



Wykorzystanie ryzobakterii do stymulacji wzrostu roślin

Anna Kalitkiewicz, Ewa Kępczyńska

Zakład Biotechnologii Roślin, Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Szczeciński, Szczecin

The use of rhizobacteria in plant growth promoting process

Summary

This review focuses on the present knowledge about beneficial free-living soil bacteria that associate closely with plant as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). Growth promotion can occur mainly by two mechanisms (1) directly by phytohormone production (e.g. gibberelin, auxin and cytokinin) or enzymatic lowering of plant ethylene levels (ACC deaminase), nitrogen fixation, iron chelating by siderophores, phosphorus solubilization or (2) indirectly by the reduction or prevention of the action of plant pathogens. The properties of PGPR offer a great promise for agronomic applications. This review presents examples of its application in practice.

Key words:

ACC deaminase, biological control, ethylene, gibberelin, indoleacetic acid, induced systemic resistance, plant growth-promoting rhizobacteria.

1. Wstęp

Jednym z głównych zadań do roku 2013 z zakresu tzw. biotechnologii zielonej jest wykorzystanie mikroorganizmów w zwiększaniu plonu roślin (1). Stanowi ono pewną alternatywę dla stosowania sztucznego nawożenia preparatami mineralnymi oraz dla syntetycznych pestycydów, aktualnie szeroko wykorzystywanych w celu ograniczenia infekcyjnych chorób roślin. Spośród mikroorganizmów, wolno żyjące bakterie glebowe, bytujące w strefie korzeniowej roślin lub jako endofity w powierzchniowych ich tkankach, tzw. ryzobakterie mają szansę odegrać ogromną rolę

Adres do korespondencji

Ewa Kępczyńska,
Zakład Biotechnologii
Roślin,
Katedra Fizjologii
i Biotechnologii Roślin,
Uniwersytet Szczeciński,
ul. Wąska 13,
71-415 Szczecin.

w biotechnologii poprzez wspomaganie wzrostu roślin, jako tzw. PGPR (ang. *plant growth-promoting rhizobacteria*). Bakterie te stymulują wzrost roślin w dwojaki sposób: bezpośredni i pośredni. Bezpośrednia stymulacja polega na dostarczeniu roślinie składników mineralnych, syntezie fitohormonów stymulujących rozwój roślin (np. auksyn, giberelin, cytokinin), bądź obniżeniu poziomu etylenu niekorzystnie wpływającego na ukorzenianie roślin, dzięki obecności w tych bakteriach deaminazy kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksylowego (deaminaza ACC), degradującej prekursor biosyntezy etylenu. Natomiast pośredni sposób stymulacji polega na ochronie rośliny przed skutkami działania fitopatogenów.

Obecnie znanych jest kilkadziesiąt szczepów PGPR. Mikroorganizmy te były i są obecnie obiektem wielu badań laboratoryjnych i polowych. Bakterie te znalazły zastosowanie w rolnictwie, ogrodnictwie, a także leśnictwie.

Celem pracy jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy dotyczącego „promowania” wzrostu roślin przez bakterie glebowe.

2. Stymulacja wzrostu przez PGPR

Bakterie „promujące” wzrost (PGPR) roślin należą do różnych grup filogenetycznych. Najliczniejszą grupę PGPR stanowią bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, a także *Bacillus*, *Enterobacter* i *Erwinia* (tab. 1).

Tabela 1

Niektóre wolno żyjące ryzobakterie stymulujące wzrost roślin — PGPR

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

Tabela 1 cd.

<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Pseudomonas rubrilineans</i>
<i>Burkholderia gladioli</i>	<i>Rathayibacter rathayi</i>
<i>Burkholderia graminis</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Burkholderia vietnamiensis</i>	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Streptomyces griseoviridis</i>

Poszczególne bakterie PGPR mogą sprzyjać wzrostowi i rozwojowi rośliny działając w sposób bezpośredni lub pośredni (tab. 2).

Tabela 2

Stymulacja wzrostu roślin przez PGPR

Działanie bezpośrednie	Działanie pośrednie
<ul style="list-style-type: none"> – produkcja fitohormonów: giberelin auksyn cytokinin – obniżanie poziomu etylenu w roślinach przez bakteryjną deaminazę ACC – zwiększenie pobierania związków mineralnych: ułatwianie pobierania azotu rozpuszczanie związków fosforu wiązanie żelaza przez siderofory 	<ul style="list-style-type: none"> – biologiczne zwalczanie patogenów: konkurencja o miejsce na korzeniu ograniczenie dostępności żelaza dla patogenów przez wiązanie w siderofory synteza metabolitów przeciwgrzybowych produkcja antybiotyków produkcja enzymów lizujących ściany komórkowe grzybów – indukowanie odporności systemicznej (ISR)

