upwards and to the right, with a gradient from light green to dark green. It is positioned on the left side of the cover, partially overlapping the text area.

**PRACA ZBIOROWA POD REDAKCJĄ
ANNY GAŁĄZKI I JANUSZA PODLEŚNEGO**

**PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE
W ROLNICTWIE
I OCHRONIE ŚRODOWISKA**

PUŁAWY 2024

INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA I GLEBOZNAWSTWA
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
INSTITUTE OF SOIL SCIENCE AND PLANT CULTIVATION
STATE RESEARCH INSTITUTE

**MONOGRAFIE
I ROZPRAWY NAUKOWE**

66

PRACA ZBIOROWA POD REDAKCJĄ
ANNY GAŁĄZKI I JANUSZA PODLEŚNEGO

PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE
W ROLNICTWIE
I OCHRONIE ŚRODOWISKA

INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA I GLEBOZNAWSTWA
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY
INSTITUTE OF SOIL SCIENCE AND PLANT CULTIVATION
STATE RESEARCH INSTITUTE

Dyrektor: *prof. dr hab. Mariusz Matyka*

Redaktor naczelny: *prof. dr hab. Janusz Podleśny*

Recenzent: *prof. dr hab. Wiesław Barabasz*

Opracowanie redakcyjne i techniczne: *mgr Katarzyna Mikulska*

Autorzy:

*dr inż. Barbara Abramczyk, mgr Jarosław Ciepiel, dr Karolina Furtak,
prof. dr hab. Anna Gałązka, mgr Karolina Gawryjolek,
dr Anna Marzec-Grządziel, mgr Agata Janczarek, dr Monika Koziel,
dr inż. Sylwia Siebielec, dr Małgorzata Woźniak*

Opracowanie wykonano w ramach realizacji zadania 1.7 dotacji celowej MRiRW
w 2024 r. pt. „Preparaty mikrobiologiczne”

ISBN 978-83-7562-424-3
Publikacja elektroniczna

Wydawnictwo IUNG-PIB
Dział Komunikacji Nauki IUNG-PIB w Puławach
tel.: (81) 4786720, 725
e-mail: dkn@pulawy.pl; <http://www.iung.pulawy.pl>

Praca zbiorowa

pod redakcją Anny Gałązki i Janusza Podleśnego

PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE W ROLNICTWIE
I OCHRONIE ŚRODOWISKA

SPIS TREŚCI

I. PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE – POTRZEBY, SZANSE I ZNACZENIE – ANNA GAŁĄZKA	
1. WSTĘP.....	10
2. PODSTAWY PRAWNE	12
3. PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE – PRZEGLĄD I ZNACZENIE	13
4. PODSUMOWANIE	24
5. LITERATURA	25
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	28
II. ZNACZENIE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH DLA WZROSTU I OCHRONY ROŚLIN UPRAWNYCH – ANNA MARZEC-GRZĄDZIEL	
1. WSTĘP.....	31
2. RODZAJE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH.....	31
3. ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH	32
4. UDZIAŁ W OBIEGU PIERWIASTKÓW W ŚRODOWISKU.....	33
5. UDZIAŁ W BIODEGRADACJI SZKODLIWYCH SUBSTANCJI ...	35
6. ZWALCZANIE PATOGENÓW ROŚLINNYCH	37
7. PROMOWANIE WZROSTU I ROZWOJU ROŚLIN.....	38
8. IZOLACJA MIKROORGANIZMÓW ORAZ ICH CHARAKTERYSTYKA.....	39
9. PODSUMOWANIE	41
10. LITERATURA	41
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	45
III. CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW STOSOWANYCH W PRODUKTACH MIKROBIOLOGICZNYCH – BAKTERIE Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i> – MONIKA KOZIEL	
1. WSTĘP.....	48
2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i>	49
3. WIĄZANIE AZOTU ATMOSFERYCZNEGO.....	50
4. ROLNICZE I PRZEMYSŁOWE ZNACZENIE BAKTERII Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i> SPP.	51

5. WPŁYW BAKTERII Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i> NA WZROST I PŁONOWANIE ROŚLIN	53
6. AZOTOBAKTERYNA I INNE PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE NA BAZIE BAKTERII Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i>	55
7. PODSUMOWANIE	57
8. LITERATURA	58
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	65
IV. CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW STOSOWANYCH W PRODUKTACH MIKROBIOLOGICZNYCH – BAKTERIE Z RODZAJU <i>RHIZOBIUM</i> – MONIKA KOZIEŁ	
1. WSTĘP.....	68
2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU <i>RHIZOBIUM</i>	68
3. ETAPY WYTWARZANIA PREPARATÓW MIKROBIOLOGICZNYCH ZAWIERAJĄCYCH BAKTERIE Z RODZAJU <i>RHIZOBIUM</i>	71
4. NITRAGINA I INNE PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE NA BAZIE BAKTERII Z RODZAJU <i>RHIZOBIUM</i>	73
5. AKTUALNY STAN WIEDZY NA TEMAT BIONAWOZÓW RIZOBIOWYCH	74
6. PODSUMOWANIE	76
7. LITERATURA	77
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	80
V. MIKROORGANIZMY SOLUBILIZUJĄCE FOSFORANY I ICH POTENCJAŁ DO ZASTOSOWANIA W ROLNICTWIE ZRÓWNOWAŻONYM – MAŁGORZATA WOŹNIAK	
1. WSTĘP.....	83
2. ZNACZENIE FOSFORU W PRODUKCJI ROLNEJ.....	83
3. ŹRÓDŁA FOSFORU	84
4. MIKROORGANIZMY SOLUBILIZUJĄCE FOSFORANY.....	86
5. MECHANIZMY SOLUBILIZACJI.....	87
5.1. NIEORGANICZNYCH FORM FOSFORU	87
5.2. ORGANICZNYCH FORM FOSFORU	88
6. BADANIA LABORATORYJNE.....	89
7. ZASTOSOWANIE W ROLNICTWIE.....	90
8. PODSUMOWANIE	92

9. LITERATURA	92
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	97

**VI. BAKTERIE Z RODZAJU *BACILLUS* JAKO SKŁADNIK
BIOPREPARATÓW O SZEROKIM SPEKTRUM
ZASTOSOWANIA W ROLNICTWIE – KAROLINA FURTAK**

1. WSTĘP.....	100
2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU <i>BACILLUS</i>	100
2.1. WYSTĘPOWANIE.....	101
2.2. ZASTOSOWANIE	102
3. BAKTERIE Z RODZAJU <i>BACILLUS</i> W BIOPREPARATACH.....	104
3.1. PREPARATY DO OCHRONY ROŚLIN	104
3.2. STYMULATORY WZROSTU ROŚLIN I NAWOZY	106
4. OKOŁOROLNICZE OBSZARY ZASTOSOWANIA <i>BACILLUS</i> SP.....	109
4.1. BIOREMEDIACJA GLEB	109
4.2. AKWAKULTURY	110
4.3. PROBIOTYKI DLA ZWIERZĄT	110
5. PODSUMOWANIE	110
6. LITERATURA	111
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	115

**VII. BAKTERIE KWASU MLEKOWEGO I ICH ZASTOSOWANIE
W ROLNICTWIE – KAROLINA GAWRYJOLEK**

1. WSTĘP.....	117
2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII KWASU MLEKOWEGO.....	117
3. WYSTĘPOWANIE	118
4. METABOLITY BAKTERII KWASU MLEKOWEGO ORAZ ICH ZNACZENIE.....	119
5. ZASTOSOWANIE BAKTERII KWASU MLEKOWEGO.....	121
5.1. PRZEMYSŁ SPOŻYWCZY	121
5.2. PRZEMYSŁ CHEMICZNY	122
5.3. MEDYCYNA.....	122
5.4. ROLNICTWO.....	122
6. PODSUMOWANIE	129
7. LITERATURA	129
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	135

**VIII. GRZYBY MYKORYZOWE, GRZYBY ENDOFITYCZNE
I GRZYBY ENTOMOPATOGENICZNE JAKO SKŁADNIK
PREPARATÓW MIKROBIOLOGICZNYCH STOSOWANYCH
W ROLNICTWIE – AGATA JANCZAREK**

1. WSTĘP.....	138
2. GRZYBY MYKORYZOWE.....	138
2.1. WYKORZYTANIE GRZYBÓW MYKORYZOWYCH W PRAKTYKACH ROLNICZYCH	141
2.2. ZNACZENIE INTERAKCJI GRZYB MYKORYZOWY–ROŚLINA.....	143
3. GRZYBY ENDOFITYCZNE	145
3.1. INTERAKCJA GRZYB ENDOFITYCZNY–PATOGEN	147
3.2. INTERAKCJA ENDOFIT–ROŚLINA	148
4. GRZYBY ENTOMOPATOGENICZNE	150
5. PODSUMOWANIE	154
6. LITERATURA	154
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	165

**IX. WYKORZYSTANIE GRZYBÓW Z RODZAJU
TRICHODERMA SPP. W PREPARATACH
MIKROBIOLOGICZNYCH – BARBARA ABRAMCZYK**

1. WSTĘP.....	168
2. WŁAŚCIWOŚCI ANTAGONISTYCZNE <i>TRICHODERMA</i> SPP.....	169
2.1. KONKURENCJA O SKŁADNIKI ODŻYWCZE I PRZESTRZEŃ	170
2.2. ANTYBIOZA.....	171
2.3. MYKOPASOŻYTNICTWO.....	173
3. WSPOMAGANIE WZROSTU ROŚLIN	174
4. INDUKCJA ODPORNOŚCI ROŚLIN	175
5. <i>TRICHODERMA</i> SPP. JAKO ŚRODEK KONTROLI BIOLOGICZNEJ	176
6. PODSUMOWANIE	177
7. LITERATURA	177
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	183

X. POTENCJAŁ WYKORZYSTANIA BAKTERII DO WSPOMAGANIA EFEKTYWNOŚCI REMEDIACJI SKŁADOWISK I GLEB ZANIECZYSZCZONYCH METALAMI – SYLWIA SIEBIELEC	
1. WSTĘP.....	185
2. ZANIECZYSZCZENIA W ŚRODOWISKU PRZYRODNICZYM..	185
3. PIERWIASTKI ŚLADOWE – WPŁYW NA GLEBĘ I ROŚLINĘ ...	186
4. TECHNIKI FITOREMEDIACJI ZANIECZYSZCZONYCH GLEB	187
5. BAKTERIE W REMEDIACJI ZANIECZYSZCZONYCH GLEB ...	188
6. PODSUMOWANIE	190
7. LITERATURA	191
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	194
XI. RODZAJE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH STOSOWANYCH W ROLNICTWIE – JAROSŁAW CIEPIEL	
1. WSTĘP.....	197
2. NAWOZOWE PRODUKTY MIKROBIOLOGICZNE	197
3. BIONAWOZY.....	198
4. BIOPESTYCYDY	199
5. BIOSTYMULATORY	199
6. PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE	200
7. PODSUMOWANIE	201
8. LITERATURA	201
STRESZCZENIE/SUMMARY.....	203



Anna Gałązka

PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE
■ POTRZEBY, SZANSE I ZNACZENIE

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
tel. (0-81) 4786950
e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl

1. WSTĘP

Wzrastający udział gospodarstw rolnych nastawionych na jak największą produkcję często prowadzi do nieuwzględniania wymogów środowiska przyrodniczego i stanowi duże zagrożenie dla różnorodności biologicznej. Ze względu na intensywny rozwój rolnictwa, który wiąże się z nadużywaniem nawozów mineralnych i środków ochrony roślin przyczyniających się do zaburzenia równowagi w środowisku naturalnym, zastosowanie alternatywnych metod, do których zalicza się stosowanie produktów mikrobiologicznych zapewniających wzrost plonowania oraz ochronę roślin, jest bardzo zasadne (Grzyb i in. 2019, Pytlak i in. 2019, Kuźniar i in. 2021). Z uprawą gleby nierozzerwalnie wiąże się jakość środowiska glebowego (Domagała-Świątkiewicz 2005, Księżak i in. 2018, Smagacz 2000). Intensywna uprawa roli prowadzi do znacznej degradacji środowiska glebowego, co wymusza ciągłe poszukiwanie nowych technik uprawy, które sprzyjają ochronie gleby i jej bioróżnorodności (Gałązka i in. 2016). Rolnictwo zrównoważone, którego założenia sprzyjają zachowaniu naturalnego środowiska oraz wzrostowi produkcji bez ingerencji w naturalne zasoby środowiska przyrodniczego, bazuje na wspieraniu naturalnych procesów biologicznych bez naruszania procesów odtwarzających życie biocenozy i naturalną strukturę gleby (Kodeks Dobrej Praktyki Rolniczej 2002, Nannipieri i in. 2003, Augustyniak i Roszak 2017).

Obecnie w wielu krajach prowadzone są badania mające na celu poszukiwanie i zastosowanie pożytecznych grup mikroorganizmów w praktyce rolniczej. Dotychczas w efekcie tych badań opracowano i wdrożono do produkcji liczne biopreparaty, wśród których dominują produkty wykorzystywane w biologicznej ochronie roślin oraz zwiększaniu aktywności biologicznej gleb i jej bioróżnorodności (Basso i Diaz 2004, Derkowska i in. 2015, Churilov i in. 2019, Dubey i in. 2020).

Gleba składa się z cząstek mineralnych o różnej wielkości i kształcie oraz różnych właściwościach chemicznych w mieszaninie z korzeniami roślin, żywą populacją organizmów oraz materią organiczną w różnych stadiach rozwoju. Organizmy zasiedlające glebę tworzą złożony zespół o bardzo dużej liczebności zwany edafonem (Piwowar 2015, Woźniak i Gałązka 2019, Oszust i in. 2021). Są to mikroorganizmy, grzyby, jednokomórkowce roślinne i zwierzęce, rośliny naczyniowe oraz bezkręgowce bytujące w przypowierzchniowej warstwie gleby. Edafon może stanowić od 1 do 10% suchej masy substancji organicznej gleby (Nannipieri i in. 2003).

Ze względu na rozmiar organizmy żyjące w glebie można zaliczyć do trzech grup:

- mikrobiota (nieostrzegalne gołym okiem) – wirusy, bakterie, grzyby, pierwotniaki, glony;
- mezobiota (0,2–2 mm) – wazonkowce, nicienie, ślimaki, owady bezskrzydłe, wije, roztocza i inne, małe rośliny;
- makrobiota (>2 mm) – dżdżownice, krety, gryzonia, np. myszy polne, większe owady, korzenie dużych roślin i drzew.

Mikroorganizmy, tworząc wielogatunkowe zbiorowiska, wytwarzają sieć zależności między poszczególnymi grupami fizjologicznymi. Procesy syntezy i degradacji, przeprowadzane przez zbiorowiska mikroorganizmów, powinny być postrzegane jako suma funkcji, za które odpowiadają zespoły drobnoustrojów, a nie tylko pojedyncze gatunki (Yakhin i in. 2016, Yadav 2017). Badania aktywności mikroorganizmów w zbiorowiskach są niezbędne w celu poznania ich ekologii w biocenozach i powinny być analizowane w powiązaniu z istniejącymi warunkami środowiskowymi. Zwiększona liczebność drobnoustrojów glebowych oraz wyższa aktywność enzymatyczna są czułymi wskaźnikami decydującymi o prawidłowym układzie całego kompleksu właściwości glebowych stanowiących o żyzności i urodzajności gleby (Król 2013, Santoyo i in. 2016).

Mikroorganizmy (zarówno bakterie, jak i grzyby) stanowiące główny komponent nawozowych produktów mikrobiologicznych posiadają wiele ważnych cech biotechnologicznych, które wykorzystywane są do produkcji bionawozów, biostymulatorów lub biologicznych środków ochrony roślin, których czynnikiem aktywnym są właśnie mikroorganizmy (Gałązka i Kocoń 2015, Kyrychenko 2015, Singh i in. 2017, Toader i in. 2020). Do tej grupy biopreparatów należy zaliczyć także nawozowe produkty mikrobiologiczne, które zgodnie z ustawą o nawozach i nawożeniu (DzU z 2007 r. nr 147 poz. 1033) mogą zawierać mikroorganizmy, w tym mikroorganizmy martwe lub nieaktywne i nieszkodliwe substancje resztkowe z pożywek, na których zostały wyprodukowane, które nie zostały poddane żadnemu innemu przetwarzaniu niż suszenie lub liofilizacja.

Produkcja preparatów mikrobiologicznych jest aktualnie jednym z najszybciej rozwijających się segmentów rynku rolno-spożywczego. Obecne strategie UE, tzw. Europejski Zielony Ład (EZŁ) zakładają zwiększenie powierzchni upraw ekologicznych do 25% do 2030 r. Strategia na rzecz bioróżnorodności 2030 (COM 2020/380) jest wszechstronnym i długoterminowym planem mającym na celu ochronę przyrody i odwrócenie procesu degradacji ekosystemów. Ponadto unijna strategia ochrony różnorodności biologicznej jest zgodna ze strategią „od pola do stołu” oraz Misją Gleba, czyli głównego unijnego programu finansowania badań naukowych i innowacji. Celem tych programów jest m.in. zwiększenie różnorodności biologicznej gleb, w tym także poprzez stosowanie bioproduktów i preparatów mikrobiologicznych. Wzrastająca świadomość konieczności ograniczania nadmiernej chemizacji rolnictwa spowodowała, że znacząco zwiększyło się zainteresowanie naturalnymi środkami produkcji stosowanymi w rolnictwie (Komisja Europejska 2010). Jedną z takich obecnie prowadzonych koncepcji jest wykorzystanie biotechnologicznych cech i praktycznych właściwości mikroorganizmów do produkcji bionawozów, biostymulatorów lub biologicznych środków ochrony roślin, których czynnikiem aktywnym są mikroorganizmy (Grobelał i in. 2016, Jamily i in. 2019). Stosowanie w rolnictwie nawozowych produktów mikrobiologicznych mogłoby znacząco zmniejszyć zużycie środków ochrony roślin oraz nawożenia mineralnego, a tym samym zwiększyć aktywność biologiczną gleb i utrzymanie jej bioróżnorodności.

Powyższe założenia wpisują się także w tzw. Europejską strategię na rzecz bioróżnorodności. Do 2050 r. różnorodność biologiczna oraz usługi ekosystemowe EOG w Unii Europejskiej będą chronione i zostaną odpowiednio odtworzone ze względu na wartość różnorodności biologicznej samej w sobie oraz ich fundamentalny udział w zapewnianiu dobrobytu człowieka i koniunktury gospodarczej, tak aby uniknąć katastrofalnych zmian wywołanych przez utratę bioróżnorodności biologicznej (Kuźniar i in. 2021). Należy nadmienić, iż wszystkie wymienione powyżej programy wzajemnie się uzupełniają.

2. PODSTAWY PRAWNE

Preparaty mikrobiologiczne są wprowadzane na rynek w oparciu zarówno o prawo krajowe, jak i prawo wspólnotowe. Odnośnie prawa krajowego podstawą prawną jest obowiązująca Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu (DzU z 2023 r., poz. 569) – Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 czerwca 2008 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu (DzU Nr 119, poz. 765, z późn. zm.). Z kolei prawo wspólnotowe, to Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1009 z dnia 5 czerwca 2019 r. ustanawiające przepisy dotyczące udostępniania na rynku produktów nawozowych UE, zmieniające rozporządzenia (WE) nr 1069/2009 i (WE) nr 1107/2009 oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 2003/2003 (tekst mający znaczenie dla Europejskiego Obszaru Gospodarczego – EOG) (DzU L 170 z 25.06.2019). Według tego rozporządzenia na liście produktów nawozowych zawierających mikroorganizmy dopuszczone są następujące bakterie i grzyby: *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp., *Azospirillum* spp. oraz grzyby mykoryzowe. Ponadto produkt nawozowy UE należący do PFC (kategoria funkcji produktu) – PFC 6 biostymulator mikrobiologiczny może zawierać mikroorganizmy, w tym mikroorganizmy martwe lub nieaktywne i nieszkodliwe substancje resztkowe z pożywek, na których zostały one wyprodukowane, które nie zostały poddane żadnemu innemu przetwarzaniu niż suszenie lub liofilizacja. Istnieje konieczność oraz zasadność rozszerzenia listy mikroorganizmów wchodzących w skład biostymulatorów mikrobiologicznych/produktów nawozowych, określonych w CMC 7 (kategoria materiałów składowych), w części II załącznika II do rozporządzenia 2019/1009 (1) (DzU L 170 z 25.06.2019).

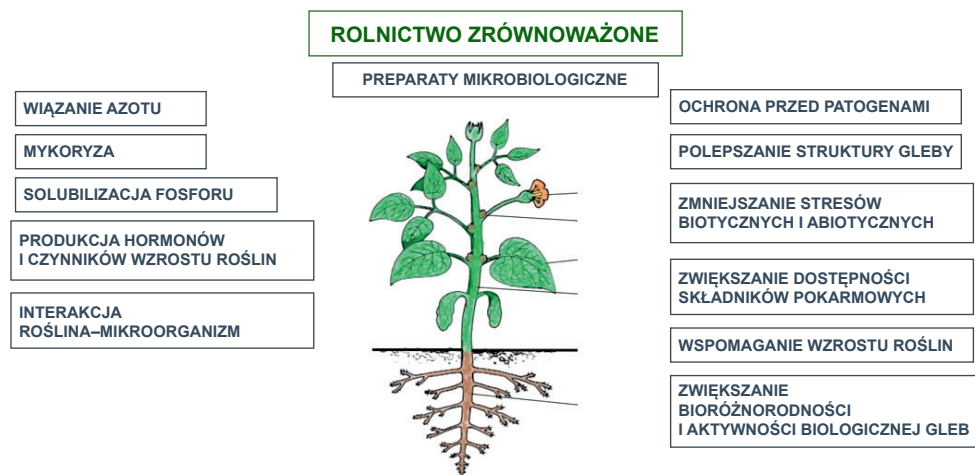
Z dniem 1 grudnia 2022 r. na mocy rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (DzU z 2022 r. poz. 2490) Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach (IUNG-PIB) został upoważniony do prowadzenia wykazu nawozowych produktów mikrobiologicznych. Według art. 2. ust. 1, pkt.10a ustawy o nawozach i nawożeniu (DzU z 2007 r. nr 147 poz. 1033) „nawozowe produkty mikrobiologiczne to produkty zawierające wyłącznie mikroorganizmy, w tym mikroorganizmy martwe lub nieaktywne, lub konsorcja tych mikroorganizmów oraz substancje stanowiące pożywkę dla tych mikroorganizmów i ich

metabolity, a także nieszkodliwe substancje resztkowe z pożywek, które poprawiają aktywność biologiczną gleby lub stymulują procesy odżywiania roślin lub grzybów, a wyłącznym celem ich zastosowania jest poprawa efektywności wykorzystania składników pokarmowych przez rośliny lub grzyby, ich odporności na stres abiotyczny, ich cech jakościowych lub przyswajalności przez nie składników pokarmowych z form trudno dostępnych w glebie”. Nawozowy produkt mikrobiologiczny umieszczany jest w wykazie prowadzonym przez Instytut na okres dwóch lat od daty dokonania wpisu do wykazu. Przed upływem terminu ważności wpisu podmiot zgłaszający zobowiązany jest do złożenia oświadczenia na piśmie o utrzymaniu procesu produkcyjnego oraz zachowaniu deklarowanego składu jakościowego. Brak oświadczenia w terminie skutkuje usunięciem produktu z wykazu nawozowych produktów mikrobiologicznych. Nawozowe produkty mikrobiologiczne zamieszczone w wykazie produktów naturalnych, które mogą być stosowane w rolnictwie ekologicznym, podlegają odrębnej procedurze weryfikacji i oceny.

3. PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE – PRZEGLĄD I ZNACZENIE

Rozwój badań mikrobiologicznych na przełomie XX i XXI wieku doprowadził do wyodrębnienia i zidentyfikowania wielu ważnych grup mikroorganizmów glebowych, a także do dokładniejszego poznania ich biologii, ekologii, fizjologii i kluczowej roli w przeprowadzaniu wyżej wymienionych procesów. W tym czasie rozwijały się również badania nad wykorzystywaniem w praktyce rolniczej różnych grup pożytecznych drobnoustrojów (Martyniuk i Książak 2011, Kuźniar i in. 2021). W efekcie tych badań opracowano i wdrożono do produkcji w różnych krajach liczne biopreparaty, wśród których dominują preparaty wykorzystywane w biologicznej ochronie roślin, czyli preparaty zawierające w swoim składzie mikroorganizmy antagonistyczne lub pasożytnicze w stosunku do patogenów i szkodników roślin oraz mniej liczne biopreparaty stymulujące aktywność mikrobiologiczną gleb lub korzystnie oddziałujące na wzrost i plonowanie roślin, np. zawierające mikroorganizmy symbiotyczne (Gałązka i Kocoń 2015, Singh i in. 2017, Mishra i in. 2019, Toader i in. 2020).

Preparat mikrobiologiczny swą aktywność opiera na działaniu organizmów. To produkt, który po zastosowaniu na nasiona, powierzchnię roślin bądź glebę kolonizuje ryzosferę lub wnętrze rośliny i wspomaga jej wzrost i rozwój poprzez zwiększenie dostępności podstawowych składników pokarmowych w wyniku naturalnych procesów, takich jak: wiązanie azotu, rozpuszczanie fosforu oraz poprzez syntezę substancji o działaniu stymulującym (Woźniak i Gałązka 2019) (rys. 1).



Rys. 1. Preparaty mikrobiologiczne – znaczenie w kontekście rolnictwa zrównoważonego (opracowanie własne)

Badania nad nowymi formułacjami mikroorganizmów powinny koncentrować się na ocenie biotechnologicznego potencjału biodostępności bakterii i grzybów, na biodostępności składników oraz na ich kontrolowanym uwalnianiu do środowiska. Włączenie biostymulatorów, bioregulatorów oraz produktów mykoryzowych do formuł nawozów zwiększa wydajność wykorzystania składników odżywczych z nawozów przez rośliny poprzez stymulację rozwoju korzeni i zwiększenie biodostępności składników (Mishra i in. 2019, Toader i in. 2020). Preparaty zawierające mikroorganizmy, np.: bionawozy, biopestycydy, nawozowe produkty mikrobiologiczne, wykorzystują naturalne procesy biologiczne do wspomagania wzrostu roślin, zwiększając ich odporność na stesy środowiskowe (abiotyczne) i choroby (stres biotyczny), a także poprawiają strukturę i jakość gleby. Mikroorganizmy zawarte w preparatach, takie jak: bakterie wiążące azot, bakterie mlekowe, bakterie solubilizujące fosfor, grzyby mykoryzowe czy pożyteczne bakterie glebowe, wspomagają obieg składników odżywczych, poprawiają zdolność roślin do pobierania wody i składników mineralnych, a także mogą skutecznie ograniczać populacje szkodników i patogenów (Kuźniar i in. 2021). Dostępne na rynku biopreparaty oparte na składnikach naturalnych, w szczególności pochodzenia roślinnego, jak również produkty zawierające w składzie wyselekcjonowane mikroorganizmy, stosowane jako element technologii uprawy roślin mogą przyczynić się do poprawy plonowania roślin uprawnych, z równoczesnym zachowaniem podstawowych funkcji gleby (Gałązka i in. 2015, Jamily i in. 2019). W tabeli 1 przedstawiono przykładowe preparaty wpisane na listę nawozowych preparatów mikrobiologicznych zawierające jeden, dwa lub trzy komponenty mikrobiologiczne (tab. 1).

Tabela 1

Przykłady zastosowania mikroorganizmów w nawozowych produktach
mikrobiologicznych (opracowanie własne)

Mikroorganizm	Nazwa produktu
Bakteryjne preparaty z jednym komponentem mikrobiologicznym	
<i>Azotobacter</i> sp.	Agrosonic Bacti – N AktywujPielęgnuj BACTIM Nutri N+ Bacto ViN BIO-Azotobakter Rośnij – Do Pomidorów Rośnij – Do Trawy Rośnij – Do Warzyw i Owoców
<i>Azotobacter chroococcum</i>	AZOTO VIP
<i>Azospirillum brasilense</i>	N-Zymes
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	BioamylorucaSTOPDeliaSTOP GLEBOSTAN INO BACT N MAXGLEB+ SINFINITYBACTO-LINE
<i>Bacillus azotofixans</i>	bi azot
<i>Bacillus megaterium</i>	bi fosfor BactoFos BACTRIUM
<i>Bacillus subtilis</i>	bi protect BioPlantControl BIO-Trichoderma PLUS CARMINE Efekt Bio
<i>Bacillus laterosporus</i>	Bakto ON-Stop
<i>Bacillus licheniformis</i>	Accudo®
<i>Bacillus</i> sp.	A Zero WG AGROSONIC BACTI-P AGROSONIC FUNGI Arcton WG BACILLUS VIP BACTIM FERTI BACTIM GLEBA BACTIM HORTI BACTIM LIŚCIE BACTIM NITRO+ BACTIM NUTRI P+ Fortis bac PHOSPHO Ambigel EcoDry Vitafer Soil FreePhos, BACTIM OMNIS BactoFungiStop BactoN BactoRol Azot BactoStym FULLPLON

cd. tab. 1

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<i>Bacillus</i> sp.	Bakto G-Stop Bakto ProFOS Bakto Kompleks BAKTO NH4+ BF-Active bi complex max bi safe bi seed bi słoma Biofosforin Green – Bio Azot Cellulad Kolorado Control Biomag Plon BioRePower BioRePower Max ChampiStym Convert WG ProBeet WG Ambio Life DuoProtect Elbio Bakfos Uodpornij FERTILE PRIMIS FitoProtect FORTIS PROTECT PRIMI Green shield Microfosfat Solid Microhumus Solid NITROAKTIV P azot z powietrza
<i>Bradyrhizobium</i>	Novobakt R Nutribak Bio Nutri-P OMA PRO BRASIKA PRO OstriniaSTOP Plo-N Bio Lider PRIMSEED BIOM ZBOŻA SPECIAL BACTER N+P AZOFOS SUBTILL VEGE SUBTILL BERRY ON-LIFE NITROGEN BACTERIA PHOSPHOR BACTERIA VitaSoil FreePhos BACTIM SŁOMA Zielona tarcza
<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	Turbosoy ATUVA Łubin
<i>Lactobacillus</i>	ENCERA SC AKRA MSB
<i>Lactobacillus plantarum</i>	EmFarma EmFarma Plus Ema 5 Ema 5 z wrotyczem
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	AzoStim BACTIM ENDOFIX FUNGILITIC NITROLEAF

cd. tab. 1

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<i>Pseudomonas</i>	BioRace SL Elbio FeN SL SyderoFERT
<i>Pantoea</i> spp.	BioSafe Biosimex PantoeaCare Crop Care Pantoea Care
<i>Pseudomonas putida</i>	Soluzymes
<i>Stenotrophomonas rhizophila</i>	ACTIV by Aphea.BioTM
<i>Methylobacterium symbioticum</i> SB23	BlueN Utrisha N
<i>Rhizobium</i>	Rhizobium groch Rhizobium seradela Rhizobium bobik Rhizobium koniczyna Rhizobium łubin Rhizobium lucerna Rhizobium wyka Rhizobium soja Rhizobium fasola BACTIM VECTOR BLUE Terra N-Efekt
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	FabaStym Alfa
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Novobakt Azo+ ATUVA® Groch & Bobik FabaStym Trifolii
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Novobakt Rhizo Soja Verruca Pro Soja PRIMSEED BIOM SOJA FabaStym Soya
<i>Rhizobium pisi</i>	Novobakt Rhizo Groch
<i>Neorhizobium galegae</i>	FabaStym Galega
<i>Rhizophagus irregularis</i>	MYCOGEL
<i>Bradyrhizobium lupini</i>	Novobakt Rhizo Łubin Verruca Pro Łubin
Grzybowe preparaty z jednym komponentem mikrobiologicznym	
<i>Glomus</i> spp.	Mycotech BIO
<i>Trichoderma</i>	Trichofit Vitafer Soil Protect, VitaSoil Protect Agrosonic Tricho CONDOR SHIELD BIO-Trichoderma B-Trichomax Mocne KORZENIE
<i>Coniothyrium</i>	Öko-ni WP
<i>Beauveria</i>	BORA

cd. tab. 1

Mikroorganizm	Nazwa produktu
Bakteryjne preparaty z dwoma komponentami mikrobiologicznymi	
<i>Azotobacter</i> <i>Arthrobacter</i>	AzotoPower Azot z natury
<i>Azospirillum lipoferum</i> <i>Azotobacter chroococcum</i>	Novobakt Azo+
<i>Azotobacter vinelandii</i> <i>Methylobacterium extorquens</i>	Nitro Pro
<i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus subtilis</i>	GROW
<i>Bacillus velezensis</i> AGN15 <i>Bacillus velezensis</i> AGN16	ACTYZ Field UP
<i>Bacillus</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp.	Uodpornij – Do Pomidorów Uodpornij – Do Trawy Uodpornij – Do Warzyw i Owoców Wzmocnij
<i>Bacillus</i> <i>Pseudomonas</i>	BACT zdrowie BaktoTarcza S FosfoPower Gard H Geumano Control NATURALNA ODPORNOŚĆ – rośliny ozdobne NATURALNA ODPORNOŚĆ – warzywa i owoce REGENERACJA I STYMULACJA SKUTECZNE PRZESADZANIE SuperPower WZROST ZE SMAKIEM – BUJNE KWIATY, SOCZYSTA ZIELEŃ – BIOLOGICZNY UKORZENIACZ
<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Pseudomonas</i> sp.	Bio-Bacthur
<i>Pseudomonas</i> sp. <i>Azotobacter</i> sp.	BIO-Supl Bio Azot
<i>Bacillus</i> spp. <i>Azotobacter</i> spp.	NUTRI BIO FERT
<i>Bacillus</i> <i>Yarrownia</i>	bi system24
<i>Rhizobium lupini</i> <i>Bradyrhizobium</i> sp. (<i>Lupinus</i>)	FabaStym Combo
<i>Rhizobium leguminosarum</i> <i>Rhizobium pisi</i>	Verruca Pro Groch/Bobik FabaStym Vicia
Bakterie kwasu mlekowego <i>Saccharomyces</i>	BIOKURATOR
Mezofilne bakterie fermentacji mlekowej Szczyepy drożdży probiotycznych	EM ReviGreen EM OGRÓD

cd. tab. 1

Mikroorganizm	Nazwa produktu
Drobnoustroje tlenowe mezofilne Bakterie fermentacji mlekowej	Terra Biosa Probios Terra Biosa Probios Plus do Sadów i Ogrodów
<i>Bacillus mucilaginosus</i> <i>Ochrobactrum</i> sp. I-4362	INO SEED BACT
Bakteryjno-grzybowe preparaty z dwoma komponentami	
<i>Bacillus</i> <i>Trichoderma</i>	Vitafer Soil FastRecovery, VitaSoil FastRecovery N-FORTEMADSOILFIDELGREENBIONPROOCTACTSOIL HUMIZATOR
Bakteryjne i bakteryjno-grzybowe preparaty z trzema komponentami	
<i>Arthrobacter</i> sp AGN14 <i>Methylobacterium</i> sp AGN12 <i>Methylobacterium</i> sp AGN13	N-LEAF
<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Trichoderma</i>	BioFieldControl
<i>Peanibacillus azotofixans</i> <i>Azotobacter chroococcum</i> <i>Bacillus megaterium</i>	BacterX MAX
<i>Bacillus</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp.	NATURALNA ODPORNOŚĆ – trawnik REWITALIZACJA GLEBYŻYZNA GLEBA REGENERACJA PODŁOŻA BactoShield F
<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	BactoRol Plus
<i>Azotobacter</i> sp. <i>Bacillus</i> spp. <i>Lactobacillus</i> spp.	Pielęgnuj
<i>Azotobacter croococcum</i> <i>Azospirillum brasilense</i> <i>Bacillus megatherium</i>	AZOTER F
<i>Methylobacterium</i> sp. AGN12 <i>Methylobacterium</i> sp. AGN13 <i>Arthrobacter</i> sp. AGN1 4	INO FIX N
<i>Bacillus</i> <i>Paecilomyces</i> <i>Pochonia</i>	OtiorSTOP P-Drakol Nematado
<i>Serratia marcescens</i> <i>Serratia plymuthica</i> <i>Pseudomonas protegens</i>	B-Fert Zielony ROZKWIT

cd. tab. 1

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<i>Trichoderma</i> sp. BH1 <i>Penicillium</i> sp. BH2 <i>Aspergillus</i> sp. BH3	B-Decomposer
Bakterie kwasu mlekowego <i>Saccharomyces</i> <i>Rhodopseudomonas</i>	FUNDAMENTAL
<i>Bacillus subtilis</i> LMG 12379 <i>Pseudomonas putida</i> LMG S-32917 <i>Trihoderma harzianum</i> THM 308	Delsol plus
<i>Rhizoglofus irregularis</i> BEG72 1400 <i>Bacillus megaterium</i> MHBM06 <i>Bacillus megaterium</i>	AEGIS SYM IRRIGA
<i>Azospirillum lipoferum</i> <i>Azotobacter chroococcum</i> <i>Bacillus megaterium</i>	Novobakt AzoFosfo
<i>Arthrobacter</i> sp. AGN14 <i>Methylobacterium</i> sp. AGN12 <i>Methylobacterium</i> sp. AGN13	NITROFUSION
<i>Bacillus</i> <i>Rhizobium</i> <i>Agrobacterium</i>	NPK biofix
<i>Bacillus</i> <i>Rhizobium</i> <i>Paenibacillus</i> sp.	NITRO biofix

Z badań naukowych wynika, iż stosowane systematycznie preparaty mikrobiologiczne wpływają korzystnie na prawidłowy rozwój roślin (Gałązka i in. 2017, Kuźniar i in. 2019 i 2021). Dodatkowo w połączeniu z biopreparatami zawierającymi związki występujące naturalnie w przyrodzie są doskonałym rozwiązaniem, biorąc pod uwagę naturalne nawożenie upraw. Stosowanie preparatów mikrobiologicznych może okazać się niezbędne w obliczu intensyfikacji produkcji rolnej i coraz większych zmian klimatu. Jeśli chodzi o ograniczanie negatywnego oddziaływania czynników zewnętrznych, duże znaczenie odgrywa biostymulacja roślin. Obejmuje ona przede wszystkim: przyspieszanie procesów życiowych roślin, zwiększanie odporności roślin na warunki stresowe oraz stymulację rozwoju części nadziemnych i podziemnych roślin. Bardzo często są to rozwiązania związane z zastosowaniem konsorcjów bakteryjnych i/lub bakteryjno-grzybowych w biopreparatach. Na liście nawozowych preparatów mikrobiologicznych można znaleźć także produkty z więcej niż trzema komponentami mikrobiologicznymi (tab. 2).

Tabela 2

Przykłady zastosowania konsorcjów mikroorganizmów w nawozowych produktach mikrobiologicznych (opracowanie własne)

Mikroorganizm	Nazwa produktu
Bakteryjne i bakteryjno-grzybowe preparaty z czterema komponentami mikrobiologicznymi	
<i>Azotobacter</i> sp. BH1 <i>Azospirillum</i> sp. BH2 <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Serratia plymuthica</i>	B-Fert NPK Turbo OGRODNIK
<i>Azotobacter</i> <i>Azospirillum</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Frateuria aurentia</i>	Bactomix Forte NPK
<i>Bacillus megaterium</i> AGN01 <i>Bacillus mucilaginosus</i> AGN03 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> AGN07 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	BACK UP
<i>Bacillus</i> spp. <i>Streptomyces</i> spp. <i>Beauveria</i> spp. <i>Metarhizium</i> spp.	Metacide Plus
<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Streptomyces</i> sp. <i>Pseudomonas protegenes</i>	Novobakt Pro
<i>Bacillus megaterium</i> AGN01 <i>Streptomyces</i> sp. B11 <i>Brukholderia</i> sp. AGN02 <i>Rizophagus irregularis</i>	NO BACT P MYC
<i>Bacillus</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Streptomyces</i>	BaktoTarcza O BaktoTarcza P BaktoTarcza W Gard GGard T Gard V Rewital Max Pro
<i>Serratia marcescens</i> <i>Serratia plymuthica</i> <i>Pseudomonas protegens</i> <i>Pseudomonas</i> sp.	Domowa dżungla
<i>Bacillus</i> <i>Rhizobium</i> <i>Paenibacillus</i> sp. <i>Trichoderma</i>	TERRA biofix

cd. tab. 2

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<i>Pchanerochaete chrysosporium</i> <i>Trichoderma reesei</i> <i>Streptomyces</i> sp. <i>Bacillus</i> sp.	BacterX START
<i>Rhizophags irregularis</i> <i>Claroideoglopus luteum</i> <i>Claroideoglopus claroideum</i> <i>Claroideoglopus etunicatum</i>	MycApply® EndoMaxx
Bakteryjne i bakteryjno-grzybowe preparaty wieloskładnikowe	
<i>Paenibacillus azotofixans</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus mucilaginosus</i> <i>Bacillus mycooides</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Mycorrhizal fungus</i>	Synergia Blue
<i>Trametes versicolor</i> <i>Pleurotus ostreatus</i> <i>Cellulomonas uda</i> <i>Cellulomonas gelida</i> <i>Aspergillus awamori</i> <i>Trichoderma reesei</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Synergia Split
<i>Paenibacillus azotofixans</i> <i>Priesta megaterium</i> <i>Paenibacillus mucilaginosus</i> <i>Bacillus mycooides</i> Grzyby mykoryzowe	BIOSPEKTRUM WG
<i>Lactobacillus</i> <i>Lacticaseibacillus</i> <i>Limosilactobacillus</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Bacillus</i>	Microbiotix Prevent Elbio Fungibactis
<i>Paenibacillus azotofixans</i> <i>Priesta megaterium</i> <i>Paenibacillus mucilaginosus</i> <i>Bacillus mycooides</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Mycorrhizal fungi</i>	BIOSTART WG

cd. tab. 1

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<i>Cellulomonas uda</i> <i>Cellulomonas gelida</i> <i>Trametes versicolor</i> <i>Pleurotus ostreatus</i> <i>Aspergillus awamorii</i> <i>Trichoderma reesei</i>	BIOSPLITO WG
<i>Lactobacillus</i> <i>Lacticaseibacillus</i> <i>Limosilactobacillus</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Bacillus</i>	Prevent Bio
<i>Lactobacillus</i> <i>Lacticaseibacillus</i> <i>Limosilactobacillus</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Rodhospseudomonas janowiec</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Bacillus</i>	Microbiotix Complex
<i>Lactobacillus</i> <i>Lacticaseibacillus</i> <i>Limosilactobacillus</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Rodhospseudomonas</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Bacillus</i>	Elbio Terra Ivo
<i>Metarhizium anisopliae</i> <i>Beauveria bassiana</i> <i>Bacillus aryabhatai</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Streptomyces</i>	BioCleanSoil
<i>Lactobacillus</i> <i>Lacticaseibacillus</i> <i>Limosilactobacillus</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Rodhospseudomonas</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Bacillus</i>	Complex Bio
<i>Azotobacter</i> sp. <i>Polyangium</i> sp. <i>Pseudomonas putida</i> sp. <i>Rhizobium</i> sp. <i>Streptomyces</i> spp. <i>Trichoderma harzianum</i> <i>Trichoderma viride</i>	Bio-Blend

Preparaty mikrobiologiczne mogą być stosowane zarówno bezpośrednio na roślinę, jak i doglebowo. Stosuje się je w formie oprysku oraz w postaci stałej (granulat, proszek). Wykorzystuje się je również w celu zaprawiania materiału siewnego. Zabiegi te powinny być jednak wykonywane w sezonie wegetacyjnym w regularnych odstępach 10–14 dni (Kuźniar i in. 2021, Poradnik... 2023). Ze stymulacją roślin związanych jest stosowanie preparatów mikrobiologicznych, które uzupełniają nawożenie upraw i ochronę roślin, wpływając tym samym na optymalizację kosztów związanych z produkcją roślinną. Do najważniejszych funkcji organizmów glebowych wchodzących w skład biopreparatów należą:

- rozkład i detoksykacja różnych substancji zanieczyszczających gleby (ksenobiotyków), np. zanieczyszczenia przemysłowe;
- rozkład i mineralizacja materii organicznej (resztki pozbiorowe, obornik i inne nawozy naturalne, komposty, poplony). W procesach tych oprócz mikroorganizmów istotną rolę odgrywa także fauna glebowa (dżdżownice, roztocza), w tym także różne produkty przemiany materii, np. śluzы bakteryjne czy glomaliny (substancje produkowane przez strzępki grzybów endomycoryzowych);
- ograniczanie rozwoju szkodników i patogenów roślin. Ta aktywność mikroorganizmów związana jest przede wszystkim z występowaniem w glebie konkurencji pomiędzy jej mieszkańcami, m.in. o pokarm, a także ze zjawiskami antagonizmu i nadpasożytnictwa;
- wiązanie azotu oraz tworzenie układów symbiotycznych z roślinami. Najlepiej znanym przykładem symbiozy mikroorganizmów glebowych z roślinami jest współżycie bakterii brodawkowych (rizobiów) z roślinami bobowatymi;
- mykoryza, czyli symbioza wielu gatunków grzybów glebowych z korzeniami roślin;
- produkcja substancji wzrostowych.

4. PODSUMOWANIE

Mikroorganizmy w rolnictwie i ochronie roślin są jednym z bardzo ważnych czynników decydujących o żyzności gleby, co przekłada się na wielkość i jakość uzyskiwanych plonów. Wśród licznych ich funkcji na szczególną uwagę zasługuje: użyźnianie i spulchnianie podłoża, uczestnictwo w obiegu pierwiastków, ograniczenie występowania agrofagów, stymulacja wzrostu i rozwoju roślin, zwiększenie odporności roślin. Aplikowanie preparatów mikrobiologicznych wiąże się też z ograniczeniem stosowania chemicznych środków ochrony roślin i nawozów mineralnych. Preparaty mikrobiologiczne umożliwiają także szybszą regenerację roślin oraz wpływają na fotosyntezę i przyspieszają procesy biochemiczne. Rozwój produkcji związany z wprowadzeniem na rynek preparatów mikrobiologicznych jest aktualnie bardzo intensywny. W wielu krajach prowadzone są badania mające na celu wykorzystanie pożytecznych grup mikroorganizmów w praktyce rolniczej.

Dotychczas w efekcie tych badań opracowano i wdrożono do produkcji liczne biopreparaty, wśród których dominują produkty promujące wzrost roślin oraz wykorzystywane w biologicznej ochronie roślin. Zawierają one w swoim składzie mikroorganizmy antagonistyczne lub pasożytnicze w stosunku do patogenów i szkodników roślin. Na rynku dostępne są również liczne produkty mikrobiologiczne stymulujące aktywność mikrobiologiczną gleb lub korzystnie oddziałujące na wzrost i plonowanie roślin, np. biopreparaty zawierające mikroorganizmy symbiotyczne (bakterie brodawkowe dla roślin bobowatych oraz grzyby mykoryzowe). Preparaty mikrobiologiczne stają się popularną ekologiczną alternatywą dla nawozów syntetycznych i środków ochrony roślin, co jest zgodne z koncepcją zrównoważonego rolnictwa, wytycznymi rolnictwa precyzyjnego oraz z celami EZŁ. Obecnie istnieje pilna potrzeba prowadzenia działań edukacyjnych oraz szkoleń dla praktyki w celu podniesienia wiedzy w zakresie stosowania nawozowych produktów mikrobiologicznych, ich zasadności i korzyści wpływających na środowisko glebowe i roślinę, w tym na zwiększenie bioróżnorodności.

5. LITERATURA

1. Augustyniak A., Roszak M.: Zastosowanie mikrobiologii w nowoczesnym rolnictwie. *Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce – Agronomia i Ochrona Roślin*, 2017, **1**: 7-12.
2. Basso N.M., Diaz O.L.: *Biotechnology and sustainable agriculture: Biofertilizers and Biopesticides*. Pugwash Workshop Biopesticide Industry, 2004, p. 1-14.
3. Churilov D., Polischuk S., Churilov G., Shemyakin A., Churilova V., Andreev K., Arapov I., Obidina I.: The possibility of using biopreparations based on nanoparticles of biogenic metals in crop production and plant protection. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2019, **422**, 012014; <https://10.1088/1755-1315/433/1/012014>
4. COM/2020/380: Komunikat Komisji do Parlamentu Europejskiego, Rady, Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-Społecznego i Komitetu Regionów: Unijna strategia na rzecz bioróżnorodności 2030. Przywracanie przyrody do naszego życia, Bruksela.
5. Derkowska E., Paszt L.S., Harbusov A., Sumorok B.: Root growth, mycorrhizal frequency and soil microorganisms in strawberry as affected by biopreparations. *Advancements of Microbiology*, 2015, **5**: 65-73.
6. Domała-Świątkiewicz I.: Wpływ działalności rolniczej na środowisko naturalne. Wydział Ogrodniczy AR w Krakowie, Katedra Uprawy Roli i Nawożenia Roślin, 2005, ss. 178.
7. Dubey A., Malla M.A., Kumar A., Dayanandan S., Khan M.L.: Plants endophytes: unveiling hidden agenda for bioprospecting toward sustainable agriculture. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2020, **40(8)**: 1210-1231.
8. Gąłzka A., Bigos J., Siebielec S.: Promowanie wzrostu roślin przez bakterie z rodzaju *Azospirillum* oraz ich zastosowanie w rolnictwie. *Polish Journal of Agronomy*, 2015, **23**: 48-62.
9. Gąłzka A., Gawryjołek K., Grządziel J., Księżak J.: Effect of different agricultural management practices on soil biological parameters including glomalin fraction. *Plant Soil and Environment*, 2017, **63(7)**: 300-306; doi: 10.17221/207/2017-PSE
10. Gąłzka A., Kocoń A.: Wpływ preparatów z mikroorganizmami pożytecznymi na liczebność i biomasę mikroorganizmów glebowych. *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 2015, **45(19)**: 127-142.

11. Gałązka A., Łyszcz M., Abramczyk B., Furtak K., Grządziel J., Czaban J., Pikulicka A.: Bioróżnorodność środowiska glebowego – przegląd parametrów i metod w analizach różnorodności biologicznej gleby. Monografie i Rozprawy Naukowe, IUNG-PIB, Puławy 2016, **49**: 1-100.
12. Grobelak A., Natora A., Hiller J., Kacprzak M.: Analysis of commercialisation possibilities of biopreparation „rhizofertum” for plant growth stimulation in unfavourable soil conditions. Acta Innovations, 2016, **19**: 45-51.
13. Grzyb A., Waraczewska Z., Niewiadomska A., Wolna-Maruwka A.: Czym są biopreparaty i jakie jest ich zastosowanie? Nauka Przyroda Technologie, 2019, **13(2)**: 65-76.
14. Jamily A.S., Koyama Y., Win T.A., Toyota K., Chikamatsu S., Shirai T., et al.: Effects of inoculation with a commercial microbial inoculant *Bacillus subtilis* C-3102 mixture on rice and barley growth and its possible mechanism in the plant growth stimulatory effect. Journal of Plant Protection Research, 2019, **59**: 193-205.
15. Kodeks Dobrej Praktyki Rolniczej, I. Duer, M. Fotyma, A. Madej (red.). Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, Ministerstwo Środowiska. Warszawa 2002, ss. 96.
16. Komisja Europejska, Fabryka życia. Dlaczego różnorodność biologiczna gleby jest tak istotna. Luksemburg, 2010, s. 1-24.
17. Król M.J.: Przemiany mikrobiologiczne potasu, magnezu, manganu i wapnia w glebie. Monografie i Rozprawy Naukowe, IUNG-PIB, Puławy 2013, **42**: 1-15.
18. Księżak J., Bojarszczuk J., Gałązka A., Niedźwiecki J., Gawryjolek K., Lenc L., Jeske M., Czyż E., Król M.: Badania nad wpływem sposobów przygotowania roli do siewu kukurydzy (*Zea mays* L.) w wieloletniej monokulturze i zmianowaniu. Monografie i Rozprawy Naukowe, IUNG-PIB, Puławy 2018, **58**: 1-120.
19. Kuzniara A., Włodarczyk K., Gromadzka P., Siara A., Wolińska A.: Aktualny stan wiedzy na temat biopreparatów stosowanych w rolnictwie. Wydawnictwo KUL, 2021, ss. 32.
20. Kuzniara A., Włodarczyk K., Wolińska A.: Agricultural and other biotechnological applications resulting from trophic plant-endophyte interactions. Agronomy, 2019, **9(12)**, 779; <https://doi.org/10.3390/agronomy9120779>
21. Kryuchenko O.V.: Market analysis and microbial biopreparations creation for crop production in Ukraine. Biotechnologia Acta, 2015, **8(4)**: 40-52.
22. Martyniuk S., Księżak J.: Ocena pseudomikrobiologicznych biopreparatów stosowanych w uprawie roślin. Polish Journal of Agronomy, 2011, **6**: 27-33.
23. Mishra B.K., Lal G., Sharma Y.K., Kant K., Saxena S.N., Dubey P.N.: Effect of microbial inoculants on cumin (*Cuminum cyminum* Linn.) growth and yield. International Journal of Seed Spices, 2019, **9**: 53-56.
24. Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G.: Microbial diversity and soil functions. European Journal of Soil Science, 2003, **54**: 655-670.
25. Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 27 stycznia 2023 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o nawozach i nawożeniu (DzU z 2023 r. poz. 569).
26. Osszust K., Pylak M., Frąc M.: *Trichoderma*-Based biopreparation with perbiotics supplementation for the naturalization of raspberry plant rhizosphere. International Journal of Molecular Sciences, 2021, **22(12)**, 6356; <https://doi.org/10.3390/ijms22126356>.
27. Piwoara A.: Środki biologiczne i biotechniczne w produkcji roślinnej. Zagadnienia Doradztwa Rolniczego, 2015, **4**: 92-102.
28. Poradnik preparaty mikrobiologiczne dla roślin rolniczych. IUNG-PIB, Puławy 2013, ss. 56; <https://doi.org/10.26114/por.iung.2023.12.01>

29. P y l a k M., Oszust K., Frąc M.: Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2019, **18**: 597-616.
30. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 czerwca 2008 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu (DzU nr 119 poz. 765, z późn. zm.).
31. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 1 grudnia 2022 r. w sprawie upoważnienia Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowego Instytutu Badawczego do prowadzenia wykazu nawozowych produktów mikrobiologicznych (DzU z 2022 r. poz. 2490).
32. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1009 z dnia 5 czerwca 2019 r. ustanawiające przepisy dotyczące udostępniania na rynku produktów nawozowych UE, zmieniające rozporządzenia (WE) nr 1069/2009 i (WE) nr 1107/2009 oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 2003/2003 (Tekst mający znaczenie dla EOG) (DzU L 170 z 25.6.2019).
33. S a n t o y o G., Moreno-Hagelsieb G., Orozco-Mosqueda C., Glick B.R.: Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research* 2016, **183**: 92-99.
34. S i n g h M., Kumar A., Singh R., Pandey K.D.: Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. *3 Biotech.*, 2017, **7(315)**, pp. 14; [https:// 10.1007/s13205-017-0942-z](https://doi.org/10.1007/s13205-017-0942-z)
35. S m a g a c z J.: Rola zmianowania w rolnictwie zrównoważonym. *Pamiętnik Puławski*, 2000, **120(2)**: 411-414.
36. T o a d e r G., Chiurciu V., Mrierean N., Sevciuc P., Filip V., Burnichi F., Trifan D., Luxita R., Catalin Ionut E., Toader V., Ilie L.: Economic advantages of using bacterial biopreparations in agricultural crops. In: *Agrarian Economy and Rural Development – Realities and Perspectives for Romania*, 2020, **11**: 230-237.
37. Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu (DzU z 2007 r. nr 147 poz. 1033).
38. W o ź n i a k M., Gałązka A.: Mikrobiom ryzosfery i jego korzystny wpływ na rośliny – aktualna wiedza i perspektywy. *Postępy Mikrobiologii*, 2019, **58(1)**: 59-69.
39. Y a d a v A.: Exploring the Potential of Endophytes in Agriculture: A Minireview. *Advances in Plants & Agriculture Research*, 2017, **6(4)**: 102-106.
40. Y a k h i n O.I., Lubyaynov A.A., Yakhin I.A., Brown P.H.: Biostimulants in plant science: a global perspective. *Frontiers in Plant Science*, 2016, **7**, 2049; [https://10.3389/fpls.2016.02049](https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02049)

PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE POTRZEBY, SZANSE I ZNACZENIE

Streszczenie

Słowa kluczowe: preparaty mikrobiologiczne, mikroorganizmy, bakterie, grzyby, nawozowe produkty mikrobiologiczne

W wielu krajach prowadzone są badania mające na celu wykorzystanie pożytecznych grup mikroorganizmów w praktyce rolniczej. Dotychczas w efekcie tych badań opracowano i wdrożono do produkcji liczne biopreparaty, wśród których dominują preparaty wykorzystywane w biologicznej ochronie roślin. Preparaty te zawierają w swoim składzie mikroorganizmy antagonistyczne lub pasożytnicze w stosunku do patogenów i szkodników roślin. Na rynku dostępne są również liczne produkty mikrobiologiczne stymulujące aktywność mikrobiologiczną gleb lub korzystnie oddziałujące na wzrost i plonowanie roślin, np. biopreparaty zawierające mikroorganizmy symbiotyczne (bakterie brodawkowe dla roślin bobowatych oraz grzyby mykoryzowe). W praktyce rolniczej stosowane są również produkty mikrobiologiczne stymulujące aktywność mikrobiologiczną gleb lub korzystnie działające na wzrost i plonowanie roślin. Stąd mimo dostępności badań przeprowadzonych z wykorzystaniem nawozowych produktów mikrobiologicznych, należy podjąć działania pozwalające na podniesienie kwalifikacji w zakresie stosowania nawozowych produktów mikrobiologicznych ich zasadności i korzyści wpływających na środowisko glebowe i roślinę.

MICROBIOLOGICAL PREPARATIONS — OPPORTUNITIES AND IMPORTANCE

Summary

Keywords: microbial, products, microorganisms, bacteria, fungi, fertilizing microbial products

In many countries, research is being conducted to use beneficial groups of microorganisms in agricultural practice. So far, as a result of this research, biopreparations have been developed and implemented for production, among which preparations used in biological plant protection dominate. These preparations contain antagonistic or parasitic microorganisms in relation to pathogens and plant pests. There are also microbiological products available on the market that stimulate

microbiological activity of soils or have a beneficial effect on the growth and yield of plants, e.g. biopreparations containing symbiotic microorganisms (nodule bacteria for legumes and mycorrhizal fungi). In agricultural practice, microbiological products that stimulate microbiological activity of soils or have a beneficial effect on the growth and yield of plants are also used. Hence, despite the availability of research conducted using microbiological fertilizer products, actions should be taken to improve qualifications in the field of using microbiological fertilizer products, their justification and benefits affecting the soil environment and the plant.



Anna Marzec-Grządziel

**II. ZNACZENIE PRODUKTÓW
MIKROBIOLOGICZNYCH DLA WZROSTU
I OCHRONY ROŚLIN UPRAWNYCH**

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
tel. (0-81) 4786958
e-mail: agrzadziel@iung.pulawy.pl

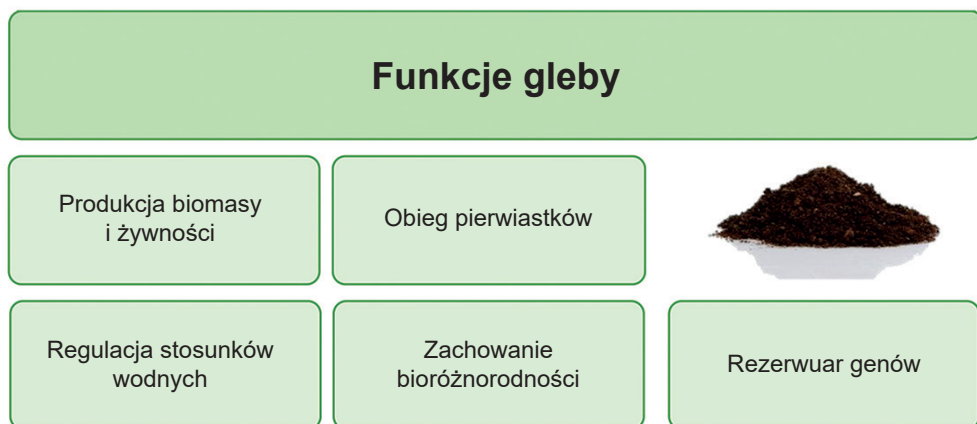
1. WSTĘP

Dynamiczny rozwój konwencjonalnych metod produkcji roślinnej wiąże się z wieloma negatywnymi skutkami dla środowiska, takimi jak: zmniejszanie zasobów naturalnych i żyzności gleb, pojawianie się nowych chorób roślin na terenach, gdzie wcześniej nie występowały, wzrost zapotrzebowania na wodę do nawadniania oraz spadek bioróżnorodności. Obecnie trwają intensywne poszukiwania rozwiązań, które mogłyby skutecznie przeciwdziałać tym problemom, jednocześnie zapewniając bezpieczeństwo środowisku i konsumentom produktów rolnych. Zarówno tradycyjne, jak i nowoczesne techniki badawcze umożliwiają identyfikację mikroorganizmów o korzystnych właściwościach, które mogą stanowić bazę dla nowych preparatów mikrobiologicznych. Ich zastosowanie może odegrać kluczową rolę w zwalczaniu patogenów, poprawie produkcji roślinnej (poprzez wspieranie wzrostu i rozwoju roślin) oraz rozkładzie szkodliwych substancji. Celem poniższych rozdziału jest przybliżenie podstaw wiedzy na temat preparatów mikrobiologicznych, a także ukazanie znaczenia mikroorganizmów glebowych w procesach takich jak: obieg pierwiastków i materii organicznej w ekosystemach, biodegradacja substancji toksycznych, ochrona przed patogenami oraz wspieranie rozwoju roślin. W końcowej części rozdziału omówione zostały również praktyki laboratoryjne stosowane przy izolacji i badaniach mikroorganizmów.

2. RODZAJE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH

Potrzeba ograniczenia stosowania nawożenia mineralnego oraz konieczność ochrony środowiska przyrodniczego doprowadziła do rozwoju prac nad stworzeniem preparatów, których główną substancję aktywną stanowią mikroorganizmy lub produkty ich metabolizmu (Augustyniak i Roszak 2017, Lekavičienė i in. 2021). Sama nazwa biopreparat jest połączeniem dwóch słów oznaczających życie – gr. *bios* oraz przygotowanie – łac. *preparatum* (Sosnowska 2019). Biopreparaty wykorzystują różne mechanizmy działania, mogą wywierać wpływ na glebę, roślinę lub jednocześnie na roślinę i glebę. Ich działanie opiera się na zwiększaniu wchłaniania substancji pokarmowych przez roślinę, ograniczaniu negatywnego wpływu abiotycznych czynników środowiskowych, na walce z fitopatogenami, zwiększaniu intensywności wzrostu i rozwoju roślin. W związku ze zróżnicowaniem pełnionych funkcji preparaty możemy podzielić na bionawozy (Singh i in. 2017), biostymulatory (Pylak i in. 2019), biopestycydy (Derkowska i in. 2015, Grzyb i in. 2019) oraz preparaty mikrobiologiczne (Sosnowska 2019). Natomiast ze względu na skład możemy rozróżnić preparaty bakteryjne, grzybowe, bakteryjno-grzybowe, enzymatyczne oraz zawierające wszystkie wyżej wymienione elementy (Toader i in. 2020). Preparat nierzadko składa się z mieszaniny różnych szczepów bakteryjnych i grzybowych. Odpowiedni dobór składników preparatu jest kluczowy w jego prawidłowym i efektywnym działaniu. Wykazano, że niejednokrotnie zastosowanie odpowiednie

go preparatu biologicznego pozwala na uzyskanie porównywalnych rezultatów jak po użyciu dostępnych na rynku środków chemicznych (Pylak i in. 2019). Dodatkowym argumentem przemawiającym za zastosowaniem biopreparatów jest ich zdecydowanie mniejsza szkodliwość dla środowiska naturalnego oraz wspieranie jego prawidłowego funkcjonowania (Kocira i in. 2020, Toader i in. 2020). Niemniejsze znaczenie mają tutaj także koszty użytkowania. Zarówno proces produkcji, jak i zastosowanie w uprawie wiążą się ze znacznie mniejszymi kosztami, niż ma to miejsce w przypadku nawozów mineralnych (Kuźniar i in. 2019). Należy jednak mieć na uwadze, że efektywność zastosowania biopreparatów uzależniona jest od odpowiedniego ich doboru, warunków środowiskowych i atmosferycznych (Pylak i in. 2019). Bakterie i grzyby stanowiące główny składnik biopreparatów izoluje się ze środowiska przyrodniczego, bardzo często bezpośrednio z gleby, która jest jednym z kluczowych elementów otaczającego nas środowiska. Szacuje się, że 25% wszystkich organizmów żywych ma swoje siedlisko właśnie w glebie (Bach i in. 2020), która odgrywa znaczącą rolę w życiu zarówno człowieka, jak i innych organizmów. Gleba jest wykorzystywana głównie w celu produkcji żywności, jednak pełni także kilka innych, kluczowych dla prawidłowego działania ekosystemu funkcji (Niedźwiecki 2019) (rys. 1).

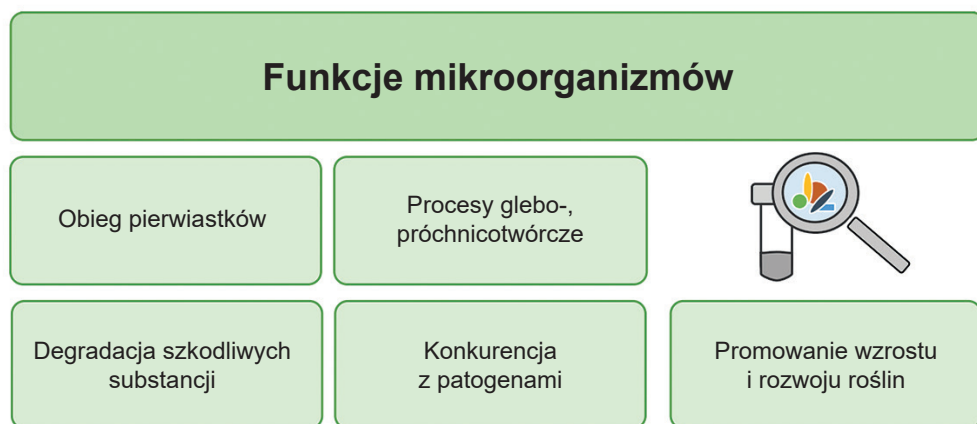


Rys. 1. Funkcje gleby w środowisku (opracowanie własne)

3. ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH

Mikroorganizmy zasiedlające glebę uważane są często za najważniejszy czynnik decydujący o jej żyzności i wielkości uzyskiwanych plonów. Warunki środowiska, czynniki biotyczne oraz abiotyczne wpływają na liczebność i skład mikroorganizmów w glebie (Gałązka 2020). Bakterie i grzyby obecne w środowisku odpowiadają za wiele zachodzących w nim procesów; ich liczebność podlega ciągłym wahaniom (rys. 2). Organizmy glebowe są zaangażowane w obieg pierwiastków w środowi-

sku, przez rozkład materii organicznej, wiązanie azotu atmosferycznego, uwalnianie fosforu z jego form nierozpuszczalnych (Król 2013, Martyniuk 2020). Mikroorganizmy mogą także wchodzić w układy symbiotyczne z roślinami, wpływając w ten sposób na ich wzrost i rozwój (Pasmionka 2017). Bakterie i grzyby glebowe stanowią też konkurencję dla patogenów roślinnych poprzez wydzielanie metabolitów w postaci hormonów i antybiotyków, lub mogą wpływać na reakcję odpornościową rośliny, ograniczając jej podatność na zakażenie (Grzegorzczuk i in. 2015). Niemniej ważną funkcją mikroorganizmów jest ich zdolność do rozkładu szkodliwych substancji (Kosicka-Dziechciarek i in. 2018). Stosunek poszczególnych grup mikroorganizmów powinien być na odpowiednim poziomie, przy czym w glebach zdegradowanych ulega on znacznym wahaniom. Liczebność i skład mikroorganizmów glebowych oraz ich aktywność metaboliczna stały się czułymi wskaźnikami wykorzystywanymi w licznych badaniach środowiskowych (Gałązka i in. 2016). Dbłość o wysoki stopień bioróżnorodności biologicznej w glebach jest kluczowa w celu utrzymania źródła mikroorganizmów o wysokim potencjale biotechnologicznym.

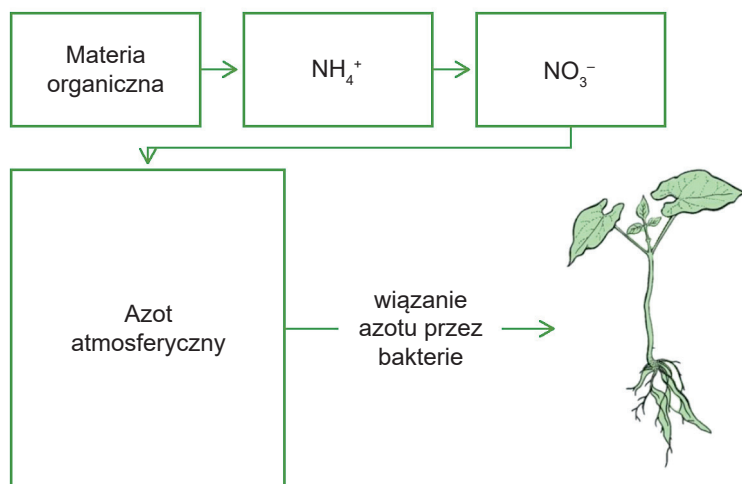


Rys. 2. Funkcje mikroorganizmów w środowisku (opracowanie własne)

4. UDZIAŁ W OBIEGU PIERWIASTKÓW W ŚRODOWISKU

Przykładem zaangażowania mikroorganizmów w obieg pierwiastków jest ich udział w przemianach azotu zamkniętego w materii organicznej gleby do form, które mogą być przyswajalne przez rośliny. Poszczególne grupy bakterii biorą udział w kolejnych procesach przemiany, które prowadzą do powstania kolejno jonów amonowych, azotanowych oraz azotu w formie atmosferycznej (Paśmionka 2017). Następnie bakterie posiadające zdolność do wiązania azotu atmosferycznego mogą nawiązywać symbiozę z rośliną-gospodarzem, tym samym umożliwiając jej korzystanie z tego pierwiastka (rys. 3) (Martyniuk 2020). Proces symbiozy jest bardzo skomplikowany i bierze w nim udział wiele czynników pochodzących zarówno od

bakterii, jak i od rośliny-gospodarza. Roślina produkuje liczne białka, substancje stanowiące swoiste atraktanty względem bakterii. Mikroorganizmy natomiast wytwarzają substancje zewnątrzkomórkowe (EPS, LPS), czynniki Nod, białka oraz niskocząsteczkowe składniki, które ułatwiają połączenie z komórkami gospodarza i nawiązanie symbiozy (Janczarek i in. 2014). Zjawisko to jest bardzo pożądane w przyrodzie oraz rolnictwie, ponieważ umożliwia roślinie wykorzystywanie azotu obecnego w środowisku, jednocześnie pozwalając na ograniczenie stosowania nawozów mineralnych.

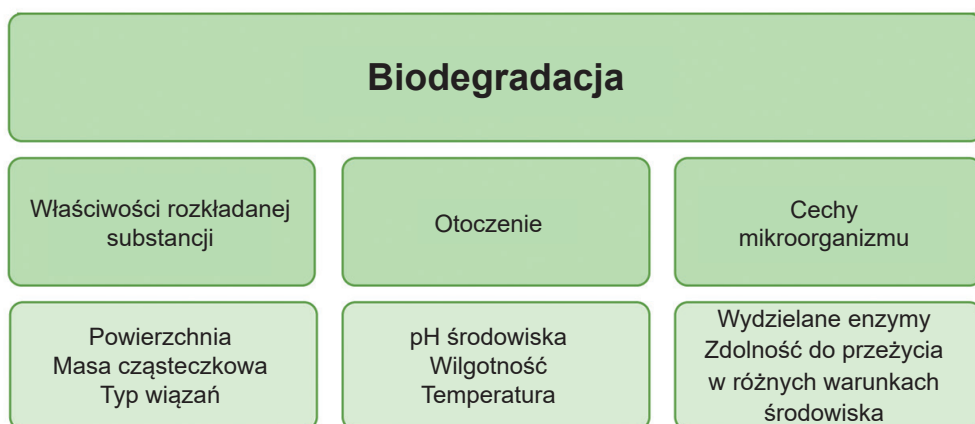


Rys. 3. Proces przemiany azotu w środowisku (opracowanie własne)

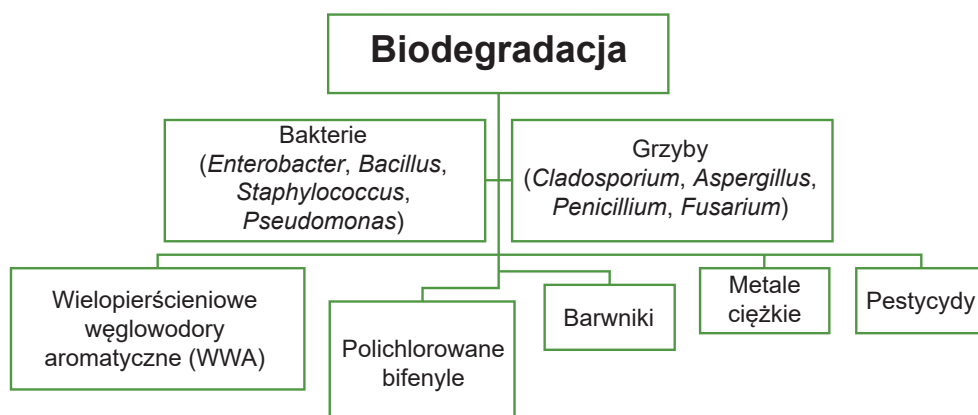
Jednym z kluczowych składników mineralnych niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania roślin jest fosfor. Pełni on funkcję budulcową, wchodząc między innymi w skład ATP, głównego nośnika energii w komórce. Bierze także udział w metabolizmie komórkowym. Jego niewystarczający poziom ma znaczący wpływ na wzrost i rozwój roślin (Kalayu 2019). Większość form tego pierwiastka obecnych w środowisku jest nieaktywna i w rezultacie nie może być przyswajana przez roślinę. Dlatego powszechne jest stosowanie nawozów mineralnych w celu zaspokojenia zapotrzebowania na ten pierwiastek w uprawie roślin. W celu ograniczenia zastosowania nawożenia mineralnego prowadzone są liczne badania nad możliwością wykorzystania bakterii solubilizujących fosfor. Ich mechanizm ten opiera się na wydzielaniu do środowiska metabolitów, które mają na celu zmianę pH oraz mineralizację organicznych form fosforu (Kumar i Kumawat 2014). Coraz częściej w praktyce stosowane są preparaty zawierające wyselekcjonowane szczepy bakterii o udokumentowanych zdolnościach do uwalniania fosforu. Największą aktywność wykazują zazwyczaj szczepy wyizolowane bezpośrednio z gleby, należące do takich taksonów, jak: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* oraz *Enterobacter* (Kozieł 2020).