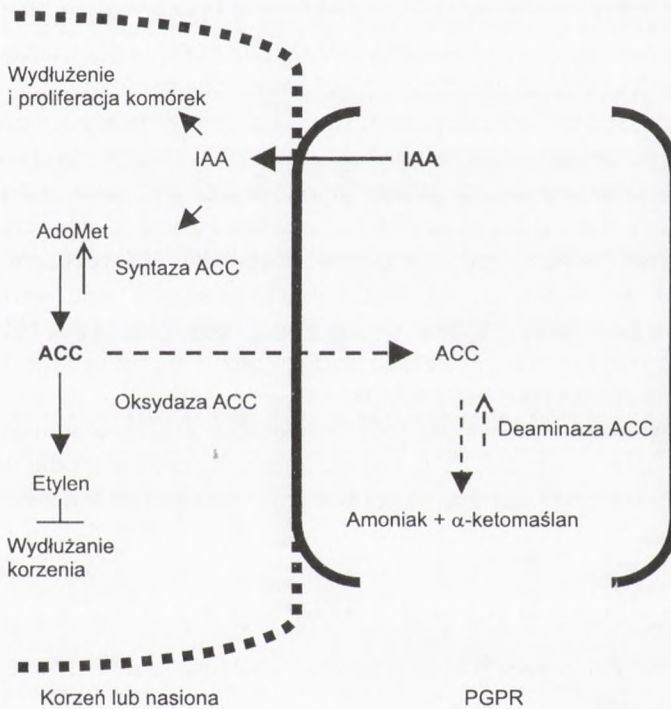
2.1. Stymulacja wzrostu roślin przez PGPR — wpływ bezpośredni

2.1.1. Modyfikacja poziomu endogennych hormonów w roślinach

Bakterie, które żyją w ryzosferze, mają zdolność do produkcji fitohormonów, a zatem mogą wpływać na wzrost roślin poprzez zwiększenie w nich endogennej puli regulatorów wzrostu na przykład z grupy stymulatorów takich jak gibereliny, auksyny i cytokininy (2). Gibereliny stymulują przerywanie spoczynku, kiełkowanie nasion, wzrost łodygi na długość, indukują kwitnienie oraz rozwój kwiatów, zwiększają żywotność pyłku i przyspieszają rozwój owoców. Ponadto biorą udział w stymulacji wzrostu korzenia oraz indukcji włośników korzeniowych (3,4). Spośród PGPR gibereliny produkują *Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum seropedicae* (5), *Bacillus* sp. (6) oraz *Azospirillum* sp. (7). Zaobserwowano wydłużanie się międzywęźli fasoli po zainokulowaniu *Bradyrhizobium* sp. i wzrost w tych międzywęźlach pozio-

mu giberelin GA_1 , GA_{19} , GA_{20} i GA_{44} (8). *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* może kolonizować korzenie ryżu. Okazało się, że ten szczep produkuje giberelinę GA_7 , a także inny znany stymulator wzrostu roślin, auksynę — kwas indoliloctowy (IAA, ang. *indole-3-acetic acid*) (9). Produkcja IAA przez bakterie PGPR jest szeroko rozpowszechniona, chociaż w ich komórkach nie działa jako hormon. Prawdopodobnie bierze on udział w nawiązaniu kontaktu bakterii z rośliną. PGPR podobnie jak rośliny syntetyzują IAA z tryptofanu przez kwas indolilopirogronowy. Natomiast u patogenicznych bakterii, IAA jest produkowany z indoliloacetamidu i bierze udział w indukcji guzów (ang. *tumors*) przez *Agrobacterium tumefaciens* i narośli (ang. *galls*) przez *Pseudomonas syringae* (10,11).

Skutek działania auksyn w dużej mierze zależy od ich stężenia. Obserwowano, że inokulacja z wykorzystaniem szczepów *Pseudomonas* o rosnącej produkcji auksyn, pozytywnie wpływała na ukorzenianie się roślin, jednak tylko do granicznego stężenia, powyżej którego nie obserwowano już pozytywnego wpływu (11). Wiadomo, że wzrost korzenia jest stymulowany przez aplikację stosunkowo niskich stężeń IAA, między 10^{-9} i $10^{-12}M$. Stosowanie auksyn w wyższych stężeniach powoduje hamo-



Rys. 1. Schemat działania PGPR na wzrost korzenia i kiełkowanie nasion.

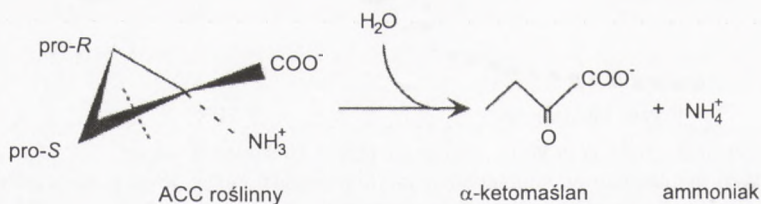
IAA – kwas indoliloctowy, AdoMet-S-adenozylometionina; ACC – kwas 1-aminocyklopropano-1-karboxylowy; ↑ – Zwiększenie aktywności syntazy ACC pod wpływem bakteryjnego IAA; † – zwiększenie aktywności deminazy ACC pod wpływem roślinnego ACC; ⊥ – zahamowanie wydłużenia korzenia.

wanie wzrostu korzeni, co jest związane z indukcją biosyntezy etylenu, znanego inhibitora wzrostu roślin, w tym korzeni (10).

Zatem IAA wydzielany przez bakterie może wspomagać działanie auksyn roślinnych we wzroście korzenia bezpośrednio przez stymulację podziału i wydłużania komórek roślinnych (12). Niski poziom bakteryjnego IAA pobudza wydłużanie korzeni, natomiast wysoki pobudza formowanie korzeni bocznych i przybyszowych (rys. 1). Siewki rzepaku z pierwotnymi korzeniami traktowane dzikim szczepem *Pseudomonas putida* GR12-2 miały przeciętnie o 35-50% dłuższe korzenie od siewek traktowanych mutantem, *P. putida* nie syntetyzującym IAA lub nie szczepionych. Na podstawie wyników sugeruje się, że bakteryjny IAA odgrywa znaczącą rolę w rozwoju głównego systemu korzeniowego rośliny (10). Bakteryjny IAA nie tylko wpływa bezpośrednio na wzrost korzeni, ale również pośrednio poprzez wpływ na regulację poziomu etylenu w roślinach (12). Z jednej strony egzogenny, bakteryjny IAA zwiększa transkrypcję i aktywność syntazy ACC (13) katalizującej syntezę prekursora etylenu w roślinach, kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksylowego (ACC) i tym samym podwyższa poziom etylenu, znanego inhibitora wzrostu korzeni siewek (13). Z drugiej jednak strony bakteryjny IAA stymuluje aktywność deaminazy ACC w bakteriach (14). Substratem dla tego enzymu jest ACC produkowany przez rośliny, którego pewna ilość jest wydzielana przez nie do środowiska (15,16). Bakterie związane z powierzchnią korzeni lub okrywają nasion pobierają to wydzielone ACC i przekształcają do α -ketomaślanu i amoniaku (rys. 2) dzięki obecności enzymu deaminazy ACC (17).

Enzym ten został zidentyfikowany u wielu bakterii glebowych i uznano, że odgrywa on podstawową rolę w relacji bakteria-roślina (18,19). Syntetyzowany jest przez bakterie Gram-ujemne (17,20) w tym rizobia (21,22), bakterie Gram-dodatnie (23) i grzyby (24). Nie jest on wydzielany na zewnątrz komórki, ale jest zlokalizowany w cytoplazmie drobnoustroju. Aktywność deaminazy ACC różni się w zależności od szczepu bakterii. Najwyższą aktywność tego enzymu wykazują bakterie z rodzaju *Rhodococcus* oraz *Pseudomonas*, zawiera się ona w granicach 3000-12 000 nM α KB $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$. Natomiast bakterie z rodzaju *Rhizobium* charakteryzują się niską aktywnością deaminazy ACC — 5-20 nM α KB $\text{mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ (20).

Fakt, że deaminaza ACC ma zdolność do hydrolizy ACC do amoniaku i α -ketomaślanu ma dwójakie znaczenie. Po pierwsze, amoniak stanowi źródło azotu dla bakterii, dzięki czemu mogą one żyć nawet w glebach ubogich w ten związek. Ponadto



Rys. 2. Hydroliza roślinnego ACC przez bakteryjną deaminazę ACC.

utylizacja ACC uniemożliwia syntezę etylenu w roślinach i tym samym obniża jego poziom (2,17,18). Wprowadzenie do gleby populacji mikroorganizmów zawierających deaminazę ACC, a zatem zdolnych do obniżania puli ACC, może być efektywną, nieinwazyjną, alternatywną metodą polepszania wzrostu i rozwoju roślin szczególnie dla roślin wrażliwych na etylen, takich jak: rzepak, papryka i pomidor (17). Należy zaznaczyć, że enzym ten obniża poziom etylenu nie eliminując go całkowicie, dzięki temu niezakłócone są mechanizmy, w których konieczny jest wyższy poziom etylenu, np. przerwanie spoczynku nasion czy dojrzewanie owoców (25,26). Mutanty PGPR, które nie produkują deaminazy ACC tracą zdolność do pobudzania wydłużania korzenia (12). Możliwe jest, że IAA i deaminaza ACC współdziałają przy pobudzaniu elongacji korzenia.

Obecność w glebie bakterii zawierających deaminazę ACC jest korzystna również dla roślin w warunkach stresowych takich jak: zalanie, metale ciężkie (15), obecność fitopatogenów (27) oraz susza (28) i wysokie zasolenie (29,30). Rośliny poddane stresowi produkują większe ilości etylenu, który hamuje wzrost wegetatywny, np. wydłużanie korzenia. Potraktowanie roślin bakteriami zawierającymi deaminazę ACC zwiększa odporność roślin na szkodliwe działanie etylenu (18,31) poprzez obniżenie jego poziomu.

Mikroorganizmy w tym PGPR produkują oprócz giberelin i auksyn również cytokiny (32,33). Zdolność *Rhizobium leguminosarum* do promowania wzrostu rzepaku i sałaty we wczesnych etapach rozwoju łączy się ze zdolnością tego szczepu do produkcji czynników wzrostu takich jak IAA, a także cytokiny (34).

2.1.2. Zwiększenie pobierania związków mineralnych

Zmiany endogennej puli fitohormonów roślinnych pod wpływem bakterii PGPR, czyli zwiększenie stymulatorów wzrostu korzeni (auksyn, giberelin, cytokinin) i obniżenie inhibitora tego procesu (etylenu) skutkują przyrostem masy korzeni. Zwiększona zostaje tym samym powierzchnia kontaktowa rośliny z glebą, co prowadzi do większej dostępności i bardziej wzmoczonego przyjmowania przez nią składników odżywczych i w konsekwencji do „promowania” jej wzrostu. Rośliny zaszczerpione *Azospirillum* pobierają więcej N, P, K i mikroelementów, np. Fe z gleby. PGPR mogą poprawić przyswajanie składników mineralnych, nie tylko poprzez zwiększenie powierzchni korzenia, ale też przez pobudzanie systemów pobierania jonów (35).