5. UDZIAŁ W BIODEGRADACJI SZKODLIWYCH SUBSTANCJI

Działalność człowieka prowadzi do zanieczyszczenia naszego środowiska. Prowadzone są liczne badania mające na celu znalezienie mikroorganizmów, które potencjalnie mogłyby brać udział w bioremediacji oraz degradacji szkodliwych substancji w naszym otoczeniu. Sam proces degradacji uzależniony jest od kilku czynników (rys. 4). Procesowi biodegradacji mogą ulegać różne związki i substancje. Biorą w tym udział liczne rodzaje grzybów jak i bakterii (rys. 5). Mikroorganizmy zdolne do rozkładu szkodliwych substancji izoluje się z naturalnych, w dużej mierze zanieczyszczonych środowisk. Niejednokrotnie rozkład taki składa się z kilku etapów, w których biorą udział różne grupy mikroorganizmów. Dlatego często w procesach takich stosuje się nie jeden szczep, a mieszaninę mikroorganizmów.



Rys. 4. Czynniki wpływające na proces biodegradacji (opracowanie własne)



Rys. 5. Rodzaje mikroorganizmów biorących udział w biodegradacji szkodliwych substancji (opracowanie własne)

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) obejmują grupę priorytetowych zanieczyszczeń organicznych o krytycznym znaczeniu dla środowiska i zdrowia publicznego ze względu na ich toksyczne, genotoksyczne, mutagenne i/lub rakotwórcze właściwości oraz ich wszechobecne występowanie. Mikrobiologiczna degradacja WWA zależy od różnych warunków środowiskowych, takich jak składniki odżywcze, liczba i rodzaj mikroorganizmów, a także właściwości chemiczne degradowanego WWA (Ghosal i in. 2016). Liczne badania udowodniły, że różne bakterie degradują WWA, przy czym najszerszej badano degradację naftalenu i fenantrenu. Wykryto liczne szlaki metaboliczne warunkujące zdolność bakterii do degradacji WWA (Cerniglia 1992, Peng i in. 2008, Seo i in. 2009). Bakterie degradujące naftalen są szeroko obecne w środowisku, co udokumentowały liczne badania na ten temat. W analizach tych udowodniono nie tylko samą zdolność badanych bakterii do rozkładu naftalenu, ale przedstawiono także strukturę szlaków metabolicznych zaangażowanych w ten proces oraz budowę genów kodujących kluczowe dla tych mechanizmów enzymy i białka (Lu i in. 2011, Mallick i in. 2011). Wysoki odsetek izolatów degradujących WWA należy do rodzajów: *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Sphingobium* i *Novosphingobium*. Gatunki należące do tych rodzajów wykazują dużą wszechstronność kataboliczną oraz zdolność do degradacji szerokiej gamy związków naturalnych i ksenobiotycznych, w tym WWA (Basta i in. 2005, Peng i in. 2008, Stolz 2009, Vila i in. 2015). Podobnie jak w przypadku naftalenu istnieje szereg doniesień na temat degradacji fenantrenu przez różne gatunki bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich (Peng i in. 2008, Seo i in. 2009, Mallick i in. 2011). Ghosal i in. (2010) udokumentowali rozkład fenantrenu przez *Ochrobactrum* sp., wyizolowany z próbki gleby zanieczyszczonej odpadami komunalnymi. Inne WWA, takie jak antracen, fluoren, acenaften i acenaftylen, również występują w dużych ilościach w miejscach zanieczyszczonych, a różne gatunki bakterii są w stanie wykorzystywać te związki jako jedyne źródła węgla i energii (Moody i in. 2001, Peng i in. 2008, Seo i in. 2009, Mallick i in. 2011).

Niektóre pestycydy, np. chloroorganiczne, mają kluczowe znaczenie dla środowiska, ponieważ ze względu na ich stabilny charakter chemiczny wykazują wysoką trwałość. Klasyczna degradacja tych związków przy użyciu procesów fizykochemicznych jest ograniczona. Alternatywnie, biodegradacja przy użyciu mikroorganizmów wyizolowanych z zanieczyszczonych gleb wydaje się obiecująca. Toksyczność tych związków jest zmniejszana przez enzymy, które przeprowadzają utlenianie, redukcję, hydrolizę, odwodornienie, dehalogenację i dekarboksylację (Bose i in. 2021). Degradacja pestycydów może być prowadzona przez grzyby, bakterie i inne mikroorganizmy, które wykorzystują pestycydy jako źródło pożywienia. Większość mikrobiologicznej degradacji pestycydów zachodzi w glebie. Warunki glebowe, takie jak: wilgotność, temperatura, napowietrzenie, pH i ilość materii organicznej, wpływają na szybkość degradacji mikrobiologicznej ze względu na ich bezpośredni wpływ na wzrost i aktywność drobnoustrojów. Innym czynnikiem wpływającym na efektywność biodegradacji pestycydów jest częstotliwość ich stosowania. Szybka degradacja jest bardziej prawdopodobna, gdy ten sam pestycyd jest wielokrotnie

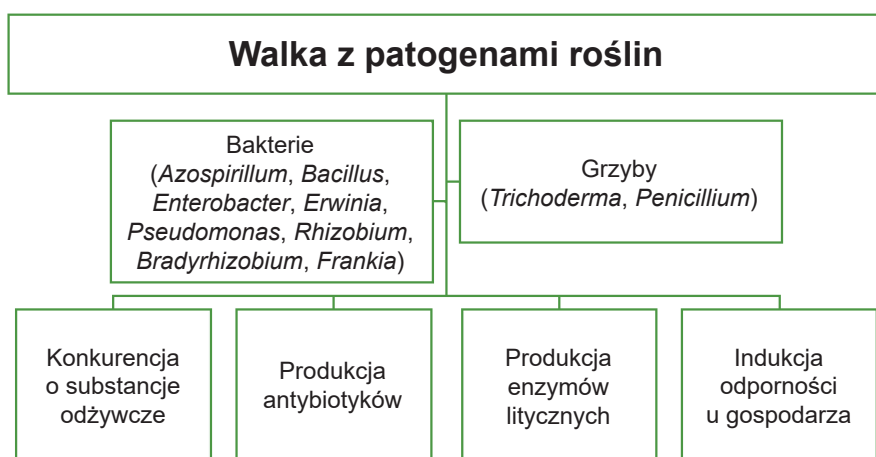
stosowany na danym polu. Powtarzające się aplikacje mogą bowiem powodować szybkie namnażanie się organizmów, które są skuteczne w degradacji danej substancji chemicznej (Mahmood i in. 2016).

6. ZWALCZANIE PATOGENÓW ROŚLINNYCH

Rośliny na każdym etapie swojego wzrostu i rozwoju narażone są na działanie szkodliwych patogenów, które mogą przyczyniać się do strat ekonomicznych oraz jakościowych. Oprócz tych względów ogromne znaczenie ma także fakt, że niektóre z tych patogenów mogą stanowić zagrożenie dla zdrowia i życia konsumenta (Liu i in. 2013). Dlatego konieczne jest stosowanie odpowiednich zabiegów zwalczających lub ograniczających działanie szkodliwych bakterii i grzybów. Najczęściej stosowane w rolnictwie preparaty chemiczne mogą nieść za sobą niekorzystne skutki zarówno dla środowiska, jak i człowieka. Dlatego coraz większą uwagę przykładą się do zastosowania mikroorganizmów obecnych w glebie, które mogą wykazywać zdolność do blokowania wzrostu bakterii i grzybów patogenicznych dla roślin (Grzegorzczuk i in. 2015). Do grzybów wykazujących działanie antagonistyczne względem patogenów zaliczyć możemy między innymi te należące do rodzajów: *Trichoderma*, *Pichia*, *Penicillium*. Najczęściej wykorzystywane są bakterie należące do rodzajów: *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* oraz *Frankia* (Liu i in. 2013) (rys. 6).

Hamowanie wzrostu patogenów może zachodzić przez mechanizmy bezpośrednie (produkcja antybiotyków, produkcja enzymów litycznych, konkurencja o substancje odżywcze) lub pośrednie (indukcja odporności u gospodarza) (rys. 6). Najczęściej występującym mechanizmem jest konkurencja o środowisko i substancje odżywcze. Zjawisko to zachodzi często w pobliżu miejsc zranienia rośliny, które są najbardziej narażone na atak ze strony patogenów. Korzystnie działające mikroorganizmy, namnażając się w tych miejscach, ograniczają obszar rozwoju bakterii i grzybów szkodliwych oraz zmniejszają pulę substancji odżywczych. Taki mechanizm działania potwierdzono u wielu szczepów drożdży należących do rodzajów: *Aureobasidium*, *Metschnikowia*, *Pichia*, działając antagonistycznie względem patogenów z rodzajów: *Botrytis*, *Penicillium* czy *Aspergillus* (Bencheqroun i in. 2007, Saravanakumar i in. 2008, Cao i in. 2013). Grzyby z rodzaju *Trichoderma* mają zdolność do produkcji enzymów, które zaburzają funkcjonowanie ścian komórkowych patogenu (Druzhinina i in. 2011). Do enzymów tych zaliczyć możemy chitynazy, glukonazy (Witkowska i in. 2009) oraz proteiny (Howell 2003). Prawdopodobnie głównym mechanizmem kontroli wzrostu patogenów grzybowych przez bakterie jest antybioza. Do związków o takim działaniu należą cykliczne lipopeptydy należące do ituryn oraz fengicyn, produkowane przez bakterie z rodzaju *Bacillus* (Ongena i Jacques 2008). Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* produkują natomiast antybiotyki, takie jak pyrrolonitryna oraz syryngomycyna (Spadaro i Gullino 2004, Sharma i in. 2009). Zastosowanie preparatów zawierających w swoim składzie mikroorganizmy produkujące antybiotyki niesie za sobą jednak ryzyko powstania zjawiska

oporności na te substancje i wykształcenie szczepów patogenów opornych. Ostatnim omawianym mechanizmem zwalczania patogenów przez mikroorganizmy zawarte w preparatach jest indukowanie odpowiedzi immunologicznej gospodarza roślinnego. Zjawisko to zachodzi przez wzmocnienie lub uruchomienie szlaków metabolicznych w komórkach gospodarza prowadzących do syntezy związków, które mogą doprowadzić do śmierci lub zahamowania wzrostu patogenu. Do związków tych zaliczamy zarówno białka (enzymy), jak i substancje o charakterze niebiałkowym (fitoaleksyny, reaktywne formy tlenu). Zjawisko to zachodzi w wyniku bezpośredniego kontaktu tkanki roślinnej z patogenem, jednak obecność mikroorganizmu antagonistycznego może znacząco wzmocniać to działanie (Hershkovitz i in. 2012). Antagonistyczne drożdże mogą wpływać na szlak syntezy etylenu w roślinach w wyniku ich kontaktu z patogenem należącym do *Penicillium* (Luo i in. 2012, Nunes 2012). Bakterie z rodzaju *Pantoea* indukowały natomiast szlak produkcji nadtlenu wodoru oraz białek enzymatycznych, zwiększając odporność pomarańczy na zakażenie patogenami (Nunes 2012). Już sama obecność w glebie grzybów z rodzaju *Trichoderma* działa ograniczająco na możliwość zakażenia roślin uprawnych należących do psiankowatych oraz bobowatych (Yedidia i in. 1999, Shimizu i in. 2013).



Rys. 6. Rodzaje mikroorganizmów biorących udział w walce z patogenami roślin
(opracowanie własne)

7. PROMOWANIE WZROSTU I ROZWOJU ROŚLIN

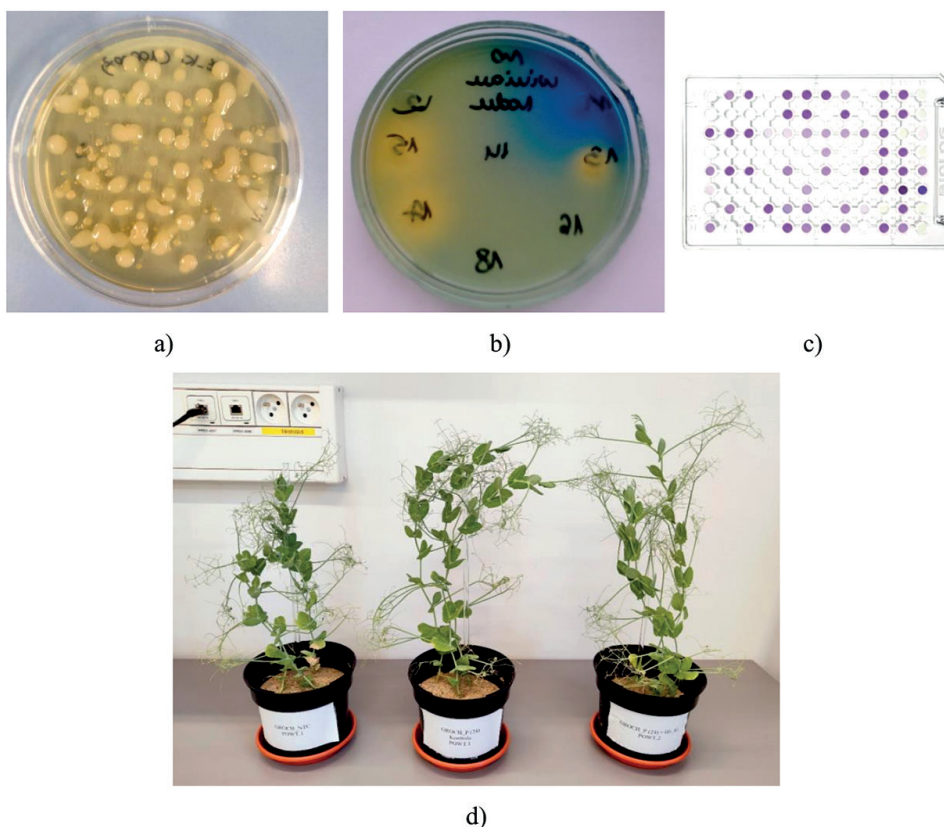
Bakterie i grzyby mogą wykazywać cechy warunkujące promowanie wzrostu i rozwoju roślin. Bakterie promujące wzrost i rozwój roślin określane są jako PGPR (ang. *plant growth-promoting rhizobacteria*). Zaliczamy do nich mikroorganizmy należące do rodzajów: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Frankia*, *Azospirillum* czy *Erwinia*. Mogą one bytować bezpośrednio w glebie, na powierzchni tkanek roślinnych lub w ich wnętrzu (bakterie endofityczne) (Pociejewska i in. 2014).

Mechanizmy działania PGPR możemy podzielić na bezpośrednie oraz pośrednie. Do pierwszej grupy zaliczamy zdolność szczepów do wiązania azotu atmosferycznego, uwalniania fosforu z form nierozpuszczalnych, produkcji fitohormonów, sideroforów oraz enzymów. Mechanizmy pośrednie opierają się na produkcji antybiotyków, zdolności do degradacji toksyn oraz produkcji enzymów. Udowodniono, że rośliny zaszczerpione bakteriami z rodzaju *Azospirillum* są w stanie pobrać ze środowiska więcej azotu, fosforu oraz potasu. Odpowiedzialne są za to między innymi procesy wiązania wolnego azotu atmosferycznego przez bakterie, które są warunkowane obecnością w genomie tych bakterii odpowiednich genów *nif* (Steenhoudt i Vanderleyden 2000, Mohanty i in. 2021). Analogiczne zjawisko zachodzi w czasie symbiozy bakterii z rodzaju *Rhizobium* z roślinami bobowatymi (Janczarek i in. 2014, Mohanty i in. 2021). Bakterie promujące wzrost i rozwój roślin są także zdolne do asymilacji żelaza ze środowiska i udostępniania go roślinie w łatwiej przyswajalnej formie. Zaangażowane są w ten proces produkowane przez mikroorganizmy siderofory oraz system aktywnego transportu (Jankiewicz 2009, Oo i in. 2020). Bakterie PGPR mogą także wpływać na wzrost i rozwój roślin przez produkcję fitohormonów, takich jak: auksyny, gibereliny i cytokininy. Gibereliny wpływają na proces kiełkowania nasion, proces kwitnienia oraz powodują zwiększony wzrost łodygi na długość. Jednocześnie mogą one wpływać na wzrost części podziemnych roślin. Zdolność do produkcji tych związków mają bakterie należące między innymi do rodzajów: *Bacillus*, *Azospirillum* oraz *Acetobacter*. Liczne bakterie PGPR produkują także auksyny, w tym kwas indolilo-3-octowy (IAA) biorący bezpośredni udział w kontakcie bakterii z tkankami roślinnymi. Bakteryjny IAA wpływa na wzrost korzeni bocznych i przybyszowych oraz reguluje poziom syntezy etylenu w roślinach. Cytokininy są hormonami szeroko rozpowszechnionymi w roślinach wyższych, algach i bakteriach (Tirichine i in. 2007). Spadek poziomu cytokinin w warunkach suszy powoduje zamknięcie aparatów szparkowych, tym samym ograniczając utratę wody z liści (Walters i McRoberts 2006, Weyens i in. 2009). Cytokininy stymulują także podziały komórkowe, co warunkuje ich korzystny wpływ na wzrost i plonowanie roślin (Hanano i in. 2006, Weyens i in. 2009).

8. IZOLACJA MIKROORGANIZMÓW ORAZ ICH CHARAKTERYSTYKA

Mikroorganizmy, które mogą być składnikiem preparatów mikrobiologicznych izoluje się bezpośrednio z gleby, ryzosfery bądź części roślinnych (rys. 7a). Użyte czyste hodowle bada się pod względem genetycznym oraz fenotypowym. Klasyczna analiza genetyczna (sekwencjonowanie typu Sanger) ma na celu przypisanie taksonomiczne badanego mikroorganizmu do rodzaju. Nowoczesne metody sekwencjonowania (NGS) pozwalają na analizę całego genomu. Badanie to daje duże możliwości poznania dogłębnej charakterystyki genetycznej analizowanego mikroorganizmu, określenia jego potencjalnych funkcji i możliwości. W genomie poszukiwane są geny kodujące białka biorące udział w takich procesach, jak: biolo-

giczne wiązanie azotu, promowanie wzrostu i rozwoju roślin, rozkład szkodliwych i toksycznych substancji. Analiza fenotypowa ma na celu określenie już właściwych funkcji, jakie może pełnić badana bakteria/badany grzyb. Wykorzystywane są tu metody klasyczne, gdzie mikroorganizm hodowany jest na szalkach Petriego w obecności podłoża zawierającego konkretne substancje. W ten sposób możemy zbadać wzrost mikroorganizmu w różnych warunkach (rys. 7b). Nowoczesne metody mikromacierzy (analiza BIOLOG) pozwalają na jednoczesną analizę wzrostu mikroorganizmu i jego zdolności do wykorzystywania wielu różnych substratów (różne źródła węgla, azotu, siarki, fosforu) czy możliwość przeżycia w różnych warunkach stresu chemicznego (pH, zasolenie) (rys. 7c). Na podłożach stałych oraz płynnych analizuje się także zdolność do produkcji związków, które potencjalnie mogą warunkować promowanie wzrostu i rozwoju roślin. Szczepy wykazujące potencjalnie najwięcej pożytecznych cech poddaje się biotestom, które mają na celu ukazanie zdolności analizowanych bakterii i grzybów do promowania wzrostu i rozwoju roślin (skala laboratoryjna, szklarnie) (rys. 7d).



Rys. 7. Analizy laboratoryjne przeprowadzane w czasie charakterystyki nowych szczepów mikrobiologicznych: a – izolacja bakterii z gleby; b – analiza rozkładu winianu sodu przez różne szczepy bakteryjne; c – analiza BIOLOG; d – biotest (opracowanie własne)

9. PODSUMOWANIE

Intensywny wzrost liczby ludności na świecie wymusza wzrost produkcji roślinnej oraz intensyfikację rolnictwa. Ważnym aspektem tego procesu jest poszukiwanie takich metod zwiększania tej produkcji, które byłyby bezpieczne zarówno dla środowiska, jak i konsumenta. Dużego znaczenia nabierają więc preparaty mikrobiologiczne, których głównym składnikiem są mikroorganizmy naturalnie obecne w środowisku. Preparaty takie stosowane są nie tylko w celu zwiększenia produkcji roślinnej, ale także do utrzymania jej jakości na odpowiednim poziomie oraz do detoksykacji szkodliwych substancji obecnych w środowisku. W związku z tym na całym świecie prowadzone są liczne badania mające na celu izolację i charakterystykę mikroorganizmów o potencjalnie najkorzystniejszych cechach.

10. LITERATURA

1. Augustyniak A., Roszak M.: Zastosowanie mikrobiologii w nowoczesnym rolnictwie. *Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce – Agronomia i Ochrona Roślin*, 2017, **1**: 7-12.
2. Bach E.M., Ramirez K.S., Fraser T.D., Wall D.H.: Soil biodiversity integrates solutions for a sustainable future. *Sustainability*, 2020, **12**: 2662-2673.
3. Basta T., Buerger S., Stolz A.: Structural and replicative diversity of large plasmids from sphingomonads that degrade polycyclic aromatic compounds and xenobiotics. *Microbiology*, 2005, **151**: 2025-2037.
4. Benchegroun S.K., Bajji M., Massart S., Labhilili M., Jaafari S.El, Jijakli M.H.: *In vitro* and *in situ* study of postharvest apple blue mold biocontrol by *Aureobasidium pullulans*: Evidence for the involvement of competition for nutrients. *Postharvest Biology and Technology*, 2007, **46**: 128-135.
5. Bose S., Kumar P.S., Vo D.V.N., Rajamohan N., Saravanan R.: Microbial degradation of recalcitrant pesticides: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 2021, **19**: 3209-3228.
6. Cao J., Zhang H., Yang Q., Ren R.: Efficacy of *Pichia caribbica* in controlling blue mold rot and patulin degradation in apples. *International Journal of Food Microbiology*, 2013, **162**: 167-173.
7. Cerniglia C.E.: Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 1992, **3**: 351-368.
8. Derkowska E., Paszt L.S., Harbuzov A., Sumorok B.: Root growth, mycorrhizal frequency and soil microorganisms in strawberry as affected by biopreparations. *Advances in Microbiology*, 2015, **5**: 65-73.
9. Druzhinina I.S., Seidl-Seiboth V., Herrera-Estrella A., Horwitz B.A., Kenerley C.M., Monte E., Mukherjee P.K., Zeilinger S., Grigoriev I.V., Kubicek C.P.: Trichoderma: The genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, **9**: 749-759.
10. Gałązka A.: Kształtowanie bioróżnorodności gleb – działania mające na celu poprawę bioróżnorodności środowiska glebowego. W: *Przegląd wybranych wskaźników do oceny bioróżnorodności i aktywności mikroorganizmów glebowych*, A. Gałązka, J. Podleśny (red.). IUNG-PIB, Puławy 2020, ss. 9-18.

11. Gałązka A., Łyszcz M., Abramczyk B., Furtak K., Grządziel J., Czaban J., Pikulicka A.: Bioróżnorodność środowiska glebowego – przegląd parametrów i metod w analizach różnorodności biologicznej gleby. Monografie i Rozprawy Naukowe, IUNG-PIB, Puławy 2016, **49**: 1-100.
12. Ghosal D., Chakraborty J., Khara P., Dutta T.K.: Degradation of phenanthrene via meta-cleavage of 2-hydroxy-1-naphthoic acid by *Ochrobactrum* sp. strain PWTJD. FEMS Microbiology Letters, 2010, **313**: 103-110.
13. Ghosal D., Ghosh S., Dutta T.K., Ahn Y.: Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. Frontiers in Microbiology, 2016, **7**: 1369-1395.
14. Grzegorz M., Szalewicz A., Żarowska B., Połomska X., Wątopek W., Wojtatowicz M.: Drobnoustroje w biologicznej ochronie roślin przed chorobami grzybowymi. Acta Scientiarum Polonorum, Biotechnologia, 2015, **14**: 19-42.
15. Grzyb A., Waraczewska Z., Niewiadomska A., Wolna-Maruwka A.: Czym są biopreparaty i jakie jest ich zastosowanie? Nauka Przyroda Technologia, 2019, **13**: 65-76.
16. Hanano S., Domagalska M.A., Nagy F., Davis S.J.: Multiple phytohormones influence distinct parameters of the plant circadian clock. Genes to Cells, 2006, **11**: 1381-1392.
17. Hershkovitz V., Ben-Dayan C., Raphael G., Pasmanik-Chor M., Liu J., Belausov E., Aly R., Wisniewski M., Droby S.: Global changes in gene expression of grapefruit peel tissue in response to the yeast biocontrol agent *Metschnikowia fructicola*. Molecular Plant Pathology, 2012, **13**: 338-349.
18. Howell C.R.: Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant Disease, 2003, **87**: 4-10.
19. Janczarek M., Rachwał K., Marzec A., Grządziel J., Palusińska-Szys M.: Signal molecules and cell-surface components involved in early stages of the legume-rhizobium interactions. Applied Soil Ecology, 2014, **85**: 94-113.
20. Janiewicz U.: Charakterystyka i znaczenie piowerdyn bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. Postępy Mikrobiologii, 2009, **48**: 243-254.
21. Kalaş G.: Phosphate solubilizing microorganisms: Promising approach as biofertilizers. International Journal of Agronomy, 2019, **7**: 1-12.
22. Kocira S., Hara P., Szparaga A., Czerwińska E., Beloev H., Findura P., Bajus P.: Evaluation of the effectiveness of the use of biopreparations as seed dressings. Agriculture (Switzerland), 2020, **10**: 90-102.
23. Kosicka-Dziechciarek D., Wolna-Maruwka A., Diatta J.B.: Znaczenie mikroorganizmów w rozkładzie związków ropopochodnych w glebie. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie, 2018, **18**: 57-68.
24. Kozieł M.: Bakterie solubilizujące fosfor – liczebność, mechanizm działania i znaczenie w produkcji roślinnej. W: Przegląd wybranych wskaźników do oceny bioróżnorodności i aktywności mikroorganizmów glebowych, A. Gałązka, J. Podleśny (red.). IUNG-PIB, Puławy 2020, ss. 87-104.
25. Król M.J.: Przemiany mikrobiologiczne potasu, magnezu, manganu i wapnia w glebie. Monografie i Rozprawy Naukowe, IUNG-PIB, Puławy 2013, **42**: 1-152.
26. Kumar R., Kumawat N.: Effect of sowing dates, seed rates and integrated nutrition on productivity, profitability and nutrient uptake of summer mungbean in Eastern Himalaya. Archives of Agronomy and Soil Science, 2014, **60**: 1207-1227.
27. Kuzniar A., Włodarczyk K., Wolińska A.: Agricultural and other biotechnological applications resulting from trophic plant-endophyte interactions. Agronomy, 2019, **9**: 779-793.

28. Lekavičienė K., Naujokienė V., Šarauskis E., Jasinskas A.: Influence of biopreparations on soil and crop residue properties, traction force of machines in shallow tillage. *Applied Sciences (Switzerland)*, 2021, **11**: 6018-6028.
29. Liu J., Sui Y., Wisniewski M., Droby S., Liu Y.: Review: Utilization of antagonistic yeasts to manage postharvest fungal diseases of fruit. *International Journal of Food Microbiology*, 2013, **167**: 153-160.
30. Lu X.Y., Zhang T., Fang H.H.P.: Bacteria-mediated PAH degradation in soil and sediment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, **89**: 1357-1371.
31. Luo Y., Zeng K., Ming J.: Control of blue and green mold decay of citrus fruit by *Pichia membranefaciens* and induction of defense responses. *Scientia Horticulturae*, 2012, **135**: 120-127.
32. Mahmood I., Imadi S.R., Shazadi K., Gul A., Hakeem K.R.: Effects of pesticides on Environment. *Plant, Soil and Microbes*, 2016, **1**: 253-269.
33. Mallik S., Chakraborty J., Dutta T.K.: Role of oxygenases in guiding diverse metabolic pathways in the bacterial degradation of low-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons: A review. *Critical Reviews in Microbiology*, 2011, p. 64-90.
34. Martyniuk S.: Znaczenie i metody badania glebowych populacji bakterii wiążących azot atmosferyczny W: Przegląd wybranych wskaźników do oceny bioróżnorodności i aktywności mikroorganizmów glebowych, A. Gałązka, J. Podleśny (red.) IUNG-PIB, Puławy 2020, ss. 67-86.
35. Mohanty P., Singh P.K., Chakraborty D., Mishra S., Pattnaik R.: Insight into the role of PGPR in sustainable agriculture and environment. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, **5**: 667150-667165.
36. Moody J.D., Freeman J.P., Doerge D.R., Cerniglia C.E.: Degradation of phenanthrene and anthracene by cell suspensions of *Mycobacterium* sp. Strain PYR-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, **67**: 1476-1483.
37. Niedźwiecki J.: Ocena aktualnego stanu żyzności gleb w Polsce. W: Ochrona bioróżnorodności gleby warunkiem zdrowia obecnych i przyszłych pokoleń, J. Podleśny, B. Kowalska (red.) IUNG-PIB, Puławy 2019, ss. 11-34.
38. Nunes C.: Biological control of postharvest diseases of fruit. *European Journal of Plant Pathology*, 2012, **133**: 181-196.
39. Ongena M., Jacques P.: *Bacillus lipopeptides*: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends in Microbiology*, 2008, **16**: 115-125.
40. Ok T., Win T.T., Khai A.A., Fu P.: Isolation, screening and molecular characterization of multifunctional plant growth promoting rhizobacteria for a sustainable agriculture. *American Journal of Plant Sciences*, 2020, **11**: 773-792.
41. Paśmionka I.: Mikrobiologiczne przemiany azotu glebowego. *Kosmos*, 2017, **66**: 185-192.
42. Peng R.H., Xiong A.S., Xue Y., Fu X.Y., Gao F., Zhao W., Tian Y.S., Yao Q.H.: Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiology Reviews*, 2008, **32**: 927-955.
43. Pocięjska M., Natywa M., Gałązka A.: Stymulacja wzrostu roślin przez bakterie PGPR. *Kosmos*, 2014, **305**: 603-610.
44. Pylak M., Oszust K., Frąc M.: Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2019, **18**: 597-616.
45. Saravana Kumar D., Ciavarella A., Spadaro D., Garibaldi A., Gullino M.L.: *Metschnikowia pulcherrima* strain MACH1 outcompetes *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* and *Penicillium expansum* in apples through iron depletion. *Postharvest Biology and Technology*, 2008, **49**: 121-128.

46. Seo J.S., Keum Y.S., Li Q.X.: Bacterial degradation of aromatic compounds. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2009, **6**: 278-309.
47. Sharma R.R., Singh D., Singh R.: Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biological Control*, 2009, **50**: 205-221.
48. Shimizu K., Hossain M.M., Kato K., Kubota M., Hyakumachi M.: Induction of defense responses in cucumber plants by using the cell-free filtrate of the plant growth-promoting fungus *Penicillium simplicissimum* GP17-2. *Journal of Oleo Science*, 2013, **62**: 613-621.
49. Singh M., Kumar A., Singh R., Pandey K.D.: Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. *3 Biotech*, 2017, **7**: 315-320.
50. Sosnowska D.: Parasitic and antagonistic fungi in biological plant protection in Poland. *Progress in Plant Protection*, 2019, **59**: 2019-2029.
51. Spadaro D., Gullino M.L.: State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, **91**: 185-194.
52. Steinhoudt O., Vanderleyden J.: Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: Genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, **24**: 487-506.
53. Stolz A.: Molecular characteristics of xenobiotic-degrading sphingomonads. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, **81**: 793-811.
54. Tirichine L., Sandal N., Madsen L.H., Radutoiu S., Albrektsen A.S., Sato S., Asamizu E., Tabata S., Stougaard J.: A gain-of-function mutation in a cytokinin receptor triggers spontaneous root nodule organogenesis. *Science*, 2007, **315**: 104-107.
55. Toader G., Chiurciu V., Mrierean N., Sevciuc P., Filip V., Burnichi F., Trifan D., Luxita R., Catalin Ionut E., Toader V., Ilie L.: Economic advantages of using bacterial biopreparations in agricultural crops. *Agrarian Economy and Rural Development – Realities and Perspectives for Romania*, 2020, **11**: 230-237.
56. Vila J., Tauler M., Grifoll M.: Bacterial PAH degradation in marine and terrestrial habitats. *Current Opinion in Biotechnology*, 2015, **33**: 95-102.
57. Walters D.R., McRoberts N.: Plants and biotrophs: a pivotal role for cytokinins? *Trends in Plant Science*, 2006, **11**: 581-586.
58. Weyens N., van der Lelie D., Taghavi S., Newman L., Vangronsveld J.: Exploiting plant-microbe partnerships to improve biomass production and remediation. *Trends in Biotechnology*, 2009, **27**: 591-598.
59. Witkowska D., Sotolas J., Kancelista A., Piegza M.: Uzdolnienia lityczne grzybów z rodzaju *Trichoderma* w obecności biomasy fitopatogenów. *Acta Scientiarum Polonorum Biotechnologia*, 2009, **8**: 17-25.
60. Yedidia I., Benhamou N., Chet I.: Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**: 1061-1070.

ZNACZENIE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH DLA WZROSTU I OCHRONY ROŚLIN UPRAWNYCH

Streszczenie

Słowa kluczowe: biopreparaty, produkcja roślinna, patogeny, substancje toksyczne, wzrost i rozwój roślin, izolacja mikroorganizmów

Intensywny rozwój konwencjonalnej produkcji roślinnej niesie za sobą liczne niekorzystne konsekwencje dla środowiska, takie jak: zmniejszanie się zasobów naturalnych oraz żyzności gleb, rozprzestrzenianie się chorób roślinnych, które dotąd nie były spotykane na danym terenie, zwiększone zapotrzebowanie na nawadnianie oraz ograniczanie bioróżnorodności. Obecnie poszukuje się nowych sposobów walki z tymi problemami, które byłyby bezpieczne zarówno dla środowiska, jak i konsumenta wytworzonego produktu. Klasyczne oraz nowoczesne metody analizy pozwalają na poszukiwanie mikroorganizmów o najkorzystniejszych cechach, które mogą być składnikiem nowych preparatów mikrobiologicznych. Ich zastosowanie może mieć ogromne znaczenie w walce z patogenami, zwiększaniu produkcji roślinnej (promowanie wzrostu i rozwoju roślin), rozkładzie toksycznych substancji. Przedstawione poniżej informacje mają na celu przybliżenie czytelnikowi podstaw wiedzy na temat rodzajów preparatów mikrobiologicznych, znaczenia mikroorganizmów glebowych w takich procesach, jak: obieg pierwiastków i materii organicznej w przyrodzie, biodegradacja szkodliwych substancji, walka z patogenami oraz promowanie wzrostu i rozwoju roślin. W końcowej części rozdziału przedstawione zostały także informacje na temat praktyk laboratoryjnych stosowanych w czasie izolacji oraz badań nad mikroorganizmami.

THE IMPORTANCE OF MICROBIAL PRODUCTS FOR THE GROWTH AND PROTECTION OF CROP PLANTS

Summary

Keywords: biopreparations, plant production, pathogens, toxic substances, plant growth and development, isolation of microorganisms

The intensive development of conventional crop production brings with it numerous adverse environmental consequences, such as a decrease in natural resources and soil fertility, the spread of plant diseases not previously found in the area, an increased need for irrigation, and a reduction in biodiversity. Today, new ways are being searched for to deal with these problems that are safe for both the

environment and the consumer of the produced goods. Classical and modern methods of analysis make it possible to search for microorganisms with the most favorable features, which can become a component of new microbiological preparations. Their use can be of great importance in combating pathogens, increasing crop production (promoting plant growth and development), decomposing toxic substances. The information presented below is intended to give the reader a basic understanding of the types of microbial preparations, the importance of soil microorganisms in such processes as the circulation of elements and organic matter in nature, biodegradation of harmful substances, combating pathogens, and promoting plant growth and development. The final section of the chapter also presents information on laboratory practices used during isolation and research on microorganisms.



Monika Koziel

**III. CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE
MIKROORGANIZMÓW STOSOWANYCH
W PRODUKTACH MIKROBIOLOGICZNYCH**

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
tel. (0-81) 4786952
e-mail: mkoziel@iung.pulawy.pl

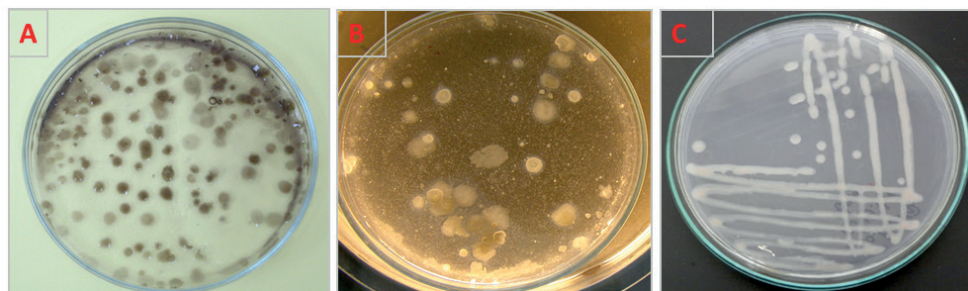
1. WSTĘP

W ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat rozwój rolnictwa i przemysłu doprowadził do nadmiernego stosowania nawozów mineralnych i chemicznych środków ochrony roślin. Przyniosło to efekt w postaci lepszego plonowania i ochrony roślin, lecz jednocześnie przyczyniło się do degradacji środowiska. Negatywne skutki środowiskowe chemizacji rolnictwa skłoniły naukowców do poszukiwania alternatywnych metod, bezpiecznych dla przyrody i zdrowia ludzkiego. Jednym ze sposobów realizacji koncepcji rolnictwa zrównoważonego jest doglebowe stosowanie środków mikrobiologicznych, których celem jest ochrona roślin przed patogenami oraz korzystny wpływ na ich wzrost i rozwój. Wysoką skutecznością charakteryzują się preparaty mikrobiologiczne zawierające w swym składzie odpowiednio dobrane, pożyteczne mikroorganizmy powszechnie występujące w środowisku przyrodniczym. Jednym z dostępnych na rynku preparatów są szczepionki zawierające wolno żyjące bakterie wiążące azot atmosferyczny należące do rodzaju *Azotobacter*. Bakterie te dostarczają roślinom składników mineralnych, syntetyzują fitohormony stymulujące wzrost roślin, a także chronią je przed działaniem fitopatogenów (Mahato i Kafle 2018, Sumbul i in. 2020, Wakarera i in. 2022). Dzięki wyżej wymienionym cechom znajdują one zastosowanie w rolnictwie, ogrodnictwie, leśnictwie jako bionawozy, biostymulatory i bioprotektanty (Hindersah i in. 2020). Ponadto biopreparaty na bazie *Azotobacter* spp. znalazły zastosowanie w rekultywacji gleby, ponieważ poprzez poprawę właściwości próchnicotwórczych gleby zwiększają stopień jej żyzności. Ze względu na fakt, iż *Azotobacter* spp. są drobnoustrojami niesymbiotycznymi, ich maksymalny potencjał zwiększania produktywności roślin może zostać zaburzony poprzez współinokulację innymi bionawozami. Wiadomo jednak, że w praktyce bakterie z rodzaju *Azotobacter* wykorzystywane są do tworzenia konsorcjów bakteryjnych, które spełniają konkretne funkcje względem roślin uprawnych. Konsorcja pożytecznych mikroorganizmów są jednym z najnowszych rozwiązań mających na celu zwiększenie jakości, bezpieczeństwa i efektywności produkcji roślinnej (Sumbul i in. 2020). Na światowym rynku dostępne są zarówno bionawozy, w skład których wchodzi tylko wyselekcjonowane doświadczalnie szczepy bakterii z rodzaju *Azotobacter*, jak i innowacyjne, równie efektywnie działające preparaty mikrobiologiczne zawierające konsorcja bakteryjne. Jak donoszą dane literaturowe, stosowanie *Azotobacter* spp. wraz z innymi drobnoustrojami jest wysoce skuteczne i preferowane zarówno wśród naukowców, jak i rolników (Akram i in. 2016, Yousefi i in. 2017, Arora i in. 2018). Celem niniejszej pracy jest zilustrowanie ważnej roli *Azotobacter* spp. w indukowaniu wzrostu i produktywności roślin, przy jednoczesnym ograniczeniu stosowania nawozów mineralnych w rolnictwie.

2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU *AZOTOBACTER*

Bakterie tlenowe należące do rodzaju *Azotobacter* reprezentują zróżnicowaną grupę wolno żyjących diazotrofów powszechnie występujących w glebie. Rodzaj *Azotobacter* został zidentyfikowany przez Beijerincka w 1901 r. (Martyniuk i Martyniuk 2003). Bakterie z rodzaju *Azotobacter* należą do rodziny Pseudomonadaceae, zaliczanej do podklasy γ -Proteobacteria (Rubio i in. 2013, Robson i in. 2015, Zhang i in. 2019, Khosravi i Dolatabad 2020). Komórki tych bakterii są duże, najczęściej owalne, o długości 2–10 μm i średnicy 1,0–2,0 μm . Mogą one występować pojedynczo, w parach lub tworzyć długie łańcuchy. W niesprzyjających warunkach środowiskowych komórki *Azotobacter* spp. zmniejszają się i otaczają mocną błoną, przechodząc w formę cyst (Sivapriya i Priya 2017, Nongthombam i in. 2021).

W warunkach laboratoryjnych na bezazotowej pożywce bakterie z rodzaju *Azotobacter* tworzą okrągłe, wypukłe, lśniące, śluzowate kolonie (rys. 1C). Młode kolonie mają barwę mleczną lub kremową, natomiast po kilkudniowej hodowli mogą ciemnieć na skutek produkcji barwnika melaninowego nieprzenikającego do podłoża, jak w przypadku gatunku *Azotobacter chroococcum* (rys. 1A i 1B).



Rys. 1. Kolonie szczepu referencyjnego *Azotobacter chroococcum* DSM 281 (A), *Azotobacter* spp. w jednej z badanych gleb (B) i czysta kultura szczepu kolekcyjnego A484-1 (C) (fot. M. Kozieł)

Aktualnie na świecie znanych jest 8 gatunków i 4 podgatunki w obrębie rodzaju *Azotobacter*. Są to:

- ❖ *Azotobacter armeniacus* (Thompso i Skerman 1979),
- ❖ *Azotobacter beijerinckii* (Lipman 1904),
- ❖ *Azotobacter bryophylli* (Liu i in. 2019),
- ❖ *Azotobacter chroococcum* (Beijerinck 1901),
 - *Azotobacter chroococcum* subsp. *chroococcum* (Jin i in. 2020),
 - *Azotobacter chroococcum* subsp. *isscasi* (Jin i in. 2020),
- ❖ *Azotobacter nigricans* (Krasil'nikov 1949),
 - *Azotobacter nigricans* subsp. *achromogenes* (Thompson i Skerman 1979),
 - *Azotobacter nigricans* subsp. *nigricans* (Howey i in. 1990),
- ❖ *Azotobacter paspali* (Döbereiner 1966),

❖ *Azotobacter salinestris* (Page i Shivprasad 1991),

❖ *Azotobacter vinelandii* (Lipman 1903).

Gatunek *A. chroococcum* jest najszerszej rozpowszechniony w glebach całego świata, natomiast występowanie innych gatunków tego rodzaju jest znacznie bardziej ograniczone, np. *A. paspali* zasiedla tylko ryzosferę trawy *Paspalum notatum* (Martyniuk i Martyniuk 2003, Lenart 2012).

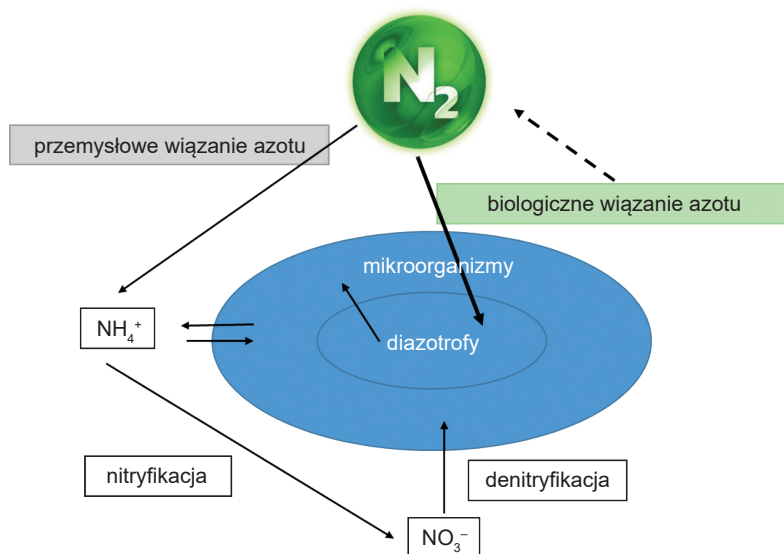
Azotobacter spp. zasiedla wiele środowisk, takich jak: gleba, woda, osady ściekowe, powierzchnie korzeni i liści. Bakterie te występują w różnych strefach klimatycznych, wiele gatunków pojawia się w rejonach tropikalnych i polarnych (Aquilanti i in. 2004, Kumar i in. 2007). Bakterie z rodzaju *Azotobacter* cechuje duża wrażliwość na kwaśny odczyn środowiska glebowego, w związku z tym rzadko występują w glebach o pH poniżej 6 (Martyniuk i Martyniuk 2003, Lenart 2012, Sartaj i in. 2013, Ebrahimi i in. 2017, Gothandapani i in. 2017). Ich ilość w glebach o odczynie neutralnym lub zasadowym waha się w granicach od kilku do kilku tysięcy komórek w 1 g gleby, natomiast w glebach kwaśnych (pH < 6,0) bakterie te są na ogół nieobecne lub występują w bardzo małych ilościach (Ziemięcka 1923, Zawislak 1973, Balandreau 1986, Martyniuk i Martyniuk 2003, Lenart 2012). Poza tym występowanie i liczebność populacji tej grupy bakterii jest silnie powiązana z wieloma różnymi czynnikami środowiskowymi – właściwościami gleby (zawartość materii organicznej, wilgotność, żyzność, stosunek C:N, odczyn), czy warunkami klimatycznymi (Kizilkaya 2009, Bag i in. 2017, Ramadhan i Issa 2022).

Wolno żyjące asymilatory N₂ z rodzaju *Azotobacter* są przedmiotem licznych badań od dziesięcioleci, a w Polsce mają już ponad 100-letnią historię. Stały się modelowymi mikroorganizmami w badaniach nad biochemizmem, energetyką i regulacją genetyczną procesu wiązania azotu atmosferycznego (BWAA) (Paul i Clark 2000). Zainteresowanie bakteriami z rodzaju *Azotobacter* związane jest z ich właściwościami pozwalającymi na wykorzystywanie w rolnictwie. Dzięki zdolności do wiązania azotu atmosferycznego i udostępniania go roślinom wyższym w formie przyswajalnej, produkcji substancji stymulujących wzrost i rozwój roślin, a także zdolności do produkcji związków hamujących rozwój patogenów, są one wykorzystywane w produkcji doglebowych szczepionek bakteryjnych (Kozieł i Gałązka 2021). Najnowsze badania opierają się na zaawansowanych metodach molekularnych i bazują na poznanej sekwencji genomu gatunków *A. vinelandii* i *A. chroococcum* (Robson i in. 2015, Setubal i in. 2009). Podejmowane są wysiłki sekwencjonowania coraz to większej liczby genomów *Azotobacter* i korzystania z ich możliwości biotechnologicznych i rolniczych.

3. WIĄZANIE AZOTU ATMOSFERYCZNEGO

Proces biologicznego wiązania azotu atmosferycznego (BWAA) dostarcza co-rocennie do cyklu obiegu azotu ok. 140–170 mln ton tego pierwiastka, co ma ogromne znaczenie zarówno z ekologicznego, jak i praktycznego punktu widzenia. Proces

ten, zaraz po fotosyntezie, jest jednym z najważniejszych procesów biologicznych zachodzących na powierzchni ziemi (Vance i Graham 1995), a zdolność mikroorganizmów do wiązania azotu atmosferycznego jest jedną z ważniejszych ich aktywności (Vojinovic 1961). Bakterie z rodzaju *Azotobacter* posiadają zdolność do wiązania azotu atmosferycznego i udostępniania go roślinom wyższym w formie przyswajalnej (rys. 2). W środowisku glebowym efektywność wiązania azotu atmosferycznego przez *Azotobacter* spp. nie jest duża i wynosi 20 mg N na 1 g zużytej glukozy (Gosal i in. 2012). Wynika to z faktu, że wolno żyjące asymilatory azotu przeprowadzają ten proces tylko w czasie wzrostu, zużywając energię na procesy metaboliczne związane z aktywnością życiową komórek. Gleba wzbogacana jest w azot dopiero po obumarciu komórek *Azotobacter* spp. (Kamiński i in. 1998). Według Kennedy'ego i Tchan (1992) bakterie z rodzaju *Azotobacter* dostarczają do gleby tylko niewielkie ilości azotu przyswajalnego dla roślin, ale zdaniem Martyniuka (2010) to właśnie te niewielkie ilości zasymilowanego azotu wywierają korzystny wpływ na metabolizm drobnoustrojów zasiedlających glebę i na żyzność gleby.



Rys. 2. Wiązanie azotu atmosferycznego przez *Azotobacter* spp.
(opracowanie własne na podstawie Sharma i in. 2007, Nongthombam i in. 2021)

4. ROLNICZE I PRZEMYSŁOWE ZNACZENIE BAKTERII Z RODZAJU *AZOTOBACTER* SPP.

Zdolność do biologicznego wiązania azotu atmosferycznego nie jest jedyną cechą sprawiającą, że bakterie z rodzaju *Azotobacter* mają duże znaczenie dla rolnictwa (rys. 3). Bakterie te syntetyzują i wydzielają znaczne ilości substancji biologicznie czynnych stymulujących wzrost i rozwój roślin, tj.: auksyny, gibereliny,

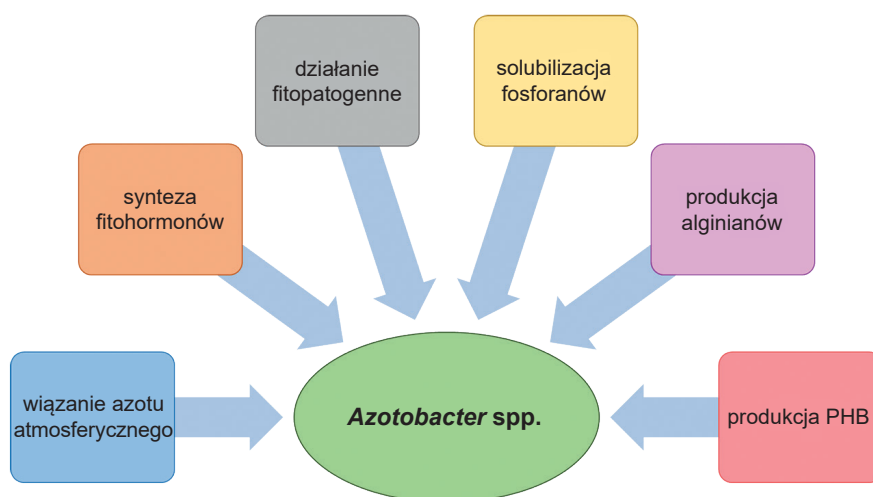
cytokiny, witaminy z grupy B (kwas nikotynowy, kwas pantotenowy) i siderofory (Jnawali i in. 2015, Kumari i in. 2017, Aasfar i in. 2021). Wydzielając fitohormony do podłoża, zwiększają ich ilość wyprodukowaną przez rośliny, a to wpływa stymulująco na plonowanie roślin uprawnych. Wyniki badań potwierdzają, że inokulacja nasion bakteriami *Azotobacter* spp. zwiększa wydajność plonowania roślin uprawnych, m.in.: kukurydzy (Hussain i in. 1987), pszenicy (Behl i in. 2007, Kizilkaya 2009) i ryżu (Kennedy i in. 2004). Poza zdolnością do syntezy fitohormonów bakterie te wytwarzają również związki hamujące rozwój patogenów, w szczególności grzybów. *Azotobacter vinelandii* wytwarza politiofosforantetraaminy sacharozy wykazujące działanie grzybobójcze w stosunku do niektórych gatunków fitopatogennych, tj.: *Helminthosporium* sp., *Macrophomina* sp. i *Fusarium* sp. (Bjelić i in. 2015). Na podstawie badań przeprowadzonych przez Pridachina i in. (1982) stwierdzono, że wyżej wymieniony metabolit produkowany przez *Azotobacter chroococcum* hamuje wzrost takich grzybów, jak: *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*, *Pythium debarianum*, *Verticilliumdahliae* i *Fusarium* sp. Z kolei El_Komy i in. (2020) wykazali, że zastosowanie mieszaniny bakterii z rodzajów *Azotobacter*, *Azospirillum* i *Klebsiella* znacząco hamuje wzrost grzybni *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani* i *Fusarium solani*. Zdolność *Azotobacter* spp. do solubilizacji fosforanów (Hafez i in. 2016, Hindersah i in. 2020), potasu (Archana i in. 2013) i cynku (Baars i in. 2018, Aung i in. 2020) jest także ważną cechą wpływającą na promowanie wzrostu roślin. Wu i in. (2006) wykazali, że *Azotobacter chroococcum* zwiększa biodostępność Zn w środowisku glebowym. Podstawowym mechanizmem uwalniania cynku glebowego przez ten gatunek bakterii jest obniżenie pH gleby poprzez wytwarzanie kwasów organicznych (Aung i in. 2020). Inny mechanizm rozpuszczania Zn związany jest z produkcją przez *Azotobacter chroococcum* sideroforów, m.in. wibrioferyny, amfibaktyny i krocheliny, które poza chelatowaniem jonów żelaza przyczyniają się również do zwalczania w glebie patogenów roślin (Saravanan i in. 2011, Baars i in. 2018). Liczne badania potwierdzają zdolność *Azotobacter* spp. do rozpuszczania potasu (Sangeeth i in. 2012, Archana i in. 2013, Diep i Hieu 2013) i asymilacji tego pierwiastka przez rośliny (Wu i in. 2005, Singh i in. 2010).

Bakterie te oprócz wykorzystania w rolnictwie mogłyby znaleźć zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu i medycyny ze względu na zdolność do produkcji takich związków, jak: alginiany i poli- β -hydroksymaślan (PHB) (Torres-Pedraza i in. 2021, Dudun i in. 2022).

Alginiany to śluzowate polimery polisacharydowe wytwarzane przez brunatnice: *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* i *Macrocystispyrifera* i bakterie: *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandii*, a także kilka gatunków należących do rodzajów *Pseudomonas* i *Azomonas*. Znajdują one zastosowanie w przemyśle papierniczym, tekstylnym, spożywczym jako substancje żelujące, zagęstniki i stabilizatory, a nawet farmaceutycznym, między innymi w opatrunkach na rany (Saude i in. 2002, Baj i Markiewicz 2007). Alginiany produkowane przez *Azotobacter* spp.

mogłyby być wykorzystywane komercyjnie, a pierwszym argumentem przemawiającym za wprowadzeniem ich do obiegu jest fakt, że produkcja obecnie stosowanych alginianów pozyskiwanych z brunatnic, pomimo niskich nakładów finansowych, uzależniona jest od warunków środowiskowych. Natomiast stosowanie alginianów wyprodukowanych przez bakterie z rodzaju *Pseudomonas* uniemożliwia fakt, iż są to mikroorganizmy patogenne w przeciwieństwie do bakterii z rodzaju *Azotobacter* (Gacesa 1998, Galindo i in. 2007).

Poli- β -hydroksymaślan (PHB) to jeden z kwasów polihydroksykarboksylowych (PHA). Wykorzystywany jest w produkcji biodegradowalnych i biokompatybilnych plastików, a także w niekontrolowanym uwalnianiu leków (Turesin i in. 2000, Galindo i in. 2007).



Rys. 3. Znaczenie bakterii z rodzaju *Azotobacter* (opracowanie własne)

5. WPŁYW BAKTERII Z RODZAJU *AZOTOBACTER* NA WZROST I PLONOWANIE ROŚLIN

Zainteresowanie bakteriami z rodzaju *Azotobacter* w dużej mierze związane jest z ich właściwościami pozwalającymi na wykorzystywanie tych drobnoustrojów w rolnictwie. Dzięki umiejętności do wiązania azotu atmosferycznego, produkcji substancji stymulujących wzrost i rozwój roślin, zdolności do produkcji związków hamujących rozwój patogenów, a także stymulacji drobnoustrojów ryzosferycznych są one wykorzystywane do produkcji doglebowych preparatów bakteryjnych (Jnawali i in. 2015, Aasfar i in. 2021, Nongthombam i in. 2021). Bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* mają istotny wpływ na kiełkowania nasion, rozwój korzeni, biomasa korzeni i pędów oraz liczbę i powierzchnię liści (Wani i in. 2016). Liczne badania potwierdzają, że zastosowanie *Azotobacter* spp. poprawia wzrost, plon i jakość wielu roślin uprawnych, w tym: pszenicy, rzepaku, ryżu, bawełny, ziemniaka,

papryki, ogórka, kapusty, pomidora, marchwi i grochu (tab. 1). Badania przeprowadzone przez Singha i Dutta (2006) wykazały znaczny wzrost plonowania gorczycy, rzepaku i ziemniaka po zastosowaniu inokulacji bakteriami z rodzaju *Azotobacter*. Das i Saha (2007) zaobserwowali wzrost wydajności plonu ziarna i słomy ryżu odpowiednio o 4,5 i 8,5 kg·ha⁻¹ przy użyciu kombinacji bakterii z rodzaju *Azotobacter* i *Azospirillum*. Wzrost plonu gorczycy przy zastosowaniu szczepienia tymi samymi rodzajami bakterii odnotowali również Tilak i Sharma (2007).

Tabela 1

Wpływ bionawozów na bazie *Azotobacter* na plonowanie i poprawę jakości różnych roślin uprawnych

Komponent bionawozu	Roślina	Rodzaj doświadczenia	Wzrost plonu roślin (%)	Źródło
<i>Azotobacter</i> <i>Azospirillum</i> PSB	ziemniak	polowe	62,32	El-sayed i in. 2014
<i>Azotobacter</i> PSB	papryka	polowe	30,01	Jaipaul i in. 2011
<i>Azotobacter</i>	ogórek	szklarniowe	21,70	Saeed i in. 2015
<i>Azotobacter</i>	kapusta	polowe	12,90	Sarkar i in. 2010
<i>Azotobacter</i> PSB	brokół	doniczkowe	17,27	Singh i in. 2014
<i>Azotobacter</i> PSB	pomidor	polowe	23,80	Singh i in. 2015
<i>Azotobacter</i> PSB	marchew	polowe	19,60	Sarma i in. 2015
<i>Azotobacter</i> <i>Chlorella</i> <i>Nostoc</i>	ryż	analiza in situ	26,92	Zayadan i in. 2014
<i>Azotobacter</i>	bawełna	szklarniowe	13,60	Romero-Perdomo i in. 2017
<i>Azotobacter</i> <i>Azospirillum</i>	rzepak	polowe	1,52	Ahmadi-Rad i in. 2016
<i>Azotobacter</i>	pszenica	polowe	14,32	Milošević i in. 2012
<i>Azotobacter</i> <i>Glomus intraradices</i>	krokosz barwierski	polowe	2,63	Mirzakhani i in. 2014
<i>Azotobacter</i> PSB	groch	doniczkowe i polowe	35,50	Ansari i in. 2015

Ritika i Utpal (2014) w przeprowadzonym doświadczeniu polowym wykazali, że zastosowanie *Azotobacter* spp. jako komponentu bionawozu zwiększyło plon kalafiora o 40% i kukurydzy o 15–20% w porównaniu z plonem uzyskanym przy stosowaniu konwencjonalnych nawozów (tab. 2). Szczepienie *Azotobacter* spp. w połączeniu z 50% dawkami azotowych i fosforowych nawozów mineralnych wpłynęło pozytywnie na wzrost, liczbę pędów, świeżą i suchą masę krokosza barwierskiego. Natomiast nawożenie uprawy tej rośliny samymi nawozami mineralnymi nie dało takich efektów (Soleimanzadeh i Gooshchi 2013).

Tabela 2

Przyrost plonu roślin uprawnych inokulowanych *Azotobacter* spp.
w porównaniu z plonem uzyskanym przy zastosowaniu nawozów mineralnych
(Bhattacharjee i Dey 2014, Nongthombam i in. 2021)

Roślina uprawna	Wzrost plonu rośliny przy zastosowaniu inokulacji <i>Azotobacter</i> spp. w stosunku do plonu uzyskanego przy zastosowaniu nawozów mineralnych (%)
Ryż	5
Sorgo	15–20
Pszenica	8–10
Kukurydza	15–20
Ziemniaki	13
Pomidor	2–24
Marchewka	16
Kalafior	40
Bawełna	7
Trzcina cukrowa	9–24

6. AZOTOBAKTERYNA I INNE PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE NA BAZIE BAKTERII Z RODZAJU *AZOTOBACTER*

W ostatnich latach obserwuje się wyraźny wzrost zainteresowania biologicznymi metodami nawożenia i ochrony roślin. Intensywnie poszukuje się także aktywnych biologicznie mikroorganizmów, które mogłyby wesprzeć w rozwoju oraz ochronie rośliny i w pewnym stopniu zminimalizować ilość środków chemicznych wprowadzanych do środowiska. Ostatecznie doprowadziło to do dynamicznego rozwoju sektora biopreparatów. Biopreparaty zawierające w składzie bakterie z rodzaju *Azotobacter* posiadają korzystne cechy w stosunku do powszechnie stosowanych nawozów mineralnych. Przede wszystkim należy wymienić ich wielokierunkowe działanie ze względu na fakt, iż dostarczają roślinie nie tylko azot w postaci amonowej, ale również aminokwasy, fitohormony czy witaminy bez możliwości przedawkowania bądź oparzenia roślin. Poza tym preparaty mikrobiologiczne na bazie bakterii z rodzaju *Azotobacter* wspomagają rośliny w warunkach stresowych, zwiększają ich odporność na choroby i poprawiają żyzność gleby (Bhattacharjee i Dey 2014). Ze względu na sposób aplikacji biopreparaty zawierające w swym składzie bakterie z rodzaju *Azotobacter* możemy podzielić na stałe i płynne. Preparaty stałe mają postać proszku lub granulek i na ogół stosuje się je jako zaprawy do nasion lub dodatki do gleby (Bashan i in. 2014). Natomiast preparaty płynne można aplikować w różnych zabiegach uprawowych oraz hodow-

lanych. Można je stosować m.in. do zaprawiania nasion, szczepienia gleby przed wysadzeniem roślin i do opryskiwania upraw (Malusá i in. 2012, Bashan i in. 2014, Jambhulkar i in. 2016).

Azotobacter spp. był stosowany jako bionawóz już ponad 100 lat temu. Preparaty mikrobiologiczne zawierające w swoim składzie bakterie z rodzajów *Rhizobium*, *Azotobacter* i *Azospirillum*, wiążące azot atmosferyczny, stanowią obecnie największą część światowego rynku bionawozów. Globalny rynek tych bionawozów został wyceniony w 2016 roku na 800 milionów dolarów i oczekuje się, że osiągnie 3 miliardy dolarów do końca 2024 roku (Soumare i in. 2020).

Najstarszym i najbardziej znanym przykładem preparatu mikrobiologicznego zawierającego wyselekcjonowane szczepy bakterii z rodzaju *Azotobacter* i znajdującego zastosowanie w rolnictwie oraz ogrodnictwie jest Azotobakteryna (rys. 4). Zastosowanie tego preparatu w uprawie roślin okopowych, krzyżowych i niektórych warzywnych korzystnie wpływa na rozwój roślin i tym samym przyczynia się do wzrostu plonowania. Do produkcji doglebowych szczepionek bakteryjnych najczęściej wykorzystywany jest gatunek *A. chroococcum*, który wiąże azot atmosferyczny i udostępnia go roślinom w formie przyswajalnej, produkuje substancje promujące wzrost i rozwój roślin oraz zawiązki hamujące rozwój patogenów. Bakterie będące komponentem Azotobakteryny mogą wzbogacać glebę w azot w ilości $20 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ (Kosicka i in. 2015, Kozieł i in. 2018).



Rys. 4. Azotobakteryna – szczepionka dla roślin bobowatych (opracowanie własne)

Na rynku dostępne są również inne preparaty zawierające w swym składzie bakterie z rodzaju *Azotobacter*, zaopatrujące glebę w trudno przyswajalne formy azotu (tab. 3). Należy zaznaczyć, iż skuteczność biopreparatów różni się w zależności od rodzaju gleby, odmiany rośliny i innych parametrów fizycznych, chemicznych i biologicznych gleby.

Tabela 3

Przykłady stosowanych na świecie preparatów mikrobiologicznych na bazie *Azotobacter* spp. (Aasfar i in. 2021, Kubus i Sach 2023)

Kraj	Preparat	Składnik aktywny	Roślina
Rosja	Azotobakteryna Ekophit	<i>Azotobacter chroococcum</i> <i>Azotobacter chroococcum</i>	groch, soja, bób, łubin, pomidor, pieprz, szczaw
Australia	TwinN	<i>Azotobacter</i> spp.	rośliny strączkowe, zboża
Kanada	Nutri-Life Bio-P	<i>Azotobacter</i> spp. + <i>Bacillus subtilis</i>	wszystkie uprawy
	Nutri-Life Bio-N	<i>Azotobacter</i> spp.	wszystkie uprawy
Indie	Symbion-N	<i>Azospirillum</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Acetobacter</i> , <i>Azotobacter</i>	trzcina cukrowa, sorgo, kukurydza, bawelna, herbata, kawa
	CALZOTO	<i>Azotobacter</i> spp.	rośliny strączkowe, zboża, warzywa
	Nitrofix AC Nitrofix AV Azopower	<i>Azotobacter chroococcum</i> <i>Azotobacter vinelandii</i> <i>Azotobacter</i> spp.	większość roślin uprawnych większość roślin uprawnych, warzywa, owoce
Niemcy	Phylazonit-M	<i>Bacillus megaterium</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i>	ryż, kukurydza
Kolumbia	Dimargon I	<i>Azotobacter chroococcum</i>	ryż, bawelna
Polska	Bacti-N	<i>Azotobacter</i> spp.	zboża jare, rzepak, kukurydza
	AzotoPower	<i>Azotobacter</i> , <i>Arthrobacter</i>	pszenica ozima, kukurydza, burak cukrowy
	Bactim Nutri N+ NovobaktAzo+	<i>Azotobacter</i> spp. <i>Azospirillum lipoferum</i> , <i>Azotobacter chroococcum</i>	zboża, rzepak, kukurydza zboża, rzepak, kukurydza, ziemniak, warzywa
	Rhizosum N Plus	<i>Azotobacter salinestris</i>	warzywa, owoce, rośliny strączkowe, rośliny ozdobne, zboża, trawy

7. PODSUMOWANIE

Bakterie z rodzaju *Azotobacter* są wykorzystywane jako bionawóz w przyjaznej dla środowiska i zrównoważonej produkcji roślinnej, dzięki korzystnemu wpływowi na wzrost i rozwój roślin poprzez wzbogacanie środowiska glebowego w związki azotowe, produkcję fitohormonów, rozpuszczanie fosforanów, zdolność do produkcji związków hamujących rozwój patogenów i rekultywację gleb. Preparaty mikrobiologiczne, w skład których wchodzi niesymbiotyczne bakterie wiążące azot atmosferyczny są znane i wykorzystywane na całym świecie. Aby wydobyć maksymalne korzyści ze stosowania tych biopreparatów, konieczne jest znalezienie kompatybilnych partnerów, tj. określenie powinowactwa szczepów *Azotobacter* spp. do

określonego genotypu rośliny. Z prowadzonych dotychczas badań wyraźnie wynika, iż bakterie z rodzaju *Azotobacter* są alternatywą dla nawozów mineralnych, pestycydów i sztucznych regulatorów wzrostu powodujących różnorodne skutki uboczne w zrównoważonym rolnictwie.

8. LITERATURA

1. A a s f a r A., Bargaz A., Yaakoubi K., Hilali A., Bennis I., Zeroual Y., Kadmiri M.: Nitrogen Fixing *Azotobacter* Species as Potential Soil Biological Enhancers for Crop Nutrition and Yield Stability. *Frontiers in Microbiology*, 2021, **12**: 1-19.
2. Ahmadi-Rad S., Gholamhoseini M., Ghalavand A., Asgharzadeh A., Dolatabadian A.: Foliar application of nitrogen fixing bacteria increases growth and yield of canola grown under different nitrogen regimes. *Rhizosphere*, 2016, **2**: 34-37.
3. Akram M., Rizvi R., Sumbul A., Ansari R.A., Mahmood I.: Potential role of bio-inoculants and organic matter for the management of root-knot nematode infesting chickpea. *Cogent Food and Agriculture*, 2016, **2(1)**; <https://10.1080/23311932.2016.1183457>
4. Ansari M.F., Tipre D.R., Dave S.R.: Efficiency evaluation of commercial liquid biofertilizers for growth of *Cicer arietinum* (chickpea) in pot and field study. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2015, **4**: 17-24.
5. Archana D.S., Nandish M.S., Savalagi V.P., Alagawadi A.R.: Characterization of potassium solubilizing bacteria (KSB) from rhizosphere soil. *BIOINFOLET – A Quarterly Journal of Life Sciences*, 2013, **10**: 248-257.
6. Arora M., Saxena P., Abdin M.Z., Varma A.: Interaction between *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* governs better plant physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* L. plants grown under in vitro conditions. *Symbiosis*, 2018, **75(2)**: 103-112.
7. Aquilanti L., Mannazzu I., Papa R., Cavalca L., Clementi F.: Amplified ribosomal DNA restriction analysis for the characterization of *Azotobacteraceae*: a contribution to the study of these free-living nitrogen-fixing bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, **57**: 197-206.
8. Aung A., Sev T.M., Mon A.A., San Yu S.: Detection of abiotic stress tolerant *Azotobacter* species for enhancing plant growth promoting activities. *Journal of Scientific and Innovative Research*, 2020, **9**: 48-53.
9. Bارس O., Zhang X., Gibson M.I., Stone A.T., Morel F.M., Seyedsayamdost M.R.: Crochelins: siderophores with an unprecedented iron-chelating moiety from the nitrogen-fixing bacterium *Azotobacter chroococcum*. *Angewandte Chemie*, 2018, **130**: 545-550.
10. Bag P.B., Panda P., Paramanik B., Mahato B., Choudhury A.: Atmospheric Nitrogen Fixing Capacity of *Azotobacter* Isolate from Cooch Behar and Jalpaiguri Districts Soil of West Bengal, India. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2017, **6**: 1775-1788.
11. Baj J., Markiewicz Z.: *Biologia molekularna bakterii*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007, ss. 141.
12. Balandreau J.: Ecological factors and adaptive processes in N₂-fixing bacterial populations of the plant environment. *Plant and Soil*, 1986, **90**: 73-90.
13. Basha N.Y., de-Bashan L.E., Prabhu S.R., Hernandez J.P.: Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). *Plant and Soil*, 2014, **378**: 1-33.

14. B e h l R.K., Ruppel S., Kothe E., Narula N.: Wheat x *Azotobacter* x VA Mycorrhiza interactions towards plant nutrition and growth – a review. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 2007, **81**: 95-109.
15. B e i j e r i n c k M.W.: Über ologonitrophile mikroben. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. II Abt.*, 1901, **9**: 561-582.
16. B h a t t a c h a r j e e R., Dey U.: Biofertilizer, a way towards organic agriculture: A review. *African Journal of Microbiology Research*, 2014, **8**: 2332-2343.
17. B j e l i ć D., Marinković J., Tintor B., Tančić Živanov S., Nastasic A., Mrkovacki N.: Screening of *Azotobacter* isolates for PGP properties and antifungal activity. *Zbornik Matice Srpske za Prirodne Nauke*, 2015, p. 65-72.
18. D a s A.C., Saha D.: Effect of diazotrophs on the mineralization of organic nitrogen in the rhizosphere soils of rice (*Oryza sativa*). *Journal of Crop and Weed*, 2007, **3**: 47-51.
19. D i e p C.N., Hieu T.N.: Phosphate and potassium solubilizing bacteria from weathered materials of denatured rock mountain, Ha Tien, Kien Giang province, Vietnam. *American Journal of Life Sciences*, 2013, **1**: 88-92.
20. D ö b e r e i n e r J.: *Azotobacter paspali* sp. nov., umabactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera dePas-palum. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 1966, **1**: 357-365.
21. D u d u n A.A., Akoulina E.A., Zhuikov V.A., Makhina T.K., Voinova V.V., Belishev N.V., Khaydapova D.D., Shaitan K.V., Bonartseva G.A., Bonartsev A.P.: Competitive biosynthesis of bacterial alginate using *Azotobacter vinelandii* 12 for tissue engineering applications. *Polymers*, 2022, **14**, 131; <https://doi.org/10.3390/polym14010131>
22. E b r a h i m i M., Safari Sinemani A.A., Sarikhani M.R., Mohammadi S.A.: Comparison of artificial neural network and multivariate regression models for prediction of *Azotobacteria* population in soil under different land uses. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2017, **140**: 409-421.
23. E l _ K o m y M.H., Hassouna M.G., Abou-Taleb E.M., Al-Sarar A.S., Abobakr Y.: A mixture of *Azotobacter*, *Azospirillum*, and *Klebsiella* strains improves root-rot disease complex management and promotes growth in sunflowers in calcareous soil. *European Journal of Plant Pathology*, 2020, **156**: 713-726.
24. E l - s a y e d S., Hassan H., E l - M o g y M.: Impact of Bio- and organic fertilizers on potato yield, quality and tuber weight loss after harvest. *Potato Research*, 2014, **58**: 67-81.
25. G a c e s a P.: Bacterial alginate biosynthesis – recent progress and future prospects. *Microbiology*, 1998, **144**: 1133-1143.
26. G a l i n d o E., Pena C., Nunez C., Segura D., Espin G.: Molecular and bioengineering strategies to improve alginate and polyhydroxyalkanoate production by *Azotobacter vinelandii*. *Microbial Cell. Factories*, 2007, **6**: 1-16.
27. G o s a l S.K., Kalia A., Uppal S.K., Kumar R., Walia S.S., Singh K., Singh H.: Assessing the benefits of *Azotobacter* bacterization in sugarcane: a field appraisal. *Sugar Tech*, 2012, **14**: 61-67.
28. G o t h a n d a p a n i S., Sekar S., Padaria J.C.: *Azotobacter chroococcum*: Utilization and potential use for agricultural crop production: An overview. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*, 2017, **4**: 35-42.
29. H a f e z M., Elbarbary T.A., Ibrahim I., Abdel-Fatah Y.: *Azotobacter vinelandii* evaluation and optimization of Abu Tartur Egyptian phosphate ore dissolution. *Saudi Journal of Pathology and Microbiology*, 2016, **1**: 80-93.

30. H i n d e r s a h R., Setiawati M.R., Asmiran P., Fitriatin B.N.: Formulation of *Bacillus* and *Azotobacter* consortia in liquid cultures: preliminary research on microbes-coated urea. *International Journal of Agriculture System*, 2020, **8**: 1-10.
31. H i n d e r s a h R., Kamaluddin N.N., Samanta S., Banerjee S., Sarkar S.: Role and perspective of *Azotobacter* in crops production. *SAINS TANAH – Journal of Soil Science and Agroclimatology*, 2020, **17(2)**: 170-179.
32. H o w e y R.T., Lock C.M., Moore L.V.H.: Subspecies names automatically created by Rule 46. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1990, **40**: 317-319.
33. H u s s a i n A., Arshad M., Hussain A., Hussain F.: Response of maize (*Zea mays*) to *Azotobacter* inoculation under fertilized and unfertilized conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 1987, **4**: 73-77.
34. J a i p a u l S., Dixit A., Sharma A.: Growth and yield of capsicum (*Capsicum annuum*) and garden pea (*Pisum sativum*) as influenced by organic manures and biofertilizers. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 2011, **81**: 637-642.
35. J a m b h u l k a r P.P., Sharma P., Yadav R.: Delivery systems for introduction of microbial inoculants in the field. In: *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity*, D. Singh, H. Singh, R. Prabha (eds.), Springer, New Delhi 2016, pp. 199-218.
36. J n a w a l i A.D., Ojha R.B., Marahatta S.: Role of *Azotobacter* in soil fertility and sustainability – A review. *Advances in Plants and Agriculture Research*, 2015, **2**:1-5.
37. J i n H., Wang H., Zhang Y., Hu T., Lin Z., Liu B., Ma J., Wang X., Liu Q., Lin X., Xie Z.: Description of *Azotobacter chroococcum* subsp. *isscasi* subsp. nov. isolated from paddy soil and establishment of *Azotobacter chroococcum* subsp. *chroococcum* subsp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2020, **70**: 2124-2131.
38. K a m i ń s k i P.A., Batut J., Boistard P.: A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia, In: *The Rhizobiaceae-Dordrecht*, H.P. Spaink, A. Kondorosi, J. Hooykaas (eds) The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1998, pp. 431-460.
39. K e n n e d y I.R., Tchan Y.T.: Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: recent advances. *Plant and Soil*, 1992, **141**: 93-118.
40. K e n n e d y I.R., Choudhury A.T.M., Kecskés M.L.: Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, **36**: 1229-1244.
41. K h o s r a v i H., Dolatabad H.K.: Identification and molecular characterization of *Azotobacter chroococcum* and *Azotobacter salinestris* using ARDRA, REP, ERIC and BOX. *Molecular Biology Reports*, 2020, **47**: 307-316.
42. K i z i l k a y a R.: Nitrogen fixation capacity of *Azotobacter* spp. strains isolated from soils in different ecosystems and relationship between them and the microbiological properties of soil. *Journal of Environmental Biology*, 2009, **30**: 73-82.
43. K o b u s A., Sach M.: Asortyment produktów mikrobiologicznych rośnie jak grzyby po deszczu. *Farmer*, 2023, **5**: 95-97.
44. K o s i c k a D., Wolna-Maruwka A., Trzeciak M.: Wpływ preparatów mikrobiologicznych na glebę oraz wzrost i rozwój roślin. *Kosmos*, 2015, **64**: 327-335.
45. K o z i e ł M., Gałązka A., Martyniuk S.: Wolnożyjące bakterie wiążące azot atmosferyczny z rodzaju *Azotobacter* – występowanie, liczebność i znaczenie. *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 2018, **56**: 57-70.

46. K o z i e ł M., Gałązka A.: Systematyka i analizy genomiczne bakterii z rodzaju *Azotobacter*. Postępy Mikrobiologii, 2021, **60**: 299-308.
47. K r a s i ł n i k o v N.A.: Guide to the bacteria and actinomycetes. Red. Akademia Nauk SSSR, Moscow 1949.
48. K u m a r R., Bhatia R., Kukreja K., Behl R.K., Dudeja S.S., Narula N.: Establishment of *Azotobacter* on plant roots: chemotactic response, development and analysis of root exudates of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Basic Microbiology, 2007, **47**: 436-439.
49. K u m a r i S., Chourasia S.K., Singh U., Kant R.: *Azotobacter*: Its role in sustainable agriculture. New Agriculturist, 2017, **28**: 485-492.
50. L e n a r t A.: Occurrence, characteristics, and genetic diversity of *Azotobacter chroococcum* in various soils of southern Poland. Polish Journal of Environmental Studies, 2012, **21**: 415-424.
51. L i p m a n J.G.: Experiments on the transformation and fixation of nitrogen by bacteria. Report on the New Jersey Agricultural Experiment Station, 1903, **24**: 217-285.
52. L i p m a n J.G.: Soil bacteriological studies. Further contributions to the physiology and morphology of members of the *Azotobacter* group. Report on the New Jersey Agricultural Experiment Station, 1904, **25**: 237-289.
53. L i u L., Yuan T., An Q., Yang M., Mao X., Mo C., Tan Z., Peng G.: *Azotobacter bryophylli* sp. nov., isolated from the succulent plant *Bryophyllum pinnatum*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2019, **69**: 1986-1922.
54. M a h a t o S., Kafle A.: Comparative study of *Azotobacter* with or without other fertilizers on growth and yield of wheat in Western hills of Nepal. Annals of Agrarian Science, 2018, **16**: 250-256.
55. M a l u s á E., Sas-Paszt L., Ciesielska J.: Technologies for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. The Scientific World Journal, 2012, **2012**: 1-12; <https://10.1100/2012/491206>
56. M a r t y n i u k S., Martyniuk M.: Occurrence of *Azotobacter* spp. in some Polish soils. Polish Journal of Environmental Studies, 2003, **12**: 371-374.
57. M a r t y n i u k S.: Wytwarzanie preparatów mikrobiologicznych na przykładzie bakterii symbiotycznych roślin motylkowatych. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 2010, **55**: 20-23.
58. M i l o š e v i ć N., Tintor B., Protić R., Cvijanović G., Dimitrijević T.: Effect of inoculation with *Azotobacter chroococcum* on wheat yield and seed quality. Romanian Biotechnological Letters, 2012, **17**: 7352-7357.
59. M i r z a k h a n i M., Ardakani M.R., Rejali F., Rad A.H.S., Miransari M.: Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) oil content and yield components as affected by co-inoculation with *Azotobacter chroococcum* and *Glomus intraradices* at various N and P levels in a dry climate. In: Use of microbes for the alleviation of soil stresses: Volume 2: Alleviation of soil stress by PGPR and mycorrhizal fungi, M. Miransari (ed.). Springer, New York 2014, pp. 153-164.
60. N o n g t h o m b a m J., Kumar A., Sharma S., Ahmed S.: *Azotobacter*: A complete Review. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 2021, **10**: 72-79.
61. P a g e W., Shivprasad S.: *Azotobacter salinestris* sp. nov., a sodium-dependent, microaerophilic, and aeroadaptive nitrogen-fixing bacterium. International Journal of Systematic Bacteriology, 1991, **41**: 369-376.
62. P a u l E.A., Clark F.E.: Mikrobiologia i biochemia gleb. Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin 2000, ss. 400.

63. P r i d a c h i n a N.N., Novogradskaya E.D., Kruglyak E.B.: *Azotobacter chroococcum*, producer of a new antifungal antibiotic. *Antibiotiki*, 1982, **27**: 3-5.
64. R a m a d h a n Z.K., Issa F.A.: Screening *Azotobacter* spp., bioavailability from four ecological systems in Zakho, Kurdistan region – Iraq. *Science Journal of University of Zakho*, 2022, **10**: 175-180.
65. R i t i k a B., Utpal D.: Biofertilizer, a way towards organic agriculture: a review. *African Journal of Microbiology Research*, 2014, **8**: 2332-2343.
66. R o b s o n R.L., Jones R., Robson R.M., Schwartz A., Richardson T.H.: *Azotobacter* Genomes: The Genome of *Azotobacter chroococcum* NCIMB 8003 (ATCC 4412). *PLOS ONE*, 2015, **10**: 1-35.
67. R o m e r o-Perdomo F., Abril J., Camelo M., Moreno-Galván A., Pastrana I., Rojas-Tapias D., Bonilla R.: *Azotobacter chroococcum* as a potentially useful bacterial biofertilizer for cotton (*Gossypium hirsutum*): effect in reducing N fertilization. *Revista Argentina de Microbiología*, 2017, **49**: 377-383.
68. R u b i o E.J., Montecchia M.S., Tosi M., Cassán F.D., Peticari A., Correa O.S.: Genotypic characterization of *Azotobacteria* isolated from Argentinean soils and plant-growth-promoting traits of selected strains with prospects for biofertilizer production. *The Scientific World Journal*, 2013, pp. 1-12.
69. S a e e d K., Ahmed S.A., Hassan I.A., Ahmed P.H.: Effect of bio-fertilizer and chemical fertilizer on growth and yield in cucumber (*Cucumis sativus* L.) in green house condition. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 2015, **15**: 353-358.
70. S a n g e e t h K.P., Bhai R.S., Srinivasan V.: *Paenibacillus glucanolyticus*, a promising potassium solubilizing bacterium isolated from black pepper (*Piper nigrum* L.) rhizosphere. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 2012, **21**: 118-124.
71. S a r a v a n a n V.S., Kumar M.R., Sa T.M.: Microbial zinc solubilization and their role on plants. In: *Bacteria in agrobiology: plant nutrient management*, D.K. Maheshwari (ed.). Springer, Berlin 2011, pp. 47-63.
72. S a r k a r A., Mandal A.R., Prasad P.H., Maity T.K., Chandra B., Viswavidyalaya K.: Influence of nitrogen and biofertilizer on growth and yield of cabbage. *Journal of Crop and Weed*, 2010, **6**: 72-73.
73. S a r m a I., Phookan D.B., Boruah S.: Influence of manures and biofertilizers on carrot (*Daucus carota* L.) cv. Early Nantes growth, yield and quality. *Journal of Ecofriendly Agriculture*, 2015, **10**: 25-27.
74. S a r t a j A.W., Subhash C., Tahir A.: Potential Use of *Azotobacter chroococcum* in Crop Production: An Overview. *Current Agriculture Research Journal*, 2013, **1**: 35-38.
75. S a u d e N., Cheze-Lange H., Beunard D., Dhulster P., Guillochon D., Caze A.M., Morcellet M., Junter G.A.: Alginate production by *Azotobacter vinelandii* in a membrane bioreactor. *Process Biochem.*, 2002, **38**: 273-278.
76. S e t u b a l J.C., Wood D., et al.: Genome sequence of *Azotobacter vinelandii*, an obligate aerobe specialized to support diverse anaerobic metabolic processes. *Journal of Bacteriology*, 2009, **191**: 4534-4545.
77. S h a r m a K., Dak G., Agrawal A., Bhatnagar M., Sharma R.: Effect of phosphate solubilizing bacteria on the germination of Cicerarietinum seeds and seedling growth. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 2007, **1**: 61-63.

78. Singh M.S., Dutta S.: Mustard and rapeseed response to *Azotobacter* – a review. *Agricultural Reviews*, 2006, **27**: 232-234.
79. Singh G., Biswas D.R., Marwaha T.S.: Mobilization of potassium from waste mica by plant growth promoting rhizobacteria and its assimilation by maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum*): a hydroponics study under phytotron growth chamber. *Journal of Plant Nutrition*, 2010, **33**: 1236-1251.
80. Singh A., Maji S., Kumar S.: Effect of biofertilizers on yield and biomolecules of anticancerous vegetable broccoli. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 2014, **5**: 262-268; <https://10.5958/0976-4038.2014.00565.X>
81. Singh S.K., Sharma H. R., Shukla A., Singh U., Thakur A.: Effect of biofertilizers and mulch on growth, yield and quality of tomato in mid-hills of Himachal Pradesh. *International Journal of Farm Sciences*, 2015, **5**: 98-110.
82. Sivapriya S.L., Priya P.R.: Selection of hyper exopolysaccharide producing and cyst forming *Azotobacter* isolates for better survival under stress conditions. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2017, **6**: 2310-2320.
83. Soleimanzadeh H., Gooshchi F.: Effects of *Azotobacter* and nitrogen chemical fertilizer on yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.). *World Applied Sciences Journal*, 2013, **21**: 1176-1180.
84. Soumare A., Diedhiou A.G., Thuita M., Hafidi M.: Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. *Plants*, 2020, **9**(8): 1011; <https://10.3390/plants9081011>
85. Sumbula A., Ansari R.A., Rizvi R., Mahmood I.: *Azotobacter*: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2020, **27**: 3634-3640.
86. Thompson J.P., Skerman V.B.D.: *Azotobacteraceae*: the taxonomy and ecology of the aerobic Nitrogen-fixing bacteria. Academic Press London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco 1979, pp. 418.
87. Tilak K., Sharma K.C.: Does *Azotobacter* help in increasing the yield. *Indian Farming Digest*, 2007, **9**: 25-28.
88. Torres-Pedraza A.J., Salgado-Lugo H., Segura D., Díaz-Barrera A., Peña C.: Composition control of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) copolymerization by oxygen transfer rate (ORT) in *Azotobacter vinelandii* OPNA. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2021, **96**: 2782-2791.
89. Turesin F., Gumusyazici Z., Kok F.N., Gursel I., Alaaddinoglu N.G., Hasirci V.: Biosynthesis of polyhydroxybutyrate and its copolymers and their use in controlled drug release. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 2000, **30**: 535-541.
90. Vance C.P., Graham P.H.: Nitrogen fixation in agriculture: application and perspectives. In: *Nitrogen fixation: Fundamentals and applications. Current plant science and biotechnology in agriculture*, I.A. Tikhonovich, N.A. Provorov, W.E. Newton (eds). Springer, Dordrecht 1995, pp. 77-86.
91. Vojnovic Z.: Microbiological properties of main types soil in Serbia for nitrogen cycling. *Journal for Scientific Agricultural Research*, 1961, **43**: 3-25.
92. Wakarera P.W., Ojola P., Njeru E.M.: Characterization and diversity of native *Azotobacter* spp. isolated from semi-arid agroecosystems of Eastern Kenya. *Biology Letters*, 2022, **18**: 1-7.
93. Wani S.A., Chand S., Wani M.A., Ramzan M., Hakeem K.R.: *Azotobacter chroococcum* – a potential biofertilizer in agriculture: an overview. In: *Soil science: agricultural and environmental prospectives*, K.R. Hakeem, J. Akhtar, M. Sabir (eds). Springer, Cham 2016, pp. 333-348.

94. W u S.C., Cao Z.H., Li Z.G., Cheung K.C., Wong M.H.: Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*, 2005, **125**: 155-166.
95. W u S.C., Luo Y.M., Cheung K.C., Wong M.H.: Influence of bacteria on Pb and Zn speciation, mobility and bioavailability in soil: a laboratory study. *Environmental Pollution*, 2006, **144**: 765-773.
96. Y o u s e f i S., Kartoolinejad D., Bahmani M., Naghdi R.: Effect of *Azospirillum lipoferum* and *Azotobacter chroococcum* on germination and early growth of hopbush shrub (*Dodonaea viscosa* L.) under salinity stress. *Journal of Sustainable Forest*, 2017, **36(2)**: 107-120.
97. Z a w i ś l a k K.: Występowanie azotobaktera w glebach na stokach w województwie olsztyńskim. *Roczniki Gleboznawcze*, 1973, **24**: 343-365.
98. Zayadan B.K., Matorin D.N., Baimakhanova G.B., Bolathan K., Oraz G.D., Sadanov A.K.: Promising microbial consortia for producing biofertilizers for rice fields. *Microbiology*, 2014, **83**: 391-397.
99. Z h a n g X., Baars O., Morel F.M.M.: Genetic, structural and functional diversity of low and high-affinity siderophores in strains of nitrogen fixing *Azotobacter chroococcum*. *Metallomics*, 2019, **11**: 201-212.
100. Z i e m i ę c k a J.: Występowanie azotobaktera w glebach polskich. *Roczniki Nauk Rolniczych*, 1923, **10**: 1-78.

CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW STOSOWANYCH W PRODUKTACH MIKROBIOLOGICZNYCH – BAKTERIE Z RODZAJU *AZOTOBACTER*

Streszczenie

Słowa kluczowe: *Azotobacter* spp., biologiczne wiązanie azotu, plon roślin, rolnictwo zrównoważone, bionawozy

Stosowane powszechnie w rolnictwie konwencjonalnym chemiczne metody ochrony roślin przyczyniły się do degradacji środowiska naturalnego. Obecnie próbuje się ograniczyć chemizację rolnictwa poprzez stosowanie efektywnych biologicznie preparatów. W rolnictwie integrowanym i ekologicznym biopreparaty stosowane są przede wszystkim w ochronie roślin przed patogenami oraz do stymulowania wzrostu i plonowania roślin. Na rynku dostępne są preparaty mikrobiologiczne, które zawierają w swoim składzie wolno żyjące bakterie wiążące azot atmosferyczny z rodzaju *Azotobacter*. Bakterie te dostarczają roślinom składników mineralnych, syntetyzują fitohormony stymulujące wzrost roślin, a także chronią je przed działaniem fitopatogenów. Poza tym biopreparaty na bazie *Azotobacter* spp. znalazły zastosowanie w rekultywacji gleby, ponieważ poprzez poprawę właściwości próchnicotwórczych gleby zwiększają stopień jej żyzności.

CHARACTERIZATION AND IMPORTANCE OF MICROORGANISMS USED IN MICROBIOLOGICAL PREPARATIONS – BACTERIA OF THE GENUS *AZOTOBACTER*

Summary

Keywords: *Azotobacter* spp., biological nitrogen fixation, crop yield, sustainable agriculture, biofertilizers

Conventional methods of crop protection, which are commonly applied in agriculture, have contributed to degradation of the environment. At present, attempts are being made to limit the use of chemicals in agriculture by using biologically effective preparations. In the integrated and ecological agriculture biofertilizers are used to control plant pathogens, and to stimulate growth and yields of crops. There is a wide range of microbial preparations, which containing free-living biological nitrogen fixing bacteria belonging to the genus *Azotobacter*. These bacteria provide

plants with minerals, synthesize growth hormones that stimulate plant growth, and protect them against phytopathogens. In addition, biopreparations based on *Azotobacter* spp. have been used in soil remediation because they increase the fertility of the soil by improving the conditions of humus production.



Monika Koziel

**IV. CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE
■ MIKROORGANIZMÓW STOSOWANYCH
W PRODUKTACH MIKROBIOLOGICZNYCH
BAKTERIE Z RODZAJU *RHIZOBIUM***

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czarторыskich 8, 24-100 Puławy
tel. (0-81) 4786952
e-mail: mkoziel@iung.pulawy.pl

1. WSTĘP

W praktyce rolniczej preparaty mikrobiologiczne stosowane są przede wszystkim w ochronie roślin do ograniczania rozwoju patogenów i szkodników. Na rynku dostępne są także preparaty mikrobiologiczne wykorzystywane do stymulowania wzrostu i plonowania niektórych roślin uprawnych, a przykładem takich biopreparatów są szczepionki zawierające bakterie z rodzaju *Rhizobium*, które wiążą azot atmosferyczny w symbiozie z korzeniami roślin bobowatych (Martyniuk 2011, Aloo i in. 2022). Biopreparaty produkowane na bazie różnych szczepów *Rhizobium* spp. należą do grupy produktów najbardziej znanych i powszechnie stosowanych w uprawie roślin na całym świecie, również w Polsce. Wykorzystywane są one do zaprawiania nasion roślin bobowatych, umożliwiając tym samym wprowadzenie dużej liczby bakterii bezpośrednio do strefy korzeniowej siewek roślin. Większa liczebność bakterii brodawkowych w glebie zwiększa ich szanse na nawiązanie skutecznej symbiozy z rośliną gospodarza. Brodawki korzeniowe są miejscem, w którym odbywa się wymiana składników odżywczych pomiędzy partnerami tej symbiozy. Bakterie dostarczają roślinie bobowatej azot pobrany z atmosfery w zamian za cukry, które są źródłem energii wykorzystywanej przez bakterie do przeprowadzania procesu redukcji azotu atmosferycznego (Martyniuk 2010).

W Polsce preparaty mikrobiologiczne, w tym zawierające bakterie symbiotyczne, dopuszczane są do obrotu przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi po spełnieniu wymogów procedury rejestracyjnej. Procedura ta obejmuje dokładne dane na temat składu, opisu składu produkcyjnego i sposobu stosowania produktu. Obowiązkowe jest także przedstawienie wyników doświadczeń laboratoryjnych i polowych, potwierdzających skuteczność rejestrowanego biopreparatu w praktyce. Z tego względu szczepionki bakteryjne są biopreparatami o sprawdzonej efektywności i dobrej jakości pod względem mikrobiologicznym (Martyniuk 2011).

Obecnie na światowym rynku dostępny jest szeroki wybór szczepionek bakteryjnych dla roślin bobowatych, po które rolnicy chętnie sięgają, ponieważ oprócz zwiększania plonu pozwalają prowadzić zrównoważone i ekologiczne rolnictwo, które nie wymaga nawożenia azotem mineralnym (Zamłyńska i in. 2020). Wśród dostępnych na rynku biopreparatów znajdują się, m.in.: Nitragina Biofood, Nitragina IUNG, Nitraza, *Rhizobium* Bio-Gen, Novobakt Rhizo, Turbosoy, Rhizo Liq, Biofix, Nodumax (Koskey i in. 2021, Aloo i in. 2022, Fahde i in. 2023, Kobus i Sach 2023).

2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU *RHIZOBIUM*

Bakterie z rodzaju *Rhizobium* są Gram-ujemnymi, tlenowymi, urzęsionymi pałeczkami, które nie tworzą form przetrwalnych. Należą one do klasy α -Proteobacteria. Popularna nazwa „rizobia” wywodzi się od nazwy rodzajowej *Rhizobium* i po łacinie oznacza „żyjący w korzeniach” (De Lajudie i in. 2019). Rodzaj *Rhizobium*

zawiera ponad 150 znanych gatunków, ponadto istnieje również wiele niescharakteryzowanych i nieuprawianych gatunków pochodzących z różnych środowisk (Chen i in. 2021). W obrębie rodziny Rhizobiaceae możemy wyróżnić następujące rodzaje bakterii: *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Ensifer* (*Sinorhizobium*), *Neorhizobium*, *Pararhizobium* i *Allorhizobium*, które charakteryzują się zdolnością do tworzenia układów symbiotycznych z wieloma różnymi gatunkami roślin bobowatych (Jaiswal i in. 2021).

Bakterie brodawkowe zaliczane są do grupy bakterii glebowych, które współżyją z roślinami bobowatymi, powodując powstawanie na ich korzeniach brodawek, w których zachodzi proces wiązania azotu atmosferycznego, czyli jego redukcja do formy amonowej, przyswajalnej dla roślin (rys. 1). Proces biologicznego wiązania azotu atmosferycznego dostarcza corocznie do gleb uprawnych około 139–170 mln ton tego pierwiastka, z czego ilość azotu związanego przez bakterie występujące w układach symbiotycznych stanowi około 70–80% (People i Craswell 1992, Martyniuk 2008).



Rys. 1. Brodawki na korzeniach seradeli (*Ornithopus sativus* L., lewa strona) i grochu (*Pisum sativum* L., prawa strona) (Martyniuk 2019)

Większość gatunków bakterii brodawkowych charakteryzuje się dużą specyficznością symbiotyczną, czyli powinowactwem do określonego gatunku rośliny-gospodarza. Na przykład, bakterie brodawkowe fasoli (*R. leguminosarum* bv. *phaseoli*) nie tworzą symbiozy z korzeniami koniczyny, lucerny lub grochu, tak samo jak symbionty koniczyny (*R. leguminosarum* bv. *trifolii*), lucerny (*S. meliloti*) lub grochu (*R. leguminosarum* bv. *viciae*) nie utworzą brodawek na korzeniach fasoli. Są jednak gatunki ryzobiów, które mogą indukować tworzenie brodawek u jednego lub kilku gatunków roślin bobowatych. Na przykład bakterie należące do gatunku *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* są symbiontami bobiku, grochu i soczewicy, a *Sinorhizobium meliloti* tworzą symbiozę z korzeniami lucerny, nostrzyku i kozieradki (Martyniuk 2012 i 2019). Nie stwierdzono dotychczas występowania w glebach uniwersalnego gatunku bakterii symbiotycznych, który tworzyłby symbiozę ze wszyst-

kimi rodzajami i gatunkami roślin bobowatych (Martyniuk 2008, Sujkowska 2009). W tabeli 1 podano najważniejsze rodzaje i gatunki bakterii symbiotycznych oraz nazwy rodzajowe roślin bobowatych, z którymi tworzą symbiozę.

Tabela 1

Rodzaje i gatunki bakterii brodawkowych i ich symbiotyczni gospodarze roślinni
(Łyszcz i Gałązka 2016, Martyniuk 2019)

Rodzaj	Gatunek	Gospodarz roślinny
<i>Rhizobium</i>	<i>R. leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i> <i>R. leguminosarum</i> bv. <i>trifolii</i> <i>R. leguminosarum</i> bv. <i>phaseoli</i>	groch, bobik, wyka, soczewica koniczyna fasola
<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i> sp. <i>B. japonicum</i>	łubin soja
<i>Sinorhizobium</i>	<i>S. meliloti</i>	lucerna, nostrzyk, kozieradka
<i>Mesorhizobium</i>	<i>M. loti</i>	komonica

Bakterie symbiotyczne roślin bobowatych w okresie, kiedy nie tworzą symbiozy z korzeniami roślin, występują w glebie jako saprofity, a ich liczebność i przeżywalność zależy od wielu czynników glebowo-klimatycznych oraz zabiegów agrotechnicznych. Do najważniejszych możemy zaliczyć (Podleśna 2018, Martyniuk 2019, Fahde i in. 2023):

- jakość gleby, a zwłaszcza jej żyzność i pH;
- częstotliwość uprawiania roślin bobowatych na danym polu;
- nawożenie NPK i wapnowanie;
- właściwości bakterii brodawkowych.

W Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach prowadzono badania dotyczące zasiedlenia wybranych gleb Polski przez różne gatunki bakterii z rodzaju *Rhizobium* (Martyniuk i in. 2000 i 2005). Wyniki analiz wykazały, że zarówno występowanie, jak i liczebność bakterii symbiotycznych w glebach na terenie Polski są bardzo zróżnicowane. Symbionty koniczyny, grochu i bobiku występują w glebach dość powszechnie. Ich obecność potwierdzono również w glebach, na których od lat nie uprawiano wyżej wymienionych roślin. Bakterii tych nie stwierdzono w glebach lekkich i silnie zakwaszonych (pH < 4,5), co stanowiło około 5% przebadanych gleb. Symbiontów łubinu i fasoli nie wykryto w około 25% gleb. Bakterie symbiotyczne łubinu najliczniej występowały w glebach lekkich i średnio zwięzłych, charakteryzujących się lekko kwaśnym lub kwaśnym odczynem, czyli w glebach najczęściej obsiewanych tą rośliną. W większości gleb na terenie Polski brakuje też bakterii symbiotycznych lucerny i soi lub ich liczebność jest bardzo niska. Wyjątek stanowią gleby obsiewane tymi roślinami. W przypadku soi, która pochodzi z Chin i nie jest gatunkiem rodzimym, oczywiste jest, że bakterii, które współżyją z tą rośliną, nie spotkamy w naszych glebach. W związku z tym, aby wykorzystać zjawisko symbiozy, nasiona soi należy bezwzględnie szczepić bakte-

riami symbiotycznymi. Jest to też bardzo wskazane w stosunku do nasion gatunków rodzimych, jakimi są np. łubin, bobik, groch, ze względu na niewielki areał obsiewany obecnie tymi roślinami czy długie przerwy w ich uprawie na danym polu.

Informacje na temat występowania i liczebności bakterii symbiotycznych w glebach Polski są niezwykle istotne i wykorzystywane w praktyce do racjonalnego stosowania preparatów szczepionkowych zawierających omawiane bakterie. Preparaty mikrobiologiczne na bazie bakterii symbiotycznych są dostępne na rynku w wielu krajach, także w Polsce. Przedsięwzięcie zaprawianie nasion roślin bobowatych uprawianych na glebach charakteryzujących się brakiem lub niskimi populacjami bakterii symbiotycznych przyczynia się do istotnego przyrostu plonów tych roślin (Wróbel i Maliszewska-Ziemińska 1960).

3. ETAPY WYTWARZANIA PREPARATÓW MIKROBIOLOGICZNYCH ZAWIERAJĄCYCH BAKTERIE Z RODZAJU *RHIZOBIUM*

Preparaty mikrobiologiczne zawierające bakterie symbiotyczne roślin bobowatych są powszechnie stosowane w uprawie roślin na całym świecie (Martyniuk 2011, Aloo i in. 2022). Technologia wytwarzania tych szczepionek obejmuje następujące etapy:

- zgromadzenie kolekcji różnych szczepów drobnoustrojów;
- kontrolowanie czystości i jakości (efektywności symbiotycznej) wybranych szczepów;
- rozmnażanie mikroorganizmów i kontrolowanie czystości uzyskiwanej biomasy;
- przygotowywanie jałowego nośnika (drobno zmielony torf, węgiel brunatny, perlit);
- mieszanie biomasy bakterii z nośnikiem i konfekcjonowanie szczepionki (Lupwayi i in. 2000, Martyniuk 2010 i 2011, Gałązka 2019).

Szczepy bakterii symbiotycznych wykorzystywane do produkcji szczepionek pozyskiwane są najczęściej z brodawek korzeniowych roślin bobowatych. Czyste kultury wyodrębnionych bakterii identyfikuje się do gatunku na podstawie cech morfologicznych komórek oraz właściwości fizyczno-biochemicznych lub wykorzystując do tego celu najnowsze techniki molekularne. W przypadku bakterii z rodzaju *Rhizobium* ważne jest przeprowadzenie biotestów z roślinami bobowatymi w celu określenia powinowactwa wyodrębnionych izolatów do tworzenia układów symbiotycznych z określonymi rodzajami tych roślin. Nie ma uniwersalnego gatunku bakterii symbiotycznych tworzącego brodawki na korzeniach wszystkich gatunków roślin bobowatych. Stąd też w praktyce szczepionki ryzobiowe produkowane są oddzielnie dla każdej rośliny bobowatej. We wspomnianych powyżej biotestach sprawdzana jest również efektywność symbiotyczna szczepów na podstawie takich cech, jak wygląd i liczba brodawek na korzeniach roślin czy aktyw-

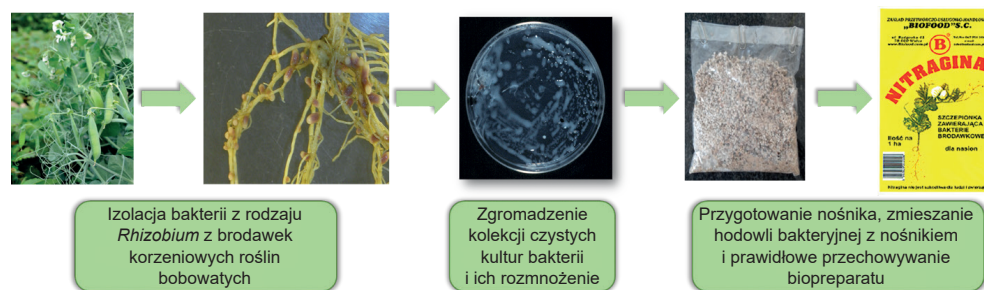
ność enzymu zwanego nitrogenazą. Znajomość tych cech jest ważna ze względów praktycznych, gdyż do produkcji preparatów, których komponentami są bakterie z rodzaju *Rhizobium* wybierane są izolaty najefektywniejsze pod względem symbiotycznym. Scharakteryzowane i zidentyfikowane szczepy bakterii przechowywane są na skosach agarowych w temperaturze 4°C (Martyniuk 2010).

Zgromadzona kolekcja szczepów bakterii symbiotycznych roślin bobowatych wymaga okresowej kontroli czystości i jakości. Zwykle co 6 miesięcy kolonie bakteryjne przeszczepiane są na świeże pożywki, m.in. po to, aby kultury nie obumarły. Jednakże zbyt częste pasażowanie bakterii brodawkowych na nowe podłoża hodowlane jest zjawiskiem niekorzystnym, prowadzącym do zmian w morfologii i fizjologii tych bakterii. Z tego względu czyste kultury bakterii powinny być przechowywane w –80°C w roztworze glicerolu lub w formie liofilizatu (Martyniuk 2010).

Kolejny etap wytwarzania szczepionek ryzobiowych obejmuje rozmnożenie czystych kultur bakterii symbiotycznych roślin bobowatych. Do produkcji preparatów mikrobiologicznych wybierane są izolaty o najkorzystniejszych cechach, tj. duża efektywność symbiotyczna i konkurencyjność, czyli zdolność do zasiedlania i indukowania brodawek na korzeniach roślin bobowatych. Po odmłodzeniu wybranego szczepu namnożona biomasa przenoszona jest ze skosu agarowego do kolby ze sterylną płynną pożywką i umieszczana na wytrząsarce w temperaturze 28°C w celu rozmnożenia hodowanego izolatu. Następnie uzyskaną „kulturę mateczną” przenosi się do fermentorów zawierających coraz większe objętości sterylnych pożywek, w których odbywa się rozmnożenie mikroorganizmów w sposób kontrolowany, jałowy i optymalny. Proces namnażania bakterii symbiotycznych w fermentorach trwa kilka dni i kończy się, gdy gęstość hodowli wynosi 10^8 – 10^{10} komórek bakteryjnych w 1 ml pożywki. Należy pamiętać o kontrolowaniu czystości hodowli bakterii brodawkowych na każdym etapie przenoszenia i powiększania hodowli, ponieważ od tego zależy jakość wytwarzanego biopreparatu (Martyniuk 2010).

W przypadku szczepionek ryzobiowych doskonałym nośnikiem dla odpowiednio namnożonej hodowli bakteryjnej są perlit, zmielony i odkwaszony torf i pył węgla brunatnego, które zapewniają zarówno odpowiednie warunki do przeżywania bakterii brodawkowych, jak również przyklejanie się preparatu do nasion roślin bobowatych (Stephens i Rask 2000, Sobiczewski 2009, Aloo 2022). Wysterylizowane porcje wybranego nośnika zaszczipiane są odpowiednią liczbą hodowli bakterii symbiotycznych (15–30 ml) i dodatkowo inkubowane przez około 2 tygodnie w temperaturze 28°C w celu dalszego rozmnożenia bakterii na nośniku. Proces zamknięcia kontroli jakości wybranych losowo porcji szczepionki z każdej przygotowanej do sprzedaży partii produkcyjnej. Wytworzone w ten sposób preparaty są wykorzystywane do zaprawiania nasion roślin bobowatych, co jest dużym ułatwieniem przy wprowadzaniu dużej liczby bakterii bezpośrednio do strefy korzeniowej siewek roślin. Większa liczba ryzobiów w glebie zwiększa szanse bakterii brodawkowych na nawiązanie skutecznej symbiozy z rośliną (Martyniuk 2010). Technologię wytwa-

rzania biopreparatów zawierających bakterie symbiotyczne roślin bobowatych przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Etapy produkcji preparatu mikrobiologicznego na przykładzie Nitraginy (opracowanie własne)

4. NITRAGINA I INNE PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE NA BAZIE BAKTERII Z RODZAJU *RHIZOBIUM*

Na polskim rynku dostępne są preparaty mikrobiologiczne zawierające bakterie symbiotyczne, spełniające wymogi procedury rejestracyjnej. Rolnicy mają do dyspozycji szeroki wybór szczepionek bakteryjnych dla roślin bobowatych, po które chętnie sięgają, ponieważ oprócz zwiększania plonów roślin poprawiają właściwości próchnicotwórcze gleby, nie zaburzając jednocześnie równowagi biologicznej. Większość dostępnych na polskim rynku biopreparatów rizobiowych produkowana jest w postaci preparatów stałych, suchych, wilotnych i płynnych. Przykładowe szczepionki stosowane w uprawach roślin bobowatych to, m.in.: HiStick® Soy, Nitroflora, Nitragina Biofood, Nitragina IUNG, Nitraza, Rhizobium Bio-Gen czy wiN₂backter (rys. 3).

Nitragina IUNG-PIB	Nitragina Biofood	Nitraza	Nitroflora Mycoflor	Rhizobium Bio-Gen	HiStick®Soy
podłoże perlitowe	podłoże węglowe	zawiesina płynna	zawiesina płynna	liofilizowany szczep bakterii	podłoże węglowe

Rys. 3. Przykłady szczepionek rizobiowych dostępnych na polskim rynku (opracowanie własne)

Prawidłowe działanie preparatów bakteryjnych wymaga właściwego ich stosowania. Bakterie symbiotyczne znajdują się na tak zwanych stałych nośnikach, którymi najczęściej jest drobno zmielony torf, węgiel brunatny lub perlit. Każdy producent podaje dokładną metodę stosowania biopreparatu. Najczęściej określoną jego porcją należy wymieszać z niewielką ilością czystej wody ogrzanej do temperatury otoczenia (20–28°C). Przygotowany w ten sposób środek bakteryjny należy wymieszać z nasionami tak, aby każde zostało pokryte szczepionką. Można do tego celu wykorzystać, np. betoniarkę lub zaprawiarkę. W przypadku stosowania zaprawiarki konieczne jest dokładne jej umycie z pozostałości chemicznych środków ochrony roślin, które mogą być toksyczne dla bakterii symbiotycznych. W sytuacji, kiedy rolnik zamierza stosować chemiczne zaprawy nasienne i jednocześnie korzystać ze szczepionek bakteryjnych, to najpierw należy zastosować zaprawę, a następnie preparat bakteryjny najlepiej bezpośrednio przed siewem. Związki chemiczne znajdujące się w zaprawach nasiennych mogą wywierać niekorzystny wpływ na przeżywalność bakterii brodawkowych na nasionach oraz na proces symbiozy tych bakterii z korzeniami roślin bobowatych. Stopień tego oddziaływania uzależniony jest od rodzaju związku chemicznego. Badania wykazały, że zaprawy nasienne zawierające takie substancje aktywne, jak: karbendazym, karboksyna lub tiuram, tylko w niewielkim stopniu wpływają ograniczająco na proces symbiozy. Bardzo ważny jest także czas od przeprowadzenia szczepienia nasion do ich wysiewu. Zaszczepione nasiona należy wysiać możliwie jak najszybciej po zastosowaniu preparatu mikrobiologicznego. Przechowywanie zaprawionych i zaszczepionych nasion nawet przez 24–48 godzin może bardzo istotnie zmniejszyć skuteczność szczepionki. Spowodowane jest to zamieraniem bakterii brodawkowych na przechowywanych nasionach (Martyniuk 2012).

5. AKTUALNY STAN WIEDZY NA TEMAT BIONAWOZÓW RIZOBIOWYCH

Obecnie na całym świecie rośnie zainteresowanie wykorzystywaniem w rolnictwie preparatów mikrobiologicznych produkowanych na bazie odpowiednio dobranych i pożytecznych mikroorganizmów występujących w środowisku naturalnym. Prawie 170 przedsiębiorstw w 24 krajach produkuje i sprzedaje bionawozy zarówno na małą, jak i dużą skalę (Bharti i in. 2017). Od kilkadziesiąt lat szczególnie intensywnie stosowane są w rolnictwie szczepionki rizobiowe, co związane jest z ograniczeniem stosowania nawozów mineralnych oraz chemicznych środków ochrony roślin. Wzrastające zapotrzebowanie na biopreparaty związane jest więc głównie z rozwojem proekologicznych metod uprawy roślin, w tym rolnictwa ekologicznego (Paudyal i Gupta 2018). Chociaż zakres praktycznego wykorzystywania biopreparatów jest ciągle mały, wykazuje wyraźne tendencje wzrostowe. Przykładowo Aloo i in. (2022) podają, że w ostatnich latach wzrosło zapotrzebowanie na bionawozy w takich krajach, jak: Kanada, Argentyna, Chiny, Indie, Europa i Stany

Zjednoczone Ameryki (USA). Dynamiczny rozwój badań nad różnorodnością genetyczną, biochemiczną i funkcjonalną, a także potencjałem i praktycznym wykorzystaniem bakterii z rodzaju *Rhizobium* niewątpliwie przyczynił się do wprowadzenia na rynek licznych preparatów bionawozowych w różnych krajach na całym świecie (tab. 2).

Tabela 2

Przykłady bionawozów rizobiowych dostępnych na światowym rynku

Kraj	Nazwa produktu	Mikroorganizm	Roślina	Źródło
Argentyna	Rhizo Liq	<i>Bradyrhizobium</i> sp. <i>Mesorhizobium ciceri</i> <i>Rhizobium</i> spp.	ciecierzyca, soja, fasola zwyczajna, orzeszki ziemne	Adeleke i in. 2019
Kanada	Rhizocell GC Nodulator	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	fasola, kukurydza, marchewka, ryż, bawełna	Oдох i in. 2019
Afryka	HiStick N-Soy	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	soja	Tairo i Ndakidemi 2014
	MasterFix	<i>Bradyrhizobium elkanii</i> , <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	soja	Savala i in. 2022
Stany Zjednoczone	Ammnite A 100	<i>Azotobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Pseudomonas</i>	ogórek, pomidor, pieprz	Oдох i in. 2019
	Legume Fix	<i>Rhizobium</i> sp., <i>Bradyrhizobium japonicum</i>	fasola zwyczajna, soja	Adeleke in. 2019
	Chickpea Nodulator	<i>Mesorhizobium ciceri</i>	ciecierzyca	Adeleke i in. 2019
	Cowpea Inoculant	<i>Rhizobium</i> spp.	wspięga wężowata	Adeleke i in. 2019

Najbardziej dominującym i postępowym rynkiem bionawozów na świecie jest Europa, gdzie popyt na bionawozy wzrósł z około 2 566 mln dolarów w 2012 r. do 4 582 mln dolarów w 2017 r. (Chandrasekhar 2014). Wartość światowego rynku bionawozów w 2016 r. wynosiła 1,06 mln dolarów, w 2019 r. oszacowano, że osiągnęła ona 2 mld dolarów, a w roku 2026 prognozuje się, że wartość ta wyniesie ponad 3,8 mld dolarów (Aloo i in. 2022).

Preparat mikrobiologiczny zawierający czyste kultury *Rhizobium* spp. obecny jest na rynku już od 1896 roku, kiedy to Nobbe i Hiltner uzyskali amerykański patent i skomercjalizowali produkt pod nazwą Nitragin (Mitter i in. 2021). Liczne badania potwierdzają, że zastosowanie szczepów z rodzajów: *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Rhizobium* i *Sinorhizobium* poprawia wzrost, plon

i jakość roślin uprawnych. Zastosowanie *Bradyrhizobium diazoefficiens* w uprawie soi wpłynęło pozytywnie na plon nasion i liczbę brodawek korzeniowych niezależnie od formy zastosowanego inokulantu (Savala i in. 2022). Ismail i in. (2021) zauważyli, że płynny bionawóz zawierający *Rhizobium* spp. zwiększa wydajność plonowania fasoli, grochu, ciecierzycy, soi i orzeszków ziemnych od 10 do 28%. W warunkach stresu suszy zaszczepienie nasion bobiku szczepem *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (F46) wpłynęło istotnie na suchą masę korzeni i zawartość azotu ogólnego (Dashadi i in. 2011). W badaniu przeprowadzonym przez Chaintreuil i in. (2000) stwierdzono, że rośliny ryżu inokulowane *Bradyrhizobium* wykazywały 20% wzrost całkowitej biomasy. Ponadto Hussain i in. (2009) odnotowali znaczną poprawę wielkości plonu (43%), biomasy roślin (18%) i wielkości ziaren ryżu (25%) zaszczepionego *Rhizobium leguminosarum*. Egamberdiyeva i in. (2004), prowadząc doświadczenia polowe, stwierdzili 77% wzrost plonu bawełny w porównaniu z grupą kontrolną. Największy wzrost plonu bawełny zaobserwowano po zastosowaniu szczepu *Rhizobium meliloti* URM1. Ponadto w praktyce stosuje się inokulację bakterii solubilizujących fosforany łącznie z mikroorganizmami zdolnymi do asymilacji azotu w symbiozie z roślinami bobowatymi. Stymulujący wpływ *Rhizobium* spp. i *Azotobacter* spp. na wzrost i plonowanie roślin uprawnych wykazano w warunkach laboratoryjnych, szklarniowych, jak i polowych (Wani i Gopalakrishnan 2019). Yadav i Vashishat (1991) stwierdzili pozytywny wpływ inokulacji *Azotobacter chroococcum* i *Bradyrhizobium* na brodawkowanie, wiązanie azotu i plonowanie fasoli (*Vigna radiate*). Badania prowadzone przez Siddiqui i in. (2014) wykazały także, że aplikacja wyżej wymienionych bakterii wpływa istotnie na brodawkowanie i plonowanie ciecierzycy. Synergizm pomiędzy bakteriami wiążącymi azot a bakteriami solubilizującymi fosforany badali także Bellabarba i in. (2019). Zaobserwowano, że inokulacja szczepami *Bacillus* spp. i *Rhizobium* spp. fasoli, grochu i soi wpłynęła pozytywnie na rozbudowę ich systemu korzeniowego i liczbę brodawek.

6. PODSUMOWANIE

Największym i najważniejszym globalnym wyzwaniem XXI wieku jest ograniczenie chemizacji rolnictwa, które prowadzi do zmniejszania ilości substancji odżywczych gleby oraz spadku jej żyzności, co z kolei skutkuje ograniczeniem wzrostu i rozwoju wielu gatunków roślin uprawnych. Obecnie prowadzone są liczne badania mające na celu poprawę warunków zdrowotnych gleby, m.in. poprzez wprowadzanie do obrotu handlowego efektywnych bionawozów rizobakteryjnych. Chociaż stosowanie preparatów zawierających *Rhizobium* spp. jest praktykowane zarówno w Polsce, jak i na świecie to nadal utrzymuje się ono na niskim poziomie. Prognozuje się, że bionawozy te będą miały ogromny potencjał rynkowy, a ich wykorzystanie z pewnością będzie zwiększało się. Przygotowanie preparatu rizobiowego o wysokiej jakości jest niezwykle trudne, a proces jego wytwarzania wieloetapowy. Dużego nakładu pracy wymaga zgromadzenie kolekcji mikroorga-

nizmów, długotrwałe ich namnażanie oraz kontrolowanie czystości uzyskiwanych hodowli. Nie mniejsze znaczenie ma przygotowanie i dobranie nośnika, mieszanie biomasy z nośnikiem, a także odpowiednie przechowywanie szczepionki. Wyniki badań prowadzonych przez naukowców z wielu instytutów rolniczych i uniwersytetów potwierdzają skuteczność szczepionek na bazie bakterii symbiotycznych roślin bobowatych, co przekłada się na przyspieszenie rozwoju rynku bionawozów oraz promowanie ich wykorzystania w zrównoważonych praktykach rolniczych.

7. LITERATURA

1. A d e l e k e R.A., Raimi A.R., Roopnarain A., Mokubedi S.M.: Status and prospects of bacterial inoculants for sustainable Management of Agroecosystems. In: *Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment*, B. Giri, R. Prasad, Q.S. Wu, A. Varma (eds) In: Cham: Springer International Publishing, 2019, pp. 137-172.
2. A l o o B.N., Tripathi V., Makumba B.A., Mbega E.R.: Plant growth-promoting rhizobacterial biofertilizers for crop production: The past, present, and future. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**: 1-15.
3. B e l l a b a r b a A., Fagorzi C., Dicenzo G.C., Pini F., Viti C., Checcucci A.: Deciphering the symbiotic plant microbiome: translating the most recent discoveries on rhizobia for the improvement of agricultural practices in metal-contaminated and high saline lands. *Agronomy*, 2019, **9**(9), 529; <https://doi.org/10.3390/agronomy9090529>
4. B h a r t i N., Sharma S.K., Saini S., Verma A., Nimonkar V., Prakash O.: Microbial plant probiotics: problems in application. In: *Probiotics and Plant Health*, V. Kumar, M. Kumar, S. Sharma, R. Prasad (eds). Singapore, Springer, 2017, pp. 317-335.
5. C h a i n t r e u i l C., Giraud E., Prin Y., Lorquin J., Bâ A., Gillis M., de Lajudie P., Dreyfus B.: Photosynthetic bradyrhizobia are natural endophytes of the African wild rice *Oryza breviligulata*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**: 5437-5447.
61. C h a n d r a s e k h a r K.: Europe bio fertilizer market is expected to reach \$4,582.2 million in 2017 new report. *MicroMarket monitor*, 2014. Available at: <http://www.micromarketmonitor.com/market/europe-bio-fertilizer-4637178345.html> (data dostępu 2.07.2022).
62. C h e n W.F., Wang E.T., Ji Z.J., Zhang J.J.: Recent development and new insight of diversification and symbiosis specificity of legume rhizobia: Mechanism and application. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, **131**: 553-563.
63. D a s h a d i M., Khosravi H., Moezzi A., Nadian H., Heidari M., Radjabi R.: Co-Inoculation of *Rhizobium* and *Azotobacter* on Growth of Faba bean. *Environmental Sciences*, 2011, **1**: 314-319.
64. D e L a j u d i e P.M., Andrews M., Ardley J., Eardly B., Jumas-Bilak E., Kuzmanović N., Lassalle F., Lindström K., Mhamdi R., Martínez-Romero E., et al.: Minimal standards for the description of new genera and species of rhizobia and agrobacteria. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2019, **69**: 1852-1863.
65. E g a m b e r d i y e v a D., Juraeva D., Poberejskaya S., Myachina O., Teryuhova P., Seydalieva L., Aliev A.: Improvement of wheat and cotton growth and nutrient uptake by phosphate solubilizing bacteria. In: *Proceedings of the 26th annual conservation tillage conference for sustainable agriculture*, Auburn, Australia, 8 June 2004, pp. 58-65.

66. F a h d e S., Boughribil S., Sijilmassi B., Armi A.: Rhizobia: A promising source of plant growth-promoting molecules and their non-legume interactions: examining applications and mechanisms. *Agriculture*, 2023, **13(17)**, 1279; <https://doi.org/10.3390/agriculture13071279>
67. G a ł ą z k a A.: Praktyczne wykorzystanie mikroorganizmów. w rolnictwie. W: Ochrona bioróżnorodności gleby warunkiem zdrowia obecnych i przyszłych pokoleń, J. Podleśny, B. Kowalska (red.). 2019, ss. 125-135.
68. H u s s a i n M.B., Mehboob I., Zahir Z.A., Naveed M., Asghar H.N.: Potential of *Rhizobium* spp. for improving growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.). *Soil and Environment*, 2009, **15**: 49-55.
69. I s m a i l S., Dhamak A.L., Mohanty S.R.: Technical bulletin – *Rhizobium* biofertilizer technology for legumes of maharashtra. AINP SBB Technical Bulletin VNMKV: Parbhani, India 2021, p. 1-7.
70. J a i s w a l S.K., Mohammed M., Ibny F.Y.I., Dakora F.D.: Rhizobia as a Source of Plant Growth-Promoting Molecules: Potential Applications and Possible Operational Mechanisms. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, **4**, 619676; <https://10.3389/fsufs.2020.619676>
71. K o b u s A., Sach M.: Asortyment produktów mikrobiologicznych roślin jak grzyby po deszczu. *Farmer*, 2023, **5**: 95-97.
72. K o s k e y G., Mburu S.W., Awino R., Njeru E.M., Maingi J.M.: Potential use of beneficial microorganisms for soil amelioration, phytopathogen biocontrol, and sustainable crop production in smallholder agroecosystems. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, **5**, 606308; <https://10.3389/fsufs.2021.606308>
73. L u p w a y i N.Z., Olsen P.E., Sande E.S., Keyser H.H., Collins M.M., Singleton P.W., Rice W.A.: Inoculant quality and its evaluation. *Field Crops Research*, 2000, **65**: 259-270.
74. Ł y s z c z M., Gałazka A.: Proces biologicznego wiązania azotu atmosferycznego. *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 2016, **49(3)**: 59-70.
75. M a r t y n i u k S., Woźniakowska A., Martyniuk M., Oroń J.: A new sand pouch-plant infection technique for enumeration of rhizobia in soil. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 2000, **69**: 257-261.
76. M a r t y n i u k S., Oroń J., Martyniuk M.: Diversity and numbers of root-nodule bacteria (rhizobia) in Polish soils. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 2005, **74**: 83-86.
77. M a r t y n i u k S.: Znaczenie procesu biologicznego wiązania azotu w rolnictwie ekologicznym. *Journal of Research and Application in Agricultural Engineering*, 2008, **53(4)**: 9-14.
78. M a r t y n i u k S.: Wytwarzanie preparatów mikrobiologicznych na przykładzie bakterii symbiotycznych roślin motylkowatych. *Journal of Research and Applications on Agricultural Engineering*, 2010, **55(4)**: 20-23.
79. M a r t y n i u k S.: Skuteczne i nieskuteczne preparaty mikrobiologiczne stosowane w ochronie i uprawie roślin oraz rzetelne i nierzetelne metody ich oceny. *Postępy Mikrobiologii*, 2011, **50(4)**: 321-328.
80. M a r t y n i u k S.: Naukowe i praktyczne aspekty symbiozy roślin strączkowych z bakteriami brodawkowymi. *Polish Journal of Agronomy*, 2012, **9**: 17-22.
81. M a r t y n i u k S.: Biologiczne wiązanie N₂, bakterie symbiotyczne roślin bobowatych w glebach Polski i oszacowywanie ich liczebności. *Polish Journal of Agronomy*, 2019, **38**: 52-65.
82. M i t t e r E.K., Tosi M., Obregón D., Dunfield K.E., Germida J.J.: Rethinking crop nutrition in times of modern microbiology: Innovative biofertilizer technologies. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, **5**, 606815; <https://10.3389/fsufs.2021.606815>

83. O d o h C.K., Eze C.N., Akpi U.K., Unah V.U., 2019. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a novel agent for sustainable food production. *American Journal of Agricultural and Biological Science*, 2019, **14**: 35-54.
84. P a u d y a I S.P., Gupta V.: Substitution of chemical fertilizer nitrogen through rhizobium inoculation technology. *Our Nature*, 2018, **16(1)**: 43-47.
85. P e o p l e s M.B., Craswell E.T.: Biological nitrogen fixation: investments, expectations, and actual contributions to agriculture. *Plant and Soil*, 1992, **141(1-2)**: 13-40.
86. P o d l e ś n a A.: Proces wiązania N₂ przez rośliny bobowate jako źródło azotu dla roślin uprawnych. *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 2018, **56(10)**: 71-85.
87. S a v a l a C.E.N., Wiredu A.N., Chikoye D., Kyei-Boahen S.: Prospects and potential of *Bradyrhizobium diazoefficiens* based bio-inoculants on soybean production in different agro-ecologies of Mozambique. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2022, **6**, 908231.
88. S i d d i q u i A., Shivle R., Magodiya N., Tiwari K.: Mixed effect of *Rhizobium* and *Azotobacter* as biofertilizer on nodulation and production of chick pea, *Cicer arietinum*. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 2014, **7**: 46-49.
89. S o b i c z e w s k i P.: Bakterie wykorzystywane w produkcji roślinnej. W: *Biotechnologia roślin*, S. Maleszy (red.). PWN Warszawa 2009, ss. 172-213.
90. S t e p h e n s J.G.H., Rask H.M.: Inoculant production and formulation. *Field Crop Research*, 2000, **65**: 249-258.
91. S u j k o w s k a M.: Przebieg procesu infekcji w układzie symbiotycznym rośliny motylkowate – *Rhizobium*. *Wiadomości botaniczne*, 2009, **53(1/2)**: 35-53.
92. T a i r o E.V., Ndakidemi P.A.: Macronutrients uptake in soybean as affected by *Bradyrhizobium japonicum* inoculation and phosphorus (P) supplements. *American Journal of Plant Sciences*, 2014, **5**: 488-496.
93. W a n i S.P., Gopalakrishnan S.: Plant growth-promoting microbes for sustainable agriculture. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Prospects for Sustainable Agriculture*, Springer, Singapore 2019, p. 19-45.
94. W r ó b e l T., Maliszewska-Ziemięcka J.: Wyniki doświadczeń polowych nad wpływem szczepienia roślin motylkowatych na ich polny w latach 1954–58. *Rocznik Nauk Rolniczych*, 1960, **82(A1)**: 201-209.
95. Y a d a v A.S., Vashishat R.K.: Associative effect of *Bradyrhizobium* and *Azotobacter* inoculation on nodulation, nitrogen fixation and yield of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Indian Journal of Microbiology*, 1991, **31(3)**: 297-299.
96. Z a m ł y ń s k a K., Feculak M., Suśniak K., Kidaj D., Komaniecka I., Sroka-Bartnicka A.: Wpływ biopreparatów na uprawę roślin przemysłowych. *Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce*, 2020, s. 63-68.

CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW STOSOWANYCH W PRODUKTACH MIKROBIOLOGICZNYCH – BAKTERIE Z RODZAJU *RHIZOBIUM*

Streszczenie

Słowa kluczowe: symbiotyczne wiązanie azotu, bakterie symbiotyczne, rośliny bobowate, bionawozy, wzrost i rozwój roślin

Degradacja środowiska naturalnego spowodowana nadmiernym stosowaniem w rolnictwie nawozów mineralnych oraz pestycydów przyczyniła się do poszukiwania alternatywnych metod ochrony roślin. Jednym ze sposobów ograniczenia chemizacji rolnictwa jest dogłębne stosowanie preparatów mikrobiologicznych, których celem jest ochrona roślin przed patogenami oraz korzystny wpływ na ich wzrost i rozwój. Przykładem takich biopreparatów są szczepionki zawierające bakterie z rodzaju *Rhizobium*, które wiążą azot atmosferyczny w symbiozie z korzeniami roślin bobowatych. Biopreparaty produkowane na bazie różnych szczepów *Rhizobium* spp. należą do grupy preparatów najbardziej znanych i powszechnie stosowanych w uprawie roślin na całym świecie, również w Polsce. Symbiotyczne bakterie brodawkowe wchodzące w skład preparatów mikrobiologicznych wiążą azot atmosferyczny z powietrza i dostarczają go w formie przyswajalnej roślinom bobowatym. Szczepionki mikrobiologiczne, których komponentami są bakterie z rodziny Rhizobiaceae generowane są odpowiednio dla każdej rośliny bobowatej. Najpopularniejszym biopreparatem na bazie bakterii symbiotycznych jest *Nitragina* stosowana do zaprawiania nasion roślin bobowatych.

CHARACTERIZATION AND IMPORTANCE OF MICROORGANISMS USED IN MICROBIOLOGICAL PREPARATIONS – BACTERIA OF THE GENUS *RHIZOBIUM*

Summary

Keywords: symbiotic nitrogen fixation, symbiotic rhizobia, *Fabaceae* plants, biofertilizers, plant growth and development

The degradation of the environment caused by excessive use of mineral fertilizers and pesticides in agriculture has contributed to the search for alternative methods of plant protection. One way to limit the use of chemicals in agriculture by introducing into trade biologically effective is to preparations. They are supposed to protect

plants from pathogens and to positively affect the growth and development of crops. One example of biopreparations are vaccines containing bacteria from the genus *Rhizobium*, which fixing atmospheric nitrogen in symbiosis with the roots of legumes. Biopreparations produced on the basis of various strains of *Rhizobium* spp. belong to the group of preparations that are the most well-known and commonly used in plant cultivation around the world, also in Poland. Symbiotic rhizobia in microbial preparations contribute to the nitrogen assimilation by *Fabaceae* plants unable to assimilate nitrogen in sufficient amount. Microbial preparations, whose components are bacteria from the Rhizobiaceae family, are generated appropriately for each legume plant. The most popular biopreparation based on symbiotic bacteria is Nitragina used for dressing legume seeds.



Małgorzata Woźniak

**V. ■ MIKROORGANIZMY SOLUBILIZUJĄCE
FOSFORANY I ICH POTENCJAŁ
DO ZASTOSOWANIA W ROLNICTWIE
ZRÓWNOWAŻONYM**

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
tel. (0-81) 4786960
e-mail: m.wozniak@iung.pulawy.pl

1. WSTĘP

Według szacunków Organizacji ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO – ang. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*) do roku 2050 liczba ludności na świecie osiągnie 9,7 miliarda, co wymaga znacznego zwiększenia produkcji rolnej. Ponadto zmiany klimatyczne są również wyzwaniem dla światowej produkcji roślinnej (FAO 2017). Wraz z nadejściem Zielonej Rewolucji i stosowaniem niezrównoważonych praktyk rolniczych, w tym wylesiania, nadmiernego stosowania nawozów mineralnych, środków biobójczych i nowoczesnych technik nawadniania, doszło do utraty różnorodności biologicznej, degradacji jakości gruntów, niedoboru słodkiej wody i zanieczyszczenia środowiska. W konsekwencji w ostatnich latach nastąpiło spowolnienie wzrostu plonów. W związku z powyższym, wyzwaniem jest przywrócenie odpowiedniego tempa produkcji rolnej przy minimalnym wpływie na środowisko przyrodnicze (Yadav i in. 2017, John i Babu 2021).

Obecnie praktyka rolnicza w dużym stopniu uzależniła się od stosowania agrochemikaliów, bez których światowa produkcja żywności zmniejszyłaby się prawdopodobnie o połowę (Yadav i in. 2017). Szczególnie należy zwrócić uwagę na zależność od nawozów fosforowych, ponieważ zapasy rudy fosforowej są ograniczone i przewiduje się, że albo się wyczerpią, albo staną się zbyt drogie w ciągu następnych kilku–kilkunastu dekad (Gilbert 2009, Fixen i Johnston 2012). Biorąc pod uwagę fakt, że fosfor jest czynnikiem niezbędnym do produkcji żywności, globalne bezpieczeństwo fosforu ma bezpośredni wpływ na globalne bezpieczeństwo żywnościowe. Ponadto troska o trwałość fosforu wynika również z kwestii środowiskowych, w tym eutrofizacji spowodowanej spływem z nawożonych pól i utraty jakości gleb (Elser 2012, Siebielec i in. 2021). Obecnie opracowywane są różne plany działania, których celem jest sprostanie globalnym wyzwaniom. Większość z nich dotyczy innowacyjnych sposobów zarządzania nawozami i innymi agrochemikaliami, opracowania wydajnych procesów recyklingu i wprowadzania elementów gospodarki o obiegu cyrkularnym, modyfikacji cech roślin oraz wykorzystania naturalnych preparatów (bionawozów, biostymulatorów, biopreparatów, biomodyfikatorów) (Syers i in. 2008, Ajmera i in. 2019).

2. ZNACZENIE FOSFORU W PRODUKCJI ROLNEJ

Fosfor (P; ang. *phosphorus*) jest obok azotu drugim istotnym makroskładnikiem niezbędnym do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin (Roch i in. 2019). Odgrywa on kluczową rolę w złożonych przemianach energetycznych niezbędnych do życia roślin, przede wszystkim w procesie fotosyntezy (Razaq i in. 2017). Cząsteczki P stanowią strukturalny szkielet innych biomolekuł, takich jak: ATP, NADPH, kwasy nukleinowe, fosfolipidy i łańcuch cukrowo-fosforanowy, które są istotne dla pierwotnego i wtórnego metabolizmu roślin (Bechtaoui i in. 2021). Fosfor reguluje różnorodne mechanizmy fizjologiczne i molekularne oraz ma fundamentalne znaczenie

dla rozwoju odpornych na stres i wysokoplennych odmian roślin uprawnych. Na poziomie komórkowym roślin pierwiastek ten jest kluczowym elementem dla różnych funkcji fizjologicznych i biochemicznych. Wchodzi w szeroki zakres procesów metabolicznych, w szczególności w syntezę kwasów nukleinowych i wytwarzanie energii przez rośliny (Malhotra i in. 2018, Bechtaoui i in. 2021). Niedobór P w glebie upośledza produkcję owoców i cechy jakościowe podczas wegetatywnego cyklu wzrostu roślin (Li i in. 2012). Ponadto fosfor stymuluje rozwój korzeni, a tym samym pobieranie przez roślinę wody i składników pokarmowych z gleby. Fosfor jest potrzebny roślinie od etapu siewki aż do osiągnięcia pełnej dojrzałości – i ma wymierny wpływ na jakość i ilość plonu. Wpływ fosforu na wzrost i rozwój roślin przedstawiono na poniższym schemacie (rys. 1) (Bechtaoui i in. 2021).



Rys. 1. Rola fosforu we wzroście i rozwoju roślin (Bechtaoui i in. 2021)

Klasycznymi fenotypowymi objawami niedoboru fosforanów są: zahamowanie wzrostu i rozgałęzień pędów, ciemnozielone do niebieskozielonego zabarwienie liści, słabsze i cieńsze łodygi, zmniejszone krzewienie, nieskuteczne zapylenie, mniejsza liczba kwiatów, opóźniona dojrzałość, słaba jakość ziarna i niski plon (Kennelly i in. 2012). Niedobór fosforu w liściach może zakłócać normalne otwieranie aparatów szparkowych i kompartmentację P oraz mobilizację nieorganicznego fosforu do młodszych liści, merystemów, kwiatów i nasion (Smith 2002, Ajmera i in. 2019).

3. ŹRÓDŁA FOSFORU

Fosfor glebowy występuje w dwóch formach – w postaci związków organicznych (Po; ang. *organic phosphate*) i nieorganicznych (Pi; ang. *inorganic phosphate*). Organiczne formy fosforu stanowią około 30–50% całkowitej zawartości fosforu w glebie. Organiczne frakcje są wytwarzane w wyniku aktywności metabolicznej żywych komórek. Fosforan inozytolu, dominująca klasa Po w glebie, znany jako fitynian, jest syntetyzowany przez rośliny oraz silnie kompleksowany ze związkami glebowymi. Inne związki Po to kwas ortofosforowy, a także fosforany inozytolu,

fosfolipidy i kwasy nukleinowe (Vance i in. 2003, Siebielec i in. 2021). Natomiast pulę fosforu nieorganicznego tworzą fosforany wapniowe oraz fosforany glinu i żelaza (Siebielec i in. 2021). Formy glebowego fosforu dostępne dla roślin to:

- H_2PO_4^- ,
- HPO_4^{2-} ,
- PO_4^{3-} .

W wielu glebach całkowita zawartość P mieści się w przedziale 400–1200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Występuje on głównie w postaci apatytu i innych minerałów pierwotnych. Ze względu na niską rozpuszczalność, powolną dyfuzję i wysoką reaktywność gleby mniej niż 0,1% całkowitego P występuje w formach nieorganicznych (P_i) dostępnych do pobierania przez rośliny. W glebach biodostępność P jest bardzo niska, sięga zaledwie 1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ gleby (Schelfhout i in. 2021). Krytyczne wartości fosforu nieorganicznego w glebie, które są łatwo dostępne do pobrania przez korzenie roślin, mieszczą się w zakresie 10–15 $\text{mg P}\cdot\text{kg}^{-1}$. Wartości te określa się metodą Olsena lub Mehlicha-III, w zależności od rodzaju gleby (Olsen i in. 1954, Mehlich 1984). Większość nieorganicznego fosforu glebowego jest niedostępna dla roślin, ze względu na ich wiązanie, albo w postaci fosforanu żelaza/glinu w glebach kwaśnych, albo w postaci fosforanu wapnia w glebach obojętnych do zasadowych (Lindsay i in. 1989).

W zależności od dostępności dla roślin pulę fosforu glebowego można podzielić na (Ciopińska i Bezak-Mazur 2018, Siebielec i in. 2021):

- fosfor aktywny – dostępny dla korzeni roślin w formie jonów PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- ;
- fosfor ruchomy – fosforan glinu, żelaza, wapnia, wodorofosforan wapnia i magnezu oraz wiwianit. Ponadto do tej grupy zalicza się związki fosforu zaadsorbowane na powierzchni tlenków żelaza i glinu, węglanu wapnia oraz w niektórych związkach organicznych, tj. fosfolipidy, fityna i kwasy nukleinowe;
- fosfor zapasowy – apatyt, waryscyt, strengit i fosforyt.

Nawozy fosforowe są głównym czynnikiem zwiększającym dostępność P w nowoczesnych systemach produkcji rolnej. Podstawowym źródłem tego makroelementu stosowanego w rolnictwie jest fosfor pochodzący z przerobu wydobytego fosforytu (Nedelciu i in. 2020, Siebielec i in. 2021). Około 90% wszystkich wydobytych fosforytów wykorzystuje się do produkcji roślin rolniczych i ogrodniczych (Nesme i in. 2018). Obecna światowa podaż nawozów fosforowych wynosi około 50 mln ton i przewiduje się, że do 2050 r. wzrośnie do około 90 mln ton (Nedelciu i in. 2020). Zwiększenie wykorzystania nawozów w rolnictwie wpływa na wzrost produkcji żywności, jednakże wysokie zużycie nieodnawialnych zasobów P będzie wywierać większą presję na już wyczerpujące się globalne rezerwy tego pierwiastka (Ros i in. 2020).

Intensywne stosowanie nawozów fosforowych powoduje nadmierną akumulację fosforu w glebie. Tylko 10–20% całkowitego P zastosowanego do gleby jest pobierane przez rośliny w postaci P_i . Nawozy mineralne tymczasowo zwiększają poziom

P w glebie. Takie straty P mają znaczący szkodliwy wpływ na funkcjonowanie ekosystemu, na co zwracano uwagę w ciągu ostatnich kilku dekad (Weihrauch i Opp 2018, Siebielec i in. 2021, Ibrahim i in. 2022). Część fosforu zgromadzonego w nawozach stosowanych do gleby uwalnia się do środowiska, doprowadzając do eutrofizacji zbiorników wodnych, utraty bioróżnorodności i jakości gleby, akumulacji szkodliwych związków. Ze względu na ryzyko środowiskowe nie zaleca się stosowania nawozów mineralnych. Ponadto zasoby fosforanów skalnych (nieodnawialne źródła P) stale maleją. Szacuje się, że w ciągu najbliższych 50–100 lat naturalne źródła złóż fosforu wyczerpią się (Scholz i Wellmer 2021). Dlatego istotne jest zrozumienie dynamiki P w środowisku glebowym, w szczególności sposobu, w jaki pobierają go rośliny. Kluczowe jest zbadanie zaawansowanych strategii i zarządzania agronomicznego w zakresie racjonalnego wykorzystania skał fosforytowych i łagodzenia ich wpływu na środowisko przyrodnicze. Jednocześnie potrzebne są nowe strategie, metody i technologie, aby zwiększyć efektywność wykorzystania i stosowania nawozów w uprawach, wykorzystując każdą frakcję składnika odżywczego i zwiększając jego przyswajalność przez rośliny. W tym kontekście mikroorganizmy rozpuszczające fosforany są podstawowymi wektorami zrównoważonego rozwoju współczesnego rolnictwa (Siebielec i in. 2021, Ibrahim i in. 2022, Nadeem i in. 2022).