Wśród bakterii PGPR znajdują się takie, które mają zdolność do wiązania azotu atmosferycznego, tzw. bakterie diazotroficzne. Zawierają one enzym nitrogenazę, która redukuje azot atmosferyczny do jonu amonowego (NH_4^+). PGPR wiążące azot to nie tylko bakterie z rodzaju *Rhizobium* wchodzące w związek symbiotyczny z roślinami motylkowymi (36), ale także niektóre *Pseudomonas* (37). Mimo zdolności PGPR do wiązania azotu atmosferycznego jest mało prawdopodobne by dostarczały dużych ilości tego pierwiastka do rośliny. Jednak PGPR takie jak *Rhizobium* w środowi-

sku ubogim w azot promuje wzrost roślin przez dostarczenie tego limitującego pierwiastka (38). Bakterie PGPR mają wpływ na gospodarkę azotową nie tylko poprzez zdolność wiązania azotu atmosferycznego, ale również poprzez zwiększanie zdolności pobierania azotu nie tylko pośrednio poprzez stymulację rozwoju korzeni bocznych, ale również prawdopodobnie bezpośrednio przez stymulację systemów transportujących NO_3^- u roślin. Wiadomo, że rośliny są w stanie pobierać azot w dwóch postaciach azotanowej (NO_3^-) i amonowej (NH_4^+). Jednak, ponieważ w glebie stężenie NH_4^+ jest przeważnie dużo niższe niż NO_3^- i ponieważ rozwój większości roślin jest optymalny raczej w obecności NO_3^- niż NH_4^+ , preferowanym źródłem azotu przez rośliny jest forma NO_3^- . Istnieje potrzeba wyjaśnienia na poziomie molekularnym czy PGPR wpływają bezpośrednio czy pośrednio na syntezę transporterów (35).

Istotnym składnikiem gleby niezbędnym dla rozwoju roślin, ale także patogenów jest żelazo. PGPR zdolne są kontrolować pulę żelaza dzięki sideroforam (17). Niedobór biologicznie dostępnego żelaza w glebie i na powierzchni rośliny powoduje zaciętą konkurencję wśród mikroorganizmów glebowych o ten pierwiastek (39). Przy ograniczonej dostępności żelaza bakterie PGPR mają zdolność do produkcji związków chelatujących, tzw. sideroforów, które mają bardzo wysokie powinowactwo do tego pierwiastka (40). Te bakteryjne chelatory wiążą żelazo z ryzosfery zabezpieczając pulę żelaza potrzebną do wzrostu sobie i roślinom (17,39). Wiele szczepów *Pseudomonas* produkuje siderofory takie jak piowerdynę oraz piochelinę i jej prekursor kwas salicylowy. Syntezę sideroforów mogą modulować czynniki środowiskowe. Wpływ mają zawartość żelaza w glebie i formy jego jonów, pH gleby, obecność innych mikroelementów i makroelementów to jest węgla, azotu i fosforu (41).

Ghosh i inni (42) wykorzystali PGPR z rodzaju *Bacillus* do stymulacji wzrostu rzepy (*Brassica campestris*). Stwierdzili, że bakterie te promują wzrost rzepy zarówno w przypadku inkubacji nasion w zawieszynie PGPR jak i przez dodanie bakterii do gleby, chociaż skuteczniejsza okazała się metoda inokulacji gleby, a nie nasion. Zastosowanie tych bakterii spowodowało zwiększenie długości korzenia o 80%, masy korzenia o 100-120%, długości pędu o około 100% (42).

Skutki bezpośredniego wpływu PGPR na roślinę zależą od struktury i składu gleby. Zatem PGPR często ma mały lub nieistotny statystycznie wpływ na wzrost rośliny, gdy są one uprawiane w glebie bogatej w składniki odżywcze i rosną w optymalnych warunkach (17). Jeżeli zaszczepimy bakteriami promującymi wzrost rośliny glebę ubogą w składniki pokarmowe to efekt będzie wymiennie większy (19).

2.2. Pośrednie mechanizmy stymulacji wzrostu roślin

Pośrednie mechanizmy „promowania” wzrostu roślin mają miejsce, wówczas gdy bakterie ograniczają lub zapobiegają pewnym szkodliwym efektom działania fitopatogenicznych organizmów (17). Obejmują one zwalczanie biologiczne patoge-

nów i indukcję odporności systemicznej roślin. Są to metody alternatywne do stosowania syntetycznych pestycydów.

2.2.1. Biologiczne zwalczanie patogenów

Poznane mechanizmy obronnego działania PGPR to m.in. konkurencja o niszę ekologiczną i o składniki odżywcze, produkcja antybiotyków i enzymów lizujących ściany patogena, enzymów detoksykacji, produkcja metabolitów zwalczających patogena i wywoływanie indukowanej systemicznej odporności (ISR) w roślinach gospodarza dla szerokiego spektrum patogenów (17,43) lub stresów abiotycznych (29,31).

Bakterie PGPR mogą być wykorzystywane do ograniczenia chorób powodowanych przez patogeny grzybowe i bakteryjne na zasadzie konkurencji o nisze i znajdujące się w nich składniki odżywcze. Wiadomo, że wokół korzeni znajdują się bogate w składniki odżywcze (w tym cukry i aminokwasy) nisze przyciągające mnóstwo różnych drobnoustrojów, włączając fitopatogeny. Konkurencja o nisze i składniki w nich zawarte jest jednym ze sposobów, przez który PGPR ochrania rośliny przed fitopatogenami (43,44).