4. MIKROORGANIZMY SOLUBILIZUJĄCE FOSFORANY

Mikroorganizmy solubilizujące fosforany (PSM; ang. *phosphate solubilizing microorganisms*) to grupa organizmów złożona z promieniowców, bakterii, grzybów, grzybów mikoryzy arbuskularnej i cyjanobakterii, zdolnych do hydrolizy fosforu organicznego i nieorganicznego do postaci rozpuszczalnych, dzięki czemu staje się on biodostępny dla roślin. Mikroorganizmy te występują dość licznie w glebie i powszechnie kojarzą się z ryzosferą roślin, a ich liczba różni się w zależności od gleby (Ibrahim i in. 2022). Gleba jest naturalnym i podstawowym podłożem dla rozwoju mikroorganizmów. W jednym gramie żywej gleby znajduje się od 10 do 10^{10} bakterii, a ich żywa masa może przekraczać $2000 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Spośród całej populacji drobnoustrojów PSM w glebie, bakterie solubilizujące P stanowią od 1 do 50%, a grzyby solubilizujące P od 0,1 do 0,5% całkowitej populacji PSM. Większość PSM wyizolowano z ryzosfery różnych roślin, w których wiadomo, że są one najbardziej aktywne metabolicznie (Khan i in. 2001, Chen i in. 2006). Djuuna i in. (2022) pobrali próbki tych mikroorganizmów w Indonezji. Pobrano próbki gleb rolniczych z odpowiednią historią uprawy warzyw, zbóż i roślin strączkowych z różnych regionów. Wyniki wykazały, że populacja bakterii solubilizujących wahała się od 25×10^3 do $550 \times 10^3 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ gleby i grzybów solubilizujących – od $2,0 \times 10^3$ do $5,0 \times 10^3 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ gleby na wszystkich badanych obszarach. W PSM panuje także duża różnorodność. Bakterie mają kilku przedstawicieli, np. z rodzajów *Azospirillum*, *Bacillus*,

Pseudomonas, *Nitrosomonas*, *Erwinia*, *Serratia*, *Rhizobium*, *Xanthomonas*, *Enterobacter* i *Pantoea*. Do grzybów niemikoryzowych należą rodzaje: *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Arthrobotrys* i *Trichoderma*. Przykładami grzybów mikoryzowych PSF są: *Rhizophagus niereularis*, *Glomus mossea*, *G. fasciculatum* i *Entrophospora colombiana*. Wśród promieniowców przykłady PSM stanowią z rodzajów: *Streptomyces*, *Thermobifida* i *Micrococcus*, a cyjanobakterie: *Calothrix braunii*, *Westiellopsis prolifica*, *Anabaena variabilis* i *Scytonema* sp. (Shrivastava i in. 2018, Woźniak i Gałązka 2019, Siebielec i in. 2021, da Silva i in. 2023).

5. MECHANIZMY SOLUBILIZACJI

5.1. NIEORGANICZNYCH FORM FOSFORU

Głównym mechanizmem solubilizacji nieorganicznych form fosforu jest produkcja kwasów organicznych o niskiej masie cząsteczkowej (rys. 2). Ogólnie, kwasy organiczne po uwolnieniu zakwaszają ryzosferę, co powoduje spadek pH, a kationy związane z fosforem ulegają chelatacji z ich grup hydroksylowych i karbonylowych. Ponadto kwasy te mogą konkurować z miejscami adsorpcji P i tworzyć kompleksy z jonami metali związanymi z P (Mander i in. 2012, Rawat i in. 2021, da Silva i in. 2023). Skuteczność solubilizacji zależy od mocy i charakteru kwasów. Kwasy tri- i dikarboksyłowe są skuteczniejsze niż kwasy jednozasadowe i aromatyczne, a kwasy alifatyczne są bardziej skuteczne w solubilizacji fosforanów niż kwasy fenolowe, cytrynowy i fumarowy. Kwasy organiczne o niskiej masie cząsteczkowej syntetyzuje się podczas utleniania glukozy poprzez bezpośrednie utlenianie peryplazmatyczne (Oubrie i in. 1999) i fosforylację wewnątrzkomórkową (Lessie i Phibbs 1984). U szczepu *Pseudomonas aeruginosa* P4 niedobór fosforanów przyczynia się do zwiększenia wydzielania kwasu glukonowego, co jest spowodowane zmianą dominującego szlaku metabolizmu glukozy z fosforylacji na bezpośrednie utlenianie (Buch i in. 2008). Grzyby glebowe zazwyczaj wytwarzają i wydalają więcej kwasów, takich jak: kwas glukonowy, cytrynowy, mlekowy, 2-ketoglukonowy, szczawowy, winowy i octowy (Sharma i in. 2013). Inne mechanizmy solubilizacji fosforanów mineralnych przez mikroorganizmy to wytwarzanie kwasów nieorganicznych (kwasu siarkowego, azotowego i węglowego) (rys. 2) oraz wydzielanie innych czynników, np. enzymów, egzopolisacharydów, sideroforów, uwalnianie protonów, produkcja H_2S oraz bezpośrednie utlenianie glukozy. Jednakże skuteczność kwasów nieorganicznych i czynników chelatujących w uwalnianiu fosforu do gleby jest mniejsza niż kwasów organicznych (Timofeeva i in. 2022, da Silva i in. 2023).



Rys. 2. Przykłady kwasów organicznych i nieorganicznych, które mogą być wytwarzane przez PSM w celu solubilizacji fosforanów (Sharma i in. 2013, Rawat i in. 2021, da Silva i in. 2023)

5.2. ORGANICZNYCH FORM FOSFORU

Mineralizacja fosforu odnosi się do solubilizacji fosforu organicznego i degradacji pozostałej części cząsteczki. W procesie mineralizacji fosforanów bierze udział kilka grup enzymów wydzielanych przez mikroorganizmy solubilizujące fosforany. Pierwsza grupa enzymów to niespecyficzne fosfatazy kwaśne (NSAP; ang. *non-specific acid phosphatases*). Najlepiej zbadanymi enzymami NSAP są fosfomonoesterazy, zwane także fosfatazami. Enzymy te mogą defosforylować szeroką gamę fosfoestrów, rozpuszczając około 90% fosforanów organicznych w glebie. Kolejnym enzymem wytwarzanym przez PSM w procesie mineralizacji organicznego P jest fitaza. Enzym ten odpowiada za uwalnianie fosforu z materiałów organicznych w glebie (nasion roślin i pyłków), które są magazynowane w postaci fitynianów. Rozkład fitynianów przez fitazę uwalnia fosfor w postaci dostępnej dla roślin. Inne enzymy zaangażowane w mineralizację fosforu organicznego to, m.in. hydrolazy fosofnianowe i liazy węglowo-fosforowe (Alori i in. 2017, Timofeeva i in. 2022, da Silva i in. 2023).

Zdolność PSM do przekształcania nierozpuszczalnego fosforu organicznego i nieorganicznego jest ściśle związana z właściwościami gleby. PSM z gleb o ekstremalnych warunkach środowiskowych, takich jak gleby słono-alkaliczne, gleby o wysokim poziomie niedoboru składników odżywczych lub gleby ze środowisk o ekstremalnych temperaturach, mają tendencję do rozpuszczania większej ilości fosforanów niż PSM z gleb o bardziej umiarkowanych warunkach (Zhu i in. 2011). Do innych czynników wpływających na rozpuszczanie fosforanów przez drobno-

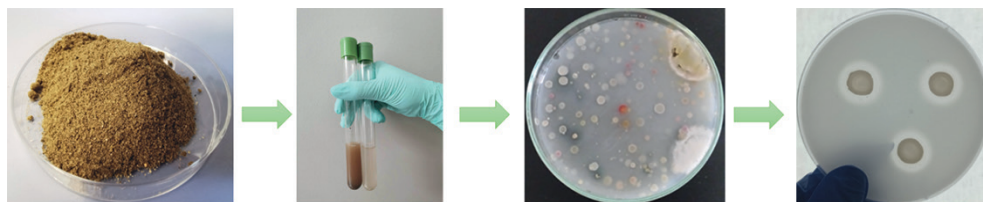
ustroje należą: interakcje z innymi mikroorganizmami w glebie, gatunek rośliny, etap wegetacji roślin, warunki ekologiczne, strefa klimatyczna, praktyki agronomiczne, systemy użytkowania gruntów oraz właściwości fizykochemiczne gleby, takie jak zawartość materii organicznej oraz pH (Seshachala i Tallapragada 2012). Fosfor rozpuszcza się szybciej w ciepłym, wilgotnym klimacie, a wolniej w chłodnym i suchym. Gleba dobrze napowietrzona lepiej sprzyja rozpuszczaniu fosforanów w porównaniu z glebą wilgotną nasyconą wodą. Gleba bogata w materię organiczną będzie sprzyjać rozwojowi drobnoustrojów, a zatem rozpuszczaniu fosforu przez drobnoustroje (Alori i in. 2017).

6. BADANIA LABORATORYJNE

Zdolność PSM do rozpuszczania fosforanów określa się za pomocą konwencjonalnych metod, takich jak: pożywki selektywne, bulion/agar Pikovskaya (PVK) oraz NBRIP (ang. *National Botanical Research Institute P*), które wykorzystuje się zarówno do jakościowej, jak i ilościowej oceny solubilizacji fosforanów. Metody PVK i NBRIP polegają na wykrywaniu mikroorganizmów zdolnych do wytwarzania kwasów organicznych i zawierają fosforan trójwapniowy $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ jako kluczowy składnik (fosfor) (Pikovskaya 1948, Nautiyal 1999, Sharma i in. 2013, Siebielec i in. 2021). Jakościowa analiza zdolności mikroorganizmów do solubilizacji fosforanów polega na naniesieniu i rozprowadzeniu roztworu glebowego w odpowiednim rozcieńczaniu na sterylne podłoże agarowe PVK oraz NBRIP. Po inkubacji w odpowiedniej temperaturze $28 \pm 2^\circ\text{C}$, organizmy wykazujące przezroczystą strefę halo wokół kolonii są uznawane za wykazujące aktywność solubilizacji fosforanów (Sharma i in. 2013, Pande i in. 2017, Woźniak i in. 2019) (rys. 3). Zdolność do solubilizowania fosforanów poszczególnych mikroorganizmów jest oceniana na podstawie wskaźnika solubilizacji (SI; ang. *Phosphate Solubilization Index*) według następującego wzoru (Pande i in. 2017, Woźniak i in. 2019, Siebielec i in. 2021):

$$\text{SI} = \frac{\text{średnica kolonii} + \text{średnica strefy halo}}{\text{średnica kolonii}}$$

Następnie, zgodnie z klasyfikacją zaproponowaną przez Berraquero i in. (1976), można przyporządkować poszczególne mikroorganizmy do odrębnych grup: $\text{SI} < 2$ wskazuje na niską zdolność do solubilizacji fosforanów; $2 < \text{SI} \leq 4$ wskazuje na średnią zdolność do solubilizacji fosforanów; $\text{SI} > 4$ wskazuje na wysoką zdolność do solubilizacji fosforanów.



Rys. 3. Schemat przedstawiający etapy izolacji bakterii PSB (opracowanie własne)

Analizy jakościowe na stałych podłożach agarowych oraz analizy ilościowe na płynnych podłożach są jednym z pierwszych etapów opracowywania biopreparatów z komponentem mikrobiologicznym PSM. Wyselekcjonowane szczepy bakterii PSB lub grzybów PSF, które trwale i efektywnie rozpuszczają fosforany można zidentyfikować poprzez charakterystykę fenotypową i/lub genotypową, a następnie można wykonać szereg analiz mających na celu potwierdzenie zdolności danych szczepów do stymulacji wzrostu roślin, np. zdolność wiązania azotu atmosferycznego (Pande i in. 2017, Teshome i in. 2019, Woźniak i in. 2019). Ważne jest jednak, aby przed wprowadzeniem bioproduktu na rynek przeanalizować *in vivo* efektywność szczepów bakterii na roślinach modelowych w fitotronach, szklarniach i w eksperymentach polowych (Woźniak i in. 2019).

7. ZASTOSOWANIE W ROLNICTWIE

PSM poza funkcją udostępniania fosforu mogą również w sposób uzupełniający wspomagać wzrost roślin. Mają bezpośrednie i pośrednie mechanizmy działania stymulujące wzrost roślin, w tym biologiczne wiązanie azotu i produkcję fitohormonów. PSM mogą stymulować tolerancję na stresy środowiskowe, takie jak susza i niska żyzność gleby, a także indukować obronę rośliny żywicielskiej poprzez wytwarzanie antybiotyków i metabolitów wtórnych oraz związków biosurfaktantów. Ponadto zastosowanie PSM lub ich konsorcjów może modulować reakcję fizjologiczną roślin i wspomagać ich wzrost i rozwój. Zatem inokulacja mikroorganizmów w postaci różnego rodzaju biopreparatów jest istotna w poprawie jakości gleb i stymulacji wzrostu roślin (da Silva i in. 2023).

W literaturze przedmiotu odnotowano wiele przykładów wykorzystania PSM jako stymulatorów wzrostu i rozwoju roślin. Wang i in. (2022) do swoich badań wybrali *Pseudomonas moraviensis*, *Bacillus safensis* i *Falsibacillus pallidus*, które skutecznie solubilizują P oraz wytwarzają kwas indolilo-3-octowy (IAA; ang. *Indole-3-acetic acid*). Plon pszenicy (*Triticum aestivum*) po zaszczepieniu PSB wzrósł istotnie o 14,42% ($P < 0,05$) w porównaniu z obiektem kontrolnym na użytkach rolnych, na których zastosowano nawozy fosforowe. Oprócz promowania wzrostu pszenicy stwierdzono, że labilna frakcja P w glebie została znacząco zwiększona po zaszczepieniu PSB w porównaniu z glebą kontrolną. Co więcej, zaszczepienie PSB

zwiększyło biomasę i aktywność drobnoustrojów w glebie. Ponadto badania wskazują, że synergizm łączenia PSB i nawozów fosforowych może zwiększać efektywność agronomiczną nawozów w glebie. Zastosowanie PSB w połączeniu z różnymi rodzajami nieorganicznych i organicznych nawozów fosforowych: obornikiem zwierzęcym, ptasimi odchodami, superfosfatem pojedynczym i fosforanami skalnymi, pozytywnie wpłynęło na wzrost kukurydzy (Timofeeva i in. 2022). W przypadku pszenicy zaszczerpionej *Pseudomonas* sp. zaobserwowano również zwiększone pobieranie i efektywność wykorzystania fosforanów (Suleman i in. 2018). Elhaissofi i in. (2020) zaobserwowali, że pojedyncze szczepienie roślin pszenicy pięcioma różnymi szczepami *Pseudomonas* (*P. plecoglossicida*, *P. reinekei*, *P. koreensis*, *P. japonica* i *P. frederiksbergensis*) w połączeniu z nawozem fosforowym zwiększa biodostępność fosforanów i pobieranie składników odżywczych, zawartość chlorofilu oraz pozytywnie wpływa na cechy morfologiczne i strukturę korzeni.

Synergia między bakteriami rozpuszczającymi fosforany w glebie a szczepami wiążącymi azot atmosferyczny jest istotnym procesem wspomagającym wzrost roślin. Koinokulacja pszenicy diazotroficznym szczepem *Paenibacillus beijingsis* BJ-18 oraz rozpuszczającym fosforany *Paenibacillus* sp. B1 istotnie zwiększała wzrost roślin oraz zawartość fosforanów i azotu w roślinie (korzeniach i pędach) oraz w glebie (Li i in. 2020). Natomiast zaszczerpienie ciecierzycy *Mesorhizobium ciceri* wiążącym azot, grzybem rozpuszczającym fosforany (*Penicillium* WF6) i bakterią PSB *Serratia* T1 spowodowało zwiększoną dostępność i pobór fosforanów oraz pozytywnie wpłynęło na wiązanie azotu (Zaidi i Khan 2007). Co więcej, badania Patil i in. (2012) wskazują, że grzyby solubilizujące fosforany *Penicillium bilaji* i *Penicillium* spp. istotnie wpłynęły na wysokość kukurydzy, liczbę liści, produkcję suchej masy, długość kolby, masę ziaren w kolbie, plon ziarna i zawartość składników odżywczych w tkankach (N, P, K, Zn i Fe). Stwierdzono, że szczepienie PSF wraz z nawozem P wykazało około 20–23% przyrost wysokości kukurydzy w porównaniu z obiektem kontrolnym (Patil i in. 2012).

Bionawozy fosforanowe zawierające PSM wśród wielu preparatów mikrobiologicznych odgrywają ważną rolę w zrównoważonym rozwoju agroekosystemów. Inokulacja mikroorganizmów rozpuszczających fosforany do gleby wydaje się być skutecznym sposobem przekształcania nierozpuszczalnych związków fosforanowych w formy biodostępne, co skutkuje lepszym wzrostem, plonem i jakością roślin. Pierwszy preparat mikrobiologiczny zawierający spory bakterii *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* zaadsorbowane na kaolinicie pod nazwą Fosfobakteryna zastosowano do inokulacji nasion lub doglebowo na obszarze ZSRR w latach 50. ubiegłego wieku. Obecnie na rynku jest dostępnych wiele preparatów bazujących na mikroorganizmach PSM, np. Biosuper (*Thiobacillus* spp.), Pr70Release (*Penicillium radicum*), FosfoPower (szczepy bakterii PSB) czy bi fosfor (*Bacillus megaterium*) (Siebielec i in. 2021, <https://fosfopower.pl/>; <https://agrarius.eu/produkty/bi-fosfor/>).

8. PODSUMOWANIE

Większość gleb rolniczych charakteryzuje się ograniczoną dostępnością fosforu, co stanowi wyzwanie dla współczesnego rolnictwa. Dlatego konieczne jest opracowanie wydajnych, ekonomicznych, przyjaznych dla środowiska i wysoce stabilnych alternatywnych strategii, aby zaspokoić zapotrzebowanie roślin na fosfor. Efektywność wykorzystania fosforanów w rolnictwie można poprawić poprzez inokulację mikroorganizmami solubilizującymi fosforany (PSM), które zwiększają dostępność fosforanów bez zakłócania składu biochemicznego gleby. Inokulacja gleby mikroorganizmami rozpuszczającymi fosforany wydaje się być skutecznym sposobem przekształcania nierozpuszczalnych związków fosforanowych w formy biodostępne, co skutkuje lepszym wzrostem, plonem i jakością roślin. Ogólnie mobilizacja fosforanów nieorganicznych odbywa się przede wszystkim w wyniku syntezy kwasów organicznych przez PSM, a mineralizacja fosforanów organicznych – przez produkcję pozakomórkowych enzymów. Zastosowanie PSM jako inokulantów mikrobiologicznych to stosunkowo nowy kierunek badań w zakresie zwiększania produktywności roślin. Technologia PSM może przyczynić się do powstania niskonakładowych systemów rolniczych i czystszeo środowiska. Zatem wykorzystanie PSM jako biopreparatów może zwiększyć produkcję żywności bez stwarzania zagrożenia dla zdrowia ludzi i środowiska. Istotne jest, aby naukowcy zgłębiali wiedzę na temat mechanizmów leżących u podstaw solubilizacji fosforanów i przekładali tę wiedzę na formę, która będzie mogła być łatwo wykorzystana przez rolników.

9. LITERATURA

1. A j m e r a I., Hodgman T.C., Lu C.: An integrative systems perspective on plant phosphate research. *Genes*, 2019, **2**, 139; <https://doi.org/10.3390/genes10020139>
2. A l o r i E.T., Glick B.R., Babalola O.O.: Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 2017, **8**, 971; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>
3. Bakterie fosforowe – bi fosfor; <https://agrarius.eu/produkty/bi-fosfor/>
4. B e c h t a o u i N., Rabiou M.K., Raklami A., Oufdou K., Hafidi M., Jemo M.: Phosphate-dependent regulation of growth and stresses management in plants. *Frontiers in Plant Science*, 2021, **12**, 679916; <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.679916>
5. B e r r a q u e r o F.R., Baya B., Cormenzana A.R.: Establecimiento de índices para el estudio de la solubilización de fosfatos por bacterias del suelo. *Ars Pharmaceutica*, 1976, **17**: 399-406.
6. B u c h A., Archana G., Kumar G.N.: Metabolic channeling of glucose towards gluconate in phosphate-solubilizing *Pseudomonas aeruginosa* P4 under phosphorus deficiency. *Research in Microbiology*, 2008, **159**: 635-642; <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.09.012>
7. C h e n Y.P., Rekha P.D., Arun A.B., Shen F.T., Lai W.A., Young C.C.: Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Applied Soil Ecology*, 2006, **34(1)**: 33-41; <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.12.002>

8. Ciopińska J., Bezak-Mazur E.: Phosphorus solubilizing bacteria – review article. *Structure and Environment*, 2018, **10(3)**: 266-277.
9. da Silva L.I., Pereira M.C., de Carvalho A.M.X., Buttrós V.H., Pasqual M., Dória J.: Phosphorus-solubilizing microorganisms: A key to sustainable agriculture. *Agriculture*, 2023, **13(2)**: 1-33; <https://doi.org/10.3390/agriculture13020462>
10. Djuna I.A.F., Prabawardani S., Massora M.: Population distribution of phosphate-solubilizing microorganisms in agricultural soil. *Microbes and Environments*, 2022, **37(1)**: ME21041; <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME21041>
11. Elhaisoufi W., Khourchi S., Ibyasser A., Ghoulam C., Rchiad Z., Zeroual Y., Lyamlouli K., Bargaz A.: Phosphate solubilizing Rhizobacteria could have a stronger influence on wheat root traits and aboveground physiology than rhizosphere P solubilization. *Frontiers in Plant Science*, 2020, **11**, 979; <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00979>
12. Elser J.J.: Phosphorus: A limiting nutrient for humanity? *Current Opinion in Biotechnology*, 2012, **23**: 833-838; <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.03.001>
13. FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. The future of food and agriculture: trends and challenges, 2017; <http://www.fao.org/3/a-i6583e.pdf> (data dostępu: 24.09.2024).
14. Fixen P.E., Johnston A.M.: World fertilizer nutrient reserves: A view to the future. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2012, **92**: 1001-1005; <https://doi.org/10.1002/jsfa.4532>.
15. Gilbert N.: Environment: The disappearing nutrient. *Nature*, 2009, **461**: 716-718; <https://doi.org/10.1038/461716a>
16. Ibrahim M., Iqbal M., Tang Y.T., Khan S., Guan D.X., Li G.: Phosphorus mobilization in plant–soil environments and inspired strategies for managing phosphorus: A review. *Agronomy*, 2022, **12(10)**, 2539; <https://doi.org/10.3390/agronomy12102539>.
17. John D.A., Babu G.R.: Lessons from the aftermaths of green revolution on food system and health. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, **5**, 644559; <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.644559>.
18. Kennelly M., O'Mara J., Rivard C., Miller G.L., Smith D.: Introduction to abiotic disorders in plants. *The Plant Health Instructor*, 2012, **10**, 1094; <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2012-10-29-01>
19. Khan A.A., Jilani G., Akhtar M.S., Naqvi S.S., Rasheed M.: Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 2001, **1**: 48-58.
20. Leslie T.G., Phibbs P.V.: Alternative pathways of carbohydrate utilization in pseudomonads. *Annual Review of Microbiology*, 1984, **38**: 359-388; <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.38.100184.002043>
21. Li L., Xing W., Ma C., Zhang Y., Wang G., Yang L.: Phosphorus amendment of a lead-spiked soil with low phosphorus availability: roles of phosphorus on soil and plant lead. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2012, **43**: 1053-1064; <https://doi.org/10.1080/00103624.2012.656168>
22. Li Y., Li Q., Guan G., Chen S.: Phosphate solubilizing bacteria stimulate wheat rhizosphere and endosphere biological nitrogen fixation by improving phosphorus content. *PeerJ*, 2020, **8**, e9062; <https://doi.org/10.7717/peerj.9062>.
23. Lindsay W.L., Vlek P.L.G., Chien S.H.: Phosphate minerals. In: *Minerals in soil environment*, B. Dixon, S.B. Weed (eds). Soil Science Society of America, Madison, 1989, pp. 1089-1130.

24. M a l h o t r a H., Vandana S., Harma S., Pandey R.: Phosphorus Nutrition: plant growth in response to deficiency and excess. In: Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance, M. Hasanuzzaman, M. Fujita, H. Oku, K. Nahar, B. Hawrylak-Nowak (eds). Springer, Singapore 2018, pp. 171-190.
25. M a n d e r C., Wakelin S., Young S., Condron L., O'Callaghan M.: Incidence and diversity of phosphate-solubilising bacteria are linked to phosphorus status in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, **44**: 93-101; <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.09.009>
26. M e h l i c h A.: Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1984, **15**: 1409-1416; <https://doi.org/10.1080/00103628409367568>.
27. N a d e e m M., Wu J., Ghaffari H., Kedir A.J., Saleem S., Mollier A., Cheema M.: Understanding the adaptive mechanisms of plants to enhance phosphorus use efficiency on podzolic soils in boreal agroecosystems. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**, 804058; <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.804058>
28. N a u t i y a l C.S.: An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, 1999, **170**: 265-270.
29. N e d e l c i u C., Ragnarsdóttir K.V., Stjernquist I., Schellens M.K.: Opening access to the black box: The need for reporting on the global phosphorus supply chain. *Ambio*, 2020, **49**: 881-891; <https://doi.org/10.1007/s13280-019-01240-8>
30. Nesme T., Metson G.S., Bennet E.M.: Global phosphorus flows through agricultural trade. *Global Environmental Change*, 2018, **50**: 133-141; <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2018.04.004>.
31. O l s e n S., Cole C., Watanabe F., Dean L.: Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *Circular/U.S. Department of Agriculture*, 1954, **939**: 1-18.
32. O produkcie FosfoPower; <https://fosfopower.pl/>
33. O u b r i e A., Rozeboom H.J., Kalk K.H., Olsthoorn A.J., Duine J.A., Dijkstra B.W.: Structure and mechanism of soluble quinoprotein glucose dehydrogenase. *The EMBO Journal*, 1999, **18**: 5187-5194; <https://doi.org/10.1093/emboj/18.19.5187>
34. P a n d e A., Pandey P., Mehra S., Singh M., Kaushik S.: Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2017, **15(2)**: 379-391; <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2017.06.005>
35. P a t i l P.M., Kuligod V.B., Hebsur N.S., Patil C.R., Kulkarni G.N.: Effect of phosphate solubilizing fungi and phosphorus levels on growth, yield and nutrient content in maize (*Zea mays*). *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 2012, **25(1)**: 58-62.
36. P i k o v s k a y a R.I.: Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiology*, 1948, **17**: 362-370.
37. R a w a t P., Das S., Shankhdhar D., Shankhdhar S.C.: Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *J. Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2021, **21**: 49-68; <https://doi.org/10.3390/biology10020158>
38. R a z a q M., Zhang P., Shen H., Salahuddin S.: Influence of nitrogen and phosphorous on the growth and root morphology of *Acer mono*. *PLoS ONE*, 2017, **12**, e0171321; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171321>
39. R o c h G.V., Maharajan T., Ceasar S.A., Ignacimuthu S.: The Role of PHT1 Family transporters in the acquisition and redistribution of phosphorus in plants. *CRC. Critical Reviews in Plant Sciences*, 2019, **38**: 171-198; <https://doi.org/10.1080/07352689.2019.1645402>

40. R o s M.B.H., Koopmans G.F., van Groenigen K.J., Abalos D., Oenema O., Vos H.M.J., et al.: Towards optimal use of phosphorus fertiliser. *Scientific Reports*, 2020, **10**, 17804; <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74736-z>
41. S c h e l f h o u t S., Wasof S., Mertens J., Vanhellefont M., Demey A., Haegeman A., et al.: Effects of bioavailable phosphorus and soil biota on typical *Nardus* grassland species in competition with fast-growing plant species. *Ecological Indicators*, 2021, **120**, 106880; <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106880>
42. S c h o l z R.W., Wellmer F.W.: Endangering the integrity of science by misusing unvalidated models and untested assumptions as facts: General considerations and the mineral and phosphorus scarcity fallacy. *Sustainability Science*, 2021, **16**: 2069-2086; <https://doi.org/10.1007/s11625-021-01006-w>
43. S e s h a c h a l a U., Tallapragada P.: Phosphate solubilizers from the rhizosphere of *Piper nigrum* L. in Karnataka, India. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 2012, **72**: 397-403; <https://doi.org/10.4067/S0718-58392012000300014>
44. S h a r m a S.B., Sayyed R.Z., Trivedi M.H., Gobi T.A.: Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. SpringerPlus, 2013, **2**, 587; <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>
45. S h r i v a s t a v a M., Srivastava P.C., D'Souza S.F.: Phosphate-solubilizing microbes: Diversity and phosphates solubilization mechanism. In: *Rhizospheric Microbes in Soil*, V. Meena (ed.). Springer, Singapore 2018, pp. 137-165.
46. S i e b i e l e c S., Kozieł M., Woźniak M., Siebielec G.: Mikroorganizmy solubilizujące fosforany znaczenie w rolnictwie i remediacji. *Monografie i Rozprawy Naukowe, IUNG-PIB*, 2021, **63**: 7-85.
47. S m i t h F.W.: The phosphate uptake mechanism. In: *Food security in nutrient-stressed environments: Exploiting plants' genetic capabilities* J.J. Adu-Gyamfi, Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2002, pp. 235-244.
48. S u l e m a n M., Yasmin S., Rasul M., Yahya M., Atta B.M., Mirza M.S.: Phosphate solubilizing bacteria with glucose dehydrogenase gene for phosphorus uptake and beneficial effects on wheat. *PLoS ONE*, 2018, **13**: e0204408; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204408>
49. S y e r s J., Johnston A., Curtin D.: Efficiency of soil and fertiliser phosphorus use: reconciling changing concepts of soil phosphorus behaviour with agronomic information. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*; Rome, Italy 2008; <https://www.fao.org/3/a1595e/a1595e00.htm> (data dostępu 24.09.2024).
50. T e s h o m e B., Abatneh E., Ayinalem E.: *In vitro* screening and identification of P-solubilizing *Rhizobacteria* associated with *Sorghum bicolor* L. *Agricultural Research and Technology*, 2019, **20(2)**: 0084-0089; <https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2019.20.556122>
51. T i m o f e e v a A., Galyamova M., Sedykh S.: Prospects for using phosphate-solubilizing microorganisms as natural fertilizers in agriculture. *Plants*, 2022, **11(16)**, 2119; <https://doi.org/10.3390/plants11162119>
52. V a n c e C.P., Uhde-Stone C., Allan D.L.: Phosphorus acquisition and use; critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*, 2003, **157**: 423-447; <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00695.x>
53. W a n g Z., Zhang H., Liu L. et al.: Screening of phosphate-solubilizing bacteria and their abilities of phosphorus solubilization and wheat growth promotion. *BMC Microbiology*, 2022, **22**, 296; <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02715-7>

54. We i h r a u c h C., Opp C.: Ecologically relevant phosphorus pools in soils and their dynamics: the story so far. *Geoderma*, 2018, **325**: 183-194; <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.02.047>
55. W o ź n i a k M., Gałązka A., Tyśkiewicz R., Jaroszuk-Ściseł J.: Endophytic bacteria potentially promote plant growth by synthesizing different metabolites and their phenotypic/Physiological profiles in the Biolog GEN III MicroPlate™ Test. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, **20(21)**, 5283; <https://doi.org/10.3390/ijms20215283>
56. W o ź n i a k M., Gałązka A.: The rhizosphere microbiome and its beneficial effects on plants—current knowledge and perspectives. *Advancements of Microbiology*, 2019, **58(1)**: 59-69; <https://doi.org/10.21307/PM-2019.58.1.059>
57. Y a d a v A.N., Verma P., Singh B., Chauha V.S., Suman A., Saxena A.K.: Plant growth promoting bacteria: biodiversity and multifunctional attributes for sustainable agriculture. *Advances in Biotechnology & Microbiology*, 2017, **5(5)**: 1-16; <https://doi.org/10.19080/AIBM.2017.05.5556671>
58. Z a i d i A., Khan M.S.: Stimulatory effects of dual inoculation with phosphate solubilising microorganisms and arbuscular mycorrhizal fungus on chickpea. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 2007, **47**: 1016-1022; <https://doi.org/10.1071/EA06046>
59. Z h u F., Qu L., Hong X., Sun X.: Isolation and characterization of a phosphate solubilizing halophilic bacterium *Kushneria* sp. YCWA18 from *Daqiao Saltern* on the coast of yellow sea of China. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 615032; <https://doi.org/10.1155/2011/615032>

MIKROORGANIZMY SOLUBILIZUJĄCE FOSFORANY I ICH POTENCJAŁ DO ZASTOSOWANIA W ROLNICTWIE ZRÓWNOWAŻONYM

Streszczenie

Słowa kluczowe: fosfor, solubilizacja, mineralizacja, zarządzanie składnikami odżywczymi w glebie, mikroorganizmy, biopreparaty, zrównoważone rolnictwo

Zwiększenie efektywności globalnej produkcji roślinnej staje się koniecznością wynikającą ze współczesnych problemów związanych przede wszystkim z wyżywieniem rosnącej populacji ludzkiej oraz skutkami zmian klimatycznych. Zaraz po azocie fosfor (P) jest drugim najważniejszym składnikiem odżywczym dla roślin i pierwiastkiem regulującym wiele procesów biologicznych. Obecnie obserwuje się nadmierne stosowanie nawozów fosforowych, co może powodować, m.in. zanieczyszczenie wód powierzchniowych i gruntowych oraz ich eutrofizację, utratę bioróżnorodności i siedlisk przyrodniczych. Dostępność P w większości gleb rolniczych jest często ograniczona. Szacuje się, że tylko 0,1% fosforanów w glebie jest dostępnych dla roślin. Dlatego konieczne jest opracowanie alternatywnych sposobów rozwiązania problemów dostępności fosforu i toksyczności nawozów mineralnych w celu osiągnięcia zrównoważonej produkcji rolnej i poprawy żyzności gleby. Takim powszechnie akceptowanym i ekologicznym rozwiązaniem jest wykorzystanie mikroorganizmów wyspecjalizowanych w obiegu P, takich jak bakterie rozpuszczające fosforany (PSB) i grzyby rozpuszczające fosforany (PSF), zwane łącznie mikroorganizmami rozpuszczającymi fosforany (PSM). Wspomniane mikroorganizmy są w stanie rozpuszczać nierozpuszczalny fosforan w glebie, czyniąc go dostępnym dla roślin, a tym samym przyczyniają się do ochrony środowiska poprzez zmniejszenie negatywnych skutków stosowania agrochemikaliów. W niniejszej pracy podkreślono znaczenie fosforu i dokonano przeglądu literatury na temat zasobów P w glebie oraz czynników determinujących jego dostępność. Ponadto podkreślono ważną rolę PSM we wzroście roślin i przedstawiono perspektywy wykorzystania biopreparatów na bazie PSM w rolnictwie, co powinno być traktowane priorytetowo w przyszłych zastosowaniach PSM.

PHOSPHATE SOLUBILIZING MICROORGANISMS AND THEIR POTENTIAL FOR USE IN SUSTAINABLE AGRICULTURE

Summary

Keywords: phosphorus, solubilization, mineralization, soil nutrient management, microorganisms, biopreparations, sustainable agriculture

Increasing the efficiency of global plant production is becoming a necessity resulting from contemporary problems related primarily to feeding the growing human population and the effects of climate change. Right after nitrogen, phosphorus (P) is the second most important nutrient for plants and an element that regulates many biological processes. Currently, there is excessive use of phosphorus fertilizers, which may cause, among others: pollution of surface and groundwater and their eutrophication, loss of biodiversity and natural habitats. The availability of P in most agricultural soils is often limited. It is estimated that only 0.1% of phosphates in soil are available to plants. Therefore, it is necessary to develop alternative ways to solve the problems of phosphorus availability and toxicity of mineral fertilizers in order to achieve sustainable agricultural production and improve soil fertility. Such a commonly accepted and ecological solution is the use of microorganisms specialized in P circulation, such as phosphate solubilizing bacteria (PSB) and phosphate solubilizing fungi (PSF), collectively known as phosphate solubilizing microorganisms (PSM). The mentioned microorganisms are able to solubilize insoluble phosphate in the soil, making it available to plants, and thus contribute to environmental protection by reducing the negative effects of the use of agrochemicals. This work highlights the importance of phosphorus and reviews the literature on P resources in soil and the factors determining its availability. Moreover, the important role of PSM in plant growth was also highlighted and the prospects for the use of PSM-based biopreparations in agriculture were presented, which should be treated as a priority in future PSM applications.



Karolina Furtak

**VI. BAKTERIE Z RODZAJU *BACILLUS*
JAKO SKŁADNIK BIOPREPARATÓW
O SZEROKIM SPEKTRUM
ZASTOSOWANIA W ROLNICTWIE**

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
tel. (0-81) 4786961
e-mail: kfurtak@iung.pulawy.pl

1. WSTĘP

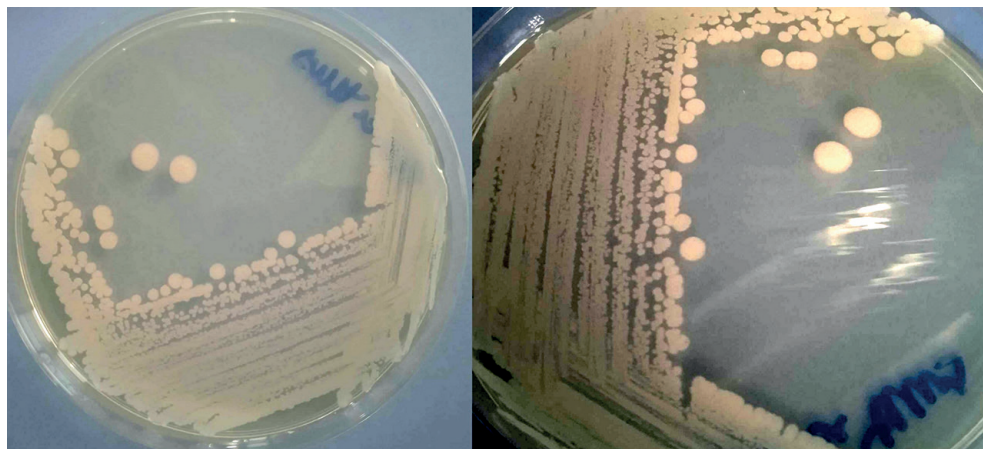
Powszechnie występujące w środowisku naturalnym bakterie z rodzaju *Bacillus* stanowią przedmiot badań wielu naukowców, ze względu na ich wciąż mało poznany potencjał biotechnologiczny. Dzięki zdolności do tworzenia form przetrwalnikujących oraz odporności i tolerancji na szeroki zakres warunków środowiskowych bakterie te stanowią źródło licznych związków stosowanych w przemyśle oraz farmacji (Al-Thubiani i in. 2018, Demirkan i in. 2020). Bakterie z rodzaju *Bacillus* sp. wchodzi również w skład wielu produktów stosowanych w rolnictwie i weterynarii (Pietraszek i Walczak 2014, Hlordzi i in. 2020, Castaldi i in. 2021, Poveda i González-Andrés 2021). Szerokie spektrum zastosowania tych mikroorganizmów wynika z ich zdolności do produkcji antybiotyków, związków przeciwdrobnoustrojowych, przeciwinsektycydowych, fitohormonów oraz z uczestnictwa w procesach biogeochemicznych zachodzących w środowisku glebowym.

W niniejszym rozdziale opisano znaczenie tych bakterii w rolnictwie ze szczególnym wyróżnieniem preparatów wspomagających wzrost roślin.

2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU *BACILLUS*

Bakterie z rodzaju *Bacillus* to zazwyczaj tlenowe bądź fakultatywnie beztlenowe Gram-dodanie bakterie o kształcie laseczki/pręcików, należące do typu Firmicutes (rys. 1) (Logan i Vos 2015). Wyjątkiem jest *B. infernus*, który jest bezwzględnie beztlenowcem (Boone i in. 1995). Bakterie z tego rodzaju są zdolne do tworzenia form przetrwalnikowych – endospor (Minnaard i in. 1996). W każdej komórce bakteryjnej powstaje tylko jedna endospora. Zarodniki *Bacillus* sp. są odporne na czynniki fizyczne i chemiczne, takie jak: ciepło, zimno, wysychanie, promieniowanie UV i jonizujące, środki dezynfekujące, antybiotyki i inne. Dzięki tej zdolności bakterie mogą przetrwać w niekorzystnych warunkach środowiska, np. w glebie ubogiej w składniki pokarmowe czy wodę oraz zanieczyszczonej. Cano i Borucki (1995) opisali przypadek wyizolowania żywego szczepu *B. sphaericius* z wymarłej pszczoły zachowanej w bursztynie, którego wiek określono na od 15 do 40 milionów lat.

Rodzaj *Bacillus* obejmuje bakterie o dużym zróżnicowaniu genetycznym, fizjologicznym i metabolicznym. Dzięki temu są one szeroko rozpowszechnione w naturze (Pietraszek i Walczak 2014, Logan i Vos 2015). Z wyjątkiem dwóch gatunków (*B. schlegelii* i *B. tusciae*), które są fakultatywnymi chemolitotrofami, bakterie z rodzaju *Bacillus* są uznawane za chemoorganotrofy. Wymagania pokarmowe różnią się w zależności od gatunku – można wyróżnić zarówno prototrofy, jak i auksotrofy, a metabolizm może się odbywać na drodze oddychania tlenowego, fermentacji, jak i w połączeniu tych dwóch procesów (Logan i Vos 2015). Niektóre bakterie są ruchliwe, dzięki urzęsieniu, a inne całkowicie nieruchliwe. Cechą charakterystyczną bakterii z rodzaju *Bacillus* jest zdolność do szybkiego wzrostu (Satyantini i in. 2019).



Rys. 1. Bakterie z rodzaju *Bacillus* (fot. Zakładu Mikrobiologii IUNG-PIB)

2.1. WYSTĘPOWANIE

Dzięki zdolności do tworzenia endospor *Bacillus* sp. są bardzo odpornymi mikroorganizmami, a ponadto wiele gatunków z tego rodzaju wykazuje szeroki zakres zdolności fizjologicznych, co pozwala im żyć w każdym środowisku przyrodniczym (Logan i Vos 2015) (tab. 1). *Bacillus* sp. jest powszechnym rodzajem bakterii występującym na całym świecie – warto zaznaczyć, że *B. thuringiensis* został wyizolowany na wszystkich kontynentach, w tym na Antarktydzie (Forsyth i Logan 2000).

Większość gatunków *Bacillus* to saprofity występujące w środowisku przyrodniczym, przede wszystkim w glebie, jednak wyróżnia się wśród nich gatunki, które są oportunistycznymi lub obligatoryjnymi patogenami zwierząt, w tym ludzi, innych ssaków i owadów (np. *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*).

Niektórzy przedstawiciele tego rodzaju to ekstremofile. Ze względu na duże zróżnicowanie w obrębie tego rodzaju można wyróżnić szczepy psychrofilne, termofilne, acydofilne, alkalofilne, halotolerancyjne i halofilne (Logan i Vos 2015). Na przykład *B. infernus* został wyizolowany z łupków triasowych położonych ok. 2,7 km pod powierzchnią ziemi w Wirginii i okazał się być halotolerancyjnym termofilem (Boone i in. 1995). Termofilem okazał się również *B. subterraneus* wyizolowany z termicznej warstwy wodonośnej na głębokości 2 km w Australii (Kanso i in. 2002).

Tabela 1

Przykłady środowisk, z których wyizolowano przedstawicieli rodzaju *Bacillus*
(Logan i Vos 2015)

Środowisko	Przedstawiciel
Powietrze	<i>B. carboniphilus</i>
Solanka	<i>B. haloalkaliphilus</i>
Kompost	<i>B. circulans</i> , <i>B. coagulans</i> , <i>B. licheniformis</i>
Ptasie pióra	<i>B. cereus</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. subtilis</i>
Odchody	<i>B. alkalophilus</i> , <i>B. badius</i> , <i>B. cohnii</i>
Wewnętrzne tkanki roślin	<i>B. amyloliquefaciens</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. subtilis</i>
Nabiał	<i>B. cereus</i> , <i>B. coagulans</i> , <i>B. licheniformis</i>
Ściółka i obornik kurzy	<i>B. cereus</i> , <i>B. fastidiosus</i> , <i>B. halodurans</i> , <i>B. subtilis</i>
Wodorosty	<i>Bacillus algicola</i>
Papier, tektura, masa papiernicza z recyklingu	<i>B. pumilus</i> , <i>B. amyloliquefaciens</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. circulans</i> , <i>B. coagulans</i>
Ścieki i ich pochodne	<i>B. funiculus</i> , <i>B. thermocloacae</i>
Kiszonki	<i>B. coagulans</i> , <i>B. sivalis</i>
Jeziora sodowe	<i>B. agaradhaerens</i> , <i>B. cohnii</i> , <i>B. pseudofirmus</i> , <i>B. vedder</i>
Podziemna woda i gleby	<i>B. infernus</i> , <i>B. subterraneus</i>

2.2. ZASTOSOWANIE

Bakterie z rodzaju *Bacillus* produkują wiele różnych związków chemicznych, z których część może być wykorzystywana przez człowieka do produkcji enzymów, antybiotyków, insektycydów, witamin, hormonów wzrostu, interferonów, proinsuliny, kwasu hialuronowego i innych (Pietraszek i Walczak 2014). Potencjał tych bakterii sprawia, że są one stosowane w takich dziedzinach gospodarki, jak: przemysł chemiczny, spożywczy, farmaceutyczny, tekstylny i papierniczy, rolnictwo i rybołówstwo.

Podstawowe zastosowania *Bacillus* sp. obejmują:

- produkcję enzymów;
- produkcję antybiotyków i bakteriocyn;
- produkcję bioinsektycydów i biofungicydów;
- biotransformację i biodegradację związków chemicznych;
- fermentację żywności;
- produkcję substancji smakowych i zapachowych.

Najlepiej poznanym i powszechnie wykorzystywanym do produkcji enzymów proteolitycznych gatunkiem jest *B. subtilis*. Badania wykazują, że enzymy produkowane przez *B. subtilis* w wielu przypadkach są skuteczniejsze niż enzymy pochodzenia syntetycznego. Ponadto są one bezpieczniejsze dla środowiska. Na przykład Demirkan i in. (2020) wykazali, że obróbka wełny proteazą pochodzącą z *B. subtilis*

lis pozwoliła na poprawę właściwości fizycznych tkaniny wełnianej w porównaniu z enzymem komercyjnym. Aktualnie prowadzone badania wskazują, że bakterie tego gatunku mogą produkować dużą ilość enzymów proteolitycznych, w tym ciągle niezbadanych, a ich charakter jest zależny od środowiska bytowania mikroorganizmów (Homaei i Izadpanah Qeshmi 2022).

Natomiast *B. circulans*, *B. cereus* i *B. licheniformis* są powszechnie wykorzystywane do produkcji antybiotyków (tab. 2). Najnowsze badania dowodzą, że wciąż istnieją związki produkowane przez przedstawicieli *Bacillus* sp., których jeszcze nie opisano. Al-Thubiani i in. (2018) odkryli nowy cykliczny związek peptydowy działający podobieństwo strukturalne z bacytracyną z *B. megaterium* o szerokim spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego zarówno wobec bakterii Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych.

Tabela 2

Przykłady związków przeciwdrobnoustrojowych produkowanych przez bakterie z rodzaju *Bacillus* (opracowanie własne na podstawie Tran i in. 2022)

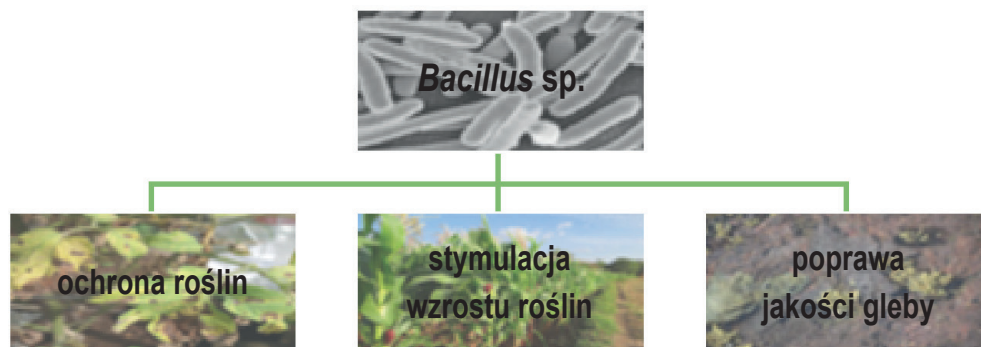
Bakteria	Związek	Działanie
<i>Bacillus</i> spp.	mersacydyna	przeciwko <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>B. amyloliquefaciens</i>	amylolizyna A	przeciwko <i>Enterococcus faecium</i>
<i>B. subtilis</i> i <i>B. amyloliquefaciens</i>	bacylizyna	przeciwko <i>E. coli</i>
<i>B. subtilis</i> i <i>B. amyloliquefaciens</i>	chlorotetaina	przeciwko <i>Candidas</i> spp. oraz <i>Aspergillus niger</i>
<i>B. licheniformis</i>	bacytracyna	przeciwko <i>Streptococcus mutans</i>
<i>B. cereus</i>	kanozamina	przeciwko <i>Phytophthora medicaginis</i> i <i>Candida albicans</i>
<i>B. subtilis</i>	subtylina	przeciwko bakteriom Gram-dodatnim, <i>Micrococcus luteus</i>
<i>B. halodurans</i>	haloduracyna	przeciwko bakteriom Gram-dodatnim, <i>Lactococcus lactis</i>
<i>B. subtilis</i>	ε-Poly-L-lizyna	przeciwko bakteriom Gram-dodatnim, Gram-ujemnym i grzybom (np. <i>Ralstonia solanacearum</i>)
<i>B. velezensis</i>	plantazolicyna	przeciwko klinicznym patogenom, potencjał przeciwko <i>B. anthracis</i>

Najważniejszymi związkami produkowanymi przez *B. amyloliquefaciens*, *B. stearothersophilus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* są α-amylazy. Związki te są stosowane w przemyśle chemicznym, spożywczym, farmaceutycznym, tekstylnym i papierniczym (Hernández-Heredia i del Moral 2016, Pham i in. 2021). Amylaza wytwarzana przez *B. atrophaeus* ma zdolność do degradacji skrobi, amylopektyny, glikogenu czy amylozy (Abd-Elaziz i in. 2020). Amylaza produkowana przez *B. subtilis*, uzyskana

w badaniach Davida i in. (2017), wykazuje się aktywnością w szerokim zakresie temperatur i pH, co wskazuje na możliwość jej zastosowania w przemyśle i bioremediacji ścieków z zakładów przetwórstwa spożywczego.

3. BAKTERIE Z RODZAJU *BACILLUS* W BIOPREPARATACH

Z punktu widzenia rolnictwa bakterie z rodzaju *Bacillus* mogą być wykorzystywane na kilka sposobów (rys. 2).



Rys. 2. Możliwości zastosowania bakterii z rodzaju *Bacillus* w rolnictwie (opracowanie własne)

Na liście Nawozowych produktów mikrobiologicznych prowadzonej przez IUNG-PIB w Puławach znajduje się 186 preparatów zawierających bakterie z rodzaju *Bacillus* (stan na dzień 17.09.2024). Większość z nich jest określona ogólnie jako środki poprawiające właściwości gleby. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że niektóre z nich mogą również działać precyzyjnie jako fungicydy czy insektycydy.

Zaletą bakterii z rodzaju *Bacillus* w kontekście tworzenia i stosowania preparatów jest niewątpliwie ich niewielki wpływ na rdzenny mikrobiom glebowy, tworzenie endospor (ułatwia formulację preparatu), a także szeroki zakres tolerancji warunków środowiskowych (Castaldi i in. 2021).

3.1. PREPARATY DO OCHRONY ROŚLIN

Wiele wtórnych metabolitów bakterii z rodzaju *Bacillus* ma działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze, a szczepy stanowią składniki zarejestrowanych biokontrolerów w rolnictwie (Skubis 2017, Poveda i González-Andrés 2021) (tab. 3). Wśród związków produkowanych przez *Bacillus* sp. należy wymienić peptydy przeciwdrobnoustrojowe (np. surfaktyna, fengycyna, bacylizyna i bacylibaktyna), poliketyny (np. makrolaktyna) czy cyjanowodór (Fazle Rabbee i Baek 2020, Ngalimat i in. 2021).

Tabela 3

Przykłady zarejestrowanych w Polsce preparatów stosowanych w ochronie roślin, zawierających bakterie z rodzaju *Bacillus* (opracowanie własne)

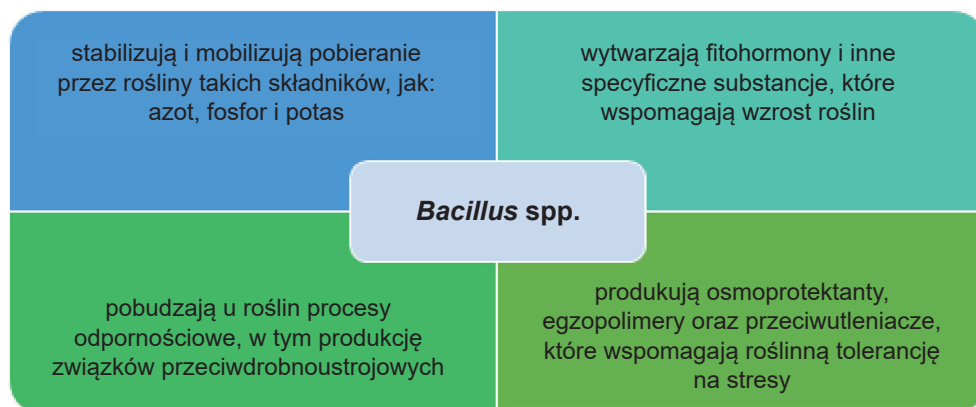
Preparat	Składnik	Działanie	Zastosowanie
Integral Pro	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	fungicyd; przeciwko suchej zgniliznie kapusty	rzepak ozimy i jary
OstriniaSTOP	<i>Bacillus</i> spp.	insektycyd; przeciwko larwom omacnicy prosowianki	kukurydza
DeliaSTOP	<i>Bacillus</i> spp.	insektycyd; do zwalczania larw śmietki kapuścianej i innych gatunków z rodzaju <i>Deli</i>	uprawy warzywne
Novodor SC	<i>Bacillus thuringiensis</i>	insektycyd; do zwalczania larw stonki ziemniaczanej	ziemniak
Amylo-X WG	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	fungicyd; do zwalczania chorób roślin powodowanych przez grzyby i organizmy grzybopodobne	sałata głowiasta, roszonek i inne gatunki warzyw liściowych, truskawka, pomidor, oberżyna, papryka (w uprawie pod osłonami), pieczarka (w uprawie pod osłonami)
Serenade ASO	<i>Bacillus subtilis</i>	fungicyd; przeciwko chorobom grzybowym: szara pleśń, mączniak prawdziwy, rak bakteryjny, zaraza ogniowa, brunatna zgnilizna, plamistość zgorzelowa, fuzarioza zgorzelowa, zgnilizna twardzikowa	uprawy sadownicze, warzywne i ogrodnicze
Serifel	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	fungicyd; chroni przed szarą oraz zieloną pleśnią, a także przed zgnilizną twardzikową	uprawy warzywnicze i sadownicze
Zumba Plant	<i>Bacillus</i> spp.	zwiększa odporność roślin na wiele chorobotwórczych drobnoustrojów, w tym rasy odporne grzybów patogennych	uprawy warzywnicze i sadownicze
Lepinox Plus	<i>Bacillus thuringiensis</i>	insektycyd; zwalcza ćmę bukszpanową oraz gąsienice motyli: zwojki krzyżoweczki, piętnówki kapustnicy, tantnisia krzyżowiaczka, bielinka kapustnika i innych	uprawy bardzo wielu roślin, ozdobnych, warzywnych oraz owocowych
Dipel DF	<i>Bacillus thuringiensis</i>	insektycyd; selektywne zwalczanie gąsienic motyli	uprawy warzywnicze i sadownicze
BacterPlant	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	ogranicza występowanie chorób	uprawy warzywnicze i sadownicze

Pandey i Palni (1997) zaobserwowali, że *B. subtilis* i *B. mycoides* dominują w ryzosferze krzewów herbacianych, a szczepy *B. mycoides* wykazują aktywność przeciwgrzybiczą. Wykazano więc, że epifityczne szczepy *Bacillus* mogą pełnić funkcje ochronne w filofosferze (Collins i Jacobsen 2003). Dowiedziono skuteczności bakterii *Bacillus* spp. w zwalczaniu szarej pleśni, czyli zakażenia *Botrytis cinerea* (na pomidorach, papryce, ogórkach i in.). W biofungicydach występują przede wszystkim *B. amyloliquefaciens*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *B. megaterium*. *B. subtilis* jest wykorzystywany do zwalczania plamistości liści, np. buraka cukrowego, wywołanej przez *Cercospora beticola* (Collins i Jacobsen 2003). Castaldi i in. (2021) wykazali, że *B. vallismortis* wyizolowany z ryzosfery jałowca (*Juniperus sabina*) wykazuje potencjał antagonistyczny wobec fitopatogenicznego grzyba *Macrophomina phaseolina* powodującego zgniliznę sadzonek, łodyg i korzeni (Castaldi i in. 2021). Wykazano, że obecność *B. velezensis* jest związana ze zwiększoną produkcją surfaktyny i w przypadku sałaty hamuje ona zakażenia *Rhizoctonia solani* (Chowdhury i in. 2015), a w uprawach tytoniu obniża stopień ciężkości choroby wirusa mozaiki tytoniu (Wang 2009). *B. amyloliquefaciens* posiada działanie przeciwdrobnoustrojowe wobec szerokiego zakresu patogenów glebowych poprzez produkcję lipopeptydów (np. bacillomycyny D, fengycyny, surfaktyny) i bacillobaktyny syderoforowej. Badania potwierdzają, że wydzielane związki działają antagonistycznie wobec grzybów najczęściej odpowiedzialnych za choroby w uprawach, tj.: *Verticillium dahliae* kleb, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani* i *Phytophthora parasitica* (Li i in. 2014). *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. cereus*, *B. velezensis* oraz *B. thuringiensis* określono jako przeciwgrzybiczne i skuteczne wobec, m.in. *Pectobacterium*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Agrobacterium*, a także jako nicienio- i owadobójcze (Logan i Vos 2015, Ngalimat i in. 2021).

Preparaty zawierające *B. thuringiensis* były pierwszymi insektycydami biologicznymi stosowanymi na szeroką skalę już od początku lat 60. XX wieku w celu ochrony upraw (Malinowski 2000). Bakteria ta produkuje toksynę – δ -endotoksynę, która wywiera wpływ na wiele gatunków owadów, m.in. muchówki, motyle, chrząszcze, komary. Bakterie te działają wyłącznie żołądkowo na larwy po dostaniu się do ich układu trawiennego. Dla przykładu, badania Instytutu Ochrony Roślin – PIB w Poznaniu wykazały, że zastosowanie preparatu z *B. thuringiensis* zmniejsza o 78% uszkodzenia liści spowodowane przez stonkę ziemniaczaną.

3.2. STYMULATORY WZROSTU ROŚLIN I NAWOZY

Poza potencjałem ochronnym bakterie mogą również wspomagać wzrost roślin i stanowić składniki biologicznych preparatów nawozowych, biostymulatorów oraz nawozów dolistnych. Wiele bakterii z tego rodzaju jest zaliczana do grupy tzw. PGPR (ang. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), czyli ryzobakterii sprzyjających wzrostowi roślin. Bakterie z rodzaju *Bacillus* mogą poprawiać stan fizjologiczny roślin poprzez różne sposoby oddziaływania (rys. 3).



Rys. 3. Właściwości bakterii z rodzaju *Bacillus* mające wpływ na rozwój roślin (opracowanie własne)

Moreno-Lora i in. (2019) wykazali między innymi, że *B. subtilis* może poprawiać wchłanianie składników o niskiej rozpuszczalności – makro- i mikroelementów, takich jak fosfor i cynk. Bakteria *B. subtilis* jest obecna na rynku preparatów rolniczych od 1994 roku. Bakterie z rodzaju *Bacillus* wydzielają enzymy – fosfatazy, które rozpuszczają sole fosforanowe do form anionowych fosforu bezpośrednio przyswajalnych przez rośliny. Na przykład *B. megaterium* uczestniczy w przekształcaniu związków fosforu w glebie i zgodnie z deklaracją producentów preparatów z tą bakterią może ona uruchomić do 30–40 kg fosforu na hektar i przyspiesza rozkład resztek poźniwnych.

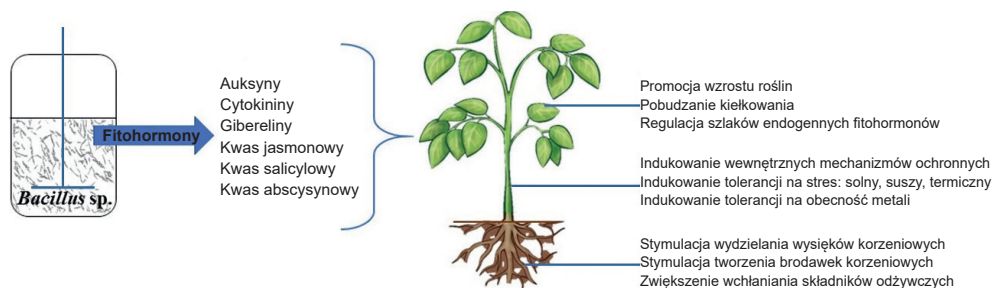
Badania wykazały również zdolność do wiązania azotu przez niektóre gatunki z rodzaju *Bacillus* (m.in. *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. sphaericus* i *B. azotofixans*) wyizolowane z ryzosfery oraz z miejsc endofitycznych i mikoryz (Różycki i in. 1999). Zdolność ta sprawia, że bakterie te są obiecującym składnikiem preparatów wspomagających pobieranie azotu przez rośliny.

Bakterie z rodzaju *Bacillus* mogą również promować wzrost roślin poprzez (Poveda i González-Andrés 2021, Zlotnikov i in. 2001, Medina i in. 2003) (rys. 3):

- produkcję fitohormonów;
- zwiększanie dostępności składników odżywczych dla rośliny lub innych bakterii;
- tłumienie produkcji etylenu przez roślinę w jej ryzosferze;
- interakcje z symbiotycznymi bakteriami i grzybami;
- wzmocnienie nodulacji korzeni.

Główne gatunki *Bacillus* zidentyfikowane jako zdolne do syntezy fitohormonów wzrostu roślin to *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. metylothrophicus* oraz *B. flexus* (Lopes i in. 2018, Poveda i González-Andrés 2021). Produkcja fitohormonów przez bakterie ryzosferowe i endofityczne jest niezwykle istotna ze względu na ich szeroki zakres oddziaływania na rośliny (rys. 4). Fitohormony pochodzenia bakteryjnego

nie tylko wspomagają wzrost roślin, ale także pomagają im w warunkach stresowych i pobudzają szlaki odporności (Sorokan i in. 2021, Ayaz i in. 2022).



Rys. 4. Przykłady grup fitohormonów produkowanych przez bakterie z rodzaju *Bacillus* i ich wpływ na rośliny (opracowanie własne na podstawie Lopes i in. 2018, Poveda i González-Andrés 2021, Ayaz i in. 2022)

Powyżej opisane właściwości są podstawą do tworzenia oraz formułacji licznych biopreparatów do zastosowania w rolnictwie i ogrodnictwie (tab. 4).

Tabela 4

Przykłady zarejestrowanych w Polsce mikrobiologicznych preparatów nawozowych zawierających bakterie z rodzaju *Bacillus* (opracowanie własne na podstawie listy nawozowych preparatów mikrobiologicznych IUNG-PIB)

Preparat	Składnik mikrobiologiczny	Działanie
Seria preparatów Baktotarcza	<i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp.	do higienizacji upraw roślin
seria preparatów GARD	<i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp.	probiotyki wpływające na lepszą zdrowotność upraw
Rewital Max Pro	<i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp.	do rewitalizacji środowiska glebowego
Seria STOP	<i>Bacillus</i> sp.	do higienizacji upraw i przeciwko patogenom
Geumano Control	<i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp.	zaprawa mikrobiologiczna higienizująca środowisko glebowe roślin zbożowych narażonych na porażenie przez zgorzel podstawy źdźbła
Glebostan	<i>Bacillus</i> sp.	odbudowuje warstwę próchniczą gleby, zwiększa jej właściwości sorpcyjne
Bi azot	<i>Bacillus azotofixans</i>	przyspiesza rozkład materii organicznej oraz wzbogacający glebę w łatwo przyswajalny dla roślin azot pochodzący z atmosfery
Bi fosfor	<i>Bacillus megaterium</i>	pomaga wzbogacać glebę w łatwo przyswajalny dla roślin fosfor

cd. tab. 4

Preparat	Składnik mikrobiologiczny	Działanie
Bi protect	<i>Bacillus subtilis</i>	przyspiesza rozkład materii organicznej, bierze udział w tworzeniu struktury gleby, poprawia stan fitosanitarny i udostępniania składniki odżywcze roślinom
Bi complex	<i>Bacillus</i> sp.	przyspiesza rozkład materii organicznej, wzbogaca glebę w łatwo dostępny dla roślin azot i fosfor, naturalnie poprawia stan fitosanitarny gleby oraz działa wzmacniająco na rośliny
Bi safe	<i>Bacillus</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp.	poprawia stan biologiczny gleby, zwiększa liczbę dostępnych form makro- i mikroelementów, przyczynia się do rozwoju pożytecznej mikroflory i poprawy struktury gleby oraz wspiera wzrost i plonowanie roślin
Bi słoma	<i>Bacillus</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp.	przeznaczony do stosowania w celu przyspieszania rozkładu resztek poźniwnych i słomy

Badania dotyczące zastosowania bakterii z rodzaju *Bacillus* do stymulacji wzrostu rzepy wykazały zwiększenie długości korzenia o 80%, masy korzenia o 100–120% i długości pędu o 100% (Ghosh i in. 2003). Również badania dotyczące wpływu *Bacillus* spp. na wzrost kukurydzy i soi wykazały zwiększoną masę pędów i korzeni oraz znaczny wzrost produktywności po zaprawieniu nasion bakteriami (Alves i in. 2021).

Bacillus sp. mogą również bezpośrednio wpływać na żyzność środowiska glebowego, ponieważ szczepy *B. subtilis* i *B. licheniformis* zostały scharakteryzowane przez badaczy jako wyspecjalizowane w szybkiej i efektywnej dekompozycji resztek poźniwnych, a więc uczestniczą w tworzeniu próchnicy i poprawie struktury gleby (Rogowska 2018).

4. OKOŁOROLNICZE OBSZARY ZASTOSOWANIA *BACILLUS* SP.

4.1. BIOREMEDIACJA GLEB

Niektóre bakterie z rodzaju *Bacillus* mają zdolność do gromadzenia jonów metali. Wykazano między innymi, że *B. licheniformis* może akumulować jony ceru, kobaltu i miedzi z wodnych i symulowanych roztworów odpadów (Hafez i in. 2002). Również *B. subtilis* może gromadzić aluminium, kadm, żelazo i cynk oraz glino-krzemiany (Urrutia i Beveridge 1995). Preparaty zawierające te mikroorganizmy

mogą być wykorzystywane do przetwarzania odpadów, ale również do bioremediacji gleb skażonych metalami.

Ponadto *Bacillus* sp. biotransformują różne związki, w tym związki amidowe, które są stosowane jako pestycydy (Talpur i in. 2023). Badania wykazały, że bakterie należące do grupy operacyjnej *B. amyloliquefaciens* mają zdolność do usuwania pestycydów fosforoorganicznych (Meng i in. 2019). *B. altitudinis* został określony jako szczep zdolny do bioremediacji gleby z profenofosu (Mahajan i in. 2023), a szczep *Bacillus* H27 wykazał zdolność do usuwania chloropiryfosu, który charakteryzuje się stosunkowo długim okresem półtrwania w glebie (Liu i in. 2024).

4.2. AKWAKULTURY

Bakterie z rodzaju *Bacillus* wykazują dużą zdolność do poprawy i utrzymania jakości wody w akwakulturach. Obecność tych mikroorganizmów wpływa na zawartość fosforu i azotu, pH, zasadowość oraz równowagę mikrobiologiczną w takim środowisku (Hlordzi i in. 2020). *Bacillus* sp. wykazał zdolność do usuwania chemicznego zapotrzebowania na tlen (ChZT), azotu amonowego i azotanów (Ren i in. 2021).

Bakterie z rodzaju *Bacillus* mogą być stosowane w biotechnologii rybołówstwa jako element biokontroli, ponieważ nie tylko nie produkują substancji toksycznych wobec krewetek, ale również produkują antybiotyki, które mogą hamować *Vibrio parahaemolyticus* (Satyantini i in. 2019) nawet przy stosunkowo niskim stężeniu bakterii (Ren i in. 2021).

4.3. PROBIOTYKI DLA ZWIERZĄT

Przedstawiciele rodzaju *Bacillus* mogą stanowić również składnik preparatów probiotycznych dodawanych do pasz dla zwierząt (Pereira i in. 2019). Przykładem takiego zastosowania jest szczep *B. velezensis*, który wpływa na poprawę strawności i zatrzymywania azotu, co prowadzi do zwiększonego przyrostu masy ciała u owiec i bydła (Ngalimat i in. 2021). W karmieniu drobiu i trzody chlewnej jest również wykorzystywany szczep *B. amyloliquefaciens* (Ngalimat i in. 2021). Został on również określony jako probiotyk wspomagający hodowlę krewetek oraz poprawiający ich odporność na patogeny (Llario i in. 2020).

5. PODSUMOWANIE

Mikrobiologiczne preparaty stosowane w rolnictwie stanowią obiecującą alternatywę dla tradycyjnych metod nawożenia, a produkty zawierające bakterie z rodzaju *Bacillus* bądź ich metabolity posiadają szeroki zakres działania. Stosowanie bakterii w rolnictwie to dbałość o środowisko poprzez minimalizowanie zużycia nawozów

mineralnych i pestycydów oraz ograniczanie emisji szkodliwych związków. Efektem stosowania preparatów z bakteriami *Bacillus* spp. jest, m.in.: przyspieszenie kiełkowania, poprawa ukorzenia roślin oraz rozbudowa systemu korzeniowego, zwiększony plon roślin, a także większa odporność na długotrwałe warunki stresowe.

Obecne badania w zakresie tych mikroorganizmów dotyczą przede wszystkim optymalizacji ich hodowli oraz metod oczyszczania produkowanych przez nie związków. Jednocześnie badacze wciąż odkrywają nowe szczepy i nieopisane jeszcze metabolity, które również mogą posiadać potencjał do promowania wzrostu roślin bądź ich ochrony przed chorobami.