Kolonizacja ryzosfery przez PGPR i ograniczanie dostępności patogenów do ryzosfery są możliwe dzięki produkcji bakteryjnych substancji takich jak: antybiotyki, enzymy lizujące i enzymy detoksykacji i wcześniej wspomniane siderofory wiążące żelazo (19,43).

Są liczne doniesienia o produkcji przez bakterie w warunkach *in vitro* przeciwgrzybowych i przeciwbakteryjnych metabolitów w tym antybiotyków, mogą one też działać *in vivo*. Należą tu amoniak, butyrolakton, 2,4-diacetylochlooroglucyna (DAPG), HCN, kwas fenazyjno-1-karboksyłowy (PCA), pyoluteorina (Plt), pyrrolnitrina (Prn), wiskozynamid, kanozamina, oligomycyna A, oomycyna A, ksantobakcyna i zwittermycyna, jak również kilka innych dotąd nie scharakteryzowanych i bliżej nieznanych związków należących m.in. do cyklicznych lipopeptydów (41,45-47). Spośród wtórnych metabolitów produkowanych przez ryzobakterie, 2,4-DAPG, jest jednym z najefektywniejszych i odgrywa ważną rolę w zwalczaniu chorób (grzybowych, bakteryjnych). Produkcja 2,4-DAPG została stwierdzona w kilku bakteryjnych szczepach z rodzaju *Pseudomonas*. Gen *phlD* jest włączony w biosyntezę DAPG i aktualnie jest używany jako marker genetyczny w wykrywaniu produkcji DAPG wśród ryzobakterii (48). Synteza antybiotyków przez mikroorganizmy zależy od stanu metabolicznego komórki, co jest podyktowane dostępnością składników odżywczych i innymi bodźcami środowiskowymi, do których należą: zawartość makro- i mikroelementów, typ źródła węgla i jego zapas, pH, temperatura (48-50). Skuteczność działania tych związków uzależniona jest także od wzrostu rośliny i stopnia jej rozwoju, np. biologiczna aktywność bakteryjnego DAPG nie ujawnia się w młodych korzeniach, ale w starszych (51).

PGPR do walki z patogenami wykorzystują również enzymy, m.in. enzymy lizujące komórki patogenów grzybowych. Dzięki obecności chitynaz szczep *Serratia marcescens*, może hamować rozwój *Sclerotium rolfsii*, natomiast *Paenibacillus* sp. szczep 300 i *Streptomyces* sp. szczep 385 może ograniczać rozwój *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. Enzymy te rozkładają chitynę, składnik ścian komórkowych grzyba. PGPR produkują także β -1,3-glukanazy, proteazy i lipazy, które powodują hydrolizę substancji zapasowych (glukanu, białek, tłuszczu) i strukturalnych (43,52). *Paenibacillus* sp. szczep 300 i *Streptomyces* sp. szczep 385 syntetyzują 1,3-glukanazy, dzięki którym są zdolne do lizy ścian *Fusarium oxysporum* (53).

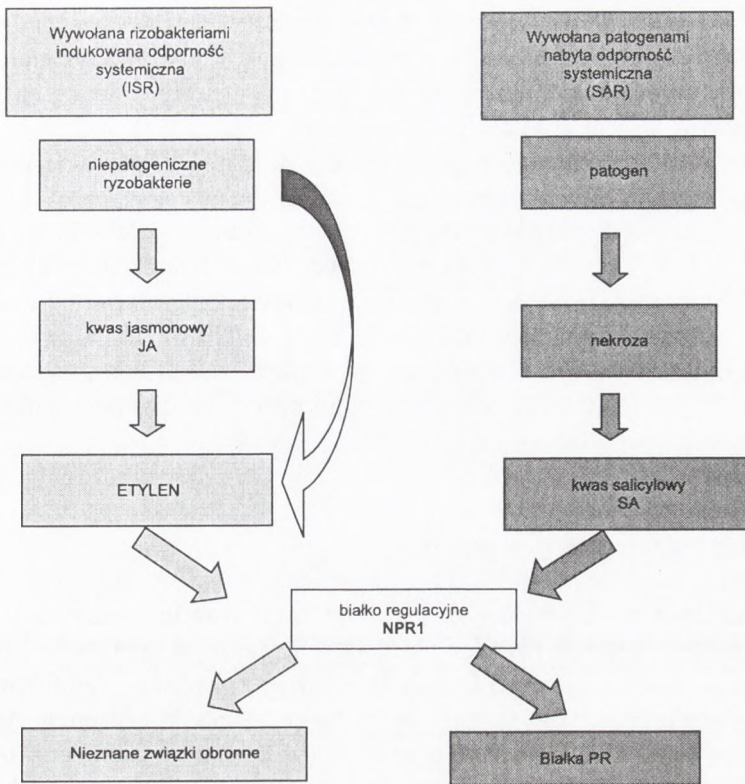
Innym mechanizmem biologicznego zwalczania jest detoksykacja czynników wirulencji patogena. Na przykład, *Bacillus cepacia* i *Ralstonia solanacearum* mogą hydrolizować kwas fuzariowy, który jest fitotoksyną produkowaną przez *Fusarium* (43,54).

Kolejnym przykładem biologicznego zwalczania patogenów roślin jest, jak wcześniej wspomniano, wiązanie żelaza glebowego przez bakteryjne siderofory, co czyni je niedostępnym i dla chorobotwórczych grzybów, tym samym ograniczając ich wzrost (17). Obserwowano znaczne ograniczenie rozwoju *Pythium* i *Fusarium* na pomidorze dzięki produkcji sideroforów przez *Pseudomonas aeruginosa* Migula 7NSK2 (39,55).

2.2.2. Indukowanie odporności systemicznej (ISR)

Interakcje między roślinami i patogenem mogą doprowadzić albo do infekcji roślin przez patogeny (interakcji kompatybilnej) albo odporności rośliny przeciw patogenom (interakcja niekompatybilna) (56). Odpowiedzi występują zarówno w organie rośliny pierwotnie zaatakowanym (odpowiedź lokalna = odporność miejscowa) i w odległym, jeszcze nie zaatakowanym (odporność systemiczna). Odporność systemiczna dzieli się na odporność indukowaną systemiczną (ISR, ang. *induced systemic resistance*); oraz na nabytą odporność systemiczną (SAR, ang. *systemic acquired resistance*) roślin przeciw patogenom (rys. 3). Definicja odporności indukowanej zaproponowana przez Kloeppera i wsp. (56) obejmuje zarówno indukcję biotyczną wywołaną mikroorganizmami jak i abiotyczną wywołaną przez substancje chemiczne. Fenotypowe skutki szczepienia bakteriami mogą być podobne do wzbudzenia odporności czynnikami chemicznymi.

Termin „indukowana odporność systemiczna” (ISR) jest terminem używanym, by podkreślić, że jest to odporność wywołana przez biotyczne czynniki niechorobotwórcze, np. PGPR, której nie towarzyszy synteza kwasu salicylowego (SA, ang. *salicylic acid*) i produkcja białek obronnych (PR, ang. *Pathogenesis Related*) (57). Aktywacja ISR przez niepatogeniczne drobnoustroje pozostające w bliskości z korzeniami jest odmienna od nabytej odporności systemicznej (SAR), w której odpowiedź jest wywołana przez kontakt rośliny z patogenami (rys. 3) (56).



Rys 3. Schemat przedstawiający zależności między systemyczną odpornością nabytą (SAR) a indukowaną (ISR).

Wywołana przez PGPR indukowana odporność systemiczna (PGPR-ISR) jest podobna do odporności wywołanej przez inne czynniki takie jak patogeny czy czynniki chemiczne. W ISR cząsteczkami sygnałowymi są kwas jasmonowy (JA, ang. *jasmonic acid*) i etylen. Jednakże niektóre PGPR indukują szlak zależny od kwasu salicylowego (58). Aktywacja ISR jest uzależniona od kontaktu rośliny-gospodarza ze szczepem PGPR (57). Jasmoniany odgrywają ważną rolę w nawiązaniu kontaktu i ustanowieniu związku bakterii PGPR z rośliną oraz w wywoływaniu odpowiedzi roślin na te mikroorganizmy (59). Odpowiedź obronna rośliny jest kontrolowana przez białka regulacyjne NPR1. Raz aktywowana przez PGPR odporność, tzw. PGPR-ISR jest utrzymana przeciw wielorakim patogenom, nawet jeśli populacja bakterii, która wywołała to zjawisko już nie istnieje (57). Do bakteryjnych sygnałów wywołujących ISR u różnych gatunków roślin należą: lipopolisacharydy (lipid A i antygen O), siderofory, flagelle, antybiotyki (pjoicyjanina, 2,4-DAPG), substancje lotne, np. 2,3-butanodiol (38,60). Duijff i wsp. (61) wykazali zdolność wywołania przez bakterie PGPR odporności roślin na patogeny grzybowe. Udało im się ograniczyć wędnięcie wywołane

Fusarium (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) na pomidorze dzięki zastosowaniu *Pseudomonas fluorescens* WCS417r. Stwierdzili oni, że indukowana odporność systemiczna objawia się przez wzmacnianie ścian komórek epidermy i pojawienie się barier zawierających kallozę, ligniny i fenole poza miejscami infekcji (61).

Niektóre PGPR są zdolne do indukcji syntezy białek PR w roślinach, co prowadzi do biochemicznych i fizjologicznych zmian i związane jest z wywoływaniem odporności. Znaczna część PGPR nie wywołuje jednak produkcji białek PR, ale raczej powoduje wzrost aktywności peroksydaz, amoniakolizazy fenyloalaninowej (główny enzym szlaku biosyntezy fenylopropanoidów), fitoaleksyn, oksydazy polifenoli i syntazy chalkonowej (enzym biorący udział w biosyntezie flawonoidów) w roślinie. Niektóre geny PGPR związane z biosyntezą antybiotyków, np. DAPG są wysoce homologiczne z niektórymi genami związanymi z odpornością, np. z genem syntazy chalkonowej (62).