6. LITERATURA

1. Abd-Elaziz A.M., Karam E.A., Ghanem M.M., Moharam M.E., Kansoh A.L.: Production of a novel α -amylase by *Bacillus atrophaeus* NRC1 isolated from honey: Purification and characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, **148**: 292-301; <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.120>
2. Al-Thubiani A.S.A., Maher Y.A., Fathi A., Abourehab M.A.S., Alarjah M., Khan M.S.A., Al-Ghamdi S.B.: Identification and characterization of a novel antimicrobial peptide compound produced by *Bacillus megaterium* strain isolated from oral microflora. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 2018, **26(8)**: 1089-1097; <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.05.019>
3. Alves A.J., Sene D.W., de Paula G.F., de Demétrio G.B., Matsumoto L.S.: Influence of *Bacillus* sp. on soil chemical and microbiological attributes and development of soybean and maize. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2021, **12(3)**: 383-393; <https://doi.org/10.29312/REMEXCA.V12I3.2609>
4. Ayaz M., Ali Q., Jiang Q., Wang R., Wang Z., Mu G., Khan S.A., Khan A.R., Manghwar H., Wu H., Gao X., Gu Q.: Salt tolerant *Bacillus* strains improve plant growth traits and regulation of phytohormones in wheat under salinity stress. *Plants*, 2022, **11(20)**: 2769; <https://doi.org/10.3390/plants11202769>
5. Boone D.R., Liu Y., Zhao Z.J., Balkwill D.L., Drake G.R., Stevens T.O., Aldrich H.C.: *Bacillus infernus* sp. nov., an Fe(III)- and Mn(IV)-reducing anaerobe from the deep terrestrial subsurface. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1995, **45(3)**: 441-448; <https://doi.org/10.1099/00207713-45-3-441/CITE/REFWORKS>
6. Cano R.J., Borucki M.K.: Revival and identification of bacterial spores in 25- to 40-million-year-old Dominican amber. *Science*, 1995, **268(5213)**: 1060-1064; doi: 10.1126/science.7538699.
7. Castaldi S., Petrillo C., Donadio G., Piaz F.D., Cimmino A., Masi M., Evidente A., Istitato R.: Plant growth promotion function of *Bacillus* sp. strains isolated from salt-pan rhizosphere and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22(7)**, 3324; <https://doi.org/10.3390/IJMS22073324>
8. Chowdhury S.P., Uhl J., Grosch R., Alquéres S., Pittroff S., Dietel K., Schmitt-Kopplin P., Borriss R., Hartmann A.: Cyclic lipopeptides of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* colonizing the lettuce rhizosphere enhance plant defense responses toward the bottom rot pathogen *Rhizoctonia solani*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2015, **28(9)**: 984-995; <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-15-0066-R>

9. Collins D.P., Jacobsen B.J.: Optimizing a *Bacillus subtilis* isolate for biological control of sugar beet cercospora leaf spot. *Biological Control*, 2003, **26(2)**: 153-161; [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00132-9](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00132-9)
10. David S., Femi B., Gbenga A., Saanu A.B.: Purification and characterization of α -Amylase from *Bacillus subtilis* Isolated from cassava processing sites. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 2017, **08(06)**: 1-7; <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000417>
11. Demirkane E., Kut D., Sevgi T., Dogan M., Baygin E.: Investigation of effects of protease enzyme produced by *Bacillus subtilis* 168 E6-5 and commercial enzyme on physical properties of woolen fabric. *Journal of the Textile Institute*, 2020, **111(1)**: 26-35; <https://doi.org/10.1080/00405000.2019.1624069>
12. Fazle Rabbee M., Baek K.H.: Antimicrobial activities of lipopeptides and polyketides of *Bacillus velezensis* for agricultural applications. *Molecules*, 2020, **25(21)**, 4973; <https://doi.org/10.3390/molecules25214973>
13. Forsyth G., Logan N.A.: Isolation of *Bacillus thuringiensis* from northern Victoria Land, Antarctica. *Letters in Applied Microbiology*, 2000, **30(3)**: 263-266; <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2000.00706.x>
14. Gosh S., Penterman J.N., Little R.D., Chavez R., Glick B.R.: Three newly isolated plant growth-promoting bacilli facilitate the seedling growth of canola, *Brassica campestris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2003, **41(3)**: 277-281; [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(03\)00019-6](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(03)00019-6)
15. Hafiz M.B., Fouad A., El-Desouky W.: Accumulation of some metal ions on *Bacillus licheniformis*. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 2002, **251(2)**: 249-252; <https://doi.org/10.1023/A:1014860125739>
16. Hernández-Heredia S., del Moral S.: Biochemical and kinetic characterization of the α -Amylase from *Bacillus amyloliquefaciens* JJC33M, Amyj33, on raw starch. *JSM Biotechnology & Biomedical Engineering*, 2016, **3(5)**, 1067.
17. Hlordzi V., Kuebutornye F.K.A., Afriyie G., Abarike E.D., Lu Y., Chi S., Anokyewaa M.A.: The use of *Bacillus* species in maintenance of water quality in aquaculture: A review. *Aquaculture Reports*, 2020, **18**, 100503; <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100503>
18. Homaei A., Izadpanah Qeshmi F.: Purification and characterization of a robust thermostable protease isolated from *Bacillus subtilis* strain HR02 as an extremozyme. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, **133(5)**: 2779-2789; <https://doi.org/10.1111/jam.15725>
19. Kanso S., Greene A.C., Patel B.K.C.: *Bacillus subterraneus* sp. nov., an iron- and manganese-reducing bacterium from a deep subsurface Australian thermal aquifer. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, **52(3)**: 869-874; <https://doi.org/10.1099/00207713-52-3-869>
20. Li B., Li Q., Xu Z., Zhang N., Shen Q., Zhang R.: Responses of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to different soilborne fungal pathogens through the alteration of antifungal compounds production. *Frontiers in Microbiology*, 2014, **5**, 116801; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00636>
21. Liu C., Wen S., Li S., Tian Y., Wang L., Zhu L., Wang J., Kim Y.M., Wang J.: Enhanced remediation of chlorpyrifos-contaminated soil by immobilized strain *Bacillus* H27. *Journal of Environmental Sciences*, 2024, **144**: 172-184; <https://doi.org/10.1016/j.jes.2023.07.039>
22. Lista nawozowych preparatów mikrobiologicznych IUNG-PIB; protokół dostępu: https://www.iung.pl/wp-content/uploads/2024/12/wykaz_npm_06.12.2024.pdf

23. L l a r i o F, Romano L.A., Rodilla M., Sebastiá-Frasquet M.T., Poersch L.H.: Application of *Bacillus amyloliquefaciens* as probiotic for *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) cultivated in a biofloc system. Iranian Journal of Fisheries Sciences, 2020, **19(2)**: 904-920.
24. L o g a n N.A., Vos P.De.: Bacillus. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, 2015, pp. 1-163; <https://doi.org/10.1002/9781118960608.GBM00530>
25. L o p e s R., Tsui S., Gonçalves P.J.R.O., de Queiroz M.V.: A look into a multifunctional toolbox: endophytic *Bacillus species* provide broad and underexploited benefits for plants. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2018, **34(94)**, 7; <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2479-7>
26. M a h a j a n R., Verma S., Chatterjee S.: Biodegradation of organophosphorus pesticide profenofos by the bacterium *Bacillus* sp. PF1 and elucidation of initial degradation pathway. Environmental Technology, 2023, **44(4)**: 492-500; <https://doi.org/10.1080/09593330.2021.1976282>
27. M a l i n o w s k i H.: Wykorzystanie *Bacillus thuringiensis* w ochronie roślin: perspektywy i ograniczenia. Biotechnologia, 2000, **3(50)**: 81-92.
28. M e d i n a A., Probanza A., Gutierrez Mañero F.J., Azcón R.: Interactions of arbuscular-mycorrhizal fungi and Bacillus strains and their effects on plant growth, microbial rhizosphere activity (thymidine and leucine incorporation) and fungal biomass (ergosterol and chitin). Applied Soil Ecology, 2003, **22(1)**: 15-28; [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(02\)00112-9](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(02)00112-9)
29. M e n g D., Zhai L.X., Tian Q.P., Guan Z.B., Cai Y.J., Liao X.: Complete genome sequence of *Bacillus amyloliquefaciens* YP6, a plant growth rhizobacterium efficiently degrading a wide range of organophosphorus pesticides. Journal of Integrative Agriculture, 2019, **18(11)**: 2668-2672; [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62658-4](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62658-4)
30. M i n n a r d J., Rolny I.S., Pérez P.F.: Bacillus. Laboratory Models for Foodborne Infections, 1996, p. 131-154; <https://doi.org/10.1201/9781315120089-8>
31. M o r e n o - L o r a A., Recena R., Delgado A.: *Bacillus subtilis* QST713 and cellulose amendment enhance phosphorus uptake while improving zinc biofortification in wheat. Applied Soil Ecology, **142**: 81-89; <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.04.013>
32. N g a l i m a t M.S., Yahaya R.S.R., Baharudin M.M.A.A., Yaminudin S.M., Karim M., Ahmad S.A., Sabri S.: A review on the biotechnological applications of the operational group bacillus amyloliquefaciens. Microorganisms, 2021, **9(3)**: 1-18; <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030614>
33. P a n d e y A., Palni L.M.S.: Bacillus species: The dominant bacteria of the rhizosphere of established tea bushes. Microbiological Research, 1997, **152(4)**: 359-365; [https://doi.org/10.1016/S0944-5013\(97\)80052-3](https://doi.org/10.1016/S0944-5013(97)80052-3)
34. P e r e i r a J.Q., Ritter A.C., Cibulski S., Brandelli A.: Functional genome annotation depicts probiotic properties of *Bacillus velezensis* FTC01. Gene, 2019, **713**, 143971; <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.143971>
35. P h a m V.H.T., Kim J., Shim J., Chang S., Chung W.: Purification and characterization of strong simultaneous enzyme production of protease and α -Amylase from an extremophile-*Bacillus* sp. FW2 and Its Possibility in Food Waste Degradation. Fermentation, 2021, **8(1)**, 12; <https://doi.org/10.3390/fermentation8010012>
36. P i e t r a s z e k P., Walczak P.: Charakterystyka i możliwości zastosowania bakterii z rodzaju *Bacillus* wyizolowanych z gleby. Polish Journal of Agronomy, 2014, **16**: 37-44.

37. P o v e d a J., González-Andrés F.: *Bacillus* as a source of phytohormones for use in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021, **105(23)**: 8629-8645; <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11492-8>
38. R e n W., Wu H., Guo C., Xue B., Long H., Zhang X., Cai X., Huang A., Xie Z.: Multi-strain tropical *Bacillus* spp. as a potential probiotic biocontrol agent for large-scale enhancement of mariculture water quality. *Frontiers in Microbiology*, 2021, **12**, 699378; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.699378>
39. R o g o w s k a A.: Po żniwach wzmocnij biologiczną aktywność gleby. *Wiadomości Rolnicze Polska*, 2018; protokół dostępu: <https://www.wrp.pl/po-zniwach-wzmocnij-biologiczna-aktywnosc-gleby/> (data dostępu: 06.2024)
40. R ó z y c k i H., Dahm H., Strzelczyk E., Li C.Y.: Diazotrophic bacteria in root-free soil and in the root zone of pine (*Pinus sylvestris* L.) and oak (*Quercus robur* L.). *Applied Soil Ecology*, 1999, **12(3)**: 239-250; [https://doi.org/10.1016/S0929-1393\(99\)00008-6](https://doi.org/10.1016/S0929-1393(99)00008-6)
41. S a t y a n t i n i W.H., Pratiwi R.M., Sahidu A.M., Nindarwi D.D.: Growth of *Bacillus* sp. and *Flavobacterium* sp. in culture media with the addition of liquid whey tofu waste. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2019, **236(1)**, 012092; <https://doi.org/10.1088/1755-1315/236/1/012092>
42. S k u b i s M.: Naturalne środki ochrony roślin. *Małopolski Ośrodek Doradztwa Rolniczego*, 2017, ss. 20.
43. S o r o k a n A., Veselova S., Benkovskaya G., Maksimov I.: Endophytic strain *Bacillus subtilis* 26D increases levels of phytohormones and repairs growth of potato plants after Colorado potato beetle damage. *Plants*, 2021, **10(5)**: 923; <https://doi.org/10.3390/plants10050923>
44. T a l p u r F.N., Unar A., Bhatti S.K., Alsawalha L., Fouad D., Bashir H., Afridi H.I., Ataya F.S., Jefri O.A., Bashir M.S.: Bioremediation of neonicotinoid pesticide, imidacloprid, mediated by *Bacillus cereus*. *Bioengineering*, 2023, **10(8)**, 951; <https://doi.org/10.3390/bioengineering10080951>
45. T r a n C., Cock I.E., Chen X., Feng Y.: Antimicrobial *Bacillus*: Metabolites and their mode of action. In *Antibiotics*, 2022, **11(1)**, 88; <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010088>
46. U r r u t i a M.M., Beveridge T.J.: Formation of short-range ordered aluminosilicates in the presence of a bacterial surface (*Bacillus subtilis*) and organic ligands. *Geoderma*, 1995, **65(1-2)**: 149-165; [https://doi.org/10.1016/0016-7061\(94\)00037-B](https://doi.org/10.1016/0016-7061(94)00037-B)
47. W a n g S.: Molecular mechanism of plant growth promotion and induced systemic resistance to tobacco mosaic virus by *Bacillus* spp. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, **19(10)**: 1250-1258; <https://doi.org/10.4014/jmb.0901.0008>
48. Z l o t n i k o v A.K., Shapovalova Y.N., Makarov A.A.: Association of *Bacillus firmus* E3 and *Klebsiella terrigena* E6 with increased ability for nitrogen fixation. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, **33(11)**: 1525-1530; [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(01\)00070-0](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(01)00070-0)

BAKTERIE Z RODZAJU *BACILLUS* JAKO SKŁADNIK BIOPREPARATÓW O SZEROKIM SPEKTRUM ZASTOSOWANIA W ROLNICTWIE

Streszczenie

Słowa kluczowe: *Bacillus*, ochrona roślin, PGPR, bakterie, biopreparaty

Bakterie z rodzaju *Bacillus* są powszechnie występującym rodzajem w różnych naturalnych środowiskach. Dzięki zdolności do tworzenia form przetrwalnikujących oraz tolerancji i odporności na szeroki zakres warunków środowiskowych, stanowią one źródło wielu związków o charakterze biotechnologicznym. Bakterie z rodzaju *Bacillus* syntezują, m.in.: antybiotyki, związki insektycydowe, fitohormony, osmoprotektanty czy egzopolimery. Potencjał ten pozwala na wykorzystanie ich w przemyśle chemicznym, farmaceutycznym, spożywczym, tekstylnym, a także rolniczym. W agrobiotechnologii bakterie z rodzaju *Bacillus* stanowią cenny składnik środków ochrony roślin, stymulatorów wzrostu i nawozowych preparatów mikrobiologicznych. Biopreparaty zawierające bakterie *Bacillus* sp. bądź ich metabolity stanowią obiecującą alternatywę dla tradycyjnych środków chemicznych stosowanych obecnie w rolnictwie.

BACTERIA OF THE GENUS *BACILLUS* AS A COMPONENT OF BIOPREPARATIONS WITH A WIDE RANGE OF AGRICULTURAL APPLICATIONS

Summary

Keywords: *Bacillus*, plant protection, PGPR, bacteria, biopreparations

Bacteria of the genus *Bacillus* are widespread in a variety of natural environments. Thanks to their ability to form spores and their tolerance and resistance to a wide range of environmental conditions, they are a source of many compounds of a biotechnological nature. Bacteria of the genus *Bacillus* synthesise, among other things, antibiotics, antisecretory compounds, phytohormones, osmoprotectants or exopolymers. This potential allows them to be used in the chemical, pharmaceutical, food, textile and agricultural industries. In agrobiotechnology these bacteria are a valuable component of crop protection products, growth promoters and microbial fertiliser formulations. Biopreparations containing *Bacillus* sp. or their metabolites are a promising alternative to the traditional chemicals currently used in agriculture.



Karolina Gawryjolek

VII. BAKTERIE KWASU MLEKOWEGO I ICH ZASTOSOWANIE W ROLNICTWIE

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
tel. (0-81) 4786962
e-mail: kgaw@iung.pulawy.pl

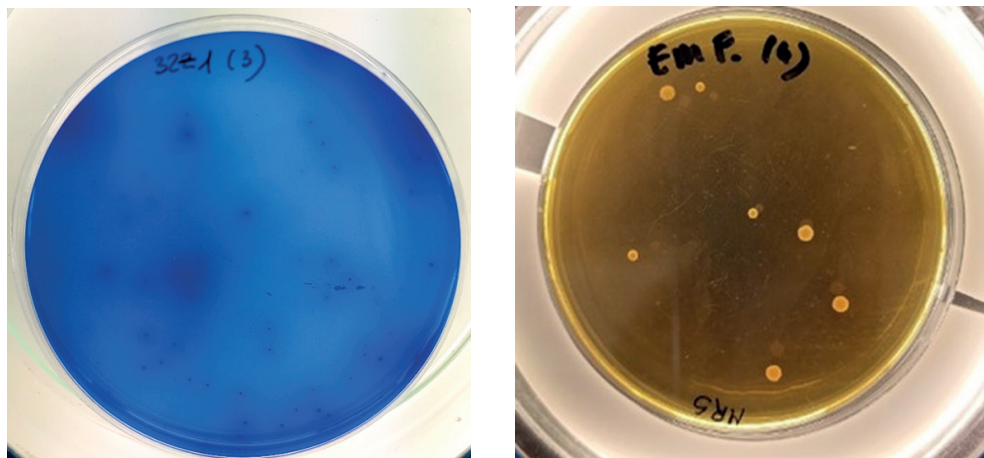
1. WSTĘP

Bakterie kwasu mlekowego stanowią przedmiot badań naukowców ze względu na ich powszechność występowania w przyrodzie oraz charakteryzujące je specyficzne właściwości. Od zarania dziejów bakterie te wykorzystuje się w procesie fermentacji żywności. Poza przemysłem spożywczym bakterie kwasu mlekowego znajdują zastosowanie w medycynie oraz rolnictwie, między innymi ze względu na swoje właściwości przeciwdrobnoustrojowe oraz bezpieczeństwo stosowania przez ludzi (Raman 2022).

W rozdziale przedstawiono zastosowanie bakterii kwasu mlekowego ze szczególnym wyróżnieniem ich rolniczego wykorzystania.

2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII KWASU MLEKOWEGO

Bakterie kwasu mlekowego (LAB, ang. *Lactic Acid Bacteria*) to grupa bakterii zdolnych do beztlenowej fermentacji mlekowej (Sadowska i Grajek 2009). Bakterie o tej zdolności należą do rodziny *Lactobacteriaceae*: do ziarniaków z rodzajów: *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella*, *Vagococcus* oraz do pałeczek z rodzajów: *Lactobacillus*, *Carnobacterium* i *Bifidobacterium* (rys. 1) (Pietraszek i in. 2014). Bakterie kwasu mlekowego klasyfikowane są jako względnie beztlenowe bakterie Gram-dodatnie, charakteryzujące się niską zawartością zasad G+C. Nie tworzą przetrwalników, nie wytwarzają katalazy oraz pozbawione są zdolności ruchu (Gajewska i Błaszczuk 2012, Bintsis 2018b, Murindangabo i in. 2023). Mikroorganizmy te charakteryzują się również zwiększoną tolerancją na kwasowość (Laranjo i in. 2017). Bakterie kwasu mlekowego metabolizują węglowodany na drodze homo- lub heterofermentacji. Homofermentacja glukozy prowadzi wyłącznie do powstania kwasu mlekowego. W wyniku procesu heterofermentacji obok kwasu mlekowego powstają również dwutlenek węgla oraz w zależności od warunków etanol lub octan (Gajewska i Błaszczuk 2012). Ponadto bakterie te posiadają status GRAS (ang. *Generally Recognised As Safe*), czyli powszechnie uznawane są za bezpieczne do stosowania przez ludzi (Kluczyńska 2013, Bintsis 2018a, Sadiq i in. 2019).



Rys. 1. Bakterie kwasu mlekowego na podłożu z błękitem chińskim (lewa strona) i na podłożu MRS (prawa strona) (fot. Zakładu Mikrobiologii IUNG-PIB)

3. WYSTĘPOWANIE

Bakterie kwasu mlekowego występują powszechnie w środowisku. Ze względu na wysokie zapotrzebowanie pokarmowe najczęściej znaleźć je można w siedliskach zasobnych w węglowodany, aminokwasy i pochodne nukleotydów (Jurkowski i Błaszczuk 2012). Występują naturalnie na roślinach oraz w układzie pokarmowym człowieka i zwierząt (Sadowska i Grajek 2009). Bakterie kwasu mlekowego zostały odnotowane w jelicie cienkim, okrężnicy, ślinie (Jurkowski i Błaszczuk 2012), drogach oddechowych (Liu i in. 2014) czy żeńskim układzie płciowym człowieka (Petrova i in. 2015, Miller i in. 2016). Znaleźć możemy je między innymi w rozkładających się resztkach roślinnych, owocach, warzywach, w produktach mlecznych, sokach, kiszonkach, ściekach, glebie (Liu i in. 2014, Raman i in. 2022), surowym mięsie oraz w fermentowanych produktach mięsnych (Ajao i in. 2018). Liczebność oraz różnorodność bakterii kwasu mlekowego w środowisku glebowym zależy od bogactwa węgla, którego wysoka zawartość znajduje się między innymi w glebach spod upraw drzew owocowych, związanych z działalnością hodowlaną lub po zastosowaniu obornika (George i in. 2018). Bakterie kwasu mlekowego występują także w środowisku morskim, gdzie biorą udział w rozkładzie materii organicznej. W okolicach Antarktydy stwierdzono obecność *Carnobacterium funditum* i *Carnobacterium alterfunditum* (Jurkowski i Błaszczuk 2012). Wyizolowane zostały z wodorostów, skorupiaków, gąbek oraz ryb morskich (Camesasca i in. 2021), natomiast japońscy badacze zidentyfikowali bakterie kwasu mlekowego w wodach jeziornych (Yanagida i in. 2007). Pałeczki kwasu mlekowego stwierdzono w filozferze, endosferze oraz ryzosferze wielu gatunków roślin (Lamont i in. 2017). Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* występują jako endofity roślin uprawnych. Badacze stwierdzili obec-

ność tych bakterii między innymi w buraku cukrowym (Jacobs i in. 1985), owocach truskawki (de Melo Pereira i in. 2012), pomidora (Shrestha i in. 2009) czy w ziarnie pszenicy (Minervini i in. 2015). Szczególną grupą bakterii kwasu mlekowego są mikroorganizmy, które jako główne źródło węgla wykorzystują fruktozę. Bakterie te zasiedlają kwiaty, owoce oraz sfermentowaną żywność powstałą na bazie owoców. Wyizolowano je również z przewodów pokarmowych owadów, których dieta bogata jest we fruktozę – trzmieli, muszek owocowych oraz mrówek *Camponotus* (Endo 2012, Endo i in. 2014).

4. METABOLITY BAKTERII KWASU MLEKOWEGO ORAZ ICH ZNACZENIE

Bakterie kwasu mlekowego należą do mikroorganizmów wytwarzających szereg związków chemicznych. W rozdziale opisano część metabolitów oraz ich znaczenie biologiczne, szczególnie jako substancje przeciwdrobnoustrojowe. Podstawowymi produktami szlaku metabolicznego bakterii kwasu mlekowego są kwasy organiczne. Kwas mlekowy jest głównym produktem fermentacji mlekowej. Powoduje obniżenie pH podłoża, co stwarza warunki niekorzystne dla rozwoju drobnoustrojów. Jego niedysocjowana, hydrofobowa postać dyfunduje przez błonę komórkową. Wewnątrz komórki ulega dysocjacji i uwalnia jony wodorowe, powodując zakwaszenie cytoplazmy. Niedysocjowany kwas mlekowy powoduje również obniżenie gradientu elektrochemicznego, co prowadzi do zahamowania wzrostu podatnych na to działanie mikroorganizmów (Schnürer i Magnusson 2005). Kwas octowy oraz kwas propionowy również wykazują właściwości przeciwdrobnoustrojowe, jednak ich działanie zależy od niskiego pH, które obniżone zostaje przez kwas mlekowy (Roman i Lipińska 2012). Badania naukowe wykazały, że kwas 3-fenylomlekowy (PLA) hamuje rozwój bakterii *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Providentia stuartii* oraz *Klebsiella oxycota* (Cortéz-Zavaleta i in. 2014) oraz wykazuje działanie przeciwgrzybowe wobec pleśni *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*. Jego aktywność również związana jest z niskim pH (Roman i Lipińska 2012). Kwas 3-fenylomlekowy produkowany jest przez szczepki bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, m.in.: *L. casei*, *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. sakei* (Klewicka i Lipińska 2016). Kwasy tłuszczowe oraz hydroksylowane kwasy tłuszczowe wytwarzane przez część szczepów bakterii mlekowych wykazują działanie przeciwgrzybowe. Przykładem są badania, w których związki te, będące produktami metabolizmu bakterii *Lactobacillus plantarum*, wykazały antagonistyczne właściwości przeciwko niektórym gatunkom pleśni i drożdży (Sjögren i in. 2003). Kolejne doświadczenia udowodniły aktywność przeciwgrzybową kwasów tłuszczowych wobec gatunków z rodzaju *Candidia* (Souza i in. 2014). Nadtlenek wodoru produkowany jest przez bakterie kwasu mlekowego w środowisku tlenowym. Jego przeciwdrobnoustrojowa aktywność polega na silnym działaniu utleniającym

oraz degradacji struktur molekularnych białek w komórkach mikroorganizmów (Schnürer i Magnusson 2005). Udowodniono, że nadtlenek wodoru produkowany przez bakterie kwasu mlekowego wykazuje właściwości bakteriobójcze przeciwko drobnoustrojom chorobotwórczym, m.in. *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* czy *Salmonella typhimurium* (Ratajczak i Piotrowska-Cyplik 2017). Diacetyl produkowany jest przez część szczepów bakterii z rodzajów: *Lactobacillus*, *Leuconostoc* oraz *Streptococcus*. Jest to lotny, niepolarny diketon wykazujący właściwości przeciwdrobnoustrojowe względem części bakterii Gram-ujemnych (Ratajczak i Piotrowska-Cyplik 2017). Udowodniono jego działanie antybakteryjne przeciwko *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* oraz *Staphylococcus aureus*. Dodatkowo związek ten wpływa na smak wielu produktów spożywczych, nadając im wyraźny maślany smak (Lanciotti i in. 2003). Egzopolisacharydy (EPS) wydzielane są na zewnątrz komórki w postaci śluzu lub tworzą otoczkę na powierzchni komórki bakteryjnej (Górska i in. 2007). Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* wytwarzają egzopolisacharydy, które odznaczają się dużą różnorodnością struktur (Badel i in. 2011). Wchodzą w skład biofilmu, który umożliwia adhezję komórek do różnych powierzchni oraz wzajemnie do siebie (Samaszko-Fiertek i in. 2016). Egzopolisacharydy bakteryjne chronią komórki mikroorganizmów przed niesprzyjającymi warunkami środowiska (susza, stres osmotyczny, pH), czynnikami biologicznymi (bakteriofagi, pierwotniaki) oraz przed działaniem środków czyszczących i antybiotyków (Zannini i in. 2016). Bakteriocyny, czyli rybosomalne substancje o charakterze peptydowym to związki chemiczne o aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Hamują rozwój blisko spokrewnionych gatunków mikroorganizmów (Ołdak i Zielińska 2017). Związki te wykazują działanie zbliżone do antybiotyków, dlatego mogą w przyszłości stanowić alternatywę dla tej grupy leków. Bakteriocyny wytwarzane przez bakterie kwasu mlekowego wykazują także działanie przeciwwirusowe oraz hamują wytwarzanie biofilmu (Pérez-Ramos i in. 2021). Jedną z najpopularniejszych bakteriocyn jest nizyna wytwarzana przez *Lactococcus lactis* (Ołdak i Zielińska 2017). Inne bakteriocyny produkowane przez bakterie kwasu mlekowego to, m.in. acidolina, reuteryna, laktolina czy enterocyna. Związki te wykazują działanie antybakteryjne przeciwko *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* oraz bakterii z rodzajów *Listeria* i *Klebsiella* (Trzeciak i in. 2016). Plantarycyny produkowane przez szczepy bakterii *Lactobacillus plantarum* cechuje działanie przeciwdrobnoustrojowe, które skutecznie hamuje rozwój szczepów przyczyniających się do psucia produktów spożywczych (Szafrńska i Polak-Berecka 2020).

5. ZASTOSOWANIE BAKTERII KWASU MLEKOWEGO

Ze względu na swoje właściwości oraz bezpieczeństwo stosowania bakterie kwasu mlekowego wykorzystywane są przez człowieka w wielu dziedzinach gospodarki.

5.1. PRZEMYSŁ SPOŻYWCZY

Bakterie kwasu mlekowego nadają smak i postać produktom fermentacji oraz hamują rozwój drobnoustrojów, które przyczyniają się do psucia żywności (Gajewska i Błaszczuk 2012). Mikroorganizmy te mają długą historię bezpiecznego stosowania w wytwarzaniu produktów fermentowanych, takich jak: jogurt, kefir, zakwas czy fermentowane warzywa. Bakterie wykorzystywane w tej produkcji należą głównie do rodzajów: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* i *Streptococcus* (Mani-López i in. 2022). Przykładowo *Streptococcus thermophilus* oraz *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* wykorzystywane są przy wytwarzaniu jogurtów oraz serów twardych (Samaszko-Fiertel i in. 2016). Bakterie fermentacji mlekowej są także powszechnie stosowane do produkcji wędlin surowych dojrzewających (Łaskiewicz i in. 2019), natomiast *Oenococcus oeni* wykorzystywany jest w procesie fermentacji wina, do rozkładu kwasu jabłkowego (Wagner i in. 2005). Bakterie kwasu mlekowego stanowią podstawowy skład mikroflory kiszzonek (Ratajczak i in. 2017). W procesie kiszenia kapusty bierze udział *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis* i rodzaj *Pediococcus* (Satora i in. 2017). *L. plantarum* wykorzystywany jest w procesie kiszenia kapusty, ogórków oraz oliwek (Todorov i de Melo Franco 2010). Bakterie kwasu mlekowego znajdują zastosowanie w piekarnictwie jako tzw. kultury starterowe. Stanowią one wyselekcjonowane szczepy bakterii oraz drożdży. Bakterie kwasu mlekowego, które wchodzi w skład kultur należą głównie do rodzaju *Lactobacillus*. Przykładowo są to: *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. brevis* czy *L. buchneri*. Stosowanie odpowiednich kultur starterowych hamuje rozwój mikroorganizmów stanowiących zanieczyszczenie produktów stosowanych do wyrobu pieczywa oraz wpływa na jego jakość (Michalska i Wąsowicz 2002). Egzopolisacharydy produkowane przez bakterie kwasu mlekowego (*Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*) poprawiają konsystencję oraz zapobiegają synerdzie produktów fermentacji. Dodatkowo EPS-y pozostają dłużej w układzie pokarmowym i przyczyniają się do zasiedlania tych obszarów przez bakterie o działaniu probiotycznym (Samaszko-Fiertel i in. 2016). Natomiast bakteriocyny wytwarzane przez bakterie kwasu mlekowego mają właściwości konserwujące. Nizyna produkowana przez *Lactococcus lactis* jest na dzień dzisiejszy jedyną bakteriocyną stosowaną w przemyśle spożywczym jako środek konserwujący (Soltani i in. 2021). Wykorzystywana jest między innymi w produkcji serów do zahamowania wzrostu zarodników *Clostridium tyrobutyricum* (Szafrńska 2018) oraz *Clostridium botulinum* (Kumariya i in. 2019). Ogranicza rozwój bakterii z rodzaju *Lactobacillus* w piwie

i winie oraz bakterii z rodzajów *Bacillus* i *Clostridium* w konserwach (Jurkowski i Błaszczuk 2012).

5.2. PRZEMYSŁ CHEMICZNY

Kwas mlekowy – główny produkt bakterii kwasu mlekowego, wykorzystywany jest w przemyśle na szeroką skalę. Znajduje swoje zastosowanie w produktach kosmetycznych (środki do pielęgnacji skóry) i farmaceutycznych (składniki protez i szwów chirurgicznych). Stosowany jest również do wytwarzania rozpuszczalników i środków czyszczących (Jurkowski i Błaszczuk 2012). Kwas mlekowy wykorzystywany jest do produkcji polilaktydu (PLA) – biodegradowalnego tworzywa sztucznego wykorzystywanego do produkcji, np. agrowłókien, folii ogrodowych, doniczek, worków na śmieci i innych produktów jednorazowego użytku (Piertaszek i in. 2014).

5.3. MEDYCYNA

Bakteriocyny wytwarzane przez bakterie kwasu mlekowego wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe i mogą w przyszłości stanowić zamiennik dla antybiotyków (Pérez-Ramos i in. 2021). Jednak badania wykazują, że bakteriocyny mogą mieć również szersze przeznaczenie. Nizyna oprócz stosowania w infekcjach bakteryjnych i chorobach jamy ustnej może być wykorzystywane w terapii nowotworów (Shin i in. 2016). Bakterie kwasu mlekowego stosowane są jako probiotyki. Według obecnej obowiązującej definicji probiotyki to żywe drobnoustroje, które podane w odpowiedniej ilości wykazują korzystny wpływ na zdrowie gospodarza. Bakterie kwasu mlekowego uznawane są powszechnie za bezpieczne, dlatego mikroorganizmy stosowane komercyjnie jako probiotyki należą głównie do rodzaju *Lactobacillus*, m.in.: *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii* czy *L. helveticus* (Florou-Paneri i in. 2013). Jako probiotyk w opiece zdrowotnej stosowany jest także *Lactobacillus reuteri* (Vollenweider i Lacroix 2004, Gómez-Torres i in. 2014). Gatunek ten wytwarza reuterynę – związek chemiczny o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych wobec niektórych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, grzybów oraz pasożytów (Urbańska i Szajewska 2014).

5.4. ROLNICTWO

Pasze objętościowe stanowią podstawową formę żywienia przeżuwaczy w gospodarstwach rolnych i powinny odznaczać się odpowiednią jakością, wartością odżywczą oraz czystością mikrobiologiczną (Suterska i in. 2009). Kiszenie jest tradycyjną, szeroko rozpowszechnioną metodą konserwacji pasz. Proces ten zachodzi samoistnie i naturalnie dzięki obecności mikroorganizmów na materiale roślinnym, ale może być również wspomagany poprzez dodawanie preparatów mikrobiolo-

gicznych, tzw. kultury starterowej (Zielińska i in. 2013). W skład preparatów przeważnie wchodzi bakterie kwasu mlekowego należące do rodzajów *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* oraz *Leuconostoc*. W preparatach tego typu oprócz samych bakterii mogą znajdować się enzymy, które zwiększają ilość cukrów rozpuszczalnych (Wróbel 2012). Zastosowanie dodatku powoduje obniżenie pH, zahamowanie wzrostu szkodliwych drobnoustrojów oraz zachowanie wartości odżywczej paszy. Uważa się, że żywienie przeżuwaczy kiszonkami, które zostały poddane działaniu bakterii kwasu mlekowego, poza poprawą ich wydajności, wywołuje działanie probiotyczne (Florou-Paneri i in. 2013). Przykładowo w badaniach Paradhipta i in. (2021) stosowano dodatek szczepów *Lactobacillus brevis* oraz *L. buchnerii* do kiszenia kukurydzy. Wykazano pozytywny wpływ tych bakterii na zahamowanie wzrostu *Fusarium graminearum* oraz na trwałość paszy. Badania z zastosowaniem tych dwóch gatunków bakterii przeprowadzili Suterska i in. (2009). Stwierdzili synergistyczne oddziaływanie szczepów *L. plantarum* i *L. buchnerii* jako dodatków do kiszenia runi łąkowej na obniżenie liczby pleśni w kiszonkach oraz na zmniejszenie zawartości ochranotoksyny A. Zhang i in. (2023) badali wpływ szczepu *Lactobacillus rhamnosus* GG na jakość fermentacji kiszonki z kukurydzy. Po inokulacji szczepem badacze odnotowali zahamowanie wzrostu grzybów powszechnie występujących w łodygach kukurydzy, wiązanie mykotoksyn oraz zmniejszenie strat składników odżywczych, co wpływało na jakość kiszonki.

Na rynku dostępne są preparaty mikrobiologiczne, tzw. zakiszacze, które są stosowane do zakiszania pasz objętościowych (tab. 1)

Tabela 1

Przykłady zakiszaczy bakteryjnych dostępnych na rynku (opracowanie własne)

Preparat	Skład	Roślina
Zakiszacz premiks dodatków do kiszonki, Bosmed	<i>Lactobacillus buchnerii</i> <i>Propionibacterium thoenii</i> <i>Propionibacterium acidilactici</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>	trawy, kukurydza, lucerna
EM Zakiszacz, Greenland	wyspecjalizowane bakterie kwasu mlekowego	trawy, lucerna, kukurydza, młóto, wysłodki
Silomax, Osadowski	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	lucerna, trawy, zielonka z żyta, kukurydza, mieszanki roślinne, wysłodki buraczane
Farma Sil, Farma	<i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	trawy, kukurydza, koniczyna, zboża

cd. tab. 1

Preparat	Skład	Roślina
Microsile, Polsil	<i>Enterococcus faecium</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus brevis</i>	zielonka z traw, lucerny, mieszanek traw z bobowatymi i kukurydzy
Microsile Stabilizator, Polsil	<i>Lactobacillus buchneri</i>	kukurydza
Zakiszacz Polmasil Extra	<i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Pediococcus</i> spp. <i>Lactobacillus buchneri</i>	kukurydza

Coraz powszechniejsze staje się wykorzystywanie probiotyków jako dodatków do pasz dla zwierząt hodowlanych. Stosowane są jako zamienniki dla wycofanych w 2006 roku antybiotykowych stymulatorów wzrostu (Niwińska i in. 2018). Jako probiotyki dla zwierząt stosowane są między innymi bakterie z rodzajów: *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. amylovorus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. ramosus*), *Bifidobacterium* (*B. animalis*, *B. lactis*, *B. longum*, *B. termophilum*), *Streptococcus* (*S. infantarius*, *S. termophilus*), *Enterococcus* (*E. fecium*, *E. faecalis*), *Pediococcus* (*P. acidilactici*, *P. pentosaceus*), *Lactococcus* (*L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis*), *Leuconostoc* (*L. citreum*, *L. lactis*) (Galus-Barchan i in. 2018). Probiotyki mają korzystny wpływ na skład bakterii jelitowych, co wiąże się z efektywniejszym wykorzystywaniem składników pokarmowych zawartych w paszy. Skutecznie wpływają na wzrost i rozwój zwierząt, podnosząc efektywność produkcji zwierzęcej, a także zmniejszają podatność na infekcje (Kukier i in. 2018).

Badania naukowe wskazują, że bakterie kwasu mlekowego wykazują działanie antibakteryjne oraz przeciwgrzybicze, które może znaleźć zastosowanie w ochronie roślin (Gwiazdowski i in. 2013). Powierzchnia produktów rolnych skolonizowana jest przez szereg drobnoustrojów. Zboża są często narażone na porażenie przez pleśń z rodzajów *Fusarium*, *Penicillium* czy *Aspergillus*. Zagrożenie stanowią nie tylko same drobnoustroje patogenne mogące uszkadzać rośliny, ale także produkowane przez nie mykotoksyny, które są związkami szkodliwymi dla ludzi (Kluczyńska 2013). Skażenie żywności i pasz przez grzyby *Fusarium graminearum* oraz produkowane przez nie toksyny uznaje się za największe globalne zagrożenie (Ben Salah-Abbès i in. 2021). W wielu badaniach stwierdzono skuteczność szczepów *Lactobacillus plantarum* w zahamowaniu wzrostu grzybów i produkcji mykotoksyn oraz w eliminacji istniejących już mykotoksyn poprzez ich wiązanie lub degradację (Li i in. 2023). Quattrini i in. (2018) wykazali skuteczność szczepów tego gatunku wyizolowanych ze zbóż i produktów mlecznych przeciwko grzybom: *Penicillium roqueforti*, *Mucor circinelloides*, *Aspergillus flavus*, *A. niger* oraz *Fusarium verticillioides*. Ponadto stwierdzili umiarkowany spadek biodostępności alfatoksyny AFB1. W swoich badaniach Guimarães i in. (2018) stwierdzili, że gatunek ten może

skutecznie hamować wzrost *Aspergillus flavus* oraz produkcję alfatoksyn, natomiast Lappa i in. (2018) wykazali skuteczność *L. plantarum* wobec szczepów *Aspergillus carbonarius* wyizolowanych z owoców winogron. Stwierdzili również ograniczenie wytwarzania toksyn przez te grzyby. W kolejnych badaniach nad szczepami bakterii *L. plantarum* stwierdzono ich pozytywny wpływ na zahamowanie wzrostu grzybów z rodzaju *Fusarium*. Pod wpływem działania tych bakterii stwierdzono zahamowanie wzrostu *Fusarium graminearum* oraz produkcję mykotoksyn – zearaleonu (Ben Salah-Abbès i in. 2021) oraz deoksynivalenolu (Cao i in. 2021). W doświadczeniach Wei i in. (2020) wykazano skuteczność *L. plantarum* w degradacji patuliny – mykotoksyny wytwarzanej przez grzyby z rodzajów *Aspergillus* i *Penicillium*, występującej głównie na jabłkach, natomiast De Simone i in. (2021) odnotowali skuteczność części badanych szczepów *L. plantarum* przeciwko *Botrytis cinerea*, grzybowi wywołującemu szarą pleśń na owocach. Baffoni i in. (2015) badali efektywność synergistycznego działania szczepów bakterii *Lactobacillus plantarum* oraz *Bacillus amyloliquefaciens* na wzrost grzybów z rodzaju *Fusarium*. Stwierdzili skuteczność wspólnego działania tych dwóch gatunków na rozwój grzybów w warunkach polowych. Również Gwiazdowski i in. (2013) wykazali fungicystyczne działanie bakterii kwasu mlekowego na grzyby z rodzaju *Fusarium* oraz na patogeny rzepaku – *Alternaria alternaria*, *A. brassicae*, *Leptosphaeria maculans*, *Pythium* spp. oraz *Thanatephorus cucumeris* (Gwiazdowski i in. 2015). Laury-Shaw i in. (2019) zaobserwowali wyraźne zmniejszenie się liczebności *Escherichia coli* na liściach szpinaku po zastosowaniu na ich powierzchni inokulum bakterii kwasu mlekowego. Shrestha i in. (2009) wykazali antagonistyczne oddziaływanie szczepu bakterii *Lactobacillus* sp., wyizolowanego z ryzosfery pomidora, przeciwko patogennym bakteriom *Ralstonia solanacearum* wywołującym chorobę o nazwie śluzak warzyw psiankowatych. Doświadczenie przeprowadzone zostało na pomidorach oraz papryce, które zraszano roztworem badanego szczepu. Blainski i in. (2018) zastosowali egzopolisacharydy (EPS) wytwarzane przez *Lactobacillus plantarum* w celu zwalczania na pomidorach bakteryjnej plamistości wywołanej przez *Xanthomonas gardneri*. Zaobserwowano znacznie zmniejszenie nasilenia choroby w porównaniu z próbą kontrolną. Badania pokazały jednak, że ochrona przed plamistością dotyczyła jedynie miejsc bezpośredniej aplikacji EPS, w tym przypadku liści pomidora.

W literaturze możemy również znaleźć doniesienia na temat wykorzystywania bakterii kwasu mlekowego jako stymulatorów wzrostu. Limańska i in. (2013) wykazali przyspieszenie kiełkowania nasion pomidora po zastosowaniu moczenia ich w zawiesinie *Lactobacillus plantarum*. Po inokulacji bakteriami zwiększyła się długość pędów korzeni głównych, bocznych oraz włośników. Podobne badania przeprowadzili Konappa i in. (2016), w których wykazano wzrost kiełkowania nasion pomidora po zaprawieniu ich izolatami bakterii kwasu mlekowego. Ponadto zastosowanie tych bakterii indukowało zwiększenie produkcji enzymów biorących udział w syntezie związków fenolowych o działaniu antybakteryjnym. W badaniach Kang

i in. (2015) zastosowano zaszczepienie ogórka mikroorganizmami *Rhodobacter sphaeroides*, *Lactobacillus plantarum* i *Sacharomyces cerevisiae*. Stwierdzono znaczący wpływ szczepienia na wzrost oraz zawartość chlorofilu w roślinie.

Na liście nawozowych produktów mikrobiologicznych IUNG-PIB w Puławach znajduje się 16 preparatów zawierających bakterie kwasu mlekowego (tab. 2). Za ledwie w jednej grupie preparatów – EmFarma, Ema5, EmFarma Plus – występuje pojedynczo *Lactobacillus plantarum*. W pozostałych preparatach bakterie kwasu mlekowego stanowią element konsorcjum z innymi mikroorganizmami. *Lactobacillus plantarum* wykorzystywany jest do produkcji kiszonek. Jest to gatunek mezofilny, zdolny do wzrostu w temperaturach 15–45°C oraz przy wartości pH między 4 a 9. Wykazuje działanie ochronne przeciw drobnoustrojom patogennym (Todorov i Franco 2010). Jest zdolny do produkcji bakteriocyn mających działanie zbliżone do antybiotyków. Dzięki swoim właściwościom *L. plantarum* jest wszechstronnym mikroorganizmem występującym w różnych środowiskach (Seddik i in. 2017).

Tabela 2

Przykłady preparatów zawierających bakterie mlekowe, wspomagających wzrost roślin (na podstawie wykazu nawozowych produktów mikrobiologicznych, IUNG-PIB w Puławach)

Preparat	Skład	Zastosowanie	Działanie (wg producenta)
Fundamental	bakterie kwasu mlekowego <i>Sacharomyces</i> sp. <i>Rhodopseudomonas</i> sp.	polowe, warzywnicze, sadownicze, rośliny ozdobne, trawniki, użytki zielone, ogrodnictwo hobbystyczne	szybszy rozkład organicznej biomasy na próchnicę i dostępne dla roślin składniki odżywcze; wzrost różnorodności biologicznej drobnoustrojów w glebie; zakłócenie cyklu życia patogenów glebowych; większa dostępność składników odżywczych; poprawa struktury gleby
BioKURATOR	<i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Sacharomyces</i> sp.	polowe, warzywnicze, sadownicze, rośliny ozdobne	fungicyd; pobudzenie naturalnego systemu obronnego rośliny; konkurencja z grzybem o składniki odżywcze dostępne na liściu – zaburzenie cyklu życiowego patogennego grzyba; redukcja „stresu sadzeniowego”; szybszy rozkład resztek poźniwnych
BaktoTarcza O	<i>Bacillus</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Lactobacillus</i> sp. <i>Streptomyces</i> sp.	warzywnicze, sadownicze, rośliny ozdobne, pod osłonami	probiotyk dla roślin; poprawia zdrowotność; stymuluje wzrost roślin; wspomaga regenerację roślin po czynnikach stresowych

cd. tab. 2

Preparat	Skład	Zastosowanie	Działanie (wg producenta)
BaktoTarcza P	<i>Bacillus</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Lactobacillus</i> sp.	polowe	probiotyk dla roślin; poprawia zdrowotność; stymuluje wzrost roślin; wspomaga regenerację roślin po czynnikach stresowych
Gard G	<i>Bacillus</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Lactobacillus</i> sp. <i>Streptomyces</i> sp.	pod osłonami	probiotyk dla roślin; stymuluje wzrost i rozwój roślin; indukuje naturalną odporność; korzystnie wpływa na wysokość i jakość plonu
Gard T	<i>Bacillus</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Lactobacillus</i> sp.	polowe	odbudowuje fylosferę roślin; wzrost jakości i ilości plonów; redukcja występowania chorób roślin; stymulacja wzrostu roślin; lepsze odżywienie roślin; ograniczenie stosowania środków ochrony roślin; redukcja występowania mykotoksyn w ziarnie; wspomaganie regeneracji roślin
Ema5	<i>Lactobacillus plantarum</i>	polowe, warzywnicze, sadownicze, rośliny ozdobne, trawniki, użytki zielone, uprawy ekologiczne	tworzy biofilm, który zabezpiecza rośliny przed stresem abiotycznym; dba o równowagę w mikrobiomie rośliny i gleby; intensyfikuje procesy mikrobiologiczne w glebie; ogranicza patogenną mikroflorę w glebie i na roślinie; przywraca do obiegu trudno dostępne składniki
EmFarma, EmFarma Plus	<i>Lactobacillus plantarum</i>	polowe, warzywnicze, sadownicze, rośliny ozdobne, trawniki, użytki zielone	optymalizuje rozkład materii organicznej; kondycjonuje glebę; zwiększa zawartość próchnicy i wody w glebie; intensyfikuje procesy mikrobiologiczne w glebie i przywraca do obiegu trudno dostępne składniki; aktywuje fermentację gnojowicy; obornika i odcieków; poprawia proces kompostowania; przyspiesza rozkład pozostałości po pestycydach w glebie

cd. tab. 2

Preparat	Skład	Zastosowanie	Działanie (wg producenta)
Microbiotix Complex	<i>Lactobacillus</i> sp. <i>Lacticaseibacillus</i> sp. <i>Limosilactobacillus</i> sp. <i>Rhodococcus</i> sp. <i>Rhodopseudomonas janowicz</i> <i>Saccharomyces</i> sp. <i>Bacillus</i> sp.	polowe, warzywnicze, sadownicze, rośliny ozdobne, trawniki, użytki zielone, lasy, remediacja gleb	ograniczenie rozwoju patogenów grzybowych i bakteryjnych; przyspieszenie biodegradacji substancji organicznej; przyspiesza wzrost roślin; dostarcza cennych składników dla roślin
Elbio Terra Ivo	<i>Bifidobacterium animalis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Limosilactobacillus fermentum</i> <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Rhodopseudomonas palustris</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i>	polowe, warzywnicze, sadownicze, rośliny ozdobne, trawniki, użytki zielone, lasy	poprawia żyzność i strukturę gleby; neutralizuje bakterie odglebowe i grzyby chorobotwórczych; zwiększa dostępność składników pokarmowych
Microbiotix Prevent	<i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i>	polowe, warzywnicze, sadownicze, rośliny ozdobne, trawniki, użytki zielone, lasy, remediacja gleb, uprawy ekologiczne	tworzy film biologiczny, który nie pozwala na ekspansję grzybów i bakterii chorobotwórczych; przyspiesza wzrost roślin; dostarcza cennych składników dla roślin
Elbio Fungibactis	<i>Lactobacillus</i> sp. <i>Enterococcus</i> sp. <i>Saccharomyces</i> sp. <i>Bacillus</i> sp.	polowe, warzywnicze, sadownicze	biologiczna ochrona przed chorobami grzybowymi; ogranicza pozostałości mykotoksyn

Badania wykazują, że dodatek izolatów bakterii z rodzajów: *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. buchneri*, *L. delbrueckii*, *L. paraplantarum*, *L. pentosus*, *Bifidobacterium bifidus* zwiększa w roślinie zawartość węglowodanów, składników odżywczych, takich jak magnez, azot i fosfor, substancji przeciwutleniających oraz chlorofilu i karotenoidów. Prowadzi to do poprawy jakości roślin oraz zwiększenia produktywności i plonu (Hamid i in. 2021).

6. PODSUMOWANIE

Stosowanie w uprawie roślin nawozów mineralnych oraz chemicznych środków ochrony roślin stanowi źródło zanieczyszczeń gleby oraz wód powierzchniowych i podziemnych. Preparaty mikrobiologiczne zyskują coraz większą popularność, ponieważ stanowią alternatywę dla konwencjonalnego nawożenia. Corocznie odnotowuje się wzrost ich sprzedaży, jednak nadal stanowią one ułamek w porównaniu ze sprzedażą chemicznych środków ochrony roślin (Sosnowska 2019). Bakterie kwasu mlekowego są wykorzystywane jako składnik preparatów mikrobiologicznych, ze względu na swoje właściwości przeciwdrobnoustrojowe oraz bezpieczeństwo stosowania. Chronią rośliny przed rozwojem mikroorganizmów patogennych i mogą być stosowane jako profilaktyka zakażeń.

7. LITERATURA

1. A j a o O., Banwo K., Ogunremi O., Sanni A.: Antimicrobial properties and probiotics potentials of lactic bacteria isolated from raw beef in Ibadan, Nigeria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2018, **8(2)**: 770-773; <https://10.15414/jmbfs.2018.8.2.770-773>
2. B a d e l S., Bernardi T., Michaud P.: New perspectives for *Lactobacilli exopolysaccharides*. *Biotechnology Advances*, 2011, **29**: 54-66.
3. B a f f o n i L., Gaggia F., Dalanaj N., Prodi A., Nipotti P., Pisi A., Biavati B., Di Gioia D.: Microbial inoculants for the biocontrol of *Fusarium* spp. in durum wheat. *BMC Microbiology*, 2015, **15**, 242; <http://10.1186/s12866-015-0573-7>
4. B e n S a l a h - A b b è s J., Mannai M., Belgacem H., Zinedine A., Abbès S.: Efficacy of lactic acid bacteria supplementation against *Fusarium graminearum* growth *in vitro* and inhibition of Zearalenone causing inflammation and oxidative stress *in vivo*. *Toxicon*, 2021, **202**: 115-122; <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2021.09.010>
5. B i n t s i s T.: Lactic acid bacteria: their applications in foods. *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access.*, 2018a, **6(2)**: 89-94; <https://10.15406/jbmoa.2018.06.00182>
6. B i n t s i s T.: Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*, 2018b, **4(4)**: 665-684; <https://10.3934/microbiol.2018.4.665>
7. B l a i n s k i J.M.L., da Rocha Neto A.C., Schimidt E.C., Voltolini J.A., Rossi M.J., Di Piero R.M.: Exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* induce biochemical and physiological alterations in tomato plant against bacterial spot. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, **102**: 4741-4753; <https://doi.org/10.1007/s00253-018-8946-0>
8. C a m e s a s c a L., de Mattos J.A., Vila E., Cebreiros F., Lareo C.: Lactic acid production by *Carnobacterium* sp. isolated from a maritime Antarctic lake using eucalyptus enzymatic hydrolysate. *Biotechnology Reports*, 2021, **31**, e00643; <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00643>
9. C a o H., Meng D., Zhang W., Ye T., Yu J., Wu X., Li Y., Yin F., Fu C., Xu F., 2021. Growth inhibition of *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol detoxification by lactic acid bacteria and their application in sourdough bread. *International Journal of Food Science and Technology*, 2021, **56(5)**: 2304-2314; <https://10.1111/ijfs.14852>
10. C o r t é s - Z a v a l e t a O., López-Malo A., Hernández-Mendoza A., García H.S.: Antifungal activity of lactobacilli and its relationship with 3-phenyllactic acid production. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, **173**: 30-35.

11. de Melo Pereira G.V., Magalhães K.T., Lorenzetti E.R., Souza T.P., Schwan R.F.: A multiphasic approach for the identification of endophytic bacterial in strawberry fruit and their potential for plant growth promotion. *Microbial Ecology*, 2012, **63**: 405-417; <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9919-3>
12. De Simone N., Capozzi V., de Chiara M.L.V., Amodio M.L., Brahimi S., Colelli G., Drider D., Spano G., Russo P.: Cinerea and the potential of *Lactiplantibacillus plantarum* for eco-friendly preservation of fresh-cut kiwifruit. *Microorganisms*, 2021, **9**, 773; <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040773>
13. Endo A.: Fructophilic lactic acid bacteria inhabit fructoserich niches in nature. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 2012, **23**, 18563; <https://10.3402/mehd.v23i0.18563>
14. Endo A., Tanaka N., Oikawa Y., Okada S., Dicks L.: Fructophilic characteristics of *Fructobacillus* spp. may be due to the absence of an alcohol/acetaldehyde dehydrogenase gene (*adhE*). *Current Microbiology*, 2014, **68**: 531-535; <https://doi.org/10.1007/s00284-013-0506-3>
15. Florou-Paneri P., Christaki E., Bonos E.: Lactic acid bacteria as source of functional ingredients. In: *Lactic Acid Bacteria – R&D for Food, Health and Livestock Purposes*, M. Kongo (ed.). InTech, Rijeka 2013, pp. 589-614.
16. Gajewska J., Błaszczyk M.K.: Probiotyczne bakterie fermentacji mlekowej (LAB). *Postępy Mikrobiologii*, 2012, **51(1)**: 55-65.
17. Galus-Barchan A., Radkowska I., Szewczyk A.: Nowe spojrzenie na probiotyki w hodowli bydła. *Wiadomości Zootechniczne*, 2018, **56(3)**: 79-84.
18. George F., Daniel C., Thomas M., Singer E., Guilbaud A., Tessier F.J., Revol-Junelles A.M., Borges F., Foligne B.: Occurrence and dynamism of lactic acid bacteria in distinct ecological niches: a multifaceted functional health perspective. *Frontiers in Microbiology*, 2018, **9**, 2899; <https://10.3389/fmicb.2018.02899>
19. Gómez-Torres N., Ávila M., Gaya P., Garde S.: Prevention of late blowing defect by reuterin produced in cheese by a *Lactobacillus reuteri* adjunct. *Food Microbiology*, 2014, **42**: 82-88.
20. Górska S., Grycko P., Rybka J., Gamian A.: Egzopolisacharydy bakterii kwasu mlekowego – biosynteza i struktura. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2007, **61**: 805-818.
21. Guimarães A., Santiago A., Teixeira J.A., Venâncio A., Abrunhosa L.: Anti-aflatoxigenic effect of organic acids produced by *Lactobacillus plantarum*. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, **264**: 31-38; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.025>
22. Gwiądowska K., Kluczyńska K., Gwiądowska D.: Fungistatyczna aktywność bakterii fermentacji mlekowej wyizolowanych z kiszzonek. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin*, 2013, **53(3)**: 505-509.
23. Gwiądowska K., Kluczyńska K., Gwiądowska D.: Wpływ wybranych bakterii fermentacji mlekowej na wzrost patogenów występujących w uprawie rzepaku. *Progress in Plant Protection*, 2015, **55(4)**: 446-451; <https://10.14199/ppp-2015-073>
24. Hamid B., Zaman M., Farooq S., Fatima S., Sayyed R.Z., Baba Z.A., Sheikh T.A., Reddy M.S., El Enshasy H., Gafur A., Suriani N.L.: Bacterial plant biostimulants: a sustainable way towards improving growth, productivity, and health of crops. *Sustainability*, 2021, **13(5)**, 2856; <https://doi.org/10.3390/su13052856>
25. Jacobs M.J., Bugbee W.M., Gabrielson D.A.: Enumeration, location, and characterization of endophytic bacteria within sugar beet roots. *Canadian Journal of Botany*, 1985, **63(7)**: 1262-1265; <https://doi.org/10.1139/b85-174>

26. J u r k o w s k i M., Błaszczuk M.: Charakterystyka fizjologiczno-biochemiczna bakterii fermentacji mlekowej. *Kosmos*, 2012, **61(3)**: 493-504.
27. K a n g S.M., Radhakrishnan R., You Y.H., Khan A.L., Park J.M., Lee S.M., Lee I.J.: Cucumber performance is improved by inoculation with plant growth-promoting microorganisms. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil & Plant Science*, 2015, **65(1)**: 36-44; <https://doi.org/10.1080/09064710.2014.960889>
28. K l e w i c k a E., Lipińska L.: Aktywność przeciwgrzybowa bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju *Lactobacillus*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2016, **23(1)**: 17-31; <https://doi.org/10.15193/zntj/2016/104/098>
29. K l u c z y ń s k a K.A.: Antagonistyczne oddziaływanie izolatów bakterii fermentacji mlekowej ze środowiska naturalnego wobec toksynotwórczych grzybów z rodzaju *Fusarium*. *Studia Oeconomica Posnaniensia*, 2013, **1(12)**: 40-49.
30. K o n a p p a N.M., Maria M., Uzma F., Krishnamurthy S., Nayaka S.C., Niranjana S.R., Chowdaoo S.: Lactic acid bacteria mediated induction of defense enzymes to enhance the resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt. *Scientia Horticultura*, 2016, **207**: 183-192; <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.05.029>
31. K u k i e r E., Goldsztejn M., Kozieł N., Kwiatek K.: Drobnoustroje probiotyczne w żywieniu zwierząt. *Pasze Przemysłowe*, 2018, **4**: 74-80.
32. K u m a r i y a R., Garsa A.K., Rajput Y.S., Sood S.K., Akhtar N., Patel S.: Bacteriocins: Classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial Pathogenesis*, 2019, **128**: 171-177; <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.002>
33. L a m o n t J.R., Wilkins O., Bywater-Ekegård M., Smith D.L.: From yogurt to yield: Potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, **111**: 1-9; <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.03.015>
34. L a n c i o t t i R., Patrignani F., Bagnolini F., Guerzoni M.E., Gardini F.: Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. *Food Microbiology*, 2003, **20**: 537-543; doi:10.1016/S0740-0020(02)00159-4
35. L a p p a I.K., Mparampouti S., Lanza B., Panagou E.Z.: Control of *Aspergillus carbonarius* in grape berries by *Lactobacillus plantarum*: A phenotypic and gene transcription study. *International Journal of Food Microbiology*, 2018, **275**: 56-65; <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.001>
36. L a r a n j o M., Elias M., Fraqueza M.J.: The use of starter cultures in traditional meat products. *Journal of Food Quality*, 2017, 9546026; <https://doi.org/10.1155/2017/9546026>
37. L a u r y - S h a w A., Gragg S.E., Echeverry A., Brashears M.M.: Survival of *Escherichia coli* O157:H7 after application of lactic acid bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, **99(4)**: 1548-1533; <https://doi.org/10.1002/jsfa.9332>
38. L i Q., Zeng X., Fu H., Wang X., Guo X., Wang M.: *Lactiplantibacillus plantarum*: A comprehensive review of its antifungal and anti-mycotoxin effects. *Trends in Food Science & Technology*, 2023, **136**: 224-238; <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.04.019>
39. Limańska N., Ivanytsia T., Basiul O., Krylova K., Biscola V., Chobert J.M., Ivanytsia V., Haertlé T.: Effect of *Lactobacillus plantarum* on germination and growth of tomato seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2013, **35**: 1587-1595; <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1200-y>
40. L i u W., Pang H., Zhang H., Cai Y.: Biodiversity of lactic acid bacteria. In: *Lactic Acid Bacteria. Fundamentals and Practice*, H. Zhang, Y. Cai (eds). Springer Science & Business Media: Dordrecht, The Netherlands, 2014, pp. 103-203; <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8841-0>

41. Ł a s z k i e w i c z B., Szymański P., Kołożyn-Krajewska D.: Wpływ wybranych szczepów bakterii kwasu mlekowego na przydatność technologiczną i jakość mikrobiologiczną mięsa drobiowego oddzielonego mechanicznie. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2019, **26(3)**: 22-134; doi: 10.15193/zntj/2019/120/302
42. M a n i-López E., Arriola-Bretón D., L ó p e z-Malo A.: The impacts of antimicrobial and antifungal activity of cell-free supernatants from lactic acid bacteria *in vitro* and foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2022, **21**: 604-641; <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12872>
43. M i c h a ł s k a U., Wąsowicz E.: Wpływ bakterii fermentacji mlekowej na tworzenie aromatu pieczywa. *Postępy Nauk Rolniczych*, 2002, **49(2)**: 129-137.
44. M i l l e r E.A., Beasley D., Dunn R.R., Archie E.A.: *Lactobacilli dominance* and vaginal pH: Why is the human vaginal microbiome unique. *Frontiers in Microbiology*, 2016, **7**, 1936; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01936>
45. M i n e r v i n i F., Celano G., Lattanzi A., Tedone L., D e Mastro G., Gobbetti M., D e Angelis M.: Lactic acid bacteria in durum wheat flour are endophytic components of the plant during its entire life cycle. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, **81(19)**: 6736-6748; <https://doi.org/10.1128/AEM.01852-15>.
46. M u r i n d a n g a b o Y.T., Kopecký M., Perná K., Nguyen T.G., Kanvalina P., Kavková M.: Prominent use of lactic acid bacteria in soil-plant systems. *Applied Soil Ecology*, 2023, **189**, 104955; <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2023.104955>
47. N i w i Ń s k a B., Furgał-Dzierżuk I., Wieczorek J.: Probiotyki w żywieniu zwierząt gospodarskich. *Wiadomości Zootechniczne*, 2018, **56(4)**: 102-111.
48. O ł a d a k A., Zielińska D.: Bakteriocyny bakterii fermentacji mlekowej jako alternatywa antybiotyków. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 2017, **71**: 328-338; <https://doi.org/10.5604/01.3001.0010.3817>
49. P a r a d h i p t a D.H.V., Joo Y.H., Lee H.J., Lee S.S., Noh H.K., Choi J.S., Kim J., Min H.G., Kim S.C.: Effects of inoculants producing antifungal and carboxylesterase activities on corn silage and its shelf life against mold contamination at feed-out phase. *Microorganism*, 2021, **9**, 558; <https://doi.org/10.3390/microorganisms9030558>
50. P é r e z-Ramos A., Madi-Moussa D., Coucheney F., Drider D.: current knowledge of the mode of action and immunity mechanisms of LAB-bacteriocins. *Microorganism*, 2021, **9**, 2107; <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102107>
51. P e t r o v a M.I., Lievens E., Malik S., Imholz N., Lebeer S.: *Lactobacillus species* as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. *Frontiers in Physiology*, 2015, **6**, 81; <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00081>
52. P i e t r a s z e k P., Dybka K., Walczak P., Otlewska A., Rygała A., Ołtuszek-Walczak E.: Mikrobiologiczna produkcja kwasu mlekowego z surowców odnawialnych. *Polish Journal of Agronomy*, 2014, **16**: 45-56.
53. Q u a t t r i n i M., Bernardi C., Stuknytė M., Masotti F., Passera A., Ricci G., Vallone L., D e Noni I., Brasca M., Fortina M.G.: Functional characterization of *Lactobacillus plantarum* ITEM 17215: A potential biocontrol agent of fungi with plant growth promoting traits, able to enhance the nutritional value of cereal products. *Food Research International*, 2018, **106**: 936-944; <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.074>
54. R a m a n J., Kim J.S., Choi K.R., Eun H., Yang D., Ko Y.J., Kim S.J.: Application of lactic acid bacteria (LAB) in sustainable agriculture: advantages and limitations. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, **23**, 7784; <https://doi.org/10.3390/ijms23147784>

55. R a t a j c z y k K., Piotrowska-Cyplik A.: Metabolity bakterii kwasu mlekowego i ich zastosowanie w przemyśle. Postępy Mikrobiologii, 2017, **56(4)**: 416-421.
56. R a t a j c z y k K., Piotrowska-Cyplik A., Myszka K.: Badania metapopulacyjne wybranych fermentowanych produktów pochodzenia roślinnego. Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, 2017, **72(3)**: 26-38.
57. R o m a n J., Lipińska E.: Właściwości przeciwplesenne supernatantów z hodowli bakterii fermentacji mlekowej. Bromatologia i Chemia Toksykologiczna, 2012, **45(3)**: 739-742.
58. S a d i q F.A., Yan B., Tian F., Zhao J., Zhang H., Chen W.: Lactic acid bacteria as antifungal and anti-mycotoxigenic agents: a comprehensive review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2019, **18**: 1403-1436.
59. S a d o w s k J., Grajek W.: Odpowiedź komórkowa bakterii kwasu mlekowego na stresy środowiskowe. Biotechnologia, 2009, **4(87)**: 115-132.
60. S a m a s z k o-Fiertek J., Kuźma M., Dmochowska B., Ślusarz R., Madej J.: Egzopolisacharydy bakteryjne – budowa i funkcje. Wiadomości Chemiczne, 2016, **70**: 473- 496.
61. S a t o r a P., Celej D., Skotniczny M., Trojan N.: Żywność. Nauka. Technologia. Jakość., 2017, **24(4)**: 27-36.
62. S c h n ü r e r J., Magnusson J.: Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. Trends in Food & Technology, 2005, **16**: 70-78; <https://10.1016/j.tifs.2004.02.014>
63. S e d d i k H.A., Bendali F., Gancel F., Fliss I., Spano G., Drider D.: Lactobacillus plantarum and its probiotic and food potentialities. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 2017, **9**: 111-122; <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9264-z>
64. S h i n J.M., Gwak J.W., Kamarajan P., Fenno J.C., Rickard A.H., Kapila Y.L.: Biomedical applications of nisin. Journal of Applied Microbiology, 2016, **120(6)**: 1449-1465; <https://10.1111/jam.13033>
65. S h r e s t h a A., Choi K., Lim C.K., Hur J.H., Cho S.: Antagonistic effect of *Lactobacillus sp.* strain KLF01 against plant pathogenic bacteria *Ralstonia solanacearum*. The Korean Journal of Pesticide Science, 2009, **13(1)**: 45-53.
66. S j ö g r e n J., Magnusson J., Broberg A., Schnürer J., Kenne L.: Antifungal 3-Hydroxy fatty acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. Applied and Environmental Microbiology, 2003, **69(12)**: 7554-7557; <https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7554-7557.2003>
67. S o l t a n i S., Hammami R., Cotter P.D., Rebuffat S., Said L.B., Gaudreau H., Bédard F., Biron E., Drider D., Fliss I.: Bacteriocins as a new generation of antimicrobials: toxicity aspects and regulations. FEMS Microbiology Reviews, 2021, **45**, fuaa039; <https://10.1093/femsre/fuua039>
68. S o s n o w s k a D.: Grzyby pasożytnicze i antagonistyczne w biologicznej ochronie roślin w Polsce. Progress in Plant Protection, 2019, **59(4)**: 223-231; <https://10.14199/ppp-2019-029>
69. S o u z a J.L.S., da Silva A.F., Carvalho P.H.A., Pacheco B.S., Pereira C.M.P., Lund R.G.: Aliphatic fatty acids and esters: Inhibition of growth and exoenzyme production of *Candida*, and their cytotoxicity in vitro Anti-*Candida* effect and cytotoxicity of fatty acids and esters. Archives of Oral Biology, 2014, **59(9)**: 880-886; <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.05.017>
70. S u t e r s k a A.M., Zielińska K.J., Grzybowski R.A., Stecka K.M., Miecznikowski A.H., Kupryś M.P.: Wpływ wybranych szczepów z rodzaju *Lactobacillus* na ograniczenie skażenia pleśniami i ochratoksyną A kiszzonek z runi łąkowej. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 2009, **53(4)**: 125-129.
71. S z a f r a ń s k a J.O.: Bacteriocyny – naturalne konserwanty żywności. Nauki Przyrodnicze, 2018, **4(22)**: 89-97.

72. S z a f r a ń s k a J.O., Polak-Berecka M.: Plantarycyny – biosynteza, mechanizm działania i potencjał w zapewnianiu bezpieczeństwa żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2020, **27(2)**: 38-49; <https://10.15193/zntj/2020/123/333>
73. T o d o r o v S.D., de Melo Franco B.D.G.: *Lactobacillus plantarum*: characterization of the species and application in food production. *Food Reviews International*, 2010, **26(3)**: 205-229
74. T r z e c i a k M., Wolna-Maruwka A., Kosicka D.: Wpływ preparatów probiotycznych na stan zdrowia i cechy hodowlane zwierząt. *Kosmos*, 2016, **65(1)**: 57-67.
75. U r b a ń s k a M., Szajewska H.: The efficacy of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in infants and children: a review of the current evidence. *European Journal of Pediatrics*, 2014, **173**: 1327-1337; <https://10.1007/s00431-014-2328-0>
76. V o l l e n w e i d e r S., Lacroix C.: 3-Hydroxypropionaldehyde: applications and perspectives of biotechnological production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, **64**: 16-27; <https://10.1007/s00253-003-1497-y>
77. W a g n e r N., Tran Q.H., Richter H., Selzer P.M., Unden G.: Pyruvate fermentation by *Oenococcus oeni* and *Leuconostoc mesenteroides* and role of pyruvate dehydrogenase in anaerobic fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71(9)**: 4966-4971.
78. W e i C., Yu L., Qiao N., Wang S., Tian F., Zhao J., Zhang H., Zhai Q., Chen W.: The characteristics of patulin detoxification by *Lactobacillus plantarum* 13M5. *Food and Chemical Toxicology*, 2020, **146**, 111787; <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111787>
79. W r ó b e l B.: Ocena efektywności stosowania dodatków biologicznych w procesie zakiszania runi łąkowej. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 2012, **57(4)**: 193-198.
80. Y a n a g i d a F., Chen Y.S., Yasaki M.: Isolation and characterization of lactic acid bacteria from lakes. *Journal of Basic Microbiology*, 2007, **47(2)**: 184-190; <https://10.1002/jobm.200610237>
81. Z a n n i n i E., Waters D.M., Coffey A., Arendt E.K.: Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, **100**: 1121-1135; <https://10.1007/s00253-015-7172-2>
82. Z h a n g L., Zhang C., Song M., Dang D., Zhao J., Zhang L., Fu T.: Characterization of *Lactobacillus rhamnosus* GG and its effects on improving the fermentation quality of silages as a novel inoculant. *Animal Feed Science and Technology*, 2023, **304**, 115724; <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2023.115724>
83. Z i e l i ń s k a K., Fabiaszewska A., Stecka K., Wróbel B.: Rola bakterii fermentacji mlekowej w poprawie jakości mikrobiologicznej kiszonek z runi łąkowej w gospodarstwach ekologicznych. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*, 2013, **13(1)**: 171-182.

BAKTERIE KWASU MLEKOWEGO I ICH ZASTOSOWANIE W ROLNICTWIE

Streszczenie

Słowa kluczowe: bakterie kwasu mlekowego, preparaty mikrobiologiczne, *Lactobacteriaceae*, kwas mlekowy

Bakterie kwasu mlekowego (LAB, ang. *Lactic Acid Bacteria*) to grupa drobnoustrojów zdolnych do beztlenowej fermentacji mlekowej. Należą do rodziny *Lactobacteriaceae*: do ziarniaków z rodzajów: *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella*, *Vagococcus* oraz do pałeczek z rodzajów: *Lactobacillus*, *Carnobacterium* i *Bifidobacterium*. Od wieków bakterie LAB wykorzystywane są w procesie fermentacji żywności, ale znalazły swoje zastosowanie również w innych dziedzinach gospodarki. Posiadają status GRAS (ang. *Generally Recognised As Safe*), czyli powszechnie są uznawane za bezpieczne do stosowania przez ludzi. Bakterie kwasu mlekowego należą do mikroorganizmów wytwarzających szereg związków chemicznych mających znaczenie jako substancje przeciwdrobnoustrojowe. Głównym produktem fermentacji jest kwas mlekowy, który powoduje obniżenie pH podłoża, co stwarza warunki niekorzystne dla rozwoju patogennych drobnoustrojów. Bakterie kwasu mlekowego wykorzystuje się w rolnictwie do wytwarzania nawozowych produktów mikrobiologicznych wspomagających wzrost i rozwój roślin. Chronią rośliny przed rozwojem mikroorganizmów patogennych i mogą być stosowane jako profilaktyka zakażeń. Stosuje się je także w procesie kiszenia pasz oraz jako probiotyki w hodowli zwierząt.

LACTIC ACID BACTERIA AND THEIR USE IN AGRICULTURE

Summary

Keywords: Lactic acid bacteria, microbiological preparations, *Lactobacteriaceae*, lactic acid

Lactic acid bacteria are a group of microorganisms capable of anaerobic lactic acid fermentation. They belong to the family *Lactobacteriaceae*: the cocci of the genus *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella*, *Vagococcus* and the bacilli of the genus *Lactobacillus*, *Carnobacterium* and *Bifidobacterium*. LAB bacteria have been used in food fermentation for centuries, but have also found their way into other areas of

the economy. They have GRAS (Generally Recognized As Safe) status, meaning they are generally considered safe for human use. Lactic acid bacteria are among the microorganisms that produce a number of chemical compounds of importance as antimicrobial substances. The main product of fermentation is lactic acid, which lowers the pH of the substrate, creating unfavorable conditions for the development of pathogenic microorganisms. Lactic acid bacteria are used in agriculture to produce fertilizing microbiological products that support plant growth and development. They protect plants against the growth of pathogenic microorganisms and can be used as a prophylaxis against infections. They are also used in the process of ensiling feed and as probiotics in animal husbandry.



Agata Janczarek

**VIII. GRZYBY MYKORYZOWE, GRZYBY
ENDOFITYCZNE I GRZYBY
ENTOMOPATOGENICZNE JAKO SKŁADNIK
PREPARATÓW MIKROBIOLOGICZNYCH
STOSOWANYCH W ROLNICTWIE**

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
tel. (0-81) 4786960
e-mail: ajanczarek@iung.pulawy.pl

1. WSTĘP

Grzyby są królestwem zaliczanym do eukariantów, wykazującym szereg różnic morfologicznych oraz ekologicznych. Szacuje się, że wśród grzybów wyróżnia się od 1,5 do 7,1 miliona gatunków, z czego około 60 000 zostało już opisane. Wysoka liczebność grzybów odzwierciedla ich różnorodność. Zalicza się tu jednokomórkowe organizmy jak drożdże czy wielokomórkowe organizmy, jak grzyby strzępkowe, w tym grzyby makroskopowe tworzące owocniki. Grzyby zasiedlają większość środowisk, chociaż głównie są to ekosystemy lądowe. Biorą udział w obiegu składników odżywczych. Mogą być patogenami, pasożytami lub symbiontami innych organizmów. Badacze coraz częściej podejmują się wykorzystywania grzybów jako potencjalnych czynników biokontroli. Przeprowadzane dotychczas eksperymenty dotyczą grzybów mykoryzowych, endofitycznych oraz entomopatogenicznych, głównie ze względu na możliwość skutecznego zwalczania patogenów i szkodników roślinnych oraz pozytywne działanie na samą roślinę.

2. GRZYBY MYKORYZOWE

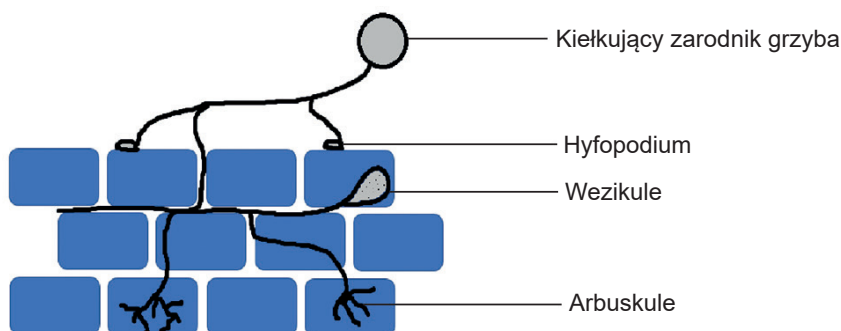
Słowo mykoryza zostało po raz pierwszy użyte w 1885 roku przez niemieckiego badacza A.B. Franka (Zydlik 2013, Nath i Meena 2018). Pochodzi od greckich słów „*mycos*”, czyli grzyb i „*rhiza*”, czyli korzenie (Krupa 2010, Nath i Meena 2018, Santoyo i in. 2021). Mykoryza jest zatem silnym związkiem symbiotycznym między grzybami żyjącymi w glebie a korzeniami roślin (Dighton 2009, Nath i Meena 2018, Bertini i Azevedo 2022). Powstająca dzięki mykoryzie struktura umożliwia czerpanie korzyści obu partnerom, stąd ich związek ma charakter mutualistyczny (Krupa 2010, Poonam i in. 2014, Nath i Meena 2018). Wyróżniamy cztery typy mykoryzy: zewnętrzną (ektomykoryzę), wewnętrzną (endomikoryzę), ektendomykoryzę oraz mykoryzę perytroficzną (Krupa 2010, Poonam i in. 2014).

Ektomykoryza tworzona jest przez grzyby należące do rodzajów *Basidiomycotina*, *Ascomycotina* i niektóre *Zygomycotina*. Większość z nich to pospolite grzyby leśne (np. *Russula*, *Hebeloma*, *Cortinarius*, *Lactarius*, *Laccaria*, *Amanita* i *Lycoperdon*) oraz trufle (np. *Tuber*) (Dighton 2009, Domínguez-Núñez i Albanesi 2020). Występują głównie w chłodniejszych regionach i ekosystemach o niskiej różnorodności gatunkowej gospodarzy, np. w lasach strefy umiarkowanej i borealnej (Brundrett 2009, Gorzelak i in. 2015). Znajdziemy ją u roślin okrytozalążkowych i nagolazążkowych (Krupa 2010), głównie wśród drzew, takich jak: sosna, dąb i buk (Kuyper i Suz 2023). Strzępki grzybów ektomykoryzowych tworzą płaszcz osłonkowy (mufkę) w postaci luźnego splotu lub ustrukturyzowanej wielopoziomowej warstwy komórek nazywanych tkanką pseudoparenchymatyczną. Płaszcz osłonkowy transportuje wodę do gospodarza roślinnego. Strzępki tworzą również strukturę nazywaną siecią Hartiga, która u roślin okrytonasiennych rozwija się wokół komórek naskórka,

z kolei u roślin nagonasiennych – wokół komórek naskórka i kory. Warstwa ta przenika w kierunku endodermis i transportuje składniki odżywcze do obu partnerów (Dighton 2009, Domínguez-Núñez i Albanesi 2020, Mishra i in. 2023).

Relacja między grzybami ektomykoryzowymi a rośliną może mieć różny charakter. Mykoryza obligatoryjna jest niezbędna roślinom do przetrwania i osiągnięcia dojrzałości rozrodczej. Gatunkami obligatoryjnymi są: sosna zwyczajna, dąb szypułkowy, świerk pospolity i buk zwyczajny. Gatunkami fakultatywnymi są: olsza czarna, brzoza brodawkowata i wierzba. Powstanie mykoryzy fakultatywnej zależy od warunków środowiska, szczególnie od warunków glebowych. Rośliny niemykoryzowe to takie, których korzenie hamują kolonizację przez grzyby mykoryzowe, przynajmniej gdy są młode i zdrowe. Rzadko do roślin niemykoryzowych zalicza się drzewa. Włącza się do nich rośliny rolnicze i ogrodnicze należące do rodzin: Chenopodiaceae, Amaranthaceae, Caryophyllaceae, Polygonaceae, Brassicaceae, Scrophulariaceae, Comelinaceae, Juncaceae i Cyperaceae (Brundrett i in. 1996, Grzywacz 2007, Krupa 2010, Jas i Małolepsza 2017, Łaska i in. 2017).

Endomykoryza nazywana jest mykoryzą wewnętrzną lub mykoryzą abuskularną, dawniej nazywana także mykoryzą pęcherzykowo-albuskularną (Szabla i Pabian 2003, Lack i Evans 2003, Ghosh i Panja 2021). Grzyby endomykoryzowe dominują w ciepłym klimacie i ekosystemach bogatych w różne gatunki roślin, takich jak lasy tropikalne (Figueiredo i in. 2021). Mykoryza abuskularna często opisywana jest wśród roślin uprawnych (Velmourougane i in. 2017), w tym warzyw oraz roślin ogrodniczych. Szacuje się, że rośliny wchodzące w relacje symbiotyczne z grzybami mykoryzy arbuskularnej stanowią ponad 70% roślin lądowych (Akhtar i Abdullah 2014, Emmanuel i Babalola 2020). Powszechnymi rodzajami grzybów tworzącymi mykoryzę albuskularną są: *Acaulospora*, *Glomus*, *Gigaspora*, *Entrophospora* i *Scutellospora* (Kaur i Garg 2022). Przytwierdzenie grzyba mykoryzowego do powierzchni epidermy korzenia rośliny jest możliwe dzięki wytwarzanym przez zarodnik hyfopodium (Jas i Małolepsza 2017). W skutek mikoryzy arbuskularnej powstają wewnątrzkomórkowe arbuskuły lub zwoje strzępek w komórkach kory korzenia, strzępki międzykomórkowe w korze oraz rozciągająca się w glebie grzybnia. Arbuskule oraz zwoje strzępek są aktywne przez około 7 dni i odpowiedzialne za wymianę substancji odżywczych z gospodarzem roślinnym. Niektóre endomykoryzowe grzyby są zdolne do wytwarzania pęcherzyków nazywanych wezikulami. Powstają w komórkach kory korzenia lub pomiędzy nimi. Jako organy bogate w lipidy pełnią funkcje magazynujące (rys. 1) (Sullia 1991, Begum i in. 2019, Dey i Ghosh 2022, Gabardii in. 2022, Marschner 2022).



Rys. 1. Droga wnikania strzępek grzyba mykoryzowego do wnętrza korzenia rośliny (opracowanie własne na podstawie Jas i Małolepsza 2017, Gabardi i in. 2022)

Ektendomykoryza charakteryzuje się występowaniem struktur charakterystycznych dla ektomykoryzy oraz endomykoryzy. Grzyby wytwarzają płaszcz osłonkowy, międzykomórkową sieć Hartiga oraz strzępki wnikające do wnętrza komórek. Większość symbioz ektendomykoryzowych jest determinowana przez grzyby *Ascomycetes* z rodzaju *Wilcoxina* oraz przez przedstawicieli z rzędów Pezizales i Leotiales. Gospodarzami roślinnymi tych grzybów są najczęściej *Ericaceae*, *Pinaceae* i *Monotropaceae* (tab. 1) (Szabla i Pabian 2003, Krupa 2010, Gabardi i in. 2022).

W mykoryzie perytroficznej grzyby rosną na powierzchni roślin lub w strefie przykorzeniowej. Nie obserwuje się jednak więzi anatomicznej pomiędzy partnerami. Ten typ symbiozy dzięki wydzielanym przez grzyby substancjom, zmienia skład chemiczny gleby, co oddziałuje na strefę przykorzeniową roślin. Stąd często pełnią rolę buforów glebowego pH (Mańka 2005, Krupa 2010, Hołubowicz-Kliza i Niedźwiecki 2021).

Grzyby mykoryzowe rzadko są specyficzne wyłącznie dla jednego gospodarza, co oznacza, że jeden gatunek grzyba mykoryzowego jest w stanie skolonizować kilka gatunków roślin. Po kolonizacji grzybnia jest w stanie rosnąć na duże odległości w glebie, przez co może zasiedlać korzenie roślin sąsiednich tego samego lub różnych gatunków. Rośliny te stają się połączone przez tzw. wspólną sieć mykoryzową (CMN, ang. *Common Mycorrhizal Networks*) (Figueiredo i in. 2021), która uważana jest za podstawowy składnik ekosystemu lądowego. Czynniki, takie jak: żyzność gleby, dostępność zasobów, genotyp żywiciela lub mykosymbionta, zmienność sezonowa, decydują o powstawaniu i charakterze sieci. CMN umożliwia transport fosforu oraz azotu na duże odległości przez ekosystemy glebowe i wymianę sygnałów między połączonymi roślinami. Sieć tworzą rośliny autotroficzne, myko-heterotrofy oraz częściowe myko-heterotrofy. Te połączenia zwiększają szansę na przetrwanie i wzrost, co daje różnorodnej gatunkowo grupie wspólną stabilność w zmieniających się warunkach środowiska (Simard i in. 2012, Bücking i in. 2016, Begum i in. 2019).

Tabela 1

Porównanie ektomykoryzy, endomykoryzy oraz ektendomykoryzy ze względu na sposób kolonizacji, charakterystyczne struktury, środowisko występowania oraz gospodarzy (opracowanie własne)

Wyszczególnienie	Ektomykoryza	Endomykoryza (mykoryza arbuskularna)	Ektendomykoryza (mykoryza erikoidalna)	Literatura
Sposób kolonizacji	kolonizacja pozakomórkowa	kolonizacja wewnątrzkomórkowa	kolonizacja zewnątrzkomórkowa oraz wewnątrzkomórkowa	Mańka 2005, Dighton 2009, Taylor i in. 2009, Sumorok i in. 2009, Krupa 2010, Marschner 2012, Boeraeve i in. 2022
Charakterystyczne struktury	plaszcz osłonkowy; sieć Hartiga	arbuskuły; wesikuły	plaszcz osłonkowy; sieć Hartiga; strzępki; wewnątrzkomórkowe	
Środowisko	przeważa w chłodniejszym klimacie, np. w lasach strefy umiarkowanej i borealnej	dominuje w ciepłym klimacie, np. lasy tropikalne	torfowiska i wrzosowiska	
Gospodarz rośliny	głównie <i>Pinaceae</i> , <i>Betulaceae</i> , <i>Fagaceae</i> , <i>Salicaceae</i>	krzewy i rośliny liściaste	<i>Ericaceae</i> , <i>Pinaceae</i> i <i>Monotropaceae</i>	
Gospodarz grzybowy	<i>Basidiomycota</i> , <i>Ascomycota</i> i niektóre <i>Zygomycota</i>	<i>Glomeromycota</i>	<i>Ascomycetes</i>	

2.1. WYKORZYTANIE GRZYBÓW MYKORYZOWYCH W PRAKTYKACH ROLNICZYCH

Coraz większe zainteresowanie zrównoważonym rozwojem systemów produkcji warzyw prowadzi do ograniczenia stosowania chemicznych środków ochrony roślin z jednoczesnym uzyskaniem wysokiej jakości upraw (Abdul-Baki i in. 1996). W tym celu opracowuje się biopreparaty, których składnikami są żywe organizmy lub produkty ich metabolizmu. Poszukuje się mikroorganizmów wywierający korzystny wpływ na uprawy (Guo i in. 2020, Toader i in. 2020). Preparaty na bazie grzybów mykoryzowych dostępne są w postaci stałej (proszku lub granulatu) oraz płynnej, przy czym dominującą formą jest proszek. Inokulanty można stosować dogłębowo, z zaprawionymi nasionami, jednocześnie z nawozami mineralnymi lub zastosować dowolny spośród wymienionych sposobów aplikacji. Skutecz-

ność komercyjnych inokulantów grzybów mykoryzowych uzależniona jest od jakości i ilości inokulantów, zgodności z właściwościami gleby, gatunków uprawianych roślin, rodzimych społeczności drobnoustrojów, czynników środowiskowych i praktyk zarządzania żyznością gleby rodzimej (Basiru i in. 2021).

Stosuje się dwie techniczne metody wykorzystania grzybów mykoryzy arbuskularnej w praktykach rolniczych. Podejście redukcjonistyczne, zwane kontrolowaną mykoryzacją rozpoczyna się od selekcji potencjalnych symbiontów grzybowych, której dokonuje się na podstawie przystosowania do specyficznych warunków środowiska oraz uprawianej rośliny docelowej. Następnie inokuluje się glebę uprawną i obserwuje reakcję rośliny-gospodarza. Do oceny skuteczności używa się wskaźników, takich jak: odżywianie mineralne roślin, zdrowie roślin oraz fizjologia stresu roślinnego. W podejściu holistycznym dokonuje się mieszania gatunków roślin w systemie upraw, rotacji rośliny strączkowe/zboża oraz uprawy międzyplonowej rośliny strączkowej i zbóż. Przeprowadza się zwiększenie infekcyjności mykoryzowej gleby, co daje zachowanie lub przywrócenie usług ekosystemowych zależnych od grzybów mykoryzy arbuskularnej (Nasslahsen i in. 2022).

Działalność grzybów mykoryzowych jest wspomagana przez MHB (ang. *Mycorrhizae helper bacteria*). Do MHB zalicza się bakterie związane z korzeniami i grzybami mykoryzowymi selektywnie promujące rozwój symbiozy mykoryzowej albo bakterie promujące interakcje korzeń-grzyb mykoryzowy. Dzieli się je na dwie grupy: Gram-ujemne *Proteobacteria* oraz Gram-dodatnie *Firmicutes* i *Actinobacteria* (tab. 2). Podstawą do rozróżniania tych bakterii jest różna lokalizacja wokół systemów korzeniowych. MHB promujące mykoryzę arbuskularną znajdziemy w ścianach i cytoplazmie zarodników. Czynnikiemami wpływającymi na kolonizację grzybów przez MHB są: skład mikrobiomu glebowego, struktura gleby, konkurencja o składniki odżywcze, stropy biotyczne i abiotyczne, specyficzność relacji między bakteriami a grzybami mykoryzowymi oraz między gatunkami i szczepami, a także z korzeniami roślin. Trwają badania nad wpływem MHB na kiełkowanie zarodników, wzrost grzybni, kolonizację korzeni, różnorodność metaboliczną i biokontrolę chorób przenoszonych przez glebę. Poznana została rola MHB w wytwarzaniu czynników wspomagających wzrost roślin, dzięki czemu wykazano, że zwiększają dostępność składników odżywczych w glebie i ich pobieranie przez roślinę (Rigamonte i in. 2010, Nasslahsen i in. 2022, Sangwan i Prasanna 2022, Shi i in. 2023). *Paenibacillus favisporus* i *Paenibacillus rhisopherae* są bakteryjnym symbiontem grzyba *Glomus intraradices* wchodzącego w mykoryzę z *Solanum lycopersicum*. Udowodniono pozytywny wpływ bakterii na promowanie wzrostu korzenia, wzrost biomasy oraz produkcję IAA (Bidondo i in. 2011). Symbiontem grzyba *Gigaspora margarita* okazały się bakterie *Bacillus* sp. Gospodarzami roślinnymi są lucerna siewna (*Medicago sativa*), sorgo zwyczajne (*Sorghum bicolor*) i kukurydza (*Zea mays*). Zaobserwowano, że MHB wpływają na kiełkowanie zarodników, poprawę wzrostu strzępek, solubilizację zdegradowanej chityny, świeżą i suchą masę liści oraz świeżą masę korzeni (Long i in. 2017).

Tabela 2

Podział bakterii wspomagających mykoryzę (MHB)
(Frey-Klett i in. 2007, Nasslahsen i in. 2022)

MHB		
Gram-ujemne	Gram-dodatnie	
<i>Proteobacteria</i>	<i>Firmicutes</i>	<i>Actinobacteria</i>
<i>Agrobacterium</i> , <i>Azospirillum</i> , <i>Azotobacter</i> , <i>Burkholderia</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Rhizobium</i>	<i>Bacillus</i> , <i>Brevibacillus</i> , <i>Paenibacillus</i>	<i>Rhodococcus</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Arthrobacter</i>

2.2. ZNACZENIE INTERAKCJI GRZYB MYKORYZOWY–ROŚLINA

Rośliny rosnące w niesprzyjających warunkach wykazują ograniczony wzrost oraz zaburzony metabolizm, wynikające z ograniczenia pobierania makro- i mikroelementów, co przekłada się na spadek prawdopodobieństwa przetrwania populacji (Riaz i in. 2021). Wśród roślin wchodzących w relacje z grzybami mykoryzowymi obserwuje się zwiększoną odporność na wpływ niekorzystnych czynników zewnętrznych, m.in. podwyższonego stężenia metali ciężkich w glebie (Krupa 2010). Stopień zanieczyszczenia gleby zależy od rodzaju metali ciężkich, izolatu grzyba oraz gatunku rośliny. Złagodzenie toksyczności metali ciężkich zachodzi poprzez zwiększoną akumulację w roślinach. Akumulowane są m.in. cynk (Zn), kadm (Cd), arsen (As) i selen (Se). Wyższą zawartość metali ciężkich stwierdza się w korzeniach mykoryzowych, gdzie gromadzone są głównie w wewnątrzkomórkowych strukturach grzybów. Proces immobilizacji metali ciężkich w korzeniach roślin nazywa się fitostabilizacją. Grzyby mykoryzowe mogą ograniczać transport metali ciężkich do gospodarza roślinnego poprzez unieruchomienie ich w grzybni zewnątrzkomórkowej. Ponadto zabiegi mykoryzowe wpływają na rozwój glebowy, zmieniając stopień rozpuszczalności metali ciężkich. Grzyby mykoryzowe łagodzą wpływ stresu metalicznego na rośliny poprzez stymulowanie ich odporności, zmianę toksyczności metali ciężkich oraz promowanie wzrostu roślin (Ferrol i in 2016, Kumar i Saxena 2019, Dahalaria i in. 2020, Riaz i in. 2021). Badania przeprowadzone przez Gonzales-Chavez i in. (2002) potwierdziły zdolność do gromadzenia miedzi (Cu) w grzybni zewnątrzkomórkowej przez grzyby z rodzaju *Glomus*. Do akumulowania Cu dochodzi w zewnętrznych ścianach strzępek, ścianie komórkowej strzępek i wewnątrz cytoplazmy strzępek. Na podstawie innych badań przeprowadzonych przez Turnau i Haselwandter (2002) określono, że około

70% korzeni *Fragaria vesca* w glebie zanieczyszczonej Zn zostało skolonizowanych przez *Funneli formismosseae*. Z kolei w badaniach przeprowadzonych przez Pirsarandib i in. (2022) stwierdzono, że zwiększenie zawartości Pb i Ni w glebie zmniejsza kolonizację korzeni przez grzyby mykoryzy arbuskularnej. Mimo to odnotowano poprawę wzrostu oraz cech morfologicznych roślin mykoryzowych rosnących w zanieczyszczonej glebie w porównaniu z roślinami niemykoryzowymi rosnącymi w zanieczyszczonej glebie.

Arbuskularne grzyby mykoryzowe mogą ochronić roślinę przed negatywnym działaniem suszy. Dzięki tworzonej przez nie symbiozie, potrafią zwiększyć wymianę gazową, stosunek wody w liściach, przewodnictwo w aparatach szparkowych oraz szybkość transpiracji (Morte i in. 2000, Mena-Violante i in. 2006). Utrzymują integralność błony komórkowej, poprawiają pobór składników odżywczych i wody, chronią aparat fotosyntetyczny przed stresem oksydacyjnym wywołanym suszą. Poprawiają wydajność fotosyntezy, pozwalają na akumulację hormonów, osmolitów i fenoli, a także zmniejszają gromadzenie reaktywnych form tlenu (ROS) poprzez zwiększenie aktywności antyoksydacyjnej i ekspresji genów (Tang i in. 2022). Ponadto w natychmiastowych warunkach suszy poprawiają wielkość i wydajność systemu korzeniowego, wskaźnik powierzchni liści oraz biomasę (Al-Karak i in. 2004, Gholamhoseini i in. 2013). Li i in. (2019) ocenili wpływ grzybów mykoryzy arbuskularnej na łagodzenie stresu wywołanego suszą u traw C3 (*Leymus chinensis*) i C4 (*Hemarthria altissima*). Otrzymane wyniki sugerują różnice w fizjologicznej odpowiedzi na stres wodny między podanymi roślinami. Ponadto wykazano, że grzyby mykoryzy arbuskularnej są ważniejsze w odporności na stres wodny u *L. chinensis* (roślina C3) niż u *H. altissima* (roślina C4). Rośliny typu C4 efektywnie pobierają wodę i azot oraz wykazują większą adaptację do deficytu wody, co wiąże się z większą odpornością na suszę w porównaniu z roślinami typu C3. Z kolei Lehnert i in. (2018) przeprowadzili fenotypowanie 94 gatunków pszenicy (*Triticumaestivum* L.) w warunkach suszy i dobrego nawodnienia oraz w obecności i bez mykoryz. Ocenie poddawano plon ziarna, składniki plonu, cechy wynikające z wystąpienia suszy i odpowiedź na mykoryzę. Równocześnie przeprowadzono genotypowanie, którego wyniki wykorzystano do badań asocjacyjnych całego genomu. Badania pozwoliły na zaobserwowanie poprawy tolerancji na stres suszy przez pszenicę inokulowaną grzybami mykoryzowymi. Ponadto potwierdzono obecność regionów QTL (ang. *Quantitative Trait Loci*) skorelowanych z odpowiedzią na stres suszy w obecności mykoryzy.

Zasolenie gleby jest jednym z największych problemów wpływających na wydajność rolnictwa. Dostępne raporty wskazują, że uprawianie roślin na glebach zasolonych prowadzi do stresu osmotycznego, pogorszenia fizycznych warunków gleby, zaburzenia odżywiania i toksyczności oraz zmniejszonych plonów (Etesami i Noori 2019). W związku z tym poszukuje się sposobów na zwiększenie produkcji roślinnej w glebach zasolonych. Jednym z nich jest wykorzystanie mykoryzy arbu-

skularnej (Santander i in. 2019). Ait-El-Mokhtar i in. (2019) przeprowadzili badania oceniające wpływ zasolenia środowiska na *Phoenix dactylifera* L. inokulowanego grzybami mykoryzy arbuskularnej. Kolonizacja korzeni przez grzyby pozwoliła złagodzić zmniejszenie zawartości K, P i Ca. Poprawiły się stosunki Ca:Na i K:Na. Wywarło to również korzystny wpływ na szybkość fotosyntezy, przewodnictwo aparatów szparkowych i stosunki wody w liściach rośliny.

Czynnikiem wpływającym na wydajność rolnictwa jest również temperatura. Jej wahania oddziałują negatywnie na procesy fizjologiczne roślin, szczególnie fotosyntezę, transpirację, oddychanie i wydawanie plonów (Parthasarathi i in. 2022). Mykoryza arbuskularna wspomaga wzrost roślin w warunkach zbyt niskiej oraz zbyt wysokiej temperatury w porównaniu z roślinami, które nie wchodzą w ten typ reakcji symbiotycznej (Begum i in. 2019). Gavito i in. (2005) oceniali wpływ trzech izolatów grzybów mykoryzowych: *G. intraradices*-DC1, *G. proliferum*-DC2 oraz *G. cerebriforme*-DC2, na rośliny w warunkach szoku temperaturowego. Uzyskane dane pozwoliły na określenie, że niskie temperatury (<15°C) negatywnie wpływają na rozwój trzech izolatów. Wysoka temperatura (>24°C) negatywnie wpływa na jeden izolat. Zaobserwowano, że gospodarz roślinny w towarzystwie grzybów mykoryzowych wykazywał bezpośrednie i pośrednie odpowiedzi na zmiany temperatury, niezależnie od stanu fizjologicznego lub morfologicznego. Określono również, że do mechanizmów odpowiedzi grzybów mykoryzowych na niestandardowe temperatury należy zmniejszone przemieszczanie się C do odległych strzępek pozakomórkowych.

Grzyby endomykoryzowe oraz ektomykoryzowe wykształciły różne metody ochrony korzeni roślin przed patogenami (Krupa 2010, Felföldi i in. 2022). Konkuruje z mikroorganizmami chorobotwórczymi o składniki odżywcze produkowane przez rośliny i miejsca kolonizacji w korzeniach. Stymulują roślinę do produkcji i wydzielania związków o charakterze obronnym, takich jak: fitooleksyny, fenole, kwas szczawiooctowy i inne. Produkują biobójcze dla patogenów antybiotyki (Krupa 2010, Sikes 2010, Dey i Ghosh 2022, Goiceochea 2020). Grzyby ektomykoryzowe tworzą z roślinami mufkę, która zabezpiecza korzeń przed infekcją powodowaną przez patogeny, np. *Phytophthora guercina* atakująca korzenie dębu (w szczególności *Quercus robur*) (Rudawska 2000, Krupa 2010). Wśród drobnoustrojów, przed którymi rośliny są chronione przez grzyby endomykoryzowe znajdują się *Fusarium oxysporum* (atakujące truskawkę, ogórki, ciecierzycę), *Armillari amellea* – winorośl, *Phytophthora parasitica* – pomidora, *Aphanomyces euteiches* – groch lub *Rhizoctonia solani* – fasolę (Goiceochea 2020).

3. GRZYBY ENDOFITYCZNE

Grzyby, które odbywają swój cykl życiowy lub jego część wewnątrz tkanek roślinnych bez wywoływania objawów chorobowych w gospodarzach nazywane są endofitami (z greckiego: *endo* – wewnątrz i *phytos* – roślina). Pojęcie to zostało po

raz pierwszy wprowadzone przez de Bary'ego. Dzięki niemu odróżniano endofity od epifitów, czyli mikroorganizmów występujących na powierzchni roślin (Kowalski i Sadłowski 1993, Aly i in. 2013, Mikołajczak i in. 2019). „Typem dzikim” nazywa się endofity naturalnie występujące w przyrodzie. Cechują się zdolnością do negatywnego oraz pozytywnego oddziaływania. Producenci preparatów mikrobiologicznych dążą do uzyskania największych korzyści wynikających z wykorzystania endofitów jako czynników kontroli biologicznej. Wyeliminowanie negatywnych skutków mogących wynikać ze stosowania tych mikroorganizmów stało się głównym zadaniem. W związku z tym prowadzone są prace nad wyselekcjonowaniem genotypów o pożądanym cechach. Mimo dużego potencjału komercjalizacja endofitów zostaje ograniczona przez długotrwałe procesy rejestracyjne (Koczwara i in. 2015).

Do cech charakterystycznych endofitów grzybowych należy wysoka bioróżnorodność. Ten sam gatunek rośliny może być zasiedlany przez różne grzyby, co zależy od takich czynników, jak warunki środowiskowe oraz wiek gospodarza. Endofity występują w różnych siedliskach – środowiskach arktycznych, gorących pustyniach oraz lasach namorzynowych, tropikalnych i umiarkowanych. Chadha i in. (2015) oraz Lugtenberg i in. (2016) podali, że poznanie ich różnorodności i rozmieszczenia na dużych obszarach geograficznych pozostaje na wczesnym etapie i można potwierdzić tylko niektóre informacje – obserwuje się wysoką różnorodność grzybów endofitycznych w tropikach w porównaniu z wyższymi szerokościami geograficznymi. Grzyby endofityczne najczęściej zaliczane są gromady Ascomycota, głównie do klas Sordariomycetes i Dothideomycetes. Tworzą interakcje z rośliną o charakterze mutualistycznym, zasiedlając komórki roślin oraz przestrzenie międzykomórkowe. Według Fesel i Zuccaro (2016) definicja endofitów nie odnosi się wyłącznie do ich funkcji i mikroorganizmy te oprócz symbiontów komensalistycznych mogą być patogenami lub saprotrofami. Wykazują genetyczne podobieństwo do patogenów, co pozwala im na stymulację odporności roślin. Do ich transmisji dochodzi w sposób pionowy – z rodziców na potomstwo lub poziomy – między dwoma osobnikami. W ciele gospodarza jednocześnie może znajdować się wiele mikroorganizmów endofitycznych. Większość współczesnych badań wskazuje na znaczenie tych mikroorganizmów w przetrwaniu niekorzystnych warunków środowiskowych i utrzymaniu zdrowia roślin (Hartley i Gange 2009, Hodgson i in. 2014, Koczwara i in. 2015, Shahzad i in. 2018, Baron i Rigobelo 2021).

Ze względu na ekologię grzyby endofityczne dzieli się na dwie grupy oraz IV klasy. Pierwsza grupa to Clavicipitaceous (C) do której zalicza się klasę I. Należą tu grzyby, tj.: *Balansia* spp., *Acremonium coenophialum*, *Epichloe* spp., *Neotyphodium coenophialum* i *Epichloe festucae*. Rośliny żywicielskie zalicza się do rodziny *Hypocreales* (trawy i turzycy). Druga grupa to Non-Clavicipitaceous (NC-endofity), do której należą pozostałe klasy (II, III i IV). Specyficznymi endofitami grzybowymi są: *Fusarium culmorum*, *T. diccocooides*, *Curvularia protuberate*, *Colletotrichum* spp. i *A. sharonensis*, natomiast żywicielami rośliny nienaczyniowe, paprocie i drzewa iglaste (Abramczyk i Gałązka 2016, Burragoni i Jeon 2021, Adeleke i in. 2022).

3.1. INTERAKCJA GRZYB ENDOFITYCZNY–PATOGEN

Do mechanizmów obronnych wykazywanych przez grzyby endofityczne należą bezpośrednio: konkurencja, antybioza i mykopasożytnictwo oraz pośrednio indukcja odporności roślin (Akram i in. 2023). Konkurencja uniemożliwia patogenom przeprowadzenie procesu kiełkowania oraz infekcji, dzięki współzawodniczeniu z czynnikami biologicznej ochrony roślin o składniki odżywcze oraz miejsce wniknięcia do organizmu gospodarza (Kordowska-Wiater 2011). Najczęściej zachodzi w połączeniu z innymi mechanizmami obronnymi. Ze względu na lokalne działanie endofitów w konkurencji konieczne jest systematyczne kolonizowanie tkanek w celu zwiększonej ochrony przed fitopatogenem (Fadiji i Babalola 2020). Wykazano, że grzyby endofityczne *Heteroconium chaetopsira* w wyniku kolonizacji korzeni roślin oleistych ograniczają objawy kiły kapusty powodowanej przez pierwotniaka *Plasmodiophora brassicae* (Lahlali i in. 2014). Antybioza to zdolność grzybów endofitycznych do wytwarzania wtórnych metabolitów, dzięki którym potrafią kontrolować patogeny roślinne (Adeleke i in. 2022). Szlaki syntezy grzybów endofitycznych i powstające dzięki nim substancje nie zostały wystarczająco scharakteryzowane (Baron i Rigobelo 2021). Dla lepszego poznania budowy chemicznej niektórych metabolitów wtórnych zaleca się przegląd Lugtenberga i in. (2016). Intensywność wytwarzania metabolitów wtórnych, w tym antybiotyków w środowisku glebowym jest ograniczona w porównaniu z czystymi kulturami *in vitro*. Korelacja ta jest związana z dostępnością składników odżywczych. Dlatego obecność metabolitów wtórnych produkowanych przez grzyby jest charakterystyczna dla nisz ekologicznych bogatych w substraty niezbędne do ich produkcji (Wojtkowiak-Gębarowska 2006). *Sclerotinia sclerotiorum* jest grzybem powodującym białą pleśń fasoli zwykłej (*Phaseolus vulgaris* L.). Przy sprzyjających warunkach dla wzrostu powoduje nawet 100% straty w plonach. Dzięki wytwarzaniu i uwalnianiu enzymów zewnątrzkomórkowych *Purpureocillium lilacinum* jest przykładem grzyba wykazującym antybiozę w stosunku do *S. Sclerotiorum* (Elsherbiny i in. 2019). Zależność grzyba pasożytniczego względem grzyba żywiciela określa się jako mykopasożytnictwo (Kim i Vujanovic 2016), które obejmuje interakcje nekrotroficzne oraz biotroficzne. Mykopasożyty biotroficzne czerpią pożywienie z żywych strzępek żywiciela, z którymi mogą żyć w zrównoważonym związku przez dłuższe etapy ich cykli życiowych. Zwykle wykazują wąski zakres żywicieli. W przeciwieństwie do biotrofów mykopasożyty nekrotroficzne są bardziej destrukcyjne i często niewyspecjalizowane. Wykazują szeroki zakres żywicieli, wśród których możemy znaleźć patogeny roślinne. Wskutek inwazji i wydzielania szkodliwych związków zabijają żywiciela, aby czerpać uwolnione składniki odżywcze. Dzięki tym właściwościom grzyby nekrotroficzne znalazły zastosowanie w biologicznym zwalczaniu chorób roślin. Interakcja hemibiotroficzna łączy cechy dwóch powyższych i polega na początkowym utrzymywaniu przy życiu żywiciela, by potem go zabić (Kemen

i Jones 2012, Wojtasik i Kulma 2016, Karlsson i in. 2017, Rajarammohan 2021). W badaniach przeprowadzonych przez Cao i in. (2009) zaobserwowano mykopasożytniczy charakter trzech grzybów wyizolowanych z *Phragmites australis*, które penetrowały i zwijały się wokół strzępek patogenów glebowych w celu degradacji cytoplazmy. Wykazano, że w proces ten były zaangażowane β -1,3-glukanazy i zewnątrzkomórkowe enzymy degradujące ścianę komórkową.

Badania wskazują, że w zwalczaniu patogenów endofity grzybowe wykorzystują połączenie co najmniej dwóch mechanizmów. W związku z przeważającą lokalną metodą kontroli obecności szkodliwych drobnoustrojów endofity muszą systematycznie kolonizować części gospodarza o podwyższonym narażeniu na atak patogenu (Fadiji i Babalola 2020). Lahlali i in. (2014) udowodnili, że kolonizacja korzeni rzepaku przez *Heteroconium chaetospora* nie była skuteczna wobec zapobiegania objawów wywoływanych przez mączniaka. Wskazuje to na ograniczenia w biokontroli spowodowane m.in. dużą liczbą mikroorganizmów wywołujących chorobę. Ponadto w badaniach Arnolda i in. (2003) zaobserwowano zredukowanie objawów *Phytophthora* sp. przez zastosowanie dolistnych mieszanin endofitów liści kakaowca, co świadczy o konkurencji jako mechanizmie obrony. Stwierdzono również wytwarzanie aktywnych metabolitów przez niektóre szczepy, co wskazuje na możliwość wystąpienia dodatkowego mechanizmu obronnego poza konkurencją.

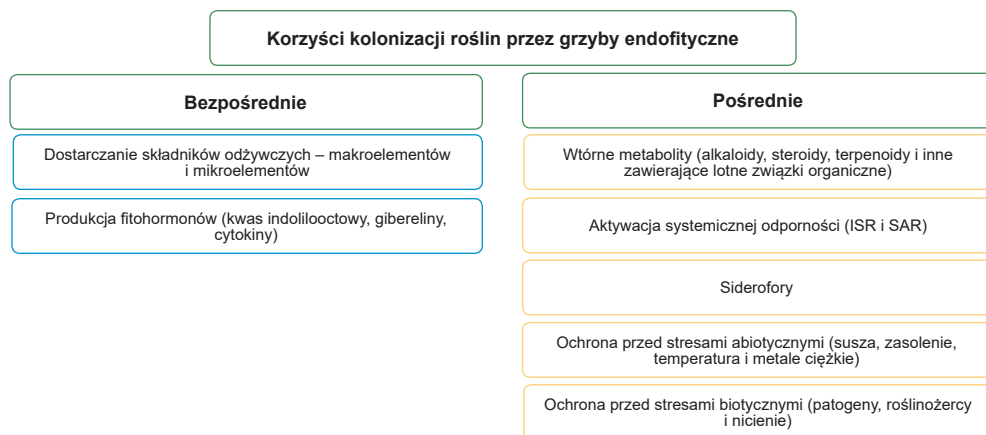
Grzyby endofityczne wykazują zdolność do indukowania odporności nabytej roślin. Odporność ta przebiega w różnych obszarach rośliny, stąd dzielimy ją na odporność lokalną (LAR, ang. *Local Acquired Resistance*) zachodzącą w komórkach otaczających miejsce infekcji oraz odporność systemiczną występującą w częściach roślinnych oddalonych od miejsca infekcji (Wojtasik i Kulma 2016). Odporność systemiczna dzieli się na trzy rodzaje, co wynika z różnic w ścieżkach regulacyjnych oraz w rodzaju elicytora, czyli związku uwalnianego przez grzyby indukującego mechanizmy odporności. Odporność ISR (ang. *Induced Systemic Resistance*), czyli Indukowana Odporność Systemiczna jest skuteczna wobec patogenów nekrotroficznych, zależy od kwasu jasmonowego oraz sygnalizacji etylenowej. SAR (ang. *Systemic Acquired Resistance*), czyli Nabyta Odporność Systemiczna jest skuteczna wobec patogenów biotroficznych i jest aktywowana przez nagromadzenie kwasu salicylowego. IR (ang. *Induced Resistance*), czyli Odporność Indukowana jest skuteczna wobec patogenów biotroficznych i nekrotroficznych. Jest ona stymulowana przez kwas β -aminomasłowy (BABA), a rolę cząsteczki sygnalizacyjnej pełni kwas abscysynowy (ABA) (Choudhary i in. 2007, Jaroszuk-Ściśel i Kurek 2012, Hartman i in. 2016, Nowak i in. 2022, Tyśkiewicz i in. 2022, Regliński i in. 2023).

3.2. INTERAKCJA ENDOFIT–ROŚLINA

Grzyb w wyniku kontaktu z rośliną może działać jako patogen lub endofit, a rodzaj relacji, jaką tworzą zależy od lokalnych abiotycznych czynników stresowych oraz genotypu żywiciela. W przeważającej liczbie przypadków grzyby zasie-

dla rośliny jako endofity. Kolonizacja tkanek żywiciela przez endofity rozpoczyna się wydzielaniem cząsteczek sygnałowych przez roślinę żywicielską wskutek ataku endofita i rozpoznania go przez gospodarza. Wysięki z korzeni roślin żywicielskich składające się z licznych biomolekuł, składników odżywczych i wody aktywują odpowiedź chemotaktyczną endofitów, przyciągając je. Wpływ na zasiedlanie rośliny przez korzystne mikroorganizmy mają również układ odpornościowy rośliny oraz roślinna regulacja ekspresji genomu przeprowadzających kolonizację drobnoustrojów endofitycznych. Także genotyp rośliny żywicielskiej znacząco wpływa na społeczność mikrobiomów endosfery w roślinach żywicielskich (Akram i in. 2023). Powstająca interakcja pozytywnie wpływa na roślinę. Obserwuje się zwiększoną wrażliwość na patogeny spowodowaną aktywacją produkcji związków obronnych oraz indukcją odporności. Endofity grzybowe wytwarzają związki bioaktywne oraz enzymy zewnątrzkomórkowe. Stymulują wzrost roślin (PGP, ang. *Plant Growth Promoting*) poprzez produkcję fitohormonów, np. gibereliny, kwasu indoliloctowego, cytokininy oraz solubilizację fosforanów. Jednocześnie poprawiają odżywianie przez dwukierunkowy transfer składników pokarmowych. Grzyby endofityczne regulują wpływ stresów abiotycznych negatywnie oddziałujących na roślinę. Zwiększają tolerancję na metale ciężkie (Cu, Zn i Pb), suszę oraz skutecznie konkurują z grzybami saprobowymi (rys. 2). Związki produkowane przez endofity grzybowe znalazły zastosowanie w obszarach pozamedycznych, m.in. w rolnictwie (Abramczyk i Gałązka 2016, Adnan i in. 2018, Khare i in. 2018, Rana i in. 2019, Getinger-Panek i Bednarek 2022, Akram i in. 2023).

Choroby pnia winorośli (GTD, ang. *Grapevine Trunk Diseases*) wywoływane są przez grzyby należące do rodzin Botryosphaeriaceae, Phaeomoniellaceae, Togniaceae, Helotiales, Hymenochaetaceae, Stereaceae, Diatrypaceae, Pleurostomataceae, Diaporthaceae. Grzyby te kolonizują drewno organów wieloletnich, co objawia się martwicą drewna, odbarwianiem drewna, infekcjami naczyniowymi i białym rozkładem. Do zewnętrznych objawów należą, m.in.: opóźnione pęknięcie pąków, obumarłe pąki, zamieranie, zahamowanie rozwoju i chloroza. Choroba ta przyczynia się do utraty produktywności i ostatecznie śmierci winorośli (Mondell i in. 2018). Większość chorób pnia winorośli (GTD) była kontrolowana przez stosowanie arsenianu sodu. Ze względu na negatywny wpływ arsenianu sodu na zdrowie został on zakazany, co utrudnia zarządzanie GTD, gdyż brak metod o podobnej skuteczności (Trouvelot i in. 2023). Wykazano, że grzyby endofityczne są skuteczne w zwalczaniu GTD. Poprzez kolonizację zdrowych tkanek i brak wywoływania objawów chorobowych, potrafią nadawać tolerancję roślinom na stres środowiskowy i patogeny. Przykładami grzybów zwalczającymi patogeny GTD są: *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp., *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp., *Clonostachys rosea* i *Epicoccum nigrum*. Ich działanie polega na rywalizacji o składniki pokarmowe oraz przestrzeń do rozwoju z patogenami; są inhibitorami wzrostu GTD (De Almeida i in. 2020).



Rys. 2. Bezpośrednie i pośrednie korzyści roślin wynikające z kolonizacji przez grzyby endofityczne (opracowanie własne na podstawie Baron i Rigobelo 2021, Akram i in. 2023)

4. GRZYBY ENTOMOPATOGENICZNE

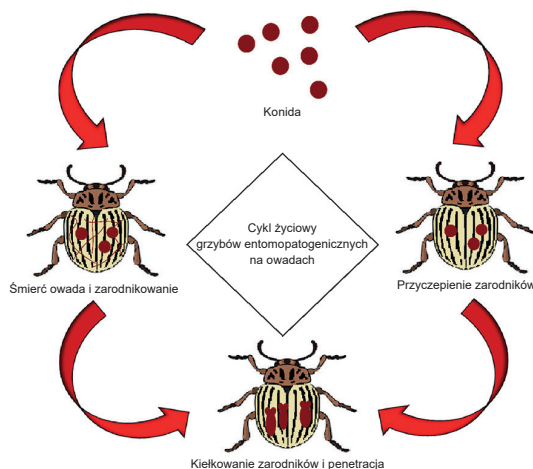
Poważnym zagrożeniem dla rolnictwa są szkodniki owadzie. Poprzez żerowanie na podziemnych i nadziemnych częściach roślin wyrządzają znaczne szkody w ważnych gospodarczo uprawach. Ponadto niektóre owady przenoszą choroby roślin (Islam i in. 2021). Utratę globalnej rocznej produkcji roślinnej spowodowaną przez owady szacuje się na 18–26%, przy czym największe straty (13–16%) obserwuje się na polu, przed żniwami (Mantzoukas i Eliopoulos 2020). Entomopatogenami określa się czynniki drobnoustrojowe (wirusy, bakterie, grzyby i pierwotniaki) kontrolujące populacje szkodników owadzych (Roy i Cottrell 2008, Herzig i in. 2014, Jeer 2022). Terminem „grzyby entomopatogeniczne” określa się organizmy, które wykazują właściwości chorobotwórcze lub zależności o charakterze pasożytniczym względem żywych stawonogów, głównie owadów i roztoczy. Ocenia się, że choroby epizootyczne owadów i innych stawonogów powodowane są przez grzyby entomopatogeniczne w około 60%, co czyni je jednymi z najbardziej znanych mikroorganizmów atakujących szkodniki roślin (Zimowska i Król 2019). Przełomowym momentem w produkcji biopreparatów z grzybami entomopatogenicznymi były badania przeprowadzone przez Miechnikova w 1872 r. Rosyjski badacz wykorzystał *Metarhizium anisopliae* do zwalczania nałanka (*Anisoplia eaustiaca*) na zbożach. Jego współpracownik Krasilshichik w 1884 r. wykorzystał tego grzyba do pozyskania zarodników, które zastosował w zwalczaniu szaraka komośnika (*Bothynoderes puncticus*) na burakach. Były to pierwsze na świecie preparaty mikrobiologiczne pozwalające zwalczać szkodniki roślin. W Polsce badania oceniające wpływ szkodników na buraka prowadzili Danysz i Wize. Wydarzenia te zapoczątkowały poszukiwania izolatów grzybowych skutecznych w zwalczaniu szkodników roślin (Sosnowska 2005).

Stosowanie grzybów entomopatogenicznych jako składnika środków owadobójczych stało się powszechne dzięki łatwej dystrybucji, łatwym technikom produkcji oraz dostępności dużej liczby zidentyfikowanych szczepów. W porównaniu z chemicznymi środkami ochrony roślin są precyzyjne, bezpieczne i zrównoważone ekologicznie. Grzyby w przeciwieństwie do wirusów i bakterii mają szeroki zakres żywicieli. Infekują szkodniki żyjące w glebie i poza nią (Deka i in. 2021, Sharma i Sharma 2021). Podczas selekcjonowania szczepów będących składnikami biopreparatów ważny jest wysoki poziom ich wirulencji. Istnieją różne formy zastosowania grzybów entomopatogenicznych. Zarodniki są stosowane w uprawach zagrożonych masowym pojawianiem się szkodników. Istnieje możliwość zastosowania produkowanych przez grzyby toksycznych związków. Trwają prace nad opracowaniem preparatów na ich bazie. Istotne jest znalezienie metabolitów toksycznych dla szkodników owadzich i jednocześnie bezpiecznych dla innych organizmów (Wasilewska-Nascimento 2021).

Wśród 31 rodzajów istniejących owadów u 20 stwierdza się znaczny stopień zakażenia grzybami entomopatogenicznymi. Infekcji mogą ulec wszystkie stadia rozwojowe owada, od jaj przez larwy, poczwarki, nimfy i osobniki dorosłe (Islam i in. 2021). Szczepy grzybów najczęściej używane jako składnik preparatów zwalczających owady atakujące uprawy rolnicze należą do rodzajów: *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria*, *Hirsutella* i *Lecanicillium*. Najczęściej badanymi gatunkami grzybów są: *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea*, *Metarhizium anisopliae* i *Lecanicillium Lucanii* (Litwin in. 2020, Bamislie i in. 2021).

Zainfekowanie stawonogów grzybami entomopatogenicznymi następuje przez kontakt z zarodnikami, które spotkać można na powierzchni roślin, w glebie oraz w powietrzu. Mogą być one przenoszone przez wiatr lub za pośrednictwem martwych ciał owadów. Infekcja jest skuteczna wyłącznie przy spełnieniu odpowiednich warunków, tj. temperatura i wilgotność powietrza oraz bezpośredni kontakt z ciałem żywiciela. Proces zakażenia jest długi i trwa od 6 do 14 dni. Cykl życiowy rozpoczyna się od wykiełkowania zarodników na oskórku żywiciela. Następnie powstają struktury penetracyjne, np. appressoria, które przebijają naskórek owada często w miejscach, gdzie powłoka ochronna jest cieńsza. Etap ten wymaga wykorzystania przez grzyby mechanizmów degradacji enzymatycznej (proteazy, esterazy, lipazy i chitynazy) oraz nacisku mechanicznego. Miejsca penetracji pojawiają się jako ciemne i melanotyczne obszary naskórka. Grzyb namnaża się w owadzie hemocelu poprzez nitkowate strzępki, które przekształcają się w ciała strzępkowe o cienkich ścianach przypominające drożdże lub protoplasty, które krążą w hemolimfie. Podczas infekcji żywicieli jest w stanie przemieszczać się i żerować. Grzyby często wytwarzają toksyny inicjujące reakcje obronne, przyspieszając śmierć owada lub hamują konkurencje ze strony innych drobnoustrojów. Po śmierci owada i wykorzystaniu składników odżywczych strzępki wydostają się przez egzoszkielet w celu wytworzenia

i rozprzestrzenienia zarodników (rys. 3) (Shang i in. 2015, Mondal i in. 2016, Sinha i in. 2016, Zimowska i Król 2019, Mantzoukas i Eliopoulos 2020, Sharma i Sharma 2021, Bava i in. 2022).



Rys. 3. Schemat infekcji owadów przez grzyby entomopatogeniczne (opracowanie własne na podstawie Sinha i in. 2016)

Ziemniak (*Solanum tuberosum* L.) jest jedną z najczęściej uprawianych roślin bulwiastych. Zajmuje czwarte miejsce w rankingu najważniejszych roślin uprawnych i plasuje się tuż przed pszenicą, ryżem i kukurydzą. Ziemniak należy do rodziny psiankowatych i rodzaju *Solanum*. Jego znaczenie wynika z szerokiego spektrum zastosowań jako: warzywo, składnik żywności przetworzonej, substrat w produkcji skrobi oraz napojów alkoholowych (Reddy i in. 2018). Stonka ziemniaczana (*Leptinostarsadecemilneata*) jest jednym ze szkodników żerujących na ziemniakach. W Polsce po raz pierwszy odnotowano wystąpienie stonki ziemniaczanej 50 km od Gorzowa w roku 1944 (Sosnowska i in. 2009). Dorosłe osobniki i larwy szkodnika żerują na liściach ziemniaków i mogą powodować całkowitą defoliację roślin ziemniaka, ze znacznymi stratami plonów sięgającymi nawet 60% (Jacques i Fasulo 2015). Baki i in. (2021) ocenili skuteczność czternastu izolatów grzybów entomatogenicznych *Beauveria bassiana* przeciwko stonke ziemniaczanej. Na podstawie uzyskanych wyników badań potwierdzono skuteczność niektórych z testowanych izolatów *B. bassiana* w zwalczaniu stonki ziemniaczanej. Wykazano jednak różnice w zjadliwości izolatów testowanych na podłożach stałych. Stwierdzono również różną wrażliwość stadiów stonki ziemniaczanej na izolaty *B. bassiana*. Jaja miały ograniczoną podatność na infekcje, natomiast osobniki dorosłe wykazywały podatność niższą niż larwy. Wyższą śmiertelność uzyskano u larw młodszych w porównaniu z najstarszymi.

Oprócz działania owadobójczego grzyby entomopatogeniczne pełnią rolę endofitów, gatunków antagonistycznych oraz wspomagają wzrost roślin i kolonizację ryzofery. W ten sposób zapewniają ochronę przed stresami biotycznymi (działaniem szkodników i chorób) oraz stresami abiotycznymi (deficyt wody, niedobór składników odżywczych i inne) (Zimowska i Król 2019, Quesada-Moraga 2020). Bing i Lewis (1991) jako pierwsi opisali endofityczny charakter grzybów entomopatogenicznych wyizolowanych z kukurydzy wykazujących potencjał do biokontroli. Traktowanie roślin w czasie siewu lub uprawy szczepami endofitycznymi pozwala na trwałą ich ochronę przed szkodnikami i patogenami (Bruck 2010, Zimowska i Król 2019). Na stopień kolonizacji tkanek i organów oraz trwałość grzyba w czasie wpływają takie czynniki, jak: gatunek rośliny, szczep grzyba entomopatogenicznego oraz sposób kolonizacji tkanek roślinnych (od miejscowej do ogólnoustrojowej) (Quesada-Moraga i in. 2022).

Bauveria bassiana została zidentyfikowana jako endofit u około 25 gatunków roślin. Kolonizuje na przykład cebulę, pomidora, winogrono, pszenicę, kukurydzę, fasolę czy ziemniaka. Potrafi zwalczać szkodniki oraz grzybicze patogeny roślin. Jej obecność stwierdza się w liściach oraz pędach rośliny-gospodarza, co wzmacnia odporność na owady oraz pozytywnie wpływa na reakcje obronne rośliny i tłumi czynniki chorobotwórcze. Wykazuje różne mechanizmy antagonizmu, takie jak: konkurencja, antybioza, mykopasożytnictwo i indukowana odporność systemowa. Dzięki tworzeniu złożonych relacji z roślinami wspomaga ich wzrost. Uważa się, że *B. bassiana* dostarcza swojemu żywicielowi (roślina) azot pochodzący z zaatakowanych owadów, żywiciel w zamian dostarcza substancje bogate w węgiel (Zimowska i Król 2019, Barra-Bucarei i in. 2020, Litwin i in. 2020, Sharma i Sharma 2021, Liu i in. 2022). Do endofitycznych grzybów chorobotwórczych dla owadów należą *Metarhizium* spp. Charakteryzują się szerokim zakresem żywicieli stawonogów i dobrym przystosowaniem do agroekosystemów. Kilka z nich naturalnie łączy się z korzeniami traw, krzewów, ziół i drzew w warunkach polowych. Udowodniono, że *Metarhizium robertsii* jest endofitem pomidora, soi, pszenicy, bobu, kapusty oraz fasoli szparagowej (Meyling i Eilenberg 2007, Fisher i in. 2011, Wyrebek i in. 2011, Tiago i in. 2014, Ponchon i in. 2022). Ahmad i in. (2022) przeprowadzili badania, w których ocenili modulowanie mechanizmów obronnych kukurydzy zakażonej *Cochliobolus heterostrophus* przez *M. robertsii*. Uzyskane wyniki sugerują, że endofityczne *M. robertsii* mogą promować wzrost kukurydzy i ograniczać rozwój południowej zarazy liści kukurydzy (SCLB, ang. *Southern Corn Leaf Blight*) prawdopodobnie przez indukowaną oporność ogólnoustrojową, w której pośredniczy modulacja fitohormonów i ekspresja genów związanych z obroną i wzrostem w kukurydzy. Należy podkreślić, że obecne badania odnoszą się do oceny działania pojedynczych szczepów grzybów entomopatogenicznych na bakterie, grzyby czy wirusy atakujące rośliny. Stwarza to potrzebę przeprowadzenia szczegółowego prze-

testowania interakcji różnych szczepów pod względem działania synergistycznego (Senthilkumar i in. 2014).

5. PODSUMOWANIE

W związku z rosnącym zapotrzebowaniem na produkcję żywności oraz negatywnym wpływem na środowisko i konsumentów poszukuje się alternatywnych w stosunku do chemicznych metod ochrony upraw rolnych. Środki biologicznej ochrony oprócz zapewnienia bezpieczeństwa ludzi i środowiska zawierają naturalne składniki, są skuteczne względem zwalczania patogenów oraz wspomagają wzrost roślin. Coraz częstszymi składnikami biopreparatów zostają grzyby lub ich metabolity. W biopreparatach spotyka się grzyby mykoryzowe, grzyby endofityczne oraz grzyby entomopatogeniczne. Wśród grzybów mykoryzowych najpopularniejsze są grzyby mykoryzy arbuskularnej. Ocenia się ich wpływ na zmniejszenie negatywnych skutków zanieczyszczenia metalami ciężkimi gleby, suszy, zasolenia, temperatury oraz patogenów. Grzyby endofityczne oprócz zwalczania patogenów pozytywnie wpływają na roślinę. Poprawiają jej odżywianie przez stymulowanie wytwarzania fitohormonów oraz zmniejszają wpływ negatywnych czynników środowiska. Grzyby entomopatogeniczne skutecznie chronią uprawy przed szkodnikami, dodatkowo często spełniając rolę grzybów endofitycznych. Należy jednak pamiętać, że skuteczność preparatów z grzybami w warunkach *in vitro* może różnić się od skuteczności *in vivo* zależnej w dużym stopniu od czynników abiotycznych oraz biotycznych. Ponadto trzeba selekcionować mikroorganizmy i wybierać te wywołujące najmniejsze reakcje szkodliwe. Ograniczenia ekonomiczne, społeczne oraz polityczne są kolejnymi aspektami wpływającymi na wdrożenie preparatów mikrobiologicznych.

6. LITERATURA

1. A b d u l-Baki A.A., Teasdale J., Korcak R., Chitwood D., Huettel R.: Fresh-market tomato production in a low-input alternative system using cover-cropMulch. Hort Science, 1996, **31**: 65-69.
2. A b r a m c z y k B., Gałązka A.: Pozytywny wpływ grzybów endofitycznych na roślinę gospodarza. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2016, **49(3)**: 71-82; <https://10.26114/sir.iung.2016.49.06>
3. A d e l e k e B.S., Ayilara M.S., Akinola S.A., Babalola O.O.: Biocontrol mechanisms of endophyticfungi. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2022, **32**, 46; <https://10.1186/s41938-022-00547-1>
4. A d n a n M., Alshammari E., Ashraf S.A., Patel K., Lad K., Patel M.: Physiological and molecular characterization of biosurfactant producing endophytic fungi Xylariaregalis from the cones of Thujaplicata as a potent plant growth promoter with its potential application. BioMedResearch International, 2018; <https://10.1155/2018/7362148>
5. A h m a d I., Jiménez-Gasco M.D.M., Luthe D.S., Barbercheck M.E.: Endophytic Metarhizium robertsi isuppresses the phytopathogen, *Cochliobolus heterostrophus* and modulates maizedefenses. PLoS One, 2022, **17(9)**, e0272944; <https://10.1371/journal.pone.0272944>

6. A i t-E l-Mokhtar M., Laouane R.B., Anli M., Boutasknit A., Wahbi S., Meddich A.: Use of mycorrhizalfungi in improving tolerance of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings to salt stress. *Scientia Horticulturae*, 2019, **253**: 429-438; <https://10.1016/j.scienta.2019.04.066>
7. A k h t a r M.S., Abdullah S.N.: Mass production techniques of arbuscular mycorrhizalfungi: Major advantages and disadvantages: A Review. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 2014, **11(3)**: 1199-204.
8. A k r a m S., Ahmed A., He P, He P., Liu Y., Wu Y., Munir S., He Y.: Uniting the role of endophytic fungi against plant pathogens and their interaction. *Journal of Fungi*, 2023, **9(1)**, 72; <https://10.3390/jof9010072>
9. A l-Karaki G., Mcmichael B., Zak J.: Field response of wheat to arbuscular mycorrhizalfungi and droughtstress. *Mychorrhiza*, 2004, **14**: 263-269; <https://10.1007/s00572-003-0265-2>
10. A l y A.H., Debbab A., Proksch P.: Fungal endophytes – secretproducers of bioactive plant metabolites. *Pharmazie*, 2023, **68(7)**: 499-505.
11. A r n o l d A.E., Mejía L.C., Kyllö D., Rojas E.I., Maynard Z., Robbins N., Here E.A.: Fungal endophytes limit pathogendamage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, **100(26)**: 15649-15654; <https://10.1073/pnas.2533483100>
12. B a k i D., Tosun H.S., Erler F.: Efficacy of indigenouisolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycota: Hyphomycetes) against the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 2021, **31**, 56; <https://10.1186/s41938-021-00406-5>
13. B a m i s l i e B.S., Akutse K.S., Siddiqui J.A., Xu Y.: Model Application of Entomopathogenic Fungi as Alternatives to Chemical Pesticides: Prospects, Challenges, and Insights for Next-Generation Sustainable Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 2021, **12**; <https://10.3389/fpls.2021.741804>
14. B a r o n N.C., Rigobelo E.C.: Endophytic fungi: a tool for plant growth promotion and sustainable agriculture. *Mycology*, 2021, **13(1)**: 39-55; doi: 10.1080/21501203.2021.1945699
15. B a r r a-Bucarei L., González M.G., Iglesias A.F., Aguayo G.S., Peñalosa M.G., Vera P.V.: *Beauveria bassiana* Multifunction as an Endophyte: Growth Promotion and Biologic Control of *Trialeurodes vaporariorum*, (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) in tomato. *Insects*, 2020, **11**, 591; <https://10.3390/insects11090591>
16. B a s i r u S., Mwanza H.P., Hijri M.: Analysis of arbuscular mycorrhizal fungal inoculant benchmarks. *Microorganisms*, 2021, **9(1)**, 81; <https://10.3390/microorganisms9010081>
17. Bava R., Castagna F., Piras C., Musolino V., Lupia C., Palma E., Britti D., Musella V.: Entomopathogenic fungi for pests and predators control in beekeeping. *Veterinary Sciences*, 2022, **21,9(2)**, 95; <https://10.3390/vetsci9020095>
18. B e g u m N., Qin C., Ahanger M.A., Raza S., Khan M.I., Ashraf M., Ahmed N., Zhang L.: Role of arbuscular Mycorrhizal Fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 2019, **10**, 1068; <https://10.3389/fpls.2019.01068>
19. B e r t i n i S.C.B., Azevedo L.C.B.: Chapter 3 – Soil micro be contributions in the regulation of the global carbon cycle, In: *Microbiome Under Changing Climate*, A. Kumar, J. Singh, L.F.R. Ferreira (eds). Woodhead Publishing, 2022, pp. 69-84; <https://10.1016/B978-0-323-90571-8.00003-1>
20. B i d o n d o L.F., Silvani V., Colombo R., Pérgola M., Bompadre J., Godeas A.: Pre-symbiotic and symbiotic interactions between glomus intraradices and two *Paenibacillus species* isolated from AM propagules. *In vitro* and *in vivo* assays with soybean (AG043RG) as plant host. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, **43**: 1866-1872; <https://10.1016/j.soilbio.2011.05.004>

21. B i n g L.A., Lewis L.C.: Suppression of *Ostrinianubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Environmental Entomology*, 1991, **20**: 1207-1211.
22. B o e r a e v e M., Kohout P., Ceulemans T., Cajthaml T., Tedersoo L., Jacquemyn H.: Changes in the rootmicrobiome of four plant species with different mycorrhizal types across a nitrogen deposition gradient in ombrotrophic bogs. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, **169**, 108673, <https://10.1016/j.soilbio.2022.108673>
23. B r u c k D.J.: Fungal entomopathogens in the rhizosphere. *BioControl*, 2010, **55**: 103-112.
24. B r u n d r e t t M.C., Bougher N., Dell B., Grove T.: Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research, 1996, **32**: 1-374 + x p; <https://10.13140/2.1.4880.5444>
25. B r u n d r e t t M.C.: Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflict in nitrogen formation and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil*, 2009, **320**: 37-77; <https://10.1007/s11104-008-9877-9>
26. B ü c k i n g H., Mensah J.A., Fellbaum C.R.: Common mycorrhizal networks and their effect on the bargaining power of the fungal partner in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Communicative & Integrative Biology*, 2016, **9(1)**, 1107684; <https://doi.org/10.1080/19420889.2015.1107684>
27. B u r r a g o n i S.G., Jeon J.: Applications of endophytic microbes in agriculture, biotechnology, medicine and beyond. *Microbiological Research*, 2021, **24**, 126691; <https://10.1016/j.micres.2020.126691>
28. C a o R., Liu X., Gao K., Mendgen K., Kang Z., Gao J., Dai Y., Wang X.: Mycoparasitism of endophytic fungi isolated from reed on soilborne phytopathogenic fungi and production of cellwall-degrading enzymes *in vitro*. *Current Microbiology*, 2009, **59**: 584-592; <https://10.1007/s00284-009-9477-9>
29. C h a d h a N., Mishra M., Rajpal K., Bajaj R., Choudhary D.K., Varma A.: Anecological role of fungal endophytes to ameliorate plants under biotic stress. *Archives of Microbiology*, 2015, **197(7)**: 869-881; <https://10.1007/s00203-015-1130-3>.
30. C h o u d h a r y D.K., Prakash A., Johri B.N.: Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian Journal Of Microbiology*, 2007, **47(4)**: 289-297; <https://10.1007/s12088-007-0054-2>
31. D a h a l a r i a R., Kumar D., Kumar H., Nepovimova E., Kuča K., Islam M.T., Verma R.: Arbuscular mycorrhizal fungi as potential agents in ameliorating heavy metal stress in plants. *Agronomy*, 2020, **10(6)**, 815; <https://10.3390/agronomy10060815>
32. D e A l m e i d a A.B., Concas J., Campos M.D., Materatski P., Varanda C., Patanita M., Murolo S., Romanazzi G., do Rosário Félix M.: Endophytic fungi as potential biological control agents against grapevine trunk diseases in Alentejo region. *Biology (Basel)*, 2020, **9(12)**, 420; <https://10.3390/biology9120420>
33. D e k a B., Baruah C., Babu A.: Entomopathogenic microorganisms: their role in insect pest management. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 2021, **31**, 121; <https://10.1186/s41938-021-00466-7>
34. D e y M., Ghosh S.: Arbuscular mycorrhizae in plant immunity and crop pathogen control. *Rhizosphere*, 2022, **22**, 100524; <https://10.1016/j.rhisph.2022.100524>
35. D i g h t o n J.: Mycorrhizae. In: *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*, Elsevier Inc., United States, 2009, pp.153-162; <https://10.1016/B978-012373944-5.00327-8>

36. Domínguez-Núñez J.A., Albanesi A.S.: Ectomycorrhizal fungi as biofertilizers in forestry. In: Biostimulants in plant science, A. Beck, S. Uhac, A.A. De Marco (eds). Intech Open, 2020, pp. 115-126; <https://10.5772/intechopen.88585>
37. Elsherbiny E.A., Taher M.A., Elsebai M.F.: Activity of *Purpureocillium lilacinum* filtrates on biochemical characteristics of *Sclerotinia sclerotiorum* and induction of defense responses in common bean. European Journal of Plant Pathology, 2019, **155**: 39-52; <https://10.1007/s10658-019-01748-5>
38. Emmanel O.C., Babalola O.O.: Productivity and quality of horticultural crop through co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria. Microbiological Research, 2020, **239**, 126569; <https://10.1016/j.micres.2020.126569>
39. Etesami H., Noori F.: Soil salinity as a challenge for sustainable agriculture and bacterial-mediated alleviation of salinity stress in crop plants. In: Saline soil-based agriculture by halotolerant microorganisms, M. Kumar, H. Etesami, V. Kumar (eds). Springer, Singapore 2019, pp. 1-22; https://10.1007/978-981-13-8335-9_1
40. Fadji A.E., Babalola O.O.: Elucidating mechanisms of endophytes used in plant protection and other bioactivities with multifunctional prospects. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2020, **8**, 467, <https://10.3389/fbioe.2020.00467>
41. Felföldi Z., Vidican R., Stoian V., Roman I.A., Sestras A.F., Rusu T., Sestras R.E.: Arbuscular mycorrhizal fungi and fertilization influence yield, growth and root colonization of different tomato genotype. Plants, 2022, **11**, 1743, <https://10.3390/plants11131743>
42. Ferrón N., Martíñez E.T., Vargas P.: The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. Journal of Experimental Botany, 2016, **67**(22): 6253-6265; <https://10.1093/jxb/erw403>
43. Fesel P.H., Zuccaro A.: Dissecting endophytic life style along the parasitism/mutualism continuum in Arabidopsis. Current Opinion in Microbiology, 2016, **32**: 103-112; <https://10.1016/j.mib.2016.05.008>
44. Figueiredo A.F., Boy J., Guggenberger G.: Common mycorrhizae network: A review of the theories and mechanisms behind underground interactions. Frontiers in Fungal Biology, 2021, **2**, 735299; <https://10.3389/ffunb.2021.735299>
45. Fisher J.J., Rehner S.A., Bruck D.J.: Diversity of rhizosphere associated entomopathogenic fungi of perennial herbs, shrubs and coniferous trees. Journal of Invertebrate Pathology, 2011, **106**: 289-295; <https://10.1016/j.jip.2010.11.001>
46. Frey-Klett P., Garbaye J., Tarkka M.: The mycorrhiza helper bacteria revisited. New Phytology, 2007, **176**: 22-36.
47. Gabardi S.E., Mouden N., Chliyah M., Selmaoui K., Ouazzani Thouhami A., Douira A.: Mycorrhizae: Diversity and roles in plant ecosystems. Natural Resources And Forestry, 2022, **3**(4): 234-257; <https://10.5281/ZENODO.8025221>
48. Gavitto M.E., Olsson P.A., Rouhier H., Medina-Peñañiel A., Jakobsen I., Bago A., Azcón-Aguilar C.: Temperature constraints on the growth and functioning of root organ cultures with arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist Foundation, 2005, **168**(1): 179-188; <https://10.1111/j.1469-8137.2005.01481.x>
49. Gettinger-Panek A., Bednarek I.: Grzyby endofityczne w roli potencjalnych producentów związków przeciwnowotworowych. Postępy Mikrobiologii, 2022, **61**(2): 63-72; <https://10.2478/am-2022-0006>

50. Gholamhoseini M., Ghalavand A., Dolatabadian A., Jamshidi E., Khodaei-Joghan A.: Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. *Agricultural Water Management*, 2013, **117**: 106-114; <https://10.1016/j.agwat.2012.11.007>
51. Ghosh S.K., Panja A.: 13 – Signatures of signaling pathways underlying plant-growth promotion by fungi. In: *Biocontrol agents and secondary metabolites*, S. Jogaiah (ed.). Woodhead Publishing, 2021, pp. 321-346; <https://10.1016/B978-0-12-822919-4.09993-2>
52. Gonzalez-Chavez C., D'Haen J., Vangronsveld J., Dodd J.C.: Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil. *Plant and Soil*, 2002, **240**: 287-297; <https://10.1023/A:1015794622592>
53. Goicoechea N.: Mycorrhizal fungi as bioprotectors of crops against verticillium wilt-A hypothetical scenario under changing environmental conditions. *Plants*, 2020, **9**, 1468; <https://10.3390/plants9111468>
54. Gorzela M.A., Asay A.K., Pickles B.J., Simard S.W.: Inter-plant communications through mycorrhizal networks mediate complex adaptive behaviour in plant communities. 2015, *AoBPlants*, **7**, plv050; <https://10.1093/aobpla/plv050>
55. Grzywać A.: Grzyby ektomikoryzowe. W: *Ektomikoryzy. Nowe biotechnologie w polskim szkolnictwie leśnym*, S. Kowalski (red.). Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Warszawa 2007, ss. 11-16.
56. Guo D.J., Singh R.K., Singh P., Li D.P., Sharma A., Xing Y.X., Song X.P., Yang L.T., Li Y.R.: Complete genome sequence of *Enterobacter roggenskampi* ED5, a nitrogen fixing plant growth promoting endophytic bacterium with biocontrol and stress tolerance properties. Isolated From Sugarcane Root. *Frontiers in Microbiology*, 2020, **11**, 580081; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.580081>
57. Hartley S.E., Gange A.C.: Impacts of plant symbiotic fungi on insect herbivores: Mutualism in a multitrophic context. *Annual Review of Entomology*, 2009, **54**: 323-342.
58. Hartman G.L., Pawlowski M.L., Chang H.X., Hill C.B.: 3 – Successful technologies and approaches used to develop and manage resistance against crop diseases and pests. In: *Emerging technologies for promoting food security*, C. Madramootoo (ed.). Woodhead Publisher, Oxford, 2016, pp. 43-66; <https://10.1016/B978-1-78242-335-5.00003-2>
59. Herzig V., Bende N.S., Alam M.S., Tedford H.W., Kennedy R.M., King G.F.: Chapter 8 – Methods for deployment of spider venom peptides as bioinsecticides. In: *Advances in insect physiology*, Tarlochan S. Dhaliwalla, Sarjeet S. Gill (eds). Academic Press, 2014, pp. 389-411; <https://10.1016/B978-0-12-800197-4.00008-7>
60. Hodgson S., de Cates C., Hodgson J., Morley N.J., Sutton B.C., Gange A.C.: Vertical transmission of fungal endophytism widespread in forbs. *Ecology and Evolution*, 2014, **4**(8): 1199-208; <https://10.1002/ece3.953>
60. Hołubowicz K., Niedźwiecki J.: Ochrona gleby jako źródła życia. IUNG-PIB, Puławy 2021, ss. 79; doi: 10.26114/por.iung.2021.12.06
61. Islam W., Adnan M., Shabbir A., Naveed H., Abubakar Y.S., Qasim M., Tayyab M., Noman A., Nisar M.S., Ali Khan K.A., Ali H.: Insect – fungal – interactions: A detailed review on entomopathogenic fungi pathogenicity to combat insect pests. *Microbial Pathogenesis*, 2021, **159**, 105122; <https://10.1016/j.micpath.2021.105122>

62. Jacques R.L., Fasulo T.R.: Stonka ziemniaczana *Leptino tarsadecemlineata*. DPI Entomology Circular 271. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry and University of Florida, 2015; protokół dostępu: <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/leaf/potato>. (data dostępu: 26.11.2020 r.)
63. J a r o s z u k-Ściśeł J., Kurek E.: Hydrolysis of fungal and plant cell walls by enzymatic complexes from cultures of *Fusarium* isolates with different aggressiveness to rye (*Secale cereale*). Archives of Microbiology, 2012, **194(8)**: 653-665.
64. J a s K., Małolepsza U.: Podziemna komunikacja – Nowe elementy szlaków sygnałowych arbuskularnej symbiozy mykoryzowej. Postępy Mikrobiologii, 2017, **(3)**: 275-281.
65. J e e r M.: Chapter 17 – Recent developments in silica-nanoparticles Mediatel insectpest management in agricultural crops. In: Silicon and nano-silicon in environmental stress management and crop quality improvement, H. Etesami, A.H. Al Saeedi, H. El-Ramady, M. Fujita, M. Pessaraki, A.M. Hossain (eds). Academic Press, 2022, pp. 229-240.
66. K a r l s s o n M., Atanasova L., Jensen D.F., Zeilinger S.: Necrotrophic mycoparasites and their genomes. ASM Journals, 2017, **5(2)**: 1005-1026; <https://10.1128/microbiolspec.funk-0016-2016>
67. K a u r H., Garg N.: Chapter 24 – Microbial community in soil-plant systems: Role in heavy metal (loid) detoxification and sustainable agriculture. In: Rhizosphere engineering, R.C. Dubey, P. Kumar (eds). Academic Press, 2022, pp. 471-498; <https://10.1016/B978-0-323-89973-4.00015-6>
68. K e m e n E., Jones J.D.: Obligate biotroph parasitism: can we link genomes to lifestyles? Trends Plant Science, 2012, **17(8)**: 448-457; <https://10.1016/j.tplants.2012.04.005>.
69. K h a r e E., Mishra J., Arora N.K.: Multifaceted Interactions between endophytes and plant: Developments and prospects. Frontiers in Microbiology, 2018, **9**, 2732; <https://10.3389/fmicb.2018.02732>
70. K i m S.H., Vujanovic V.: Relationship between my coparasites life styles and biocontrol behaviors against *Fusarium* spp. and mycotoxins production. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 2016, **100**: 5257-5272; <https://10.1007/s00253-016-7539-z>
71. K o c z w a r a K., Pańka D., Lisiecki K., Juda M.: Możliwość wykorzystania endofitów w biologicznej ochronie roślin. Journal of Education, Health and Sport, 2015, **5(6)**: 333-340; <https://10.5281/zenodo.18696>
72. K o r d o w s k a-Wiater M.: Drożdże jako czynniki ochrony biologicznej roślin. Postępy Mikrobiologii, 2011, **50(2)**: 107-119.
73. K o w a l s k i T., Sadłowski W.: Grzyby endofityczne. I. Skład gatunkowy i występowanie. SYLWAN, 1993, **9**: 21-30.
74. K r u p a A.: Mikoryzy i ich wielofunkcyjna rola w środowisku. Chemistry, Environment, Biotechnology, 2010, **14**: 175-182.
75. K u m a r S., Saxena S.: Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from heavy metal-contaminated soils: molecular approach and application in phytoremediation. In: Biofertilizers for sustainable agriculture and environment, B. Giri, R. Prasad, Q.S. Wu, A. Varma (eds). SoilBiology, Springer, Cham, 2019, **55**: 489-500; https://10.1007/978-3-030-18933-4_22
76. K u y p e r T.W., Suz L.M.: Do ectomycorrhizal trees select ectomycorrhizal fungi that enhance phosphorus uptake under nitrogen enrichment? Forests, 2023, **14**, 467; <https://10.3390/f14030467>
77. L a c k A.J., Evans D.E.: Biologia roślin. Krótkie wykłady. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003, ss. 421.