2.3. Wykorzystanie PGPR w praktyce

Aktualnie bakterie PGPR są wykorzystywane głównie w rolnictwie i ogrodnictwie, aczkolwiek znajdują również zastosowanie także w leśnictwie i remediacji środowiska (63). Prowadzone są testy polowe na szeroką skalę. Zainfekowano pola uprawne o powierzchni 200 000 ha (m.in. Belgia, Meksyk) szczepem *Azospirillum brasilense*. Osiągnięto efekt wzrostu plonów sorga, pszenicy i jęczmienia o 26%. Stosując PGPR na kukurydzy osiągnięto efekt znaczącego przyrostu liczby korzeni bocznych, długości i suchej masy korzeni (64). Zastosowanie *Enterobacter cloacae* CAL3 pod uprawę pomidora, papryki i fasoli mungo doprowadziło do stymulacji wzrostu siewek tych roślin (65). Szczepy *Bacillus polymyxa* i *Pseudomonas fluorescens* użyte zostały do stymulacji wzrostu świerku. Zaobserwowano wzrost suchej masy siewek świerku o 57% (66).

PGPR zostały wykorzystane także w technologiach fitoremediacji. Szczepy odporne na nikiel zastosowano do zabezpieczenia rzepaku i pomidora przed toksycznym działaniem niklu objawiającym się zwiększeniem produkcji etylenu stresowego. Po inokulacji bakterii do gleby zaobserwowano znaczący spadek w produkcji etylenu przez te rośliny (67).

Literatura

1. Bielecki S., (red.) (2006), *Raport. Perspektywy i kierunki rozwoju biotechnologii w Polsce do 2013*, Biotechnologia, monografie, 3.
2. Hontzeas N., Hontzeas C. E., Glick B. R., (2006), *Biotech. Adv.*, 24, 420-426.
3. King R. W., Evans L. T., (2003), *Annu. Rev. Plant Biology*, 54, 307-328.
4. Sponsel V. M., (2003), *Encyclopedia of Hormones and Related Cell Regulators*, Eds. Henry H. L., Norman A. W., 2, 29-40, Elsevier, San Diego.
5. Bastián F., Cohen A., Piccoli P., Luna V., Baraldi R., Bottini R., (1998), *Plant Growth Regul.*, 24, 7-11.

6. Gutiérrez-Mañero F., Ramos-Solano B., Probanza A., Mehouchi J., Tadeo F. R., Talon M., (2001), *Physiol. Plant.*, 111, 206-211.
7. Bottini R., Cassán F., Piccoli P., (2004), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 65, 497-503.
8. Dobert R. C., Rood S. B., Blevins D. G., (1992), *Plant. Physiol.*, 98, 221-224.
9. Yanni Y. G., Rizk R. Y., Abd El-Fattah F. K., Squartini A., Corich V., Giacomini A., de Bruijn F., Rademaker J., Maya-Flores J., Ostrom P., Vega-Hernández M., Hollingsworth R. I., Martínez-Molina E., Mateos P., Velázquez E., Wopereis J., Triplett E., Umali-García M., Anarna J. A., Rolfe B. G., Ladha J. K., Hill J., Mujoo R., Ng P. K., Dazzo F. B., (2001), *Funct. Plant. Biol.*, 28, 845-870.
10. Patten C. L., Glick B. R., (2002), *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 3795-3801.
11. Persello-Cartieaux F., Nussaume L., Robaglia C., (2003), *Plant Cell Environ.*, 26, 189-199.
12. Li J., Ovakim D. H., Charles T. C., Glick B. R., (2000), *Curr. Microbiol.*, 41, 101-105.
13. Peck S. C., Kende H., (1998), *Plant Mol. Biol.*, 38, 977-982.
14. Li J., Glick B. R., (2001), *Can. J. Microbiol.*, 47, 359-367.
15. Grichko V. P., Glick B. R., (2001), *Plant Physiol. Biochem.*, 39, 11-17.
16. Jacobson C. B., Pasternak J. J., Glick B. R., (1994), *Can. J. Microbiol.*, 40, 1019-1025.
17. Penrose D. M., Glick B. R., (2003), *Physiol. Plant.*, 118, 10-15.
18. Glick B. R., (2005), *FEMS Microbiol. Lett.*, 251, 1-7.
19. Glick B. R., Penrose D. M., Li J., (1998), *J. Theor. Biol.*, 190, 63-68.
20. Hontzeas N., Richardson A. O., Belimov A., Safronova V., Abu-Omar M. M., Glick B. R., (2005), *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 7556-7558.
21. Ma W., Guinel F. C., Glick B. R., (2003a), *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 4396-4402.
22. Ma W., Guinel F. C., Glick B. R., (2003b), *Antonie van Leeuwenhoek*, 83, 285-291.
23. Belimov A. A., Safronova V. I., Sergeeva T. A., Egorova T. N., Matveyeva V. A., Tsyganov V. E., Borisov A. Y., Tikhonovich I. A., Kluge C., Preisfeld A., Dietz K. J., Stepanok V. V., (2001), *Can. J. Microbiol.*, 47, 642-652.
24. Jia Y. J., Kakuta Y., Sugawara M., Igarashi T., Oki N., Kisaki M., Shoji T., Kanetuna Y., Horita T., Matsui H., Honma M., (1999), *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63, 542-549.
25. Kępczyński J., Kępczyńska E., (1997), *Physiol. Plant.*, 101, 720-726.
26. Kępczyński J., Kępczyńska E., (2005), *Acta Physiol. Plant.*, 27, 213-220.
27. Wang C., Knill E., Glick B. R., Defago G., (2000), *Can. J. Microbiol.*, 46, 898-907.
28. Mayak S., Tirosh T., Glick B. R., (2004a), *Plant Science*, 166, 525-530.
29. Sergeeva E., Shah S., Glick B. R., (2006), *World J. Microb. Biotech.*, 22, 277-282.
30. Mayak S., Tirosh T., Glick B. R., (2004b), *Plant Physiol. Biochem.*, 42, 565-572.
31. Penrose D. M., Moffat B. A., Glick B. R., (2001), *Can. J. Microbiol.*, 47, 77-80.
32. Arshad M., Frankenberger W. T., (1991), *Plant and Soil*, 133, 1-8.
33. Serdyuk O. P., Smolygina L. D., Muzafarov E. N., Adanin V. M., Arinbasarov M. U., (1995), *FEBS Letters*, 365, 10-12.
34. Noel T. C., Sheng C., Yost C. K., Pharis R. P., Hynes M. F., (1996), *Can. J. Microbiol.*, 42, 279-283.
35. Mantelin S., Touraine B., (2004), *J. Exp. Bot.*, 55, 27-34.
36. Gray E. J., Smith D. L., (2005), *Soil Biology & Biochemistry*, 37, 395-412.
37. Lifshitz R., Kloepper J. W., Scher F. M., Tipping E. M., Laliberte M., (1986), *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 251-255.
38. van Loon L. C., (2007), *Eur. J. Plant Pathol.*, 118, 79-90.
39. Loper J. E., Henkels M. D., (1999), *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 5357-5363.
40. Whipps J. M., (2001), *J. Exp. Bot.*, 52, 487-511.
41. Duffy B. K., Defago G., (1999), *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 2429-2438.
42. Ghosh S., Penterman J. N., Little R. D., Chavez R., Glick B. R., (2003), *Plant Physiol. Biochem.*, 41, 277-281.
43. Compant S., Duffy B., Nowak J., Clément C., Barka E. A., (2005), *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 4951-4959.
44. Duffy B. K., (2001), *Encyclopedia of plant pathology*, Eds. Maloy O. C., Murray T. D., 243-244, John Wiley & Sons, Inc., New York.
45. Bais H. P., Weir T. L., Perry L. G., Gilroy S., Vivanco J. M., (2006), *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57, 233-266.