78. Lahlali R., McGregor L., Song T., Gossen B.D., Narisawa K., Peng G.: Heteroconium chaetospira induces resistance to clubroot via upregulation of host genes involved in jasmonic acid, ethylene, and auxin biosynthesis. PLoS ONE, 2014, **9**, e94144; <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094144>
79. Lehner H., Serfling A., Friedt W., Ordon F.: Genome-wide association studies reveal genomic regions associated with the response of wheat (*Triticum aestivum* L.) to mycorrhizae under drought stress conditions. Frontiers in Plant Science, 2018, **9**, 1728; <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01728>
80. Li J., Meng B., Chai H., Yang X., Song W., Li S., Lu A., Zhang T., Sun W.: Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate drought stress in C_3 (*Leymus chinensis*) and C_4 (*Hemarthria altissima*) grasses via altering antioxidant enzyme activities and photosynthesis. Frontiers in Plant Science, 2019, **10**: 499; <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00499>
81. Litwin A., Nowak M., Różalska S.: Entomopathogenic fungi: unconventional applications. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2020, **19**: 23-42; <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09525-1>
82. Liu Y., Yang Y., Wang B.: Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* play roles of maize (*Zea mays*) growth promoter. Scientific Reports, 2022, **12**, 15706; <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19899-7>
83. Long L., Lin Q., Yao Q., Zhu H.: Population and function analysis of cultivable bacteria associated with spores of arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. 3 Biotech, 2017, **7**, 8; <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0612-1>
84. Lugtenberg B.J.J., Caradus J.R., Johnson L.J.: Fungal endophytes for sustainable crop production. FEMS Microbiology Ecology, 2016, **92(12)**, 17; <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw194>
85. Łaska G., Sienkiewicz A., Łukasiuk M., Hoeksemaj D., Roy M., Horning A., Abbott M., Tran C., Mattox J.: Zmienność morfologiczna grzybów ektomykoryzowych w ryzosferze *Pulsatilla patens* (L.) Mill. i *Pinus sylvestris* L. w aspekcie interakcji międzygatunkowych. W: Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu. Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych, G. Łaska (red.). Białystok 2017, ss. 127-147.
86. Mantzoukas S., Eliopoulos P.A.: Endophytic entomopathogenic fungi: a valuable biological control tool against plant pests. Applied Science, 2020, **10**, 360; <https://doi.org/10.3390/app10010360>
87. Mańka K.: Fitopatologia leśna. Wydanie VI zmienione i poprawione. PWRiL, Warszawa 2005, ss. 329.
88. Marschner P.: Chapter 15 – Rhizosphere biology. In: Marschner's mineral nutrition of plants (Fourth Edition), Z. Rengel, I. Cakmak, P.J. White (eds). Academic Press, San Diego 2022, pp. 587-614.
89. Mená-Violante H.G., Ocampo-Jimenez O., Dendooven L., Martinez-Soto G., Gonzalez-Castafeda J., Davies F.T., Olalde-Poryigal V.: Arbuscular mycorrhizal fungi enhance fruit growth and quality of chile ancho (*Capsicum annuum* L. cv San Luis) plants exposed to drought. Mycorrhiza, 2006, **16**: 261-267; <https://doi.org/10.1007/s00572-006-0043-z>
90. Meyling N.V., Eilenberg J.: Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. Biological Control, 2007, **43**: 145-155; <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.07.007>
91. Mikolajczak K., Salamon S., Basińska-Barczak A., Błaszczuk L.: Grzyby endofityczne zasiedlające pszenicę zwyczajną (*Triticum aestivum* L.). Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, 2019, **285**: 93-94.

92. Mishra S., Stany B., Ravi L.: Chapter 14 – Bacterial symbiosis in edible mushrooms. In: Microbial symbionts functions and molecular interactions on host. Developments in applied microbiology and biotechnology, D. Dharumadurai (ed.), Elsevier Science, 2023, pp. 263-276; <https://10.1016/B978-0-323-99334-0.00014-1>
93. Mondal S., Baksi S., Koris A., Vatai G.: Journey of enzymes in entomopathogenic fungi. Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering, 2016, **18(2)**: 85-99.
94. Mondell V., Songy A., Battiston E., Pinto C., Coppin C., Trotzel-Aziz P., Clément C., Mugnai L., Fontaine F.: Grapevine trunk diseases: A review of fifteen years of trials for their control with chemicals and biocontrol agents. Plant Disease, 2018, **102**: 1189-1217; <https://10.1094/PDIS-08-17-1181-FE>
95. Money N.P.: Chapter 12 – Fungi and Biotechnology. The Fungi (Third Edition), Academic Press, 2016, pp. 401-424; <https://10.1016/B978-0-12-382034-1.00012-8>
96. MorTE A., Lovisolo C., Schubert A.: Effect of drought stress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthemum almeriense* – *Terfezia claveryi*. Mycorrhiza, 2000, **10**: 115-119; <https://10.1007/s005720000066>
97. Naslahsen B., Prin Y., Ferhout H., Smouni A., Duponnois R.: Mycorrhizae helper bacteria for managing the mycorrhizal soil infectivity. Frontiers in Soil Science, 2022, **2**, 979246; <https://10.3389/fsoil.2022.979246>
98. Nath D., Meena V.S.: Chapter 10 - Mycorrhizae: A potential microorganism and its implication in agriculture. In: Role of rhizospheric microbes in soil, V.S. Meena (ed.). 2018, pp. 251-276; https://10.1007/978-981-10-8402-7_10
99. Nowak A., Tyśkiewicz R., Wiater A., Jaroszek-Ścisł J.: (1→3)- α -D-glucooligosaccharides as elicitors influencing the activity of plant resistance pathways in wheat tissues. Agronomy, 2022, **12**, 1170; <https://10.3390/agronomy12051170>
100. Parthasarathi T., Firdous S., Mariya David E., Lesharadevi K., Djanaguiraman M.: Effects of high temperature on crops. Intech Open, 2022, pp. 18; <https://10.5772/intechopen.105945>
101. Pirsarandib Y., Hassanpouraghdam M.B., Rasouli F., Aazami M.A., Puglisi I., Baglieri A.: Phytoremediation of soil contaminated with heavy metals via arbuscular mycorrhiza (*Funneli formismosseae*) inoculation ameliorates the growth responses and essential oil content in lavender (*Lavandula angustifolia* L.). Agronomy, 2022, **12**, 1221; <https://10.3390/agronomy12051221>
102. Ponceon M., Reineke A., Massot M., Bidochka M.J., Thiéry D., Papura D.: Three Methods assessing the association of the endophytic entomopathogenic fungus *Metarhizium robertsii* with non-grafted grapevine *Vitis vinifera*. Microorganisms, 2022, **10**, 2437; <https://10.3390/microorganisms10122437>
103. Poonam, Bhardwaj R., Sharma R., Handa N., Kaur H., Kaur R., Sirhindi G., Thukral A.K.: Chapter 19 – Prospects of field crops for phytoremediation of contaminants. In: Emerging technologies and management of crop stress tolerance (Volume 2): A sustainable approach, P. Ahmad, S. Rasool (eds). Elsevier, Academic Press, 2014, pp. 449-470; <https://10.1016/B978-0-12-800875-1.00019-3>
104. Quesada-Moraga E.: Entomopathogenic fungi as endophytes: their broader contribution to IPM and crop production. Biocontrol Science Technology, 2020, **30**: 864-877.
105. Quesada-Moraga E., Garrido-Jurado I., Yousef-Yousef M., González-Mas N.: Multitrophic interactions of entomopathogenic fungi in BioControl. BioControl, 2022, **67**: 457-472.

106. Rajaramohan S.: Redefining plant-necrotroph interactions: The thin line between hemibiotrophs and necrotrophs. *Frontiers in Microbiology*, 2021, **12**, 673518; <https://10.3389/fmicb.2021.673518>
107. Rana K.L., Kour D., Sheikh I., Yadav N., Yadav A.N., Kumar V., Singh B.P., Dhaliwal H.S., Saxena A.K.: Biodiversity of endophytic fungi from diverse niches and their biotechnological applications. In: *Advances in endophytic fungal research*, B. Singh (ed.). Fungal Biology. Springer, Cham, 2019, pp. 105-144; https://10.1007/978-3-030-03589-1_6
108. Reddy B.J., Mandal R., Chakraborty M., Hijam L., Dutta P.: A review on potato (*Solanum tuberosum* L.) and its genetic diversity. *International Journal of Genetics*, 2018, **10(2)**: 360-364; <https://10.9735/0975-2862.10.2.360-364>
109. Reglinski T., Havis N., Rees H.J., de Jong H.: The practical role of induced resistance for crop protection. *Phytopathology*, 2023, **113**: 719-731; <https://10.1094/PHYTO-10-22-0400-IA>
110. Riaz M., Kamran M., Fang Y., Wang Q., Cao H., Yang G., Deng L., Wang Y., Zhou Y., Anastopolus I., Wang X.: Arbuscular mycorrhizal fungi-induced mitigation of heavy metal phytotoxicity in metal contaminated soils: A critical review. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, **402**, 123919; <https://10.1016/j.jhazmat.2020.123919>
111. Rigamonte T.A., Pylro V.S., Duarte G.F.: The role of mycorrhization helper bacteria in the establishment and action of ectomycorrhizae associations. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2010, **4**: 832-840; <https://10.1590/S1517-83822010000400002>
112. Roy H.E., Cottrell T.E.: Forgotten natural enemies: interactions between coccinellids and insect-parasitic fungi. *European Journal of Entomology*, 2008, **105**: 391-398.
113. Rudawska M.: Ektomikoryza, jej znaczenie i zastosowanie w leśnictwie. Instytut Dendrologii PAN, Kórnik 2000.
114. Sangwan S., Prasanna R.: Mycorrhizae helper bacteria: Unlocking their potential as bioenhancers of plant-arbuscular mycorrhizal fungal associations. *Microbial Ecology*, 2022, **84(1)**: 1-10; <https://10.1007/s00248-021-01831-7>
115. Santander C., Sanhueza M., Olave J., Borie F., Valentine C., Cornejo P.: Arbuscular mycorrhizal colonization promotes the tolerance to salt stress in lettuce plants through an efficient modification of ionic balance. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2019, **19(2)**: 321-331.
116. Santoyo G., Gamalero E., Glick B.R.: Mycorrhizal-bacterial amelioration of plant abiotic and biotic stress. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, **5**, 672881; <https://10.3389/fsufs.2021.672881>
117. Senthilkumar N., Murugesan S., Babu D.S.: Metabolite profiling of the extracts of endophytic fungi of entomopathogenic significance, *Aspergillus flavus* and *Nigrospora sphaerica* isolated from tropical tree species of India, *Tectona grandis* L. *Journal of Agriculture and Life Sciences*, 2014, **1**: 108-114.
118. Shahzad R., Khan A.L., Bilal S., Asaf S., Lee I.J.: What is there in seeds? Vertically transmitted endophytic resources for sustainable improvement in plant growth. *Frontiers in Plant Science*, 2018, **9**, 24; <https://10.3389/fpls.2018.00024>
119. Shang Y., Feng P., Wang C.: Fungi that infect insects: Altering host behavior and beyond. *PLoS Pathogens*, 2015, **11(8)**, e1005037; <https://10.1371/journal.ppat.1005037>
120. Sharma R., Sharma P.: Fungal entomopathogens: a systematic review. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 2021, **31**, 57; <https://10.1186/s41938-021-00404-7>
121. Shi Y.W., Yang H., Chu M., Niu X.X., Bao H., Wang N., Zhan F., Long X., Yang R., Lin Q., Lou K.: Plant microbiome and mycorrhizal fungi. Arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture – new insights. *Intech Open, Crossref*, 2023, pp. 1-18; <https://10.5772/intechopen.107373>

122. S i k e s B.A.: When do arbuscular mycorrhizal fungi protect plant roots from pathogens? *Plant Signaling&Behavior*, 2010, **5(6)**: 763-765.
123. S i m a r d S.W., Beiler K.J., Bingham M.A., Deslippe J.R., Philip L. J., Teste F.P.: Mycorrhizal networks: Mechanisms, ecology and modelling. *Fungal Biology Reviews*, 2012, **26(1)**: 39-60; <https://10.1016/j.fbr.2012.01.001>
124. S i n h a K.K., Choudhary A.Kr., Kumari P.: Chapter 15 – Entomopathogenic Fungi. In: *Ecofriendly pest management for food security*, Omkar (ed.), Academic Press, San Diego 2016, pp. 475-505; <https://10.1016/B978-0-12-803265-7.00015-4>
125. S o s n o w s k a D.: Biopreparaty grzybowe w biologicznym zwalczaniu szkodników upraw szklarniowych i polowych. *Postępy Nauk Rolniczych*, 2005, **5**: 1-27.
126. S o s n o w s k a D., Pruszyński S., Lipa J.J.: Ewolucja metod i środków w zwalczaniu stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata* Say). *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin*, 2009, **49(2)**: 565-576.
127. S u l l i a S.B.: Use of Vesicular – Arbuscular mycorrhiza (VAM) as biofertilizer for horticultural plants in developing countries. In: *Horticulture – new technologies and applications*, J. Prakash, R.L.M. Pierik (eds). *Currents Plant Science and Biotechnology in Agriculture*, 12. Springer, Dordrecht, 1991, pp. 49-53; https://10.1007/978-94-011-3176-6_8
128. S z a b l a K., Pabian R.: Szkółkarstwo kontenerowe. Nowe technologie i techniki w szkółkarstwie leśnym, Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Świącicka B., Warszawa 2003, s. 193-214.
129. T a n g H., Hassan M.U., Feng, L., Nawaz M., Shah A.N., Qari S.H., Liu Y., Miao J.: The critical role of arbuscular mycorrhizal fungi to improve drought tolerance and nitrogen use efficiency in crops. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**, 919166; <https://10.3389/fpls.2022.919166>
130. T i a g o P.V., de Oliveira N.T., Lima E.Á. de L.A.: Biological insect control using *Metarhizium anisopliae*: morphological, molecular, and ecological aspects. *Ciência Rural*, 2014, **44**: 645-651; <https://10.1590/S0103-84782014000400012>
131. T o a d e r G., Chiurciu V., Mriorean N., Sevciuc P., Filip V., Burnichi F., Trifan D., Luxita R., Catalin Ionut E., Toader V., Ilie L.: Economic advantages of using bacterial biopreparations in agricultural crops. In: *Agrarian Economy and rural development – realities and perspectives for Romania*. International Symposium. 11th Edition, The Research Institute for Agricultural Economy and Rural Development, Bucharest, 2020, pp. 230-237.
132. T r o u v e l o t S., Lemaitre-Guillier C., Vallet J., Jacquens L., Douillet A., Harir M., Larignon P., Roullier-Gall C., Schmitt-Kopplin P., Adrian M., Fontaine F.: Sodiumarsenite-induced changes in the wood of esca-diseased grapevine at cytological and metabolomic levels. *Frontiers in Plant Science*, 2023, **14**, 1141700; <https://10.3389/fpls.2023.1141700>
133. T y ś k i e w i c z R., Nowak A., Ozimek E., Jaroszuk-Ściśeł J.: Trichoderma: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *International Journal Molecular Sciences*, 2022, **23(4)**, 2329; <https://10.3390/ijms23042329>.
134. T u r n a u K., Haselwandter K.: Arbuscular mycorrhizal fungi, an essential component of soil microflora in ecosystem restoration, In: *Mycorrhizal technology in agriculture. From genes to mycorrhiza application*, S. Gianinazzi, H. Schüepp, J.M. Barea, K. Haselwandter (eds). Birkhauser Verlag/Switzerland, 2002, pp. 137-149.

135. V e l m o u r o u g a n e K., Saxena G., Prasanna R.: Plant-microbe interactions in the rhizosphere: mechanisms and their ecological benefits. In: Plant-microbe interactions in agro-ecological perspectives, D. Singh, H. Singh, R. Prabha (eds). Springer, Singapore, 2017, pp. 193-219; https://10.1007/978-981-10-6593-4_7
136. W a s i l e w s k a-Nascimento B.: Niedoceniony potencjał grzybów owadobójczych w uprawie ziemniaka. Ziemiak Polski, 2021, **(4)**: 40-48.
137. W o j t a s i k W., Kulma A.: Odporność roślin na biotyczne czynniki stresowe. Postępy Biologii Komórki, 2016, **43(3)**: 453-476.
138. W o j t k o w i a k-Gębarowska E.: Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*. Postępy Mikrobiologii, 2006, **45(4)**: 261-273.
139. W y r e b e k M., Huber C., Sasan R.K., Bidochka M.J.: Three sympatrically occurring species of *Metarhizium* show plant rhizosphere specificity. Microbiology, 2011, **157**: 2904-2911; <https://10.1099/mic.0.051102-0>
140. Z i m o w s k a B., Król E.D.: Entomopatogeniczne grzyby i ich znaczenie biocenotyczne. Advancements of Microbiology – Postępy Mikrobiologii, 2019, **58(4)**: 471-482; <https://10.21307/PM-2019.58.4.471>
141. Z y d l i k Z.: Effect of biological preparations on the growth of strawberries cultivated in a sick soil. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, 2013, **16(4)**, 9.

GRZYBY MYKORYZOWE, GRZYBY ENDOFITYCZNE I GRZYBY ENTOMOPATOGENICZNE JAKO SKŁADNIK PREPARATÓW MIKROBIOLOGICZNYCH STOSOWANYCH W ROLNICTWIE

Streszczenie

Słowa kluczowe: grzyby, mykoryza, endofity, entomopatogeny, preparaty mikrobiologiczne, rolnictwo

Grzyby tworzą królestwo organizmów klasyfikowane jako eukarioty wykazujące szereg różnic morfologicznych i ekologicznych. Szacuje się, że istnieje od 1,5 do 7,1 miliona gatunków grzybów, z czego około 60 000 zostało już opisanych. Ze względu na ich dużą liczebność, grzyby obejmują organizmy jednokomórkowe, takie jak drożdże, lub organizmy wielokomórkowe, takie jak grzyby nitkowate, w tym grzyby makroskopowe, które tworzą owocniki. Grzyby występują w większości środowisk, jednak głównie w ekosystemach lądowych. Uczestniczą w obiegu składników odżywczych. Mogą być patogenami, pasożytami lub symbiontami innych organizmów. Zastosowanie preparatu mikrobiologicznego zawierającego mikroorganizmy lub ich metabolity umożliwia zmniejszenie stosowania chemicznych substancji (takich jak nawozy, pestycydy, herbicydy itp.). Tak więc preparaty mikrobiologiczne odgrywają ważną rolę w ekosystemach glebowych prowadząc do osiągnięcia zrównoważonego rolnictwa. Naukowcy coraz częściej próbują wykorzystywać grzyby jako potencjalne środki biologicznej kontroli. Przeprowadzone dotychczas eksperymenty skupiają się na grzybach mykoryzowych, grzybach endofitycznych i grzybach entomopatogenicznych, głównie ze względu na ich zdolność do skutecznego zwalczania patogenów roślinnych i szkodników oraz wywierania pozytywnego wpływu na samą roślinę.

Grzyby endofityczne i grzyby mykoryzowe przynoszą roślinom podobne korzyści. Dostarczają składników odżywczych. Zwiększają odporność na niekorzystne wpływy zewnętrzne: obecność metali ciężkich, temperaturę, suszę i zasolenie. Ponadto wspomagają roślinę w walce z patogenami. Różnica wynika ze sposobu kolonizacji tkanek żywiciela. Grzyby mykoryzowe wchodzą w mutualistyczną relację z korzeniami roślin, podczas gdy grzyby endofityczne żyją w wyżej położonych częściach roślin.

Grzyby entomopatogeniczne są stosowane jako składnik preparatów do zwalczania szkodników upraw. Zarodniki trafiające do ciała owada umożliwiają infekcję. Grzyb rozmnaża się w hemocelu owada. Podczas infekcji żywiciel jest w stanie się poruszać i żerować. Po śmierci owada i wykorzystaniu składników odżywczych strzępki wydostają się przez pancerz, aby wytwarzać i rozprzestrzeniać zarodniki. Ponadto istnieją badania potwierdzające ich zdolność do kolonizacji tkanek roślinnych i funkcjonowania jako grzyby endofityczne.

MYCORRHIZAL FUNGI, ENDOPHYTIC FUNGI AND ENTOMOPATHOGENIC FUNGI AS A KOMPONENT OF MICROBIAL PREPARATIONS USED IN AGRICULTURE

Summary

Keywords: Fungi, mycorrhiza, endophytic, entomopatogenic, microbialpreparation, agriculture

Fungi are a kingdom classified as eukaryotes showing a number of morphological and ecological differences. It is estimated that there are between 1.5 and 7.1 million species of fungi, of which approximately 60,000 have already been described. Due to their high abundance, fungi include unicellular organisms such as yeasts or multicellular organisms such as filamentous fungi, including macroscopic fungi that form fruiting bodies. Fungi are found in most environments although mainly in terrestrial ecosystems. They participate in nutrient cycling. They can be pathogens, parasites or symbionts of other organisms. Application of microbial preparation which contain microorganism or their metabolites enable reduce chemical inputs (such as fertilizers, pesticides, herbicides, etc.). Thus, microbial preparations are playing an important role in soil ecosystems to achieve sustainable agriculture. Researchers are increasingly attempting to use fungi as potential biocontrol agents. Experiments carried out so far focus on mycorrhizal fungi, endophytic fungi and entomopathogenic fungi mainly because of their ability to effectively control plant pathogens and pests and to have a positive effect on the plant itself.

Endophytic fungi and mycorrhizal fungi bring similar benefits to plants. They provide nutrients. They increase resistance to adverse external influences: the presence of heavy metals, temperature, drought and salinity. In addition, they support the plant in its fight with pathogens. The difference is due to the way in which the host tissues are colonised. Mycorrhizal fungi enter into a mutualistic relationship with plant roots, while endophytic fungi live in the above ground parts of plants.

Entomopathogenic fungi are used as an ingredient in preparations to control crop pests. Spores hitting the body of the insect allow infection. The fungus multiplies in the insect haemocoel. During infection, the host is able to move and feed. After the insect has died and nutrients have been utilised, the hyphae escape through the exoskeleton to produce and spread spores. Additionally, there are studies that confirm their ability to colonise plant tissues and act as endophytic fungi.



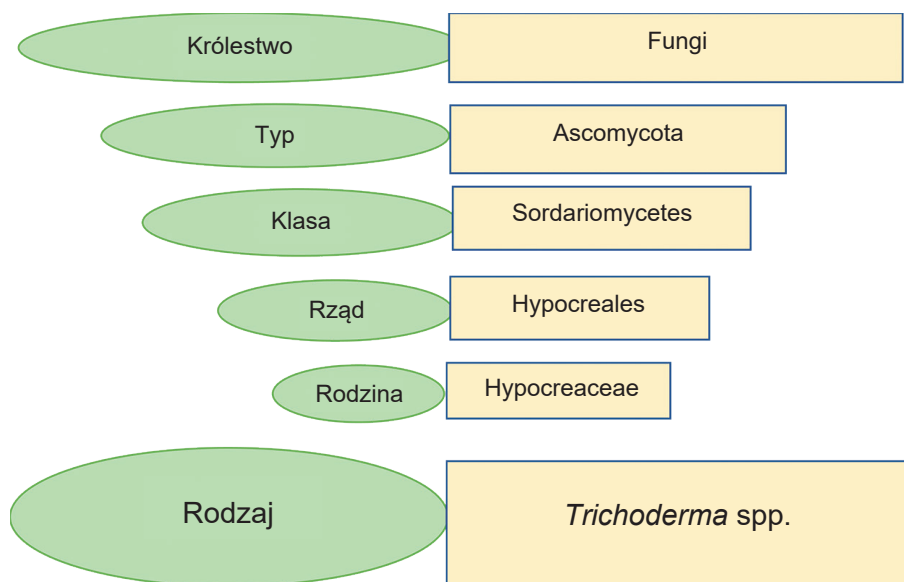
Barbara Abramczyk

**IX. WYKORZYSTANIE GRZYBÓW Z RODZAJU
TRICHODERMA SPP. W PREPARATACH
MIKROBIOLOGICZNYCH**

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
e-mail: babramczyk@iung.pulawy.pl

1. WSTĘP

W ostatniej dekadzie nastąpił wzrost świadomości społeczeństwa na temat zagrożeń zarówno dla zdrowia ludzi, jak i środowiska związanych z nadmiernym stosowaniem pestycydów. Przyjęte przez Komisję Europejską strategie w ramach Europejskiego Zielonego Ładu ograniczają w znacznym stopniu dotychczas stosowane chemiczne środki ochrony roślin i nawozy (COM 2020/380, COM 2020/381). Regulacje Unii Europejskiej kładą nacisk na zwiększenie bezpieczeństwa produkowanej żywności oraz ochronę upraw i środowiska. Obecny plan działania, jak również przyjęte w 2009 roku wymogi UE w kwestii stosowania integrowanej ochrony roślin, skłaniają do poszukiwania nowych metod wspomagania wzrostu, plonowania oraz ochrony roślin z ograniczeniem do minimum lub bez udziału środków chemicznych, przy jednoczesnym zachowaniu wysokiej jakości plonu, wolnego od substancji szkodliwych dla człowieka (Dz.Urz. UE L 309 z 24.11.2009). Obecnie alternatywą dla środków chemicznych stają się preparaty biologiczne oparte m.in. na mikroorganizmach antagonistycznych, takich jak grzyby z rodzaju *Trichoderma* (rys. 1).



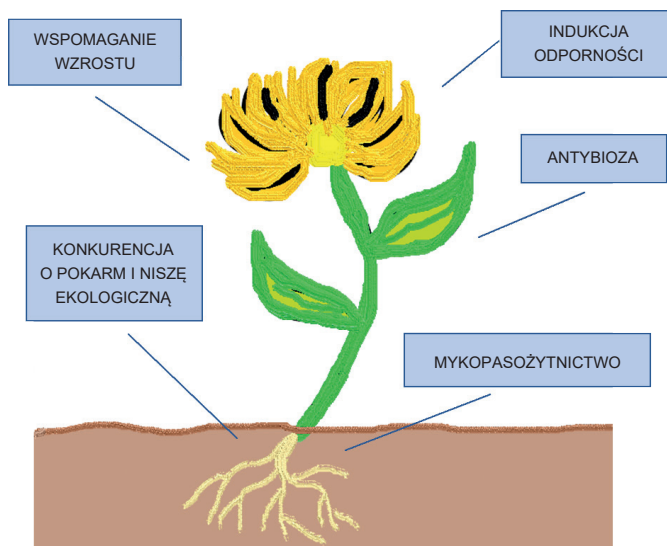
Rys.1. Systematyka *Trichoderma* spp. (Index Fungorum)

Gatunki należące do rodzaju *Trichoderma* są szeroko rozpowszechnione na całym świecie i łatwo je izolować z gleby, rozkładającego się drewna i innych form roślinnej materii organicznej. W większości zalicza się je do grzybów niedoskonałych, ponieważ nie mają znanego stadium płciowego (Monte 2001, Howell 2003). Jednak niektóre gatunki *Trichoderma* są morfologicznie zbliżone do anamorfy *Hypocrea*, co zostało potwierdzone genetycznie (Hermosa i in. 2000, Monte 2001).

Potencjał gatunków *Trichoderma* w biologicznej ochronie roślin został odkryty po raz pierwszy na początku lat 30. XX wieku (Weindling 1932), a w kolejnych latach lista doniesień na temat ich pożytecznego wpływu na rośliny zaczęła się wydłużać. Obszerne informacje na ten temat zostały zebrane w kilku najnowszych opracowaniach przeglądowych (Zin i Badaluddin 2020, Sood i in. 2020, Ferreira i Musumeci 2021, Tyśkiewicz i in. 2022, Saldana-Mendoza i in. 2023, Yao i in. 2023). *Trichoderma* posiada szereg cech, które sprawiają, że grzyby te cieszą się ogromnym zainteresowaniem wśród badaczy, tj.: szybko rosną i rozmnażają się, potrafią przetrwać bardzo niesprzyjające warunki środowiska, efektywnie wykorzystują składniki odżywcze, a także mają zdolność do modyfikacji ryzosfery. Ponadto wykazują właściwości antagonistyczne wobec fitopatogenów oraz zdolności promowania wzrostu roślin i wzbudzania mechanizmów obronnych w roślinach (Benitez i in. 2004, Zin i Badaluddin 2020, Tyśkiewicz i in. 2022, Yao i in. 2023). Dodatkowo, gatunki *Trichoderma* to szybko rosnące grzyby, naturalnie odporne na wiele związków toksycznych, w tym herbicydy, fungicydy i związki fenolowe (Chet i in. 1997). Najbardziej rozpowszechnione i dokładnie zbadane gatunki wykorzystywane w biologicznej ochronie roślin, to m.in.: *T. virens*, *T. viride* i *T. harzianum* (Benitez i in. 2004). Wykazano skuteczność różnych szczepów z rodzaju *Trichoderma* w zwalczaniu grzybów chorobotwórczych dla roślin, np. *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium* spp., *Botrytis cinerea*, *Pythium* spp. i *Ustilago maydis* (Harman i in. 2004, Druzhinina i in. 2011, Harwoko i in. 2019).

2. WŁAŚCIWOŚCI ANTAGONISTYCZNE *TRICHODERMA* SPP.

Antagonistyczne właściwości *Trichoderma* spp. opierają się na aktywacji wielu mechanizmów zaangażowanych w atakowanie innych grzybów. Mechanizmy te obejmują: a) rywalizację o przestrzeń i składniki pokarmowe (Elad i in. 1999), b) mykopasożytnictwo (Haran i in. 1996) oraz c) wytwarzanie związków działających hamująco na fitopatogeny (Sivasithamparam i Ghisalberti 1998) (rys. 2). Aktywacja każdego mechanizmu pociąga za sobą produkcję określonych związków i metabolitów, takich jak: hormony wzrostu roślin, enzymy hydrolityczne, siderofory, antybiotyki oraz permeazy węgla i azotu (Benitez i in. 2004).



Rys. 2. Najważniejsze właściwości grzybów z rodzaju *Trichoderma* spp. (opracowanie własne)

2.1. KONKURENCJA O SKŁADNIKI ODŻYWCZE I PRZESTRZEŃ

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* mogą konkurować z patogenami o nisze ekologiczne lub miejsca infekcji na korzeniach roślin, a także o składniki pokarmowe (Benitez i in. 2004, Wojtkowiak-Gębarowska 2006, Błaszczyk i in. 2014, Oszust i in. 2020). Brak dostępu do składników pokarmowych jest najczęstszą przyczyną śmierci mikroorganizmów, dlatego też rywalizacja o główne substraty odżywcze, takie jak węgiel, azot i żelazo, odgrywa ważną rolę w interakcjach między grzybami pożytecznymi i patogenicznymi (Vinale i in. 2014). W przypadku większości grzybów strzępkowych pobieranie żelaza jest niezbędne do przeżycia (Eisendle i in. 2004, Miethke 2013). W środowisku tlenowym żelazo występuje głównie w postaci Fe^{3+} i ma tendencję do tworzenia nierozpuszczalnych wodorotlenków i oksywodorotlenków, przez co staje się niedostępne dla mikroorganizmów (Miethke 2013). Jedynie mikroorganizmy, które wydzielają siderofory są w stanie rosnąć w naturalnych środowiskach, wykorzystując resztki niedostępnego żelaza (Johnson 2008). Do takich należą niektóre szczepy *Trichoderma*, m.in. *Botrytis cinerea*, *Pythium* i *Fusarium*, które dzięki wytwarzaniu sideroforów, wychwytyują jony żelaza ze środowiska i tym samym hamują rozwój patogenów roślin poprzez pozbawienie ich źródeł tego pierwiastka (Benitez i in. 2004, Wojtkowiak-Gębarowska 2006, Błaszczyk i in. 2014, Vinale i in. 2014). Siderofory wytwarzane przez mikroorganizmy oprócz transportu żelaza pełnią inne funkcje, w tym wzmacnianie patogenności i magazynowanie żelaza wewnątrzkomórkowego (Miethke 2013). *Trichoderma* spp. mogą również konkurować z innymi grzybami w ryzosferze o źródła węgla i azotu.

Zapotrzebowanie na węgiel i energię pokrywają cukry proste i złożone oraz puryny, pirymidyny, aminokwasy, tiamina, aldehydy i kwasy organiczne, zwłaszcza długołańcuchowe kwasy tłuszczowe, a nawet metanol i metyloamina. Najczęściej stosowanym źródłem azotu jest amoniak, ale aminokwasy, mocznik, azotyny, azotany również mogą zapewnić obfity wzrost wegetatywny. Wraz ze wzrostem stężenia azotu w podłożu liczne szczepy *Trichoderma* spp. rozpoczynają masową produkcję konidiów i chlamydo spor (Papavizas 1985, Živković i in. 2010).

2.2. ANTYBIOZA

Aktywność biologiczna *Trichoderma* wynika również z produkcji szerokiej gamy metabolitów wtórnych, które mają toksyczny lub hamujący wpływ na fitopatogeny (Ghisalberti 2002, Reino i in. 2008). Metabolity wtórne pełnią kilka funkcji biologicznych i odgrywają ważną rolę w regulowaniu interakcji między organizmami (Hanson 2003). Niektóre z nich mogą również modyfikować wzrost i metabolizm roślin, podczas gdy inne wydają się być ukierunkowane na określone procesy życiowe grzybów, takie jak sporulacja i wydłużanie strzępek (Keller i in. 2005). Począwszy od odkrycia gliotoksyny przez Weindlinga i Emersona (1936), na przestrzeni lat odnotowano opisy licznych substancji wydzielanych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*, przy czym szacuje się, że grzyby te wytwarzają znacznie ponad 1000 związków (Hermosa i in. 2014). Wśród nich do najlepiej zbadanych należą: peptaibole (np. trichokoniny, alametacyna), małe peptydy nierybosomalne (np. gliotoksyny, siderofory), poliketydy (np. aspinolidy, trichodermaketony), terpeny (np. trichoteceny) i pirony (np. 6-pentylo-2H-piran-2-on (6-PP) (Mukherjee i in. 2013, Hermosa i in. 2014). Gatunki *Trichoderma* są również zdolne do wytwarzania enzymów rozkładających ścianę komórkową, takich jak: celulaza, ksylanaza, pektynaza, glukanaza, lipaza, amylaza, arabinaza i proteaza (Strakowska i in. 2014). U grzybów z rodzaju *Trichoderma* działanie antybiotyków często łączy się z działaniem enzymów litycznych, co skutkuje wyższym poziomem antagonizmu niż uzyskiwany przy wykorzystaniu każdego z tych mechanizmów osobno (Howell 1998, Monte 2001, Błaszczuk i in. 2014). W tabeli 1 przedstawiono przykłady metabolitów wtórnych wyizolowanych z *Trichoderma* spp., które wykazują bioaktywność względem fitopatogenów.

Tabela 1

Bioaktywne metabolity pochodzące z różnych gatunków *Trichoderma* spp.
(opracowanie własne)

Nazwa metabolitu	Gatunek grzyba	Bioaktywność antygrzybowa	Publikacja
Gliotoksyna	<i>T. virens</i> ITC-4777	hamowanie wzrostu: <i>R. bataticola</i> (ED ₅₀ of 0.03 g/mL), <i>M. phaseolina</i> (ED ₅₀ = 1,76 g·ml ⁻¹), <i>P. deharyanum</i> (ED ₅₀ = 29,38 g·ml ⁻¹), <i>P. aphanidermatum</i> (ED ₅₀ = 12,02 g·ml ⁻¹), <i>S. rolfsii</i> (ED ₅₀ = 2,11 g·ml ⁻¹), <i>R. solani</i> (ED ₅₀ = 3,18 g·ml ⁻¹)	Shyamli i in. 2005
Glioviryna	<i>T. longibrachiatum</i>	hamowanie wzrostu <i>R. solani</i>	Nakano i in. 1990
	<i>T. virens</i>	hamowanie wzrostu <i>P. ultimum</i>	Howell i in. 1983
Trichokonina VI Trichokonina VII Trichokonina VIII	<i>T. koningii</i> SMF2	hamowanie wzrostu: <i>R. solani</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>V. dahliae</i> , <i>B. cinerea</i>	Yan i in. 2006
Trichokonina VI	<i>T. pseudokoningii</i>	silne działanie przeciwgrzybowe wobec <i>A. citrullina</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>P. parasitica</i> oraz umiarkowane wobec <i>V. dahliae</i>	Shi i in. 2012
6-pentyl- α -piron (6-pp)	<i>T. harzianum</i> IMI 288012	<i>R. solani</i> (zahamowanie wzrostu średnicy kolonii o 69,6%) <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>Lycopersici</i> (zahamowanie wzrostu średnicy kolonii o 31,7% oraz całkowite zahamowanie kiełkowania zarodników)	Scarselletti i Faull 1994
	<i>Trichoderma</i> spp.	<i>B. cinerea</i> – w przypadku przechowywanych owoców kiwi zastosowanie pironu 6-PP w dawce od 0,4 do 4 mg·ml ⁻¹ znacząco ograniczyło gnicie owoców	Poole i in. 1998
		zróżnicowany stopień zahamowanie wzrostu wielu gatunków <i>Fusarium</i> spp.	Jeleń i in. 2014
5-hydroxy-2,3-dimethyl-7-methoxychromone	<i>T. harzianum</i> M10	<i>R. solani</i> (45% zahamowania wzrostu po 24 h inkubacji w stężeniu 100 ng)	Staropoli i in. 2023

cd. tab. 1

Nazwa metabolitu	Gatunek grzyba	Bioaktywność antygrzybowa	Publikacja
T22azaphilon	<i>T. harzianum</i> T22	całkowite zahamowanie wzrostu przy różnych dawkach podanych w nawiasie: <i>G. graminis</i> var. <i>tritici</i> (1 µg), <i>R. solani</i> (10 µg), <i>P. ultimum</i> (100 µg)	Vinale i in. 2006
T39 butenolid	<i>T. harzianum</i> T39	hamowanie wzrostu <i>R. solani</i> , <i>P. ultimum</i> oraz całkowite zahamowanie wzrostu <i>G. graminis</i> var. <i>tritici</i> przy stężeniu 100 µg	
Harzianolid		hamowanie wzrostu <i>R. solani</i> , <i>P. ultimum</i> oraz całkowite zahamowanie wzrostu <i>G. graminis</i> var. <i>tritici</i> przy stężeniu 200 µg	
Trichodermin	<i>T. brevicompactum</i>	hamujące działanie na <i>R. solani</i> (EC ₅₀ = 0,25 µg·ml ⁻¹), <i>B. cinerea</i> (EC ₅₀ = 2,02 µg·ml ⁻¹)	Shentu i in. 2014
	<i>T. harzianum</i>	hamujące (98,2%) i terapeutyczne (97,4%) działanie na <i>B. cinerea</i> w dawce 150 mg·l ⁻¹	Shi i in. 2009

2.3. MYKOPASOŻYTNICTWO

Mykopasożytnictwo jest jednym z ważnych mechanizmów biologicznej aktywności *Trichoderma* spp. Szczepy tego rodzaju mają zdolność wykrywania fitopatogenów, a następnie rosną w ich kierunku. Strzępki *Trichoderma* spp. owijają się wokół strzępek fitopatogenu, następnie za pomocą appressorium przyczepiają się do powierzchni jego tkanek (Howell 2003, Steyaert i in. 2003). *Trichoderma* spp. dzięki wytwarzanym enzymom, takim jak chitynazy, glukanazy i proteazy, ostatecznie niszczy ścianę komórkową fitopatogenu (Steyaert i in. 2003, Harman i in. 2004). Chitynaza i β-1,3-glukanaza rozkładają polisacharydy ściany komórkowej na krótkie oligomery i w ten sposób ułatwiają gatunkom *Trichoderma* spp. penetrację do cytoplazmy fitopatogenów (Cruz i in. 1995). Podczas całego procesu *Trichoderma* spp. aktywuje również syntezę antybiotyków, które mogą oddziaływać synergistycznie z enzymami litycznymi, co znacznie wzmacnia proces destrukcyjny (Błaszczuk i in. 2014, Naher i in. 2014). W badaniach Živković i in. (2010) wykazano antagonistyczne właściwości *T. harzianum* przeciwko *Colletotrichum acutatum* i *C. glo-*

eosporioides, sprawcom antraknozy w uprawach sadowniczych. W doświadczeniu *in vitro* polegającym na wspólnym wzroście badanych grzybów w kulturach dwu-organizmowych z *T. harzianum* zanotowano zmniejszenie średnicy kolonii testowanych fitopatogenów o ponad 38% w stosunku do kolonii kontrolnych. Przy czym nie zaobserwowano wyraźnych stref inhibicji między badanymi grzybami (Živković i in. 2010). Ponadto *T. harzianum* spowodował również ponad 86% zahamowanie kiełkowania konidiów, które dodatkowo skurczyły się i zmieniły kształt (Živković i in. 2010). W przytoczonych badaniach wskazano również na mykopasożytnictwo jako główny mechanizm antagonistycznego działania *T. harzianum* w stosunku do *C. acutatum* i *C. gloeosporioides*. Strzępki *T. harzianum* rosły początkowo obok, następnie owijały się wokół strzępek fitopatogenów, ostatecznie niszcząc testowane grzyby (Živković i in. 2010).

3. WSPOMAGANIE WZROSTU ROŚLIN

Gatunki *Trichoderma* to w większości oportunistyczne symbionty zasiedlające korzenie roślin (Benitez i in. 2004, Harman i in. 2004, Harman 2006, Błaszczyk i in. 2014). Wykazano, że niektóre szczepy występujące w ryzosferze mają bezpośredni wpływ na rośliny, zwiększając ich potencjał wzrostu i pobieranie składników odżywczych, efektywność wykorzystania nawozów, procent i tempo kiełkowania nasion oraz stymulację mechanizmów obronnych roślin przed uszkodzeniami biotycznymi i abiotycznymi (Shoresh i in. 2010). *Trichoderma* spp. wnika w zewnętrzne warstwy epidermy i nawiązuje interakcję chemiczną z rośliną. Początkowo grzyb jest „odgradzany” przez roślinę, ale nie zabijany (Harman 2011). Zdolność do kolonizacji korzeni roślin w dużym stopniu zależy od tolerancji danego szczepu na wydzielane przez roślinę substancje obronne (Hermosa i in. 2012). Szczepy *Trichoderma* są odporne na związki toksyczne wytwarzane przez rośliny, m.in. fitoaleksyny, flawonoidy, terpenoidy i fenole, które mają za zadanie chronić roślinę i zapobiegać kolonizacji korzeni przez fitopatogeny (Benitez i in. 2004, Błaszczyk i in. 2014). Aby stłumić lub tolerować mechanizmy obronne gospodarza, *Trichoderma* syntetyzuje białka, które zapobiegają działaniu reaktywnych form tlenu, inaktywują peptydy przeciwdrobnoustrojowe i hamują proteazy wytwarzane przez rośliny (Esparza-Reynoso i in. 2020). Dowiedziono również, że *Trichoderma* może wytwarzać fitohormony, takie jak: auksyny, cytokininy i gibereliny (Martinez-Medina i in. 2016). Choć wydaje się, że *Trichoderma* może manipulować układem odpornościowym roślin, jej kolonizacja ogranicza się jedynie do epidermy korzeni i pierwszej warstwy komórek korowych. Dzieje się tak dzięki systemowi sprzężenia zwrotnego, w którym *Trichoderma* spp., kolonizując przestrzeń międzykomórkowe, indukuje pobliskie komórki do wytwarzania związków fenolowych, które zapobiegają rozwojowi grzyba wewnątrz korzeni (Martinez-Medina i in. 2016). Harman i in. (2004) wykazali, że inokulacja roślin kukurydzy szczepem *T. harzianum* T22 może znacząco pobudzić ich wzrost, zmienić strukturę i zwiększyć aktywność korzeni. Podobne

właściwości zaobserwowano w badaniach jednorocznych sadzonek *Pinus sylvestris* var. *mongolica* inokulowanych szczepami *T. harzianum* E15 i *T. virens* ZT05 (Halifu i in. 2019). Ponadto inokulacja szczepami *Trichoderma* wpłynęła na wzrost zawartości składników odżywczych w glebie i aktywność enzymów w glebie ryzosferowej sadzonek *P. sylvestris* var. *mongolica*. Inokulacja miała również znaczący wpływ na strukturę zbiorowisk grzybów w glebie ryzosferowej sadzonek sosny, szczególnie na poziomie rodzaju (Halifu i in. 2019). Niektóre szczepy *Trichoderma* spp. rozpuszczają i udostępniają roślinom różne składniki odżywcze, takie jak: fosforany, żelazo, miedź, mangan i cynk, które mogą być niedostępne dla roślin w niektórych glebach. *T. harzianum* T-22 redukuje utlenione jony metali, zwiększając ich rozpuszczalność, a także wytwarza siderofory, które chelatują żelazo (Altomare i in. 1999, Benitez i in. 2004, Vinale i in. 2008). Ponadto szczepy *Trichoderma* spp. wytwarzają kwas indolilo-3-octowy (IAA) – auksynę, która stymuluje procesy podziału, wydłużania i różnicowania komórek, zwiększając tym samym wzrost i plon rośliny żywicielskiej (Ji i in. 2019).

4. INDUKCJA ODPORNOŚCI ROŚLIN

Obecność *Trichoderma* spp. w roślinach stymuluje indukcję odporności systemicznej (ISR, ang. *Induced Systemic Resistance*) (Benitez i in. 2004, Vinale i in. 2008). Grzyby te były w stanie korzystnie modyfikować odpowiedź roślin z rodzin: Poaceae, Solanaceae i Cucurbitaceae na infekcję przez grzyby (*R. solani*, *B. cinerea*, *Colletotrichum* spp., *Magnaporthe grisea*, *Phytophthora* spp., *Alternaria* spp. itp.), bakterie (*Xanthomonas* spp., *Pseudomonas syringae* itp.), a nawet wirusy (wirus mozaiki ogórka) (Woo i in. 2006). Wykazano również, że inokulacja gleby lub wstępne traktowanie roślin szczepami *Trichoderma* spp., na przykład poprzez zaprawianie nasion, zwiększa ich odporność na porażenie przez fitopatogeny (Harman i in. 2004). Co więcej, odporność indukowana przez szczepy *Trichoderma* spp. kolonizujące korzenie roślin nie ogranicza się jedynie do korzeni, ale obejmuje wszystkie organy roślinne, działając ogólnoustrojowo (Harman i in. 2004). Przykładem jest *T. harzianum* szczep T22, który dodany do sadzonek pomidorów na początku sezonu wegetacyjnego spowodował, że dojrzałe rośliny były znacznie mniej podatne na wczesną zarazę liści (Harman i in. 2004). Z kolei badania Vitti i in. (2015) potwierdziły skuteczność wczesnej inokulacji roślin *T. harzianum* T-22 w indukcji ogólnoustrojowej odporności u *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* przeciwko wirusowi mozaiki ogórka (CMV), poprzez interakcję z hormonami roślinnymi. Ponadto szczep T22 był skuteczny w polepszeniu wydajności fotosyntezy i promowaniu wzrostu roślin (Vitti i in. 2015). Zatem szczepy *Trichoderma* spp. nie tylko kontrolują choroby poprzez wytwarzanie metabolitów toksycznie oddziałujących na fitopatogeny, ale również skłaniają roślinę do zmiany jej fizjologii i metabolizmu na wytwarzanie związków warunkujących jej odporność (Harman i in. 2004). Na przykład *T. virens* i *T. atroviride* wydzielają białka Sm1 i Epl1, które indukują

systemiczną odporność roślin pomidora na grzyby *Alternaria solani* i *Botrytis cinerea* oraz na patogeniczną bakterię *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Salas-Marina i in. 2015). Badania Salas-Marina i in. (2015) wykazały, że *T. atroviride* i *T. virens* promują wzrost roślin pomidora, przy czym szczep *T. virens* jest bardziej skuteczny niż *T. atroviride* w promowaniu przyrostu biomasy *S. lycopersicum*.

5. TRICHODERMA SPP. JAKO ŚRODEK KONTROLI BIOLOGICZNEJ

Szczepy *Trichoderma* spp. są powszechnie stosowane jako biopestycydy, bionowozy czy stymulatory wzrostu i odporności roślin (Woo i in. 2014). Jednym z najważniejszych czynników określających potencjał szczepów *Trichoderma* spp. jako czynników biologicznej kontroli jest ich zdolność do rozmnażania się i tworzenia z korzeniami roślin asocjacji przypominających mykoryzę (Benitez i in. 2004, Hohmann i in. 2011). Ponadto grzyby te potrafią dostosować się do różnych warunków środowiska oraz wykazują synergizm z wieloma powszechnie stosowanymi środkami ochrony roślin i innymi środkami kontroli biologicznej, umożliwiając w ten sposób redukcję stosowanych dawek pestycydów (Schirmbock i in. 1994, Lorito i in. 1996, Woo i in. 2002). Idealnym zastosowaniem są rodzime szczepy *Trichoderma* spp. izolowane ze środowiska, w którym będą wykorzystane, gdyż są one przystosowane do specyficznych warunków, takich jak temperatura, wilgotność i dostępność składników pokarmowych. Eliminujemy tym samym obawy związane z wprowadzaniem do danego środowiska gatunków egzogennych (Howell 2003). Obecnie na polskim rynku dostępnych jest kilka biopreparatów wykorzystujących różne gatunki i szczepy *Trichoderma*. Jednym z takich produktów jest Trianium P (Koppert BV, Holandia), zawierający zarodniki *T. harzianum* szczep T-22, które są zdolne do kiełkowania i wzrostu w różnych glebach o odczynie w zakresie pH = 4–8,5. Biopreparat redukuje częstość porażenia różnych gatunków roślin przez grzyby z rodzajów: *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Pythium* sp. Gatunek *T. harzianum* znany jest ze swoich zdolności do wytwarzania antybiotyków, wspomaganie wzrostu korzeni i stymulowania systemów obronnych roślin (Benitez i in. 2004). Kolejny produkt TRICHODERMA (GBR dr inż. Robert Cysewski) to preparat mikrobiologiczny zawierający zarodniki grzybów z rodzaju *Trichoderma* np.: *T. atroviride*, *T. koningii*, *T. atroviride* czy *T. harzianum* stosowany w uprawach roślin strączkowych, zbożowych, okopowych, oleistych oraz warzyw, a także w sadownictwie, leśnictwie i pielęgnacji roślin ozdobnych (Gospodarstwo... 2023). TRICHOFIT (BIOFELD) to biopreparat poprawiający właściwości gleby. Może być stosowany w uprawach roślin owocowych, warzywnych, ozdobnych oraz zbóż (Biofeld... 2023). VITAL PLUS (ROLMIX) zawiera szczep grzyba *Trichoderma viride* B35, który chroni system korzeniowy rośliny przed patogenami. Wspomaga również naturalne mechanizmy odpornościowe i wzrost rośliny. Stosowany jest w uprawach truskawek, warzyw, roślin ozdobnych oraz drzew i krzewów owocowych i ozdobi-

nych, jako dodatek do podłoży i zaprawa sadzonek przed posadzeniem (<http://www.rolmix.pl/vital-plus.html>). Ponadto istnieje szereg biopreparatów na bazie *T. harzianum* o podobnym działaniu, dostępnych w innych krajach; są to: SUPRESIVIT w Czechach, T-GRO w USA, ROOTSHIELD WP w Australii, TRICHODEX w Nowej Zelandii (Woo i in. 2014, Pylak i in. 2019). Dodatkowo na rynku europejskim dostępne są preparaty zawierające w swym składzie inne gatunki *Trichoderma* spp., między innymi: REMEDIER (Isagro S.p.A) na bazie *T. asperellum* ICC 012; XEDAVIR (Xeda Italia S.r.l) na bazie *T. asperellum* TV1; TRI-SOIL (Certis Europe) na bazie *T. atroviride* I-1237; AVENGELUS (MycoSolutions) na bazie *T. atrobrunneum* T720 (Martinez i in. 2023). Szczegółowa lista zarejestrowanych w Polsce biologicznych środków ochrony roślin i biopreparatów znajduje się na stronie Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi, pod linkiem: <https://www.gov.pl/web/rolnictwo/rejestr-rodkow-ochrony-roslin>.

6. PODSUMOWANIE

Konwencjonalne praktyki rolnicze wykorzystują pestycydy do zwalczania chorób roślin i szkodników. Niestety niekontrolowane stosowanie chemicznych środków ochrony roślin i nawozów, szczególnie w dużych dawkach, przyczynia się do powstawania bardziej odpornych form patogenów i szkodników (Mahmood i in. 2016). Nadmierne stosowanie pestycydów w rolnictwie może również powodować niepożądane skutki uboczne dla ludzi i środowiska przyrodniczego (Heong i in. 2015). Zatem, wyzwaniem, przed jakim stoi współczesne rolnictwo, jest uzyskanie jak największego plonu w sposób przyjazny dla środowiska. Dlatego alternatywą dla środków chemicznych stają się preparaty biologiczne posiadające w swym składzie szczepy z rodzaju *Trichoderma*, uznawane za skuteczne narzędzie biologicznego zwalczania licznych patogenów i szkodników roślin. Co więcej, obecne badania wykazały, że grzyby te wprowadzone do gleby wspomagają wzrost roślin oraz indukują ich systemiczną odporność, co prowadzi do zwiększenia plonu (Zin i Baddaludin 2020). Ponadto odporność *Trichoderma* spp. na powszechnie stosowane pestycydy oraz synergizm z wieloma środkami kontroli biologicznej umożliwia łączenie tych grzybów w preparatach o niskim stężeniu różnych związków chemicznych, co pozwala na zmniejszenie stosowanych dawek. Zatem zastosowanie antagonistycznych szczepów *Trichoderma* jako środka kontroli biologicznej w uprawach polowych może przynieść wiele korzyści.

7. LITERATURA

1. Altomare C., Norvell W.A., Björkman T., Harman G.E.: Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Applied and Environmental Microbiology, 1999, **65**: 2926-2933.

2. Benitez T., Rincón A.M., Limón M.C., Codón A.C.: Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. *International Microbiology* 2004, **7**: 249-260.
3. Biofeld Industrial biotechnology; protokół dostępu: <https://enzim-biofeld.eu/trichofit/> (data dostępu 12.07.2023).
4. Błaszczak L., Siwulski M., Sobieralski K., Lisiecka J., Jędryczka M.: *Trichoderma* spp. application and prospects for use in organic farming and industry. *Journal of Plant Protection Research* 2014, **54**: 309-317.
5. Chet I., Inbar J., Hadar I.: Fungal antagonists and mycoparasites. In: *The Mycota IV: Environmental and microbial relationships*, D.T. Wicklow, B. Söderström (eds). Springer-Verlag, Berlin, 1997, pp. 165-184.
6. Cruz L., Pinter-Toro J.A., Benitez T., Llobell A.: Purification and characterization of an endo-b-1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum* that is related to its mycoparasitism. *Journal of Bacteriology*, 1995, **177**: 1864-1877.
7. Druzhinina I.S., Seidl-Seiboth V., Herrera-Estrella A., Horwitz B.A., Kenerley C.M., Monte E., Mukherjee P.K., Zeilinger S., Grigoriev I.V. Kubicek C.P.: *Trichoderma*: The genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, **9**: 749-759.
8. Eisenle M., Oberegger H., Buttinger R., Illmer P., Haas H.: Biosynthesis and uptake of siderophores is controlled by the PacC-mediated ambient-pH regulatory system in *Aspergillus nidulans*. *Eukaryotic Cells*, 2004, **3**: 561-563.
9. Elad Y., David D.R., Levi T., Kapat A., Kirshner B.: *Trichoderma harzianum* T-39-mechanisms of biocontrol of foliar pathogens. In: *Modern fungicides and antifungal compounds II*. H. Lyr, P.E. Russell, H.W. Dehne, and H.D. Sisler (eds). Andover, Hants, UK: Intercept. 1999, pp. 459-467.
10. Esparza-Reynoso S., Pelagio-Flores R., López-Bucio J.: Mechanism of plant immunity triggered by *Trichoderma*. *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Elsevier, Amsterdam, 2020, p. 57-73.
11. Ferreira F.V., Musumeci M.A.: *Trichoderma* as biological control agent: scope and prospects to improve efficacy. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2021, **37**: 90.
12. Ghisalberti E.L.: Anti-infective agents produced by the hyphomycetes genera *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Current Medicinal Chemistry*, 2002, **1**: 343-74.
13. Gospodarstwo Badawczo-Rozwojowe, dr inż. Robert Cysewski; protokół dostępu: <https://trichoderma.agro.pl/> (data dostępu: 12.07.2023).
14. Halifu S., Deng X., Song X., Song R.: Effects of Two *Trichoderma* strains on plant growth, rhizosphere soil nutrients, and fungal community of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* Annual Seedlings. *Forests*, 2019, **10**, 758; <https://doi.org/10.3390/f10090758>
15. Hanson J.R.: *Natural products: the secondary metabolites*. Vol. 17 Ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry 2003, pp. 154.
16. Haran S., Schickler H., Oppenheim A., Chet I.: Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. *Phytopathology*, 1996, **86**: 980-985.
17. Harman G.E.: Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity. *New Phytologist*, 2011, **189**: 647-649.
18. Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M.: *Trichoderma* species – Opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2004, **2**: 43-56.
19. Harman G.E.: Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 2006, **96**: 190-194.

20. Harwoko H., Daletos G., Stuhldreier F., Lee J., Wesselborg S., Feldbrügge M., Müller W.E.G., Kalscheuer R., Ancheeva E., Proksch P.: Dithiodiketopiperazine derivatives from endophytic fungi *Trichoderma harzianum* and *Epicoccum nigrum*. *Natural Product Research*, 2019, p. 1-9.
21. Heong K.L., Escalada M.M., Van Chien H., Reyes J.H.D.: Are there productivity gains from insecticide applications in rice production? In: *Rice planthoppers*, K.L. Heong, J.A. Cheng and M.M. Escalada (eds). Dordrecht: Springer, 2015, pp. 179-189.
22. Hermosa M.R., Grondona I., Iturriaga E.A., Diaz-Minguez J.M., Castro C., Monte E., Garcia-Acha I.: Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**: 1890-1898.
23. Hermosa R., Viterbo A., Chet I., Monte E.: Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 2012, **158**: 17-25.
24. Hermosa R., Cardoza R.E., Rubio M.B., Gutierrez S., Monte E.: Chapter 10-secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma* A2-Gupta, Vijai K. In: *Biotechnology and biology of Trichoderma*, M.S. Herrera-Estrella, R.S.U. Druzhinina, M.G. Tuohy (eds). Elsevier, Amsterdam, 2014, pp. 125-137.
25. Hohmann P., Jones E.E., Hill R.A., Stewart A.: Understanding *Trichoderma* in the root system of *Pinus radiata*: associations between rhizosphere colonisation and growth promotion for commercially grown seedlings. *Fungal Biology*, 2011, **115**: 759-767.
26. Howell C.R.: Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases; the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 2003, **87**(1): 4-10.
27. Howell C.R.: The role of antibiosis in biocontrol. In: *Trichoderma & Gliocladium*, G.E. Harman, C.P. Kubicek (eds). Vol. 2. Taylor & Francis, Padstow, 1998, pp. 173-184.
28. Howell C.R., Stipanovic R.D.: Gliovirin, a new antibiotic from *Gliocladium virens*, and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. *Canadian Journal of Microbiology*, 1983, **29**: 321-324.
29. Index Fungorum; protokół dostępu: <https://www.indexfungorum.org/> (data dostępu 20.09.2023).
30. Jeleń H., Błaszczuk L., Chełkowski J. et al.: Formation of 6-n-pentyl-2H-pyran-2-one (6-PAP) and other volatiles by different *Trichoderma* species. *Mycological Progress*, 2014, **13**: 589-600.
31. Ji S., Liu Z., Liu B., Wang Y.: Comparative analysis of biocontrol agent *Trichoderma asperellum* ACCC30536 transcriptome during its interaction with *Populus davidiana* × *P. alba* var *pyramidalis*. *Microbiological Research*, 2019, **227**, 126294; <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126294>
32. Johnson L.: Iron and siderophores in fungal-host interactions. *Mycol Res*, 2008, **112**: 170-83.
33. Keller N.P., Turner G., Bennett J.W.: Fungal secondary metabolism – from biochemistry to genomics. *Nature Reviews Microbiology*, 2005, **3**: 937-947.
34. COM/2020/381: Komunikat Komisji Do Parlamentu Europejskiego, Rady, Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-Społecznego i Komitetu Regionów Strategia „od pola do stołu” na rzecz sprawiedliwego, zdrowego i przyjaznego dla środowiska systemu żywnościowego. Bruksela 20.05.2020 r.
35. COM/2020/380: Komunikat Komisji do Parlamentu Europejskiego, Rady, Europejskiego Komitetu Ekonomiczno-Społecznego i Komitetu Regionów. Unijna strategia na rzecz bioróżnorodności 2030. Przywracanie przyrody do naszego życia. Bruksela 20.05.2020 r.
36. Lorito M., Woo S.L., D'Ambrosio M., et al.: Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1996, **9**(3): 206-213.

37. M a h m o o d I., Imadi S.R., Shazadi K., Gul A., Hakeem K.R.: Effects of pesticides on environment. In: Plant, soil and microbes, K.R. Hakeem, M.S. Akhtar, S.N.A. Abdullah (eds). Switzerlad: Spriner, 2016, pp. 253-269.
38. M a r t i n e z Y., Ribera J., Schwarze F.W.M.R., De France K.: Biotechnological development of *Trichoderma*-based formulations for biological control. Applied Microbiology and Biotechnology, 2023, **107(18)**: 5595-5612.
39. M a r t i n e z-Medina A., Pozo M.J., Cammue B.P.A., Vos C.M.F.: Belowground defence strategies in plants: the plant – *Trichoderma* dialogue. 2016, p. 301-327.
40. M i e t h k e M.: Molecular strategies of microbial iron assimilation: from high-affinity complexes to cofactor assembly systems. Metallomics, 2013, **5**: 15-28.
41. M o n t e E.: Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. International Microbiology, 2001, **4**: 1-4.
42. M u k h e r j e P.K., Horwitz B.A., Herrera-Estrella A., Schmoll M., Kenerley C.M.: *Trichoderma* research in the genome era. Annual Review of Phytopathology, 2013, **51**: 105-129.
43. N a h e r L., Yusuf U.K., Isamil A., Hossain K.: *Trichoderma* spp.: a biocontrol agent for sustainable management of plant diseases. Pakistan Journal of Botany, 2014, **46**: 1489-1493.
44. N a k a n o H., Hara M., Mejiro T., Ando K., Saito Y., Morimoto M.: DC1149B, DC1149R and their manufacture with *Trichoderma*.1990, JP Patent 02218686.
45. O s z u s t K., Cybułska J., Frąç M.: How do *Trichoderma* genus fungi win a nutritional competition battle against soft fruit pathogens? A Report on Niche Overlap Nutritional Potentiation. International Journal of Molecular Sciences, 2020, **21(12)**, 4235; <https://10.3390/ijms21124235>
46. P a p a v i z a S.G.C.: *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. Annual Review of Phytopathology, 1985, **23**: 23-54.
47. P o o l e P.R., Ward B.G., Whitaker G.: The effects of topical treatments with 6-pentyl-2-pyrone and structural analogs on stem end post-harvest rots in kiwi fruit due to *Botrytis cinerea*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 1998, **77**: 81-86.
48. P y l a k M., Oszust K., Frąç M.: Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2019, **18**: 597-616.
49. R e i n o J.L., Guerrero R.F., Hernández-Galán R., Collado I.G.: Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. Phytochemistry Reviews 2008, **7**: 89-123.
50. Rolmix: Vital Plus; protokół dostępu: <http://www.rolmix.pl/vital-plus.html> (data dostępu 12.07.2023)
51. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 2009/128/WE z dnia 21 października 2009 r. dotyczące wprowadzania do obrotu środków ochrony roślin i uchylające dyrektywy Rady 79/117/EWG i 91/414/EWG (DzUrz UE 24.11.2009 PL, 309: s. 1-50).
52. S a l a s-Marina M.A., Isordia-Jasso M.I., Islas-Osuna M.A., Delgado-Sánchez P., Jiménez Bremont J.F., Rodríguez-Kessler M., Rosales-Saavedra M.T., Herrera-Estrella A., Casas-Flores S.: The Epl1 and Sml1 proteins from *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens* differentially modulate systemic disease resistance against different life style pathogens in *Solanum lycopersicum*. Frontiers in Plant Science, 2015, **6**: 77.
53. S a l d a ñ a-Mendoza S.A., Pacios-Michelena S., Palacios-Ponce A.S., Chávez-González M.L., Aguilar C.N.: *Trichoderma* as a biological control agent: Mechanisms of action, benefits for crops and development of formulations. World Journal of Microbiology & Biotechnology, **39(10)**, 269; <https://10.1007/s11274-023-03695-0>

54. Scarselletti R., Faull J.L.: *In vitro* activity of 6-pentyl- α -pyrone, a metabolite of *Trichoderma harzianum*, in the inhibition of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Mycological Research, 1994, **98**: 1207-1209.
55. Schirmböck M., Lorito M., Wang Y.L., Hayes C.K., Arisan-Atac I., Scala F., et al.: Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. Applied and Environmental Microbiology, 1994, **60(12)**: 4364-70.
56. Shentu X.P., Zhan X.H., Ma Z., Yu X.P., Zhang C.X.: Antifungal activity of metabolites of the endophytic fungus *Trichoderma brevicompactum* from garlic. Brazilian Journal of Microbiology, 2014, **45**: 248-254.
57. Shi M., Chen L., Wang X.W., Zhang T., Zhao P.B., Song X.Y., Sun C.Y., Chen X.L., Zhou B.C., Zhang Y.Z.: Antimicrobial peptaibols from *Trichoderma pseudokoningii* induce programmed cell death in plant fungal pathogens. Microbiology, 2012, **158**: 166-175.
58. Shi Y.J., Shentu X.P., Yu X.P.: Identification of an endophytic fungus isolated from *Llex cornuta* and the biocontrol effects of its secondary metabolite. Acta Phytopathologica Sinica, 2009, **39**: 362-367.
59. Shoreish M., Harman G.E., Mastouri F.: Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual Review of Phytopathology, 2010, **48**: 21-43.
60. Shyamli S., Prem D., Rs T., Atar S.: Production and antifungal activity of secondary metabolites of *Trichoderma virens*. Pesticide Research Journal, 2005, **17**: 26-29.
61. Sivasithamparam K., Ghisalberti F.L.: Secondary metabolism *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: *Trichoderma* and *Gliocladium*, C.P. Kubicek and G.E. Harman (eds). Vol. I, Taylor and Francis Ltd. London., 1998, pp. 139-191.
62. Sood M., Kapoor D., Kumar V., Sheteiwy M.S., Ramakrishnan M., Landi M., Araniti F., Sharma A.: *Trichoderma*: The “Secrets” of a multitasking biocontrol agent. Plants, 2020, **9(6)**, 762; <https://doi.org/10.3390/plants9060762>
63. Staropoli A., Iacomino G., De Cicco P. et al.: Induced secondary metabolites of the beneficial fungus *Trichoderma harzianum* M10 through OSMAC approach. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 2023, **10**, 28; <https://10.1186/s40538-023-00383-x>
64. Steyert J.M., Ridgway H.J., Elad Y., Stewart A.: Genetic basis of mycoparasitism: A mechanism of biological control by species of *Trichoderma*. Journal of Crop and Horticultural Science, 2003, **31**: 281-291.
65. Strakowska J., Błaszczuk L., Chełkowski J.: The significance of cellulolytic enzymes produced by *Trichoderma* in opportunistic lifestyle of this fungus. Journal of Basic Microbiology, 2014, **54(Suppl. 1)**: S2-13.
66. Tyśkiewicz R., Nowak A., Ozimek E., Jaroszuk-Ścisiel J.: *Trichoderma*: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. International Journal of Molecular Sciences, 2022, **23**, 2329; <https://10.3390/ijms23042329>
67. Vinale F., Marra R., Scala F., Ghisalberti E.L., Lorito M., Sivasithamparam K.: Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. Letters in Applied Microbiology, 2006, **43(2)**: 143-148.
68. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo S.L., Lorito M.: *Trichoderma* – plant–pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry, 2008, **40(1)**: 1-10.

69. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., et al.: *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. Published online, 2014, p. 127-139.
70. V i t t i A., La Monaca E., Sofo A., Scopa A., Cuypers A., Nuzzaci M.: Beneficial effects of *Trichoderma harzianum* T-22 in tomato seedlings infected by *Cucumber mosaic virus* (CMV). *Bio Control*, 2015, **60**: 135-147.
71. We i n d l i n g R., Emerson O.H.: The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. *Phytopathology*, 1936, **26**: 1068-1070.
72. We i n d l i n g R.: *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology*, 1932, **22**: 837-845.
73. W o j t k o w i a k-Gębarowska E.: Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*. *Postępy Mikrobiologii*, 2006, **45**: 261-273.
74. W o o S., Fogliano V., Scala F., Lorito M.: Synergism between fungal enzymes and bacterial antibiotics may enhance biocontrol. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2002, **81(1-4)**: 353-6.
75. W o o S., Scala F., Ruocco M., Lorito M.: The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology*, 2006, **96**: 181-185.
76. W o o S., Ruocco M., Vinale F., Nigro M., Marra R., Lombardi N., Pascale A., Lanzuise S., Manganiello G., Lorito M.: *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *Open Mycology Journal*, 2014, **8**: 71-126.
77. Y a n S.X., Shen Q.T., Xie S.T., Chen X.L., Sun C.Y., Zhang Y.Z.: Broad-spectrum antimicrobial activity and high stability of Trichokonins from *Trichoderma koningii* SMF2 against plant pathogens. *FEMS Microbiology Letters* 2006, **260**: 119-125.
78. Y a o X., Guo H., Zhang K., Zhao M., Ruan J., Chen J.: *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. *Frontiers in Microbiology*, 2023, **14**, 1160551; <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1160551>
79. Z i n N.A., Badaluddin N.A.: Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences* *Annals of Agricultural Sciences*, 2020, **65**: 168-178.
80. Ž i v k o v i ć S., Stojanovic S., Ivanovic Z., Gavrilovic V., Popovic T., Jelica B.: Screening of Antagonistic Activity of Microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Archives of Biological Sciences*, 2010, **62**: 611-623.

WYKORZYSTANIE GRZYBÓW Z RODZAJU *TRICHODERMA* SPP. W PREPARATACH MIKROBIOLOGICZNYCH

Streszczenie

Słowa kluczowe: *Trichoderma*, antagonizm, kontrola biologiczna, biopreparaty

Gatunki należące do rodzaju *Trichoderma* są szeroko rozpowszechnione na całym świecie i łatwo je wyizolować z gleby, rozkładającego się drewna i innych form materii organicznej. *Trichoderma* ma szereg cech, które sprawiają, że grzyby te budzą ogromne zainteresowanie wśród badaczy. Wykazują one właściwości antagonistyczne wobec fitopatogenów, odznaczają się szybkim wzrostem oraz wykazują naturalną odporność na wiele toksycznych związków, w tym pestycydy. Niektóre szczepy występujące w ryzosferze mają bezpośredni wpływ na rośliny, zwiększając ich potencjał wzrostu i pobieranie składników odżywczych oraz stymulując mechanizmy obronne roślin w warunkach stresu biotycznego i abiotycznego.

W niniejszym rozdziale opisano właściwości antagonistyczne *Trichoderma* spp. oraz możliwości wykorzystania tych grzybów w postaci preparatów mikrobiologicznych jako czynnika wspomagającego wzrost roślin i biologiczną ochronę upraw.

THE USE OF FUNGI OF THE GENUS *TRICHODERMA* SPP. IN MICROBIOLOGICAL PREPARATIONS

Summary

Keywords: *Trichoderma*, antagonisms, biological control, biopreparations

Species belonging to the genus *Trichoderma* are widely distributed throughout the world and are easily isolated from soil, decaying wood, and other forms of plant organic matter. *Trichoderma* has a number of features that make these fungi of great interest among researchers. They show antagonistic properties against phytopathogens, have very fast growth and are naturally resistant to many toxic compounds, including pesticides. Some strains found in the rhizosphere have a direct effect on plants, increasing their growth potential and nutrient uptake, and stimulating plant defense mechanisms against biotic and abiotic damage.

This chapter describes the antagonistic properties of *Trichoderma* spp. and the possibility of using these fungi in the form of microbiological preparations as a factor promoting plant growth and biological crop protection.



Sylwia Siebielec

**X. POTENCJAŁ WYKORZYSTANIA BAKTERII
DO WSPOMAGANIA EFEKTYWNOŚCI
REMEDIACJI SKŁADOWISK I GLEB
ZANIECZYSZCZONYCH METALAMI**

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
tel. (0-81) 4786958
e-mail: ssiebielec@iung.pulawy.pl

1. WSTĘP

Środowisko składa się z lądu, atmosfery ziemskiej i wody. System Ziemi definiują cztery sfery: biosfera (organizmy), atmosfera (powietrze), litosfera (ląd) i hydrosfera (woda). Jest to zbiór komponentów wzajemnie powiązanych ze sobą. Zanieczyszczenia środowiska, które przypadkowo lub przy okazji celowych działań przedostają się do środowiska, powodują zaburzenia panującej w nim równowagi (Martin i Johanson 2012, Briffa i in. 2020). Niezbędne jest zrównoważone zarządzanie środowiskiem przyrodniczym, w tym ograniczanie dyspersji szkodliwych zanieczyszczeń, które mają wpływ na wszystkie organizmy żywe. Należy postrzegać ochronę środowiska przyrodniczego jako promocję zdrowia ludzi i zdrowia ekosystemów, które są ze sobą nierozzerwalnie połączone (Delany-Crowe i in. 2019).

2. ZANIECZYSZCZENIA W ŚRODOWISKU PRZYRODNICZYM

Zanieczyszczenie definiuje się jako wprowadzenie do środowiska substancji szkodliwych dla ludzi i innych organizmów żywych. Zanieczyszczenia to szkodliwe ciała stałe, ciecze lub gazy wytwarzane w wyższych niż zwykle stężeniach, które obniżają jakość środowiska przyrodniczego. Rewolucja przemysłowa była wielkim sukcesem pod względem technologicznym, społecznym i bytowym, jednak rozwój ten spowodował również produkcję ogromnych ilości zanieczyszczeń emitowanych do powietrza, gleby i wody. Urbanizacja i industrializacja osiągnęły bezprecedensowe i niepokojące rozmiary na całym świecie. Konsekwencje w postaci zmian klimatycznych oraz wprowadzenie zanieczyszczeń do gleb i wód wpłynęły na funkcjonowanie wielu ekosystemów, powodując poważne, niekiedy nieodwracalne zmiany, a w perspektywie długoterminowej negatywnie wpływające na dobrobyt człowieka (Moore 2009, Hewelke i Graczyk 2016, Marlon i in. 2019). Zanieczyszczenia gleb dotyczą nie tylko terenów przemysłowych, ale również gruntów wykorzystywanych do produkcji rolniczej. Grunty rolne są nadal dość często położone w granicach miast i w sąsiedztwie obszarów przemysłowych i poprzemysłowych. Same są również narażone na zanieczyszczenia pochodzące z intensywnej produkcji rolnej (środki ochrony roślin) lub z rozproszonych źródeł emisji. Jednym z podstawowych celów Misji Gleba (ang. *Soil Deal for Europe*) jest ograniczenie procesów zanieczyszczenia gleb, regeneracja gleb zanieczyszczonych oraz powszechne wdrożenie remediacji tych gleb, aby ograniczyć powierzchnię gruntów skażonych. Misja Gleba jest jedną z pięciu misji finansowanych w ramach unijnego programu badań i innowacji Horyzont Europa. Jej celem jest stworzenie 100 Żywych Laboratoriów (ang. *Living Lab*) i Latarni Morskich (ang. *Lighthouse*) do 2030 r. w celu promowania zrównoważonego zarządzania glebami na obszarach miejskich, wiejskich, leśnych i przemysłowych.

Jednym ze sposobów rozwiązania światowego problemu, jakim jest zanieczyszczenie środowiska, jest zwiększanie świadomości społecznej w połączeniu z mul-

tidyscyplinarnym podejściem naukowym (Manisalidis i in. 2020). Już dziś wiemy, że wkraczamy w nową epokę geologiczną – epokę antropocenu, która charakteryzuje się znacznym wpływem działalności człowieka na ekosystem. Antropocen posiada szereg unikalnych cech, w tym zmiany klimatu, spadek bioróżnorodności, a także zanieczyszczenia środowiska i brak skutecznej polityki gospodarowania odpadami (Zalasiewicz i in. 2011).

Wzrost poziomu zanieczyszczeń generowanych i uwalnianych do środowiska przyrodniczego w wyniku działalności antropogenicznej, takiej jak procesy przemysłowe lub produkcja rolnicza wzbudza zainteresowanie społeczeństwa. Niestety liczne obserwacje potwierdzają, iż uwaga opinii publicznej często nie jest wystarczająco przyciągana i podtrzymywana, co wynika z dość powolnej z reguły degradacji zdrowia ludzkiego w wyniku oddziaływania zanieczyszczeń. Należy podkreślić, iż narażenie na toksyczne substancje lub metale może stanowić poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego, ale zbyt często pozostaje w dużej mierze niezidentyfikowane bądź rozpoznane zbyt późno. Badania środowiskowe powinny koncentrować się na zapewnianiu odpowiedniej identyfikacji, oceny i charakterystyki zanieczyszczeń oraz sposobów remediacji środowiska przyrodniczego (Olawoyin i in. 2018, Baby i in. 2019).

3. PIERWIASTKI ŚLADOWE – WPLYW NA GLEBĘ I ROŚLINĘ

Zanieczyszczenie gleb pierwiastkami śladowymi pochodzi zarówno z naturalnych źródeł, tzn. obecności pierwiastków w skale macierzystej gleby, jak i źródeł antropogenicznych, takich jak emisja pyłów z obiektów przemysłowych lub niewłaściwej gospodarki odpadami (Khan i in. 2008). Losy i dalsza migracja pierwiastków w glebie zależy od formy, w jakiej do niej trafiły, ich postaci chemicznej oraz właściwości gleby. W glebie potencjalne toksyczne pierwiastki śladowe są w pewnej części adsorbowane lub wytrącane w szybkich reakcjach (minuty, godziny), a następnie podlegają powolnym przemianom, ulegając redystrybucji w formy chemiczne o różnej biodostępności i mobilności, a w efekcie również toksyczności (Shiowatana i in. 2001). Pojęcie mobilności metali w glebie obejmuje zagadnienie ryzyka zanieczyszczenia innych elementów środowiska, np. w wyniku wymywania zanieczyszczeń. Pojęcie biodostępności określa ryzyko absorpcji danego zanieczyszczenia przez organizmy. Poziom uwstecznienia potencjalnie toksycznych pierwiastków śladowych w glebie, a tym samym ich mobilność i biodostępność, zależą od wielu właściwości gleby, do których zaliczyć można, m.in.: uziarnienie, zawartość materii organicznej, odczyn, pojemność sorpcyjną, zawartość makro- i mikroelementów, potencjał oksydacyjno-redukcyjny i aktywność mikroorganizmów. Wszystkie te czynniki decydują o procesach sorpcji, kompleksowania, wytrącania i okluzji pierwiastków w glebie (Kabata-Pendias i in. 1995, Ashworth i Alloway 2004).

Toksyczność pierwiastków dla roślin może mieć duże znaczenie dla możliwości przyrodniczego zagospodarowania skażonych gleb i obszarów przemysłowych. Poprzez ewolucję rośliny występujące w siedliskach bogatych w metale wytworzyły cechy adaptacyjne, takie jak unikalne cechy morfologiczne i fizjologiczne, które umożliwiają tolerowanie wysokich ilości metali (Woch i in. 2016, Wójcik i in. 2017). Metalofity to rośliny zdolne do rozwoju na gruntach o bardzo wysokiej koncentracji metali. Można je podzielić na trzy główne grupy:

I – rośliny wykluczające metale (ang. *metal excluders*);

II – hiperakumulatory (ang. *hyperaccumulators*);

III – metaloindykatory (ang. *metalindicators*).

„Metal excluders” to rośliny, które skutecznie potrafią ograniczyć poziom translokacji metali ciężkich. Do tej grupy należy większość roślin tolerujących pierwiastki śladowe. Niektóre z nich utrzymują stosunkowo niski poziom pierwiastków w częściach nadziemnych, mogą natomiast zawierać duże ilości metali w swoich korzeniach (Baker 1981). Hiperakumulatory należą do roślin, które nie tylko tolerują wysokie stężenia określonych pierwiastków w podłożu, ale aktywnie je pobierają z podłoża i gromadzą w swoich tkankach do poziomów, które są wielokrotnie większe niż w przypadku typowych roślin. Zawartość pierwiastków takich jak nikiel lub cynk w hiperakumulatorach może sięgać kilku procent suchej masy części nadziemnych (Brooks i in. 1977, Brooks 1998). Badania nad hiperakumulatorami pozwalają na szczegółowe poznanie fizjologii pobierania, transportu i sekwestracji metali, a także ewolucję i adaptację roślin w ekstremalnych środowiskach (Pollard i in. 2002). Unikalne cechy hiperakumulatorów są również wykorzystywane w naukach biotechnologicznych, w tym w procesach fitoremediacji (technologii wykorzystującej rośliny wyższe do procesów związanych z oczyszczaniem środowiska) oraz w biofortyfikacji (czyli wzbogacania roślin w niezbędne dla ludzi pierwiastki) (Chaney i in. 2007, Clemens 2016). Metaloindykatory z kolei to rośliny wskaźnikowe, które są zwykle wrażliwe na obecność metali w podłożu. Mogą być stosowane jako biologiczne wskaźniki wysokiej zawartości metali w glebie (Phillips i in. 2015).

4. TECHNIKI FITOREMEDIACJI ZANIECZYSZCZONYCH GLEB

Konieczność ograniczenia negatywnych skutków skażenia gruntów pierwiastkami skłoniła naukowców do poszukiwania efektywnych metod ich remediacji, dostosowanych do lokalnych warunków (Stuczyński i in. 2007, Vangronsveld i in. 2009). Jedną z grup metod remediacyjnych są techniki oparte na podejściu biologicznym z wykorzystaniem roślin, tzn. fitoremediacja. Strategie te są przyjazne dla środowiska i umożliwiają odnowę gleby zanieczyszczonej pierwiastkami śladowymi. Z definicji wynika, iż fitoremediacja polega na wykorzystaniu roślin do ekstrakcji i usuwania zanieczyszczeń lub obniżania ich biodostępności w glebie oraz ograniczania dalszej

dyspersji w środowisku. Rośliny w systemach remediacyjnych mogą usuwać z gleby zanieczyszczenia, które są z ich biomasą wynoszone z pola (fitoekstrakcja), oraz swoim systemem korzeniowym lub zwartą biomasą stabilizować zanieczyszczony grunt (fitostabilizacja). Dodatkowo, oddziałując poprzez swój system korzeniowy, mogą kształtować biodostępność metali oraz w interakcji z mikroorganizmami odbudowywać właściwości fizykochemiczne i mikrobiologiczne gleby (Ali i in. 2013, Sharma i Pandey 2014, Jacob i in. 2018).

Dotychczasowe badania naukowe wskazują również, iż wykorzystanie bakterii może być skuteczną techniką nie tylko w rolnictwie, ale również w remediacji silnie zanieczyszczonych gruntów. Takie podejście jest dość powszechnie stosowane w bioremediacji zanieczyszczeń organicznych, gdzie mikroorganizmy są wykorzystywane do rozkładu lub transformacji zanieczyszczeń organicznych do mniej szkodliwych form (Karaś i in. 2021). Jak dotychczas w literaturze naukowej jest stosunkowo niewiele prac poświęconych wykorzystaniu szczepów bakterii do wspomaganie efektywności fitoremediacji składowisk lub gleb zanieczyszczonych metalami. Brak jest również informacji, czy stosowanie mikroorganizmów na gruntach zdegradowanych chemicznie może zwiększać skuteczność działania dodatków do gleb lub poprzez wspomaganie odporności roślin zmniejszać koszty zabiegów remediacyjnych. Warto zaznaczyć, iż potencjalne mechanizmy mikrobiologicznego bezpośredniego wspomaganie remediacji gleb skażonych potencjalnie toksycznymi pierwiastkami śladowymi obejmują przede wszystkim biosorpcję przez mikroorganizmy, biomineralizację (w przypadku, jeśli celem jest mobilizacja jonów pierwiastków w celu ich wymycia) oraz bioutlenianie (Jin i in. 2018). Dodatkowo zastosowanie bakterii może stanowić wsparcie dla roślin w przezwyciężaniu skutków stresu chemicznego wywołanego zanieczyszczeniem lub zasoleniem oraz w adaptacji do niekorzystnych warunków wilgotnościowych. Bakterie o określonych mechanizmach, takich jak: zdolność do solubilizacji fosforanów (Pikovskaya 1948); produkcja hormonów roślinnych (Wani i in. 2007a); wiązanie azotu atmosferycznego (Zaidi 1999); produkcja sideroforów (Wani i in. 2007b); zdolność do syntezy deaminazy (ACC) (Madhaiyan i in. 2007) itp., mogą wspomagać rozwój pokrywy roślinnej przy niedoborach składników nawozowych, w sytuacji, kiedy obiekty po rekultywacji nie są regularnie nawożone. Badania i testy w celu lepszego zrozumienia funkcji bakterii promujących wzrost roślin (PGPR, ang. *plant growth promoting rhizobacteria*) oraz interakcji roślin i powiązanych mikroorganizmów w zastosowaniach na obszarach skażonych metalami mogłyby dostarczyć nowych możliwości dla stosowanych metod fitoremediacyjnych (Vocciante i in. 2021).

5. BAKTERIE W REMEDIACJI ZANIECZYSZCZONYCH GLEB

Interakcje zachodzące pomiędzy roślinami a mikroorganizmami są przedmiotem badań od wielu lat. Społeczności mikroorganizmów zamieszkujące ryzosferę, zwane również mikrobiomem ryzosferowym, są uznawane za istotny parametr ma-

jący wpływ na fizjologię i kondycję roślin (Santoyo i in. 2017). Można założyć, że interakcje pomiędzy mikrobiomem ryzosfery a rozwojem roślin będą w działaniach remediacyjnych przynajmniej równie ważne jak w systemach rolniczych. Należy podkreślić również, iż na skuteczność bakterii jako inokulantów mają wpływ różne czynniki środowiskowe i zdolność tych bakterii do kolonizacji korzeni roślin oraz stan gleby. Wydajność kolonizacji korzeni jest ściśle związana z konkurencją pomiędzy mikroorganizmami oraz zdolnością wprowadzonych szczepów do przetrwania w określonych warunkach glebowych (Lemanceau i in. 2009, Meneses i in. 2011).

Badania prowadzone przez Grobelak i in. (2015) wykazały, że inokulacja roślin, takich jak rzepak i kostrzewa bakteriami promującymi wzrost roślin podczas kiełkowania, a także po dwóch tygodniach wzrostu, była skuteczną metodą ochrony przed zahamowaniem wzrostu na glebie skażonej metalami. Z kolei Zand i in. (2020) testowali przydatność zintegrowanego zastosowania nanomateriałów (tlenek tytanu) i PGPR we wspomaganiu fitoekstrakcji ołowiu przez *Sorghum bicolor*. Badania wykazały stymulację fotosyntezy u roślin oraz pobieranie Pb przez *S. bicolor* przy łącznym zastosowaniu nanocząstek TiO_2 i PGPR. Autorzy założyli, że wykorzystanie roślin w połączeniu z nanomateriałami i PGPR mają duże perspektywy w fitoremediacji gleby (Zand i in. 2020). Inni autorzy wykazali, że zastosowanie szczepów bakterii z rodzaju *Bacillus*, odpornych na Cd i Pb, pozytywnie wpłynęło na biomasę pędów i korzeni roślin rosnących na glebie skażonej tymi metalami. Jednym z mechanizmów wspierania odporności roślin przez bakterie było sprzyjanie pobieraniu żelaza i fosforu, których deficyty są często spotykane u roślin na glebach zanieczyszczonych metalami (He i in. 2020). W innych badaniach szczepy *Rhodococcus qingshengii* wyizolowane z terenów górniczych korzystnie wpływały na parametry wzrostowe i fizjologiczne zaszczepionej rośliny. Inokulacja zwiększyła biomasę roślin, zawartość chlorofilu oraz karotenoidów. Z kolei Oubohssaine i in. (2022b) scharakteryzowali szczepy bakteryjne wyizolowane z gleb na opuszczonych terenach górniczych. Identyfikacja za pomocą sekwencjonowania 16S rDNA wykazała, że dominującymi typami były: Firmicutes, Actinobacteria i Proteobacteria, podczas gdy na poziomie rodzaju dominowały *Bacillus*, a następnie *Stenotrophomonas*, *Arthrobacter* i *Rhodococcus*. Badane szczepy poddano ocenie w kierunku cech charakterystycznych dla PGPR. Wśród nich stwierdzono obecność bakterii zdolnych do produkcji auksyn, solubilizacji fosforanów, produkcji sideroforów oraz wykazujących aktywność w kierunku deaminazy ACC. Obszary przemysłowe mogą być zatem źródłem szczepów bakterii będących kandydatami do wykorzystania w fitoremediacji gleb skażonych potencjalnie toksycznymi pierwiastkami śladowymi (Oubohssaine i in. 2022a i 2022b).

Szczególne znaczenie na gruntach zdegradowanych chemicznie mają bakterie solubilizujące fosforany (PSB, ang. *phosphate solubilizing bacteria*). PSB mają duży potencjał do stosowania szczególnie na glebach ubogich w fosfor – takimi często

są gleby na terenach poprzemysłowych, zanieczyszczone pierwiastkami śladowymi. Wśród najczęściej izolowanych PSB można wymienić bakterie z rodzajów: *Bacillus*, *Streptomyces*, *Micrococcus*, *Enterobacter*, *Flavobacterium* czy *Pseudomonas* (Kucey i in. 1989, Vazquez i in. 2000). Stosowanie inokulantów PSB stanowi potencjalnie niezwykle atrakcyjną metodę zwiększania skuteczności remediacji gruntów, w tym szczególnie silnie zanieczyszczonych metalami. Wynika to między innymi z ich potencjału do promowania wzrostu i rozwoju roślin w warunkach stresu abiotycznego oraz wspomnianych zdolności uruchamiania słabo rozpuszczalnych form fosforu. PSB posiadają również inne cenne cechy, takie jak wiązanie azotu atmosferycznego, co przy często ograniczonych możliwościach nawożenia remediowanych obszarów stanowi źródło azotu dla roślin (Billah i in. 2019). Należy podkreślić, iż potencjał bakterii do solubilizacji fosforu może mieć również znaczenie dla biodostępności metali. Zwiększone ilości jonów fosforu w glebie sprzyjają wytrącaniu się nierozpuszczalnych fosforanów ołowiu, co ogranicza biodostępność tego toksycznego pierwiastka (Cotter-Howells 1996).

6. PODSUMOWANIE

Stosowanie technik bioremediacyjnych łączących funkcje roślin i mikroorganizmów do poprawy stanu gruntów zanieczyszczonych zarówno związkami organicznymi, jak i substancjami nieorganicznymi posiada wiele zalet. Techniki te mogą być zaadaptowane do remediacji gruntów silnie skażonych, takich jak składowiska toksycznych odpadów lub grunty skażone po zakładach przemysłu chemicznego, jak i gleb o lekko podwyższonych zawartościach zanieczyszczeń, na przykład w wyniku częstego stosowania środków ochrony roślin lub jako skutek powodzi.

Do zalet technik bioremediacyjnych należy stosunkowo niski koszt w porównaniu z inżynieryjnymi metodami oczyszczania gruntów, ponieważ remediacja odbywa się w miejscu zanieczyszczenia (*in situ*), bez transportu i obróbki gleby. Koszty obejmują z reguły jedynie badanie gruntu, zastosowanie dodatków do gleb (substancje immobilizujące zanieczyszczenia, szczepy bakterii, nawozy), siew i uprawę roślin, monitoring efektów remediacji.

Metody te są przyjazne środowisku, gdyż są oparte na naturalnych procesach wywoływanych przez rośliny lub/i bakterie. Skutkiem zastosowania tych metod jest zatem nie tylko obniżenie poziomu lub toksyczności zanieczyszczeń, ale również podtrzymanie szeroko rozumianego zdrowia gleby, czyli jej zdolności do pełnienia różnych funkcji (np. duża retencja wody, bioróżnorodność, odporność na erozję), ponieważ zabieg remediacyjny odbywa się bez silnego fizycznego i chemicznego przeobrażenia gleby. Prostota technologiczna metod bioremediacyjnych w dużym stopniu ułatwia ich zastosowanie w niemal każdych warunkach. Z kolei rozwój metod biotechnologicznych i bioinformatycznych w nauce i przemyśle pozwalający na uzyskanie szerokiego spektrum szczepionek dedykowanych określonym zastoso-

waniom w remediacji zanieczyszczonych gleb i różnym rodzajom zanieczyszczeń, sprzyja optymalizacji metod remediacyjnych i zwiększaniu efektywności ich zastosowania.

7. LITERATURA

1. A l i H., Khan E., Sajad M.A.: Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere*, 2013, **91**: 869-881.
2. A s h w o r t h D.J., Alloway B.J.: Soil mobility of sewage sludge-derived dissolved organic matter, copper, nickel and zinc. *Environmental Pollution*, 2004, **127**: 137-144.
3. B a b y R., Saifullah B., Hussein M.Z.: Carbon nanomaterials for the treatment of heavy metal-contaminated water and environmental remediation. *Nanoscale Research Letters*, 2019, **14**, 341; 10.1186/s11671-019-3167-8
4. B a k e r A.J.M.: Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of Plant Nutrition*, 1981, **3**: 643-654.
5. B i l l a h M., Khan M., Bano A., Hassan T.U., Munir A., Gurmani A.R.: Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: keys for sustainable agriculture. *Geomicrobiology Journal*, 2019, **36**: 904-916.
6. B r i f f a J., Sinagra E., Blundell R.: Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 2020, **6(9)**, e04691; <https://10.1016/j.heliyon.2020.e04691>
7. B r o o k s R.R., Lee J., Reeves R.D., Jaffre T.: Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium species of indicator plants. *Journal of Geochemical Exploration*, 1977, p. 49-57.
8. B r o o k s R.R.: Geobotany and hyperaccumulators. In: *Plants that hyperaccumulate heavy metals*, R.R. Brooks (ed.). Wallingford, UK: CAB International, 1998, pp. 55-94.
9. C h a n e y R.L., Angle J.S., Broadhurst C.L., Peters C.A., Tappero R.V., Sparks D.L.: Improved understanding of hyperaccumulation yields commercial phytoextraction and phytomining technologies. *Journal of Environmental Quality*, 2007, **36**: 1429-1443.
10. C l e m e n s S.: How metal hyperaccumulating plants can advance Zn biofortification. *Plant and Soil*, 2016, **411**: 111-120.
11. C o t t e r-Howells J.: Lead phosphate formation in soils. *Environmental Pollution*, 1996, **1**: 9-16.
12. D e l a n y-Crowe T., Marinova D., Fisher M., McGreevy M., Baum F.: Australian policies on water management and climate change: are they supporting the sustainable development goals and improved health and well-being? *Global Health*, 2019, **15**, 68; <https://10.1186/s12992-019-0509-3>
13. G r o b e l a k A., Napora M., Kacprzak M.: Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. *Ecological Engineering*, 2015, **84**: 22-28.
14. H e X., Xu M., Wei Q., Tang M., Guan L., Lou L., Xu X., Hu Z., Chen Y., Shen Z., Xia Y.: Promotion of growth and phytoextraction of cadmium and lead in *Solanum nigrum* L. mediated by plant-growth-promoting rhizobacteria. *Ecotoxicol. Environmental Safety*, 2020, **205**, 111333; <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111333>
15. H e w e l k e E.A., Graczyk M.: Usługi ekosystemów jako instrument wspierania decyzji w gospodarce przestrzennej i ochronie środowiska. *Ecological Engineering* 2016, **49**: 33-40.
16. J a c o b J.M., Karthik C., Saratale R.G., Kumar S.S., Prabakar D., Kadirvelu K.: Biological approaches to tackle heavy metal pollution: a survey of literature. *Environmental Management*, 2018, **217**: 56-70.

17. J i n Y., Luan Y., Ning Y., Wang L.: Effects and mechanisms of microbial remediation of heavy metals in soil: A critical review. *Applied Sciences*, 2018, **8**, 1336; <https://doi.org/10.3390/app8081336>
18. Kabata-Pendias A., Piotrowska M., Motowicka-Terelak T., Maliszewska-Korzyba B., Filipiak K., Krakowiak A., Pietruch C.: Podstawy oceny chemicznego zanieczyszczenia gleb. Metale ciężkie, Siarka i WWA, Dział Wydawnictw Politechniki Świętokrzyskiej, Kielce, 1995, ss. 28.
19. K a r a ś M.A., Wdowiak-Wróbel S., Sokołowski W.: Selection of endophytic strains for enhanced bacteria-assisted phytoremediation of organic pollutants posing a public health hazard. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, **22(17)**, 9557; <https://doi.org/10.3390/ijms22179557>
20. K h a n S., Cao Q., Zheng Y.M., Huang Y.Z., Zhu Y.G.: Health risks of heavy metals in contaminated soils and food crops irrigated with wastewater in Beijing, China. *Environmental Pollution*, 2008, **152(3)**: 686-692.
21. K u c e y R.M.N., Janzen H.H., Leggett M.E.: Microbial mediated increases in plant available phosphorus. *Advances in Agronomy*, 1989, **42**: 199-228.
22. L e m a n c e a u P., Bauer P., Kraemer S., Briat J.F.: Iron dynamics in the rhizosphere as a case study for analyzing interactions between soils, plants and microbes. *Plant Soil*, 2009, **321**: 513-535.
23. M a d h a i y a n M., Poonguzhali S., Sa T.: Metal tolerating methylotrophic bacteria reduces nickel and cadmium toxicity and promotes plant growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *Chemosphere*, 2007, **69**: 220-228.
24. M a n i s a l i d i s I., Stavropoulou E., Stavropoulos A., Bezirtzoglou E.: Environmental and health impacts of air pollution: A review. *Frontiers in Public Health*, 2020, **8**, 14; <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00014>
25. M a r l o n J.R., Bloodhart B., Ballew M.T., Rolfe-Redding J., Roser-Renouf C., Leiserowitz A., Maibach E.: How hope and doubt affect climate change mobilization. *Frontiers in Communication*, 2019, **4**, 20; <https://doi.org/10.3389/fcomm.2019.00020>
26. M a r t i n Y.E., Johnson E.A.: Biogeosciences survey: Studying interactions of the biosphere with the lithosphere, hydrosphere and atmosphere. *PPG: Earth and Environment*, 2012, **36(6)**: 833-852.
27. M e n e s e s C.H., Rouws L.F., Simões-Araújo J.L., Vidal M.S., Baldani J.I.: Exopolysaccharide production is required for biofilm formation and plant colonization by the nitrogen-fixing endophyte *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2011, **24**: 1448-1458.
28. M o r e s F.C.: Climate change and air pollution: exploring the synergies and potential for mitigation in industrializing countries. *Sustainability*, 2009, **1**: 43-54.
29. O l a w o y i n R.: Adverse Human Health Impacts in the Anthropocene. *Environmental health insights*, 2018, **12**, 1178630218812791; <https://doi.org/10.1177/1178630218812791>
30. O u b o h s s a i n e M., Sbabou L., Aurag J.: Native heavy metal-tolerant plant growth promoting rhizobacteria improves *Sulla spinosissima* (L.) growth in post-mining contaminated soils. *Microorganism*, 2022a, **10(5)**, 838; <https://10.3390/microorganisms10050838>
31. O u b o h s s a i n e M., Dahmani I., Sbabou L., Bruneel O., Aurag J.: The rhizosphere of *Sulla spinosissima* growing in abandoned mining soils is a reservoir of heavy metals tolerant plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2022b, **39**, 102236; <https://10.1016/j.bcab.2021.102236>
32. P h i l l i p s D.P., Human L.R.D., Adams J.B.: Wetland plants as indicators of heavy metal contamination. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, **92**: 227-232.

33. P i k o v s k a y a R.I.: Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiology*, 1948, **17**: 362370.
34. P o l l a r d A.J., Powell K.D., Harper F.A., Smith J.A.C.: The genetic basis of metal hyperaccumulation in plants. *CRC Critical Reviews in Plant Sciences*, 2002, **21**: 539-566.
35. S a n t o y o G., Hernández-Pacheco C., Hernández-Salmerón J., Hernández-León R.: The role of abiotic factors modulating the plant-microbe-soil interactions: toward sustainable agriculture – a review. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2017, **15**, e03R01; <https://10.5424/SJAR/2017151-9990>
36. S h a r m a P., Pandey S.: Status of phytoremediation in world scenario. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation.*, 2014, **2(4)**: 178-191.
37. S h i o w a t a n a J., McLaren R.G., Chanmekha N., Samphao A.: Fractionation of arsenic in soil by a continuous-flow sequential extraction method. *Journal of Environmental Quality*, 2001, **30(6)**: 1940-1949.
38. S t u c z y ń s k i T., Siebielec G., Daniels W., McCarty G., Chaney R.: Biological aspects of metal waste reclamation with biosolids. *Journal of Environmental Quality*, 2007, **36**: 1154-1162.
39. V a n g r o n s v e l d J., Herzig R., Weyens N., Boulet J., Adriaensen K., Ruttens A., Thewys T., Vassilev A., Meers E., Nehnevajova E., van der Lelie D., Mench M.: Phytoremediation of contaminated soils and groundwater: lessons from the field. *Environmental Science and Pollution Research* 2009, **16**: 765-794.
40. V a z q u e z P., Holguin G., Puente M., Lopez-Cortes A., Bashan Y.: Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. *Biology And Fertility of Soils*, 2000, **30**: 460-468.
41. V o c c i a n t e M., Grifoni M., Fusini D., Petruzzelli G., Franchi E.: The role of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in mitigating plant's environmental stresses. *Applied Sciences*, 2021, **12**, 1231; <https://doi.org/10.3390/app12031231>
42. W a n i P.A., Khan M.S., Zaidi A.: Synergistic effects of the inoculation with nitrogen fixing and phosphate solubilizing rhizobacteria on the performance of field grown chickpea. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2007a, **170**: 283-287.
43. W a n i P.A., Khan M.S., Zaid A.: Effect of metal tolerant plant growth promoting *Bradyrhizobium* sp. (vigna) on growth, symbiosis, seed yield and metal uptake by greengram plants. *Chemosphere*, 2007b, **70**: 36-45.
44. W o c h M.W., Kapusta P., Stefanowicz A.M.: Variation on dry grassland communities along a heavy metal gradient. *Ecotoxicology*, 2016, **25**: 80-90.
45. W ó j c i k M., Gonnelli C., Selvi F., Dresler S., Rostański A., Vangronsveld J.: Metallophytes of serpentine and calamine soils – their unique ecophysiology and potential for phytoremediation. *Advances in Botanical Research*, 2017, **83**: 1-42.
46. Z a i d i A.: Synergistic interactions of nitrogen fixing microorganisms with phosphate mobilizing microorganisms, PhD Thesis, Aligarh Muslim University, Aligarh 1999, pp. 127.
47. Z a l a s i e w i c z J., Williams M., Haywood A., Ellis M.: The Anthropocene: a new epoch of geological time? *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 2011, **369(1938)**: 835-841.
48. Z a n d A.D., Heir A.V., Khodaei H.: Integrated remediation approach for metal polluted soils using plants, nanomaterials and root-associated bacteria. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2020, **43(11)**: 1-15.

POTENCJAŁ WYKORZYSTANIA BAKTERII DO WSPOMAGANIA EFEKTYWNOŚCI REMEDIACJI SKŁADOWISK I GLEB ZANIECZYSZCZONYCH METALAMI

Streszczenie

Słowa kluczowe: zanieczyszczenia, gleba, inokulant, roślina, ryzosfera

Rozwój przemysłowy osiągnął bezprecedensowy sukces niosący za sobą wiele zmian związanych z procesem rozwoju technologicznego, społecznego i bytowego. Oprócz korzyści płynących z rozwoju gospodarczego nastąpiła także produkcja zanieczyszczeń emitowanych do wszystkich komponentów środowiska przyrodniczego. Wówczas zanieczyszczenie gleb pierwiastkami śladowymi stało się poważnym problemem zarówno dla terenów przemysłowych, jak również pobliskich gruntów wykorzystywanych do produkcji rolniczej. Mobilność, biodostępność i poziom uwsteczniania metali są powiązane z procesami sorpcji, kompleksowania, wytrącania czy okluzji potencjalnie toksycznych pierwiastków obecnych w glebie. W związku z zanieczyszczeniem gleb nastąpiła silna potrzeba ograniczenia biodostępności i dalszej dyspersji metali w środowisku, co skłoniło badaczy do poszukiwania efektywnych metod remediacji z wykorzystaniem roślin. Badania naukowe wskazują, iż w procesach fitoremediacji kluczowe staje się wykorzystanie bakterii, które może stanowić wsparcie dla roślin w przewyciężaniu skutków stresu chemicznego wywołanego zanieczyszczeniem. Interakcje zachodzące pomiędzy roślinami, mikroorganizmami a glebą są kluczowe w prowadzonych działaniach remediacyjnych. Skuteczność bakterii jako potencjalnych inokulantów będzie zależeć przede wszystkim od parametrów glebowych oraz zdolności tych bakterii do kolonizacji korzeni roślin zasiedlających tereny narażone na silną degradację chemiczną.

THE POTENTIAL OF THE USE OF BACTERIA TO SUPPORT THE EFFICIENCY OF REMEDIATION OF WASTE DEPOSITS AND SOILS CONTAMINATED WITH METALS

Summary

Keywords: pollution, soil, inoculant, plant, rhizosphere

Industrial development has brought many socio-economic benefits in the form of technological and social progress and living conditions. In addition to the benefits resulting from this development, it has also caused the emission of pollutants to all components of the environment. Soil contamination with trace elements has become a serious problem both for industrial areas and nearby land used for agricultural production. The mobility, availability and level of metal inactivation are related to the processes of sorption, complexation, precipitation or occlusion of potentially toxic elements present in the soil. Due to soil pollution, there was a strong need to limit the bioavailability and dispersion of metals in the environment, which prompted researchers to look for effective phytoremediation methods. Moreover, research confirms that the use of bacteria in the remediation of heavily polluted land is becoming effective, as it can support plants in overcoming the effects of chemical stress caused by pollution. Interactions occurring between plants, microorganisms and soil are crucial in remediation activities. The effectiveness of bacteria as potential inoculants will depend primarily on soil parameters and the ability of these bacteria to colonize the roots of plants inhabiting areas exposed to strong chemical degradation.



Jarosław Ciepiel

**XI. RODZAJE PRODUKTÓW
MIKROBIOLOGICZNYCH
STOSOWANYCH W ROLNICTWIE**

Zakład Mikrobiologii
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
tel. (0-81) 4786959
e-mail: jciepiel@iung.pulawy.pl

1. WSTĘP

Postanowienia Europejskiego Zielonego Ładu wymuszają na sektorze rolniczym krajów UE wprowadzenie szeregu praktyk mających na celu redukcję użycia nawozów mineralnych. Jedną z praktyk jest strategia „od pola do stołu” polegająca na zapewnieniu zdrowszej i zrównoważonej żywności w Europie. Bezpieczeństwo żywnościowe UE obejmuje między innymi zmniejszenie o połowę korzystania z pestycydów, nawozów i sprzedaż środków przeciwdrobnoustrojowych, a także zwiększenie areałów rolnictwa ekologicznego (COM 2019/640). Alternatywą do syntetycznych środków ochrony roślin i nawozów są biopreparaty (Kuźniar i in. 2021). Są to produkty pochodzenia biologicznego, które w składzie mogą zawierać żywe organizmy lub ich metabolity. Skład biopreparatu definiuje nam rodzaj produktu, z jakim mamy do czynienia, mogą być: grzybowe, bakteryjne, bakteryjno/grzybowo enzymatyczne, bakteryjno-grzybowe i enzymatyczne (Piwowar 2015, Grzyb i in. 2019).

Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu stanowi, że „środki poprawiające właściwości gleby – to substancje dodawane do gleby w celu poprawy jej właściwości lub jej parametrów chemicznych, fizycznych, fizykochemicznych lub biologicznych, z wyłączeniem dodatków do wzbogacenia gleby wytworzonych wyłącznie z produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego” (DzU 2007 nr 147 poz. 1033). Produkty te dzielimy ze względu na skład i technologię produkcji na: organiczne i organiczno-mineralne, pozostałości pofermentacyjne z biogazowni oraz preparaty mikrobiologiczne. Według literatury produkty mikrobiologiczne stosowane w rolnictwie dzielimy na: nawozowe produkty mikrobiologiczne, bionawozy, biopestycydy, biostymulatory, preparaty mikrobiologiczne (Grzyb i in. 2019, Kuźniar i in. 2021, Sundh i in. 2021).

2. NAWOZOWE PRODUKTY MIKROBIOLOGICZNE

„Nawozowe produkty mikrobiologiczne – produkty zawierające wyłącznie mikroorganizmy, w tym mikroorganizmy martwe lub nieaktywne, lub konsorcja tych mikroorganizmów oraz substancje stanowiące pożywkę dla tych mikroorganizmów i ich metabolity, a także nieszkodliwe substancje resztkowe z pożywek, które poprawiają aktywność biologiczną gleby lub stymulują procesy odżywiania roślin lub grzybów, a wyłącznym celem ich zastosowania jest poprawa efektywności wykorzystania składników pokarmowych przez rośliny lub grzyby, ich odporności na stres abiotyczny, ich cech jakościowych lub przyswajalności przez nie składników pokarmowych z form trudno dostępnych w glebie” (IUNG-PIB <https://www.iung.pl/nawozowe-produkty-mikrobiologiczne>).

Kluczowymi zadaniami produktów mikrobiologicznych są (Ciepiel 2023, Kuźniar i in. 2021):

- zwiększanie wchłaniania substancji pokarmowych roślin, np. mineralnych;
- zwiększanie intensywności wzrostu i rozwoju roślin;

- polepszanie produktywności;
- zwiększanie odporności na patogeny;
- zwiększanie odporności na abiotyczne czynniki środowiskowe i stres;
- utrzymanie lub zwiększanie ilości węgla organicznego w glebie;
- zwiększanie porowatości gleb;
- wsparcie lub uzupełnianie konwencjonalnej chemii ochronnej:
 - biopestycydy,
 - bioinsektocydy,
 - biofungocydy;
- wsparcie wzrostu i rozwoju roślin:
 - biostymulatory;
- zastępowanie mineralnych nawozów lub stymulowanie przemian mikrobiologicznych w glebie:
 - bionawozy,
 - preparaty mikrobiologiczne.

3. BIONAWOZY

Bionawozy składają się z materii organicznej i jednego lub kilku aktywnych związków organicznych, m.in. aminokwasów, witamin, hormonów roślinnych czy mikro- i makroelementów, wpływających na wzrost i rozwój kultur roślin uprawnych. Dostarczają roślinom niezbędnych składników mineralnych, syntetyzowanych przez nie naturalnie w procesach biochemicznych. Odpowiednie nawożenie może przyczynić się do zabezpieczenia systemu korzeniowego przed infekcjami, pozytywnie wpłynąć na kondycję roślin uprawnych, żyzność gleb, a także ulepszyć jakość plonów (Grzyb i in. 2019, Miranda i in. 2024). Stanowią bezpieczną alternatywę do nawozów mineralnych, minimalizując w dużym stopniu negatywne skutki ekologiczne (Mahanty i in. 2017).

Termin „bionawóz” można interpretować na różne sposoby:

- jako szczepionka bakteryjna, pochodna glonów lub grzybów, stosowana dla roślin w celu poprawy dostępności składników odżywczych wykorzystywanych przez rośliny, niezależnie od ilości składników odżywczych w samej szczepionce,
- jako biologiczne czynniki nawożeniowe, produkt biodegradowalny zawierający żywe mikroorganizmy rozpuszczające fosforany i wiążące azot (PGPR, ang. *Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria*) (Solangi i in. 2023, Chatzistathis i in. 2024).

Bionawozy udostępniają składniki odżywcze dzięki naturalnym procesom wiązania azotu czy solubilizacji fosforu i stymulując rozwój roślin na drodze syntezy substancji wspomagających wzrost. Nie mogą być postrzegane przez pryzmat klasycznej definicji nawozu, ponieważ nie dostarczają wystarczającej ilości składników odżywczych (Miranda i in. 2024).

4. BIOPESTYCYDY

Biopestycydy stanowią alternatywę dla syntetycznych pestycydów, które stosowane przez dłuższy czas mogą kumulować się i zanieczyszczać glebę, powietrze, wody powierzchniowe i gruntowe, co stanowi zagrożenie dla pożytecznych mikroorganizmów glebowych, zwierząt, a także ludzi. Pestycydy syntetyczne tworzą u ludzi zmiany mutagenne, teratogenne i nowotworowe. Termin pestycyd pochodzi od łac. *pestis* – szkodnik i łac. *cedeo* – zabijać. Biopestycydy należą do naturalnych środków ochrony roślin (Sikorska i Wędzisz 2009). Posiadają w swoim składzie mikroorganizmy – wirusy, bakterie, grzyby, jak również nicienie. Biopestycydy są istotnym elementem zrównoważonego rolnictwa.

Zalety stosowania biopestycydów (Kawalekar 2013, Dhakal 2019):

- ukierunkowane działanie na dany rodzaj szkodnika i blisko spokrewnione organizmy;
- skuteczność w małych dawkach;
- mniejsza toksyczność;
- szybsza biodegradacja w odróżnieniu do konwencjonalnych metod ochrony roślin;
- w połączeniu z konwencjonalnymi pestycydami znacznie zmniejsza ich zużycie, przy jednoczesnym podniesieniu jakości plonów.

Wady stosowania biopestycydów:

- wysokie koszty produkcji;
- trudność w oszacowaniu odpowiedniej dawki.

Do najpopularniejszych biopestycydów zaliczamy te, które zawierają bakterie (*Bacillus* i *Pseudomonas*) oraz grzyby (*Trichoderma*, *Beauveria*, *Pythium*) (Ginter i in. 2023).

5. BIOSTYMULATORY

Według rozporządzenia Parlamentu Europejskiego nr 2019/1009 z dnia 16 lipca 2022 r. biostymulator to: „produkt, który stymuluje procesy odżywiania rośliny niezależnie od zawartości składników pokarmowych w produkcji i którego jedynym celem jest poprawa co najmniej jednej z następujących właściwości rośliny lub ryzofery roślin:

- efektywność wykorzystania składników pokarmowych;
- odporność na stres abiotyczny;
- cechy jakościowe;
- przyswajalność składników pokarmowych z form trudno dostępnych w glebie lub ryzosferze”.

Biostymulatory stosowane są w rolnictwie w celu wspomagania procesów fizjologicznych roślin. Poprawa ilości i jakości plonów przy jednoczesnym zmniejszeniu stosowania syntetycznych nawozów to główne zalety tych produktów. Biostymula-

tor zastosowany w odpowiednim czasie zmienia metabolizm roślin w taki sposób, aby mogły być odporne na działanie suszy, spadek temperatury czy przeciwstawić się patogenowi (Mystkowska 2018, Ginter i in. 2023). Na polskim rynku najbardziej powszechne są takie biostymulatory, jak: substancje humusowe, inokulanty mikrobiologiczne, algi morskie, hydrolizaty białkowe i aminokwasy (Rutkowska 2016). Badania naukowe dowodzą, że substancje humusowe mają pozytywny wpływ na żyzność gleb, przede wszystkim z uwagi na zwiększoną sorpcję wymienną kationów, pojemność wodną i wyższą zawartość tlenu. Kolejnymi cechami substancji humusowych jest zwiększona dostępność składników mineralnych dla roślin, wspomaganie i rozwój systemu darniowego oraz rozwój pożytecznych mikroorganizmów glebowych (m.in. bakterie z rodzajów *Nitromonas* i *Azotobacter*) (Wach 2018). Kwasy humusowe przyczyniają się do utrzymania stałego odczynu pH w glebie. Zastosowanie tych produktów uchroni roślinę przed stresem środowiskowym (Ciepiel 2023). Nawożenie organiczne zapewnia zwiększenie próchnicy w glebie, która jest nieodzownym elementem odżywiania roślin (Huculak-Mączka i in. 2010).

Inokulanty mikrobiologiczne, podane doglebowo, na ziarno lub powierzchnię rośliny, mają za zadanie wspomóc wzrost roślin. Mają istotny wpływ na zwiększenie systemu darniowego, biomasy roślin, pobór składników mineralnych. Głównym ich składnikiem są bakterie i grzyby (Rutkowska 2016). Innym rodzajem biostymulatora są algi morskie, które charakteryzują się silnym działaniem stymulującym. Wzbogacenie gleby o ten biostymulator prowadzi do zwiększenia wzrostu roślin i lepszego plonowania. Stosuje się go w formie kilkukrotnego oprysku bezpośrednio po wykiełkowaniu roślin (Lichner i in. 2012). Algi morskie zawierają bardzo dużo mikro- i makroelementów, aminokwasy, witaminy oraz hormony wzrostu roślin, takie jak cytokininy (Matysiak i in. 2010). Biostymulatory na bazie białka to hydrolizaty białkowe, które w składzie mają mieszaninę peptydów i aminokwasów lub środek posiadający pojedynczy aminokwas. Aminokwasy jak i hydrolizaty pozytywnie wpływają na wzrost i plon roślin uprawnych. Dzięki zawartości białka mają działanie budulcowe, metaboliczne i transportowe. Utrzymują pozytywny odczyn pH, łagodzą skutki działania czynników stresogennych, a także wpływają na prawidłowy przebieg fotosyntezy (Pipiak i Skwarek 2020).

6. PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE

Preparaty mikrobiologiczne są w ostatnich latach coraz bardziej powszechne, poprawiają właściwości fizykochemiczne i biologiczne gleb. Do grupy preparatów mikrobiologicznych należą szczepionki bakteryjne, a także grzybowe. Szczepionki mogą zawierać bakterie symbiotyczne roślin bobowatych (motylkowate). Po dwóch latach badań przeprowadzonych w IUNG-PIB w Puławach preparaty zostają zarejestrowane przez Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Opinia o preparacie zawiera

wymagania jakościowe oraz właściwości fizykochemiczne i biologiczne. Główne bakterie występujące w szczepionkach dla roślin bobowatych to *Azotobacter* oraz *Rhizobium*. Preparat stymuluje wzrost i rozwój masy korzeniowej. Nośnikami bakterii mogą być perlit, węgiel brunatny po uprzednim zmieleniu lub torf. Jest stosowany jako zaprawa nasienna, dlatego większa część preparatu trafia bezpośrednio do systemu korzeniowego siewek roślin (Grzyb i in. 2019, Kowalska i Łukaszyk 2022).

7. PODSUMOWANIE

Europejski Zielony Ład ma wpływ na sektor rolniczy UE, szczególnie w kontekście zmniejszenia zużycia nawozów i pestycydów. Strategia „od pola do stołu” ma na celu promowanie zdrowszej i bardziej zrównoważonej produkcji żywności. Biopreparaty stanowią idealną alternatywę dla syntetycznych nawozów i pestycydów stosowanych w rolnictwie konwencjonalnym. Zastosowanie w rolnictwie produktów pochodzenia mikrobiologicznego przynosi szereg wymiernych korzyści, tj.: stymulacja wzrostu roślin, podniesienie jakości plonów, poprawa żyzności gleby, także po nadmiernym aplikowaniu nawozów sztucznych. Zapewniają ochronę części nadziemnej i podziemnej rośliny przed patogenami. Podanie odpowiedniego biopreparatu stymuluje również przekształcenie nierozpuszczalnej materii organicznej w glebie w formę rozpuszczalną. Mając na uwadze wzrost liczby nowych odkryć mikroorganizmów oraz ich oddziaływań pomiędzy środowiskiem glebowym a roślinami, nieodzowne staje się prowadzenie dalszych badań nad biopreparatami, aby w pełni wykorzystać ich możliwości w rolnictwie.

8. LITERATURA

1. Chatzistathis T., Zoukidis K., Vasilikiotis C., Apostolidis A., Giannakoula A.E., Bountla A., Chatziathanasiadis A.: Plant-growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi may improve soil fertility and the growth, nutrient uptake, and physiological performance of Batavia Lettuce (*Lactuca sativa* L. var. longifolia) plants. *Horticulturae*, 2024, **10(5)**: 1-17; <https://doi.org/10.3390/HORTICULTURAE10050449>
2. Ciepieł J.: Poradnik preparaty mikrobiologiczne dla roślin rolniczych. 2023, s. 6-11; <https://doi.org/10.26114/por.iung.2023.12.01>
3. COM/2019/640: Komunikat Komisji do Parlamentu Europejskiego, Rady Europejskiej, Rady, Komitetu Ekonomiczno-Społecznego i Komitetu Regionów, Europejski Zielony Ład, Bruksela 11.12.2019 r.; https://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:b828d165-1c22-11ea-8c1f-01aa75ed71a1.0016.02/DOC_1&format=PDF
4. Dhakal R.: Biopesticides: A key to sustainable agriculture. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 2019, **7(3)**: 391-396; <https://doi.org/10.18782/2320-7051.7034>
5. Ginter A., Zarzecka K., Gugała M., Mystkowska I.: Biostimulants and herbicides a tool to reduce non-commercial yield tubers and improve potato yield structure. *Scientific Reports* 2023, **13(1)**: 1-9; <https://doi.org/10.1038/s41598-023-47831-0>

6. G r z y b A., Waraczewska Z., Niewiadomska A., Wolna-Maruwka A.: Czym są biopreparaty i jakie jest ich zastosowanie? *Nauka Przyroda Technologie*, 2019, **13(2)**: 65-76; <https://doi.org/10.17306/J.NPT.2019.2.7>
7. H u c u l a k-Mączka M., Hoffmann K., Skut J., Hoffmann J.: Ocena zawartości substancji humusowych w wybranych surowcach i odpadach. *Proceedings of ECOpole*, 2010, **4(2)**: 383-387; <https://www.infona.pl//resource/bwmeta1.element.baztech-fa5f267a-92e2-404f-a522-fc11a70753b3>
8. K a w a l e k a r J.S.: Role of biofertilizers and biopesticides for sustainable agriculture. *Journal of Bio Innovation*, 2013, **2(3)**: 73-78.
9. K o w a l s k a J., Łukaszyk J.: Metody zaprawiania materiału siewnego dozwolone w rolnictwie ekologicznym Seed dressing methods allowed in organic farming. *Progress IN PLANT ProTeC-TIoN*, 2022, **62(2)**: 2022-2084; <https://doi.org/10.14199/ppp-2022-012>
10. K u ż n i a r A., Włodarczyk K., Gromadzka P., Siara A., Wolińska A.: Aktualny stan wiedzy na temat biopreparatów stosowanych w rolnictwie. *Wydawnictwo KUL*, 2021, ss. 32.
11. L i c h n e r L., Hallett P.D., Drongová Z., Czachor H., Kovacik L., Mataix-Solera J., Homolák M.: Możliwości zastosowania biomasy alg w rolnictwie. *Chemik*, 2012, **66(11)**: 1235-1248.
12. M a h a n t y T., Bhattacharjee S., Goswami M., Bhattacharyya P., Das B., Ghosh A., Tribedi P.: Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, **24(4)**: 3315-3335; <https://doi.org/10.1007/S11356-016-8104-0>
13. M a t y s i a k K., Kaczmarek S., Kierzek R., Kardasz P.: Ocena działania ekstraktów z alg morskich oraz mieszaniny kwasów huminowych i fulwowych na kiełkowanie i początkowy wzrost rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.). *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 2010, **55(4)**: 28-32.
14. M i r a n d a A.M., Hernandez-Tenorio F., Villalta F., Vargas G.J., Sáez A.A.: Advances in the development of biofertilizers and biostimulants from microalgae. *Biology*, 2024, **13(3)**: 1-19; <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY13030199>
15. M y s t k o w s k a I.T.: Biostimulators as a factor affecting the yield of edible potato. *Acta Agrophysica*, 2018, **25(3)**: 307-315; <https://doi.org/10.31545/AAGR/95109>
16. R u t k o w s k a A.: Biostymulatory w nowoczesnej uprawie roślin. *Studia i Raporty IUNG-PIB*, Puławy 2016, **48(2)**: 65-80; <https://doi.org/10.26114/sir.iung.2016.48.05>
17. P i p i a k P., Skwarek M.: Zastosowanie nawozów aminokwasowych w rolnictwie. *Technologia i Jakość Wyróbów*, 2020, **65**: 144-157.
18. P i w o w a r A.: Środki biologiczne i biotechniczne w produkcji roślinnej. *Zagadnienia Doradztwa Rolniczego*, 2015, **4**: 92-102; https://www.Researchgate.net/publication/293487527_Srodki_biologiczne_i_biotechniczne_w_produkcji_roślinnej
19. Sikorska K., Wędzisz A.: Nowoczesne pestycydy – SPINOSAD. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2009, **2**: 203-212.
20. S o l a n g i F., Zhu X., Khan S., Rais N., Majeed A., Sabir M.A., Iqbal R., Ali S., Hafeez A., Ali B., Ercisli S., Kayabasi, E.T.: The global dilemma of soil legacy phosphorus and its improvement strategies under recent changes in agro-ecosystem sustainability. *ACS omega*, 2023, **8(26)**: 23271-23282; <https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.3C00823>
21. S u n d h I., Del Giudice T., Cembalo L.: Reaping the benefits of microorganisms in cropping systems: Is the regulatory policy adequate? *Microorganisms*, 2021, **9(7)**, 1437; <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9071437>

22. W a c h D.: Substancje humusowe jako stymulatory wzrostu i rozwoju roślin. Studia i Raporty IUNG-PIB, Puławy 2018, **56(10)**: 87-97; <https://doi.org/10.26114/sir.iung.2018.56.07>
23. Komunikat Komisji Europejskiej Europejski Zielony Ład, Bruksela, dnia 11.12.2019, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/HTML/?uri=CELEX:52019DC0640> dostęp 02.10.2024r.
24. IUNG-PIB <https://www.iung.pl/nawozowe-produkty-mikrobiologiczne/> (data dostępu 02.10.2024 r.)
25. Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu (DzU 2007 nr 147 poz. 1033).
26. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1009 z dnia 5 czerwca 2019 r. ustanawiające przepisy dotyczące udostępniania na rynku produktów nawozowych UE, zmieniające rozporządzenia (WE) nr 1069/2009 i (WE) nr 1107/2009 oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 2003/2003 (Tekst mający znaczenie dla EOG).

RODZAJE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH STOSOWANYCH W ROLNICTWIE

Streszczenie

Słowa kluczowe: biopreparaty, produkty mikrobiologiczne, rolnictwo

Z uwagi na nowe realizacje postanowień Europejskiego Zielonego Ładu sektor rolniczy zobowiązany jest do zmniejszenia zużycia nawozów mineralnych. Jednym z elementów tych działań jest strategia „od pola do stołu”. Ma ona za zadanie zapewnienie zdrowszego i bardziej zrównoważonego bezpieczeństwa żywnościowego UE, zmniejszenie zużycia pestycydów i nawozów mineralnych oraz promowanie rolnictwa ekologicznego.

W odpowiedzi na wyzwania decydentów, biopreparaty, które są produktami pochodzenia naturalnego stanowią odpowiednią alternatywę dla sztucznych środków ochrony roślin. Biopreparaty można podzielić, m.in. na preparaty grzybowe, bakteryjne i enzymatyczne. Stanowią one szereg ważnych funkcji w rolnictwie, m.in. usprawniają wchłanianie substancji mineralnych z gleby przez roślinę, intensyfikują wzrost i rozwój roślin, a także zwiększają ilość węgla organicznego w glebie. Zgodnie z polskimi regulacjami prawnymi środki poprawiające właściwości gleby obejmują różne produkty, w tym mikrobiologiczne, które są wykorzystywane w nowoczesnym rolnictwie. Praca miała na celu uporządkowanie i krótkie scharakteryzowanie produktów mikrobiologicznych stosowanych w rolnictwie.

TYPES OF MICROBIOLOGICAL PRODUCTS USED IN AGRICULTURE

Summary

Keywords: biopreparations, microbial products, agriculture

Due to the new implementation of the European Green Deal, the agricultural sector is obliged to reduce the use of mineral fertilizers. One element of this effort is the “farm-to-table” strategy. It is designed to ensure healthier and more sustainable EU food security, reduce the use of pesticides and mineral fertilizers, and promote organic farming. In response to policymakers’ challenges, biopreparations, which are products of natural origin, are a suitable alternative to artificial pesticides. Biopreparations can be divided into fungal, bacterial, enzymatic preparations, among others. They provide a number of important functions in agriculture, including improving the absorption of mineral substances from the soil by the plant, intensifying plant growth and development, and increasing the amount of organic carbon in the soil. According to Polish regulations, soil conditioners include various products, including microbial products, which are used in modern agriculture. The work aimed to organize and briefly characterize microbiological products used in agriculture.

WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

W serii wydawniczej IUNG „**Monografie i Rozprawy Naukowe**” publikowane są recenzowane prace o charakterze monografii i oryginalne rozprawy naukowe z zakresu agronomii oraz ochrony i kształtowania środowiska rolniczego.

Wydruk tekstu do recenzji czcionką 11 p., z odstępem 1,5-wierszowym.

Przygotowanie do druku:

- tekst i tabele w programie Word, wersja 6.0 lub wyższa
- czcionka – Times New Roman
- układ pracy: spis treści, wstęp, metodyka, omówienie wyników i dyskusja, wnioski lub podsumowanie, literatura, streszczenie
- objaśnienia tabel, podpisy i opisy do rysunków oraz streszczenie pracy wraz ze słowami kluczowymi w językach polskim i angielskim

tekst

- czcionka – 11 p. (spis pozycji literatury – 9 p.)
- wcięcie akapitowe – 0,5 cm

tabele

- podział na wiersze i kolumny (z funkcji tworzenia tabel)
- szerokość dokładnie 13 cm (tabele w pionie) lub 19 cm (tabele w poziomie)
- czcionka 9 p., pojedyncze odstępy międzywierszowe
- umieszczone w oddzielnych plikach

rysunki

- czarno-białe
- wykresy w programie Word lub Excel
- wymiary w zakresie 13 cm × 19 cm
- dołączony wydruk w odpowiednich wymiarach, bardzo dobrej jakości, na białym papierze lub na folii
- w podpisach czcionka 9 p.
- na dyskietce w oddzielnych plikach

jednostki miary

- system SI
- jednostki zapisywać potęgowo (np. t·ha⁻¹)

literatura

- spis literatury w układzie alfabetycznym wg nazwisk autorów, w kolejności: nazwisko (pismo rozstrzelone), pierwsza litera imienia, tytuł pracy, miejsce publikacji: tytuł wydawnictwa (wg ogólnie przyjętych skrótów tytułów czasopism), rok, numer (pismo pogrubione), strony
- cytowanie w tekście – jako nazwisko autora (autorów) i rok wydania (w nawiasach okrągłych).

Pracę do recenzji należy składać w 2 egzemplarzach. Po recenzji oryginalny egzemplarz recenzowany i ostateczną wersję pracy, uwzględniającą uwagi recenzenta i redaktora, należy dostarczyć do Redakcji w 1 egzemplarzu oraz na dyskietce (lub przesłać e-mailem) na adres:

Dział Komunikacji Nauki
IUNG-PIB
ul. Czartoryskich 8
24–100 Puławy
e-mail: kmikulska@iung.pulawy.pl

W serii wydawniczej IUNG „**Monografie i Rozprawy Naukowe**” ukazały się następujące pozycje:

1. Adam Harasim – *Kompleksowa ocena płodozmianów z różnym udziałem roślin zbożowych i okopowych*. Puławy, 2002.
2. Stanisław Wróbel – *Określenie potrzeb nawożenia buraka cukrowego mikroelementami*. Puławy, 2002.
3. Janusz Podleśny – *Studia nad oddziaływaniem światła laserowego na nasiona, wzrost i rozwój roślin oraz plonowanie lubinu białego (*Lupinus albus* L.)*. Puławy, 2002.
4. Czesław Józefaciuk, Anna Józefaciuk, Eugeniusz Nowocień, Rafał Wawer – *Przeciwerozyjne zagospodarowanie zlewni wyżynnej potoku Grodarz z uwzględnieniem ograniczania występowania powodzi*. Puławy, 2002.
5. Jerzy Książak – *Dynamika gromadzenia składników pokarmowych w organach roślin tradycyjnych i samokończących odmian bobiku w okresie od kwitnienia do dojrzałości pełnej*. Puławy, 2002.
6. Franciszek Pistelok – *Analiza zależności pomiędzy zanieczyszczeniem ze źródeł komunalnych a jakością powierzchniowych wód płynących na obszarach silnie zurbanizowanych na przykładzie zlewni Górnej Wisły*. Puławy, 2002.
7. Ewa Stanisławska-Głubiak – *Analiza wybranych czynników determinujących efekty dolistnego nawożenia molibdenem w uprawie rzepaku ozimego*. Puławy, 2003.
8. Kazimierz Noworolnik – *Wpływ wybranych czynników agrotechnicznych na plonowanie jęczmienia jarego w różnych warunkach siedliska*. Puławy, 2003.
9. Teresa Doroszewska – *Krzyżowanie oddalone i transformacja genetyczna w uzyskiwaniu odporności tytoniu (*Nicotiana tabacum* L.) na wirusa Y ziemniaka (PVY)*. Puławy, 2004.
10. Eugeniusz K. Chyłek – *Uwarunkowania procesu modernizacji rolnictwa i obszarów wiejskich w Polsce*. Puławy, 2004.
11. Zbigniew Samoń – *Studia nad metodami energooszczędnego suszenia chmielu*. Puławy, 2004.
12. Ryszard Weber – *Zmienność plonowania odmian pszenicy ozimej w zależności od przedplonu i sposobu uprawy roli*. Puławy, 2004.
13. Janusz Igras – *Zawartość składników mineralnych w wodach drenarskich z użytków rolnych w Polsce*. Puławy, 2004.
14. Mariusz Kucharski – *Odporność chwastów na herbicydy z grupy inhibitorów fotosyntezy PSII na polach uprawnych południowo-zachodniej Polski*. Puławy, 2005.
15. Maria J. Król – *Azospirillum – asocjacyjne bakterie wiążące wolny azot*. Puławy, 2006.
16. Jerzy Grabiński – *Studia nad potencjałem allelopatycznym żyta ozimego*. Puławy, 2006.
17. Krzysztof Domaradzki – *Efektywność regulacji zachwaszczenia zbóż w aspekcie ograniczenia dawek herbicydów oraz wybranych czynników agroekologicznych*. Puławy, 2006.
18. Anna Stochmal – *Flawonoidy lucerny siewnej (*Medicago sativa* L.) – budowa chemiczna, właściwości spektralne, zawartość w zależności od odmiany i terminu zbioru*. Puławy, 2007.
19. Tomasz Stuczyński – *Assessment and modelling of land use change in Europe in the context of soil protection*. Puławy, 2007.
20. Jolanta Korzeniowska – *Potrzeby nawożenia pszenicy cynkiem, miedzią i borem w warunkach glebowo-klimatycznych Polski*. Puławy, 2008.
21. Maria J. Król, Janusz Smagacz – *Rozkład resztek pozbiorowych w glebie*. Puławy, 2008.

22. Agnieszka Klimkowicz-Pawlas – *Oddziaływanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych na siedliskową funkcję gleby*. Puławy, 2009.
23. Janusz Czaban – *Fitogeniczne dodatki do paszy świń ze szczególnym uwzględnieniem ich roli jako zamienników antybiotykowych stymulatorów wzrostu*. Puławy, 2009.
24. Maria J. Król – *Bakterie endofityczne*. Puławy, 2009.
25. Ryszard Weber – *Przydatność uprawy konserwującej w rolnictwie zrównoważonym*. Puławy, 2010.
26. Józefa Harasim, Adam Harasim – *Produkcyjność mieszanek pastwiskowych z udziałem koniczyny białej (*Trifolium repens L.*) w różnych warunkach siedliskowych*. Puławy, 2010.
27. Maria J. Król – *Bakterie utleniające siarkę elementarną i redukujące siarczany*. Puławy, 2010.
28. Andrzej Doroszewski – *Skład spektralny promieniowania jako czynnik kształtujący pokrój i plon pszenicy*. Puławy, 2011.
29. Jerzy Bieńkowski – *Wielokryterialna analiza możliwości zrównoważonego rozwoju gospodarstw rolniczych z uwzględnieniem czynników środowiskowych i ekonomicznych*. Puławy, 2011.
30. Hanna Gołębiowska – *Dynamika występowania flory segetalnej w uprawie kukurydzy na Dolnym Śląsku w latach 1972–2008 i obecne możliwości jej regulacji*. Puławy, 2011.
31. Maria J. Król – *Przemiany mikrobiologiczne żelaza w glebie*. Puławy, 2011.
32. Franciszek Woch, Krzysztof Wierzbicki, Andrzej Eymontt, Anna Dziadkiewicz-Ilkowska, Alina Syp, Jerzy Kopiński, Czesław Pietruch, Mirosław Nierubca, Antoni Miklewski, Piotr Maśloch – *Efektywność gospodarcza i ekonomiczna scalania gruntów w Polsce*. Puławy, 2011.
33. Maria J. Król – *Przemiany mikrobiologiczne fosforu w glebie*. Puławy, 2012.
34. Adam Harasim – *Ocena produkcji roślinnej na gruntach ornych w gospodarstwie rolniczym w ujęciu długookresowym*. Puławy, 2012.
35. Mariusz Matyka – *Produkcyjne i ekonomiczne aspekty uprawy roślin wieloletnich na cele energetyczne*. Puławy, 2013.
36. Beata Feledyn-Szewczyk – *Wpływ użytkowania gruntów na różnorodność gatunkową flory segetalnej*. Puławy, 2013.
37. Anna Podleśna – *Studia nad rolą siarki w kształtowaniu gospodarki mineralnej oraz wielkości i jakości plonu wybranych roślin uprawnych*. Puławy, 2013.
38. Mariola Staniak – *Reakcja wybranych gatunków i odmian traw pastewnych na niedobory wody w glebie*. Puławy, 2013.
39. Rafał Pudelko – *Ocena potencjałów biomasy ubocznej i odpadowej w UE-27 i Szwajcarii oraz ich regionalizacja*. Puławy, 2013.
40. Jerzy Kozyra – *Wpływ prognozowanych zmian temperatury powietrza na fenologię zbóż ozimych w Polsce*. Puławy, 2013.
41. Zofia Kołoszko-Chomentowska – *Przyrodnicze i organizacyjno-ekonomiczne uwarunkowania rozwoju rodzinnych gospodarstw rolnych w województwie podlaskim*. Puławy, 2013.
42. Maria J. Król – *Przemiany mikrobiologiczne potasu, magnezu, manganu i wapnia w glebie*. Puławy, 2013.
43. Ryszard Weber, Włodzimierz Kita – *Zagrożenia i sposoby ograniczania chorób fuzaryjnych i mikotoksyn w zbożach kukurydzy*. Puławy, 2014.
44. Anna Józefaciuk, Eugeniusz Nowocień, Rafał Wawer – *Erozja gleb w Polsce – skutki środowiskowe i gospodarcze, działania zaradcze*. Puławy, 2014.

45. Piotr Gradziuk – *Możliwości wykorzystania słomy na cele energetyczne oraz prognoza do 2030 roku*. Puławy, 2015.
46. Anna M. Gajda – *Mikrobiologiczne i biochemiczne wskaźniki jakości gleb pod pszenicą ozimą w zależności od systemu uprawy*. Puławy, 2015.
47. Jolanta Bojarszczuk, Jerzy Księżak, Jerzy Kopiński, Piotr Kozera – *Ocena organizacji produkcji i efektywności wykorzystania powierzchni paszowej w gospodarstwie wyspecjalizowanym w chowie bydła mlecznego*. Puławy, 2015.
48. Anna Józefaciuk, Eugeniusz Nowocień, Rafał Wawer – *Rozwój, skutki i występowanie erozji wąwozowej w Polsce oraz metody zagospodarowania wąwozów*. Puławy, 2016.
49. Anna Gałązka, Małgorzata Łyszcz, Barbara Abramczyk, Jarosław Grządziel, Karolina Furtak, Janusz Czaban, Anna Pikulicka – *Bioróżnorodność środowiska glebowego – przegląd parametrów i metod w analizach różnorodności biologicznej gleby*. Puławy, 2016.
50. Maria J. Król, Janusz Smagacz – *Przegląd enzymów drobnoustrojów*. Puławy, 2016.
51. Franciszek Woch, Eugeniusz Nowocień, Alina Bochniarz – *Ocena zmian terenów rolnych obszarów wiejskich pod wpływem wybranych działań Wspólnej Polityki Rolnej Unii Europejskiej*. Puławy, 2016.
52. Elżbieta Harasim, Mariola Staniak, Beata Feledyn-Szewczyk, Adam K. Berbec, Jarosław Stalenga – *Wpływ różnych praktyk rolniczych na różnorodność flory na gruntach ornych*. Puławy, 2017.
53. Anna Brinken, Janusz Podleśny, Waclaw Strobel – *Mieszanki łubinowo-zbożowe w uprawie i ich wartość żywieniowa*. Puławy, 2017.
54. Anna Kocira – *Biostymulatory w uprawie soi jako czynnik determinujący cechy biometryczne, plon i skład chemiczny nasion*. Puławy, 2017.
55. Jerzy Kopiński – *Bilans azotu brutto – agrośrodowiskowy wskaźnik oddziaływania rolnictwa na środowisko. Opis metodyki i omówienie wyników bilansu na poziomie NUTS-0 (Polska) i NUTS-2 (województwa)*. Puławy, 2017.
56. Bożena Smreczak – *Biodostępność wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w glebach*. Puławy, 2018.
57. Anna Józefaciuk, Eugeniusz Nowocień, Rafał Wawer – *Erozja wietrzna w Polsce*. Puławy, 2018.
58. Jerzy Księżak, Jolanta Bojarszczuk, Anna Gałązka, Jacek Niedźwiecki, Karolina Gawryjolek, Leszek Lenc, Małgorzata Jeske, Ewa Czyż, Maria Król – *Badania nad uprawą kukurydzy (Zea mays L.) w wieloletniej kulturze i zmianowaniu*. Puławy, 2018.
59. Janusz Smagacz – *Konserwująca uprawa roli – tendencje rozwoju i znaczenie we współczesnym rolnictwie*. Puławy, 2018.
60. Elżbieta Harasim – *Studia nad plonowaniem, jakością ziarna i opłacalnością produkcji ozimej formy pszenicy zwyczajnej i twardej*. Puławy, 2018.
61. Beata Kołodziej – *Przestrzenno-czasowe zmiany właściwości gleby technogenicznej na terenie pogórnym*. Puławy, 2020.
62. Adam Harasim, Mariusz Matyka – *Ocena zmian warunków produkcji roślinnej i ich następstw w gospodarstwie rolnym w ujęciu długookresowym*. Puławy, 2020.
63. Sylwia Siebielec, Monika Kozieł, Małgorzata Woźniak, Grzegorz Siebielec – *Mikroorganizmy solubilizujące fosforany – znaczenie w rolnictwie i remediacji*. Puławy, 2021.
64. Anna Podleśna, Bartosz Narolski – *Efektywność plonotwórcza siarki i azotu w produkcji żyta jarego*. Puławy, 2021.
65. Jan Jadczyzyn – *Ocena rolnictwa na obszarach problemowych w Polsce*. Puławy, 2022.