46. de Souza J. T., de Boer M., de Waard P., van Beek T. A., Raaijmakers J. M., (2003), *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 7161-7172.
47. Nielsen T. H., Sorensen D., Tobiasen C., Andersen B., Christophersen C., Givskov M., Sørensen J., (2002), *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 3416-3423.
48. Duffy B. K., Schouten A., Raaijmakers J. M., (2003), *Annu. Rev. Phytopathol.*, 41, 501-538.
49. Bender C. L., Rangaswamy V., Loper J., (1999), *Annu. Rev. Phytopathol.*, 37, 175-196.
50. Ownley B. H., Duffy B. K., Weller D. M., (2003), *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 3333-3343.
51. Piccard C., Di Cello F., Ventura M., Fani R., Guckert A., (2000), *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 948-955.
52. Ordentlich A., Elad Y., Chet I., (1988), *Phytopathol.*, 78, 84-88.
53. Singh P. P., Shin Y. C., Park C. S., Chung Y. R., (1999), *Phytopathol.*, 89, 92-99.
54. Toyoda H., Hashimoto H., Utsumi R., Kobayashi, Ouchi S., (1988), *Phytopathol.*, 78, 1307-1311.
55. Buysens S., Heungens K., Poppe J., Hofte M., (1996), *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 865-871.
56. Kloepper J., Tuzun S., Kuć J., (1992), *Biocontrol Science and Technology*, 2, 347-349.
57. van Loon L. C., Bakker P. A. H. M., Pieterse M. J., (1998), *Annu. Rev. Phytopathol.*, 36, 453-483.
58. de Meyer G., Capiéau K., Audenaert K., Buchala A., Metraux J. P., Hofte M., (1999), *Mol. Plant. Microbe. Interact.*, 12, 450-458.
59. Pozo M. J., van Loon L. C., Pieterse C. M. J., (2005), *J. Plant Growth. Regul.*, 23, 211-222.
60. van Loon L. C., Bakker P. A. H. M., (2005), *PGPR: Biocontrol and biofertilization*, Dordrecht, the Netherlands, Springer Science.
61. Duijff B. J., Pouhair D., Olivain C., Alabouvette C., Lemanceau P., (1998), *Eur. J. Plant Pathol.*, 104, 903-910.
62. Austin M. B., Noel J. P., (2003), *Nat. Prod. Rep.*, 20, 79-110.
63. Lucy M., Reed E., Glick B. R., (2004), *Antonie van Leeuwenhoek*, 86, 1-25.
64. Dobbelaere S., Croonenborghs A., Tys A., Ptacek D., Vanderleyden J., Dutton P., Labandera-Gonzales C., Caballero-Mellado, Aguirre J. F., Kapulnik Y., Brener S., Burdman S., Kadouri D., Sarig S., Okon Y., (2001), *Aust. J. Plant Physiol.*, 28, 871-879.
65. Mayak S., Tirosh T., Glick B. R., (2001), *Biol. Agr. Hort.*, 19, 261-274.
66. Chanway C. P., Shishido M., Nairn J., Jungwirth S., Markham J., Xiao G., Holl F. B., (2000), *For. Ecol. Manage.*, 133, 81-88.
67. Burd G. I., Dixon D. G., Glick B. R., (1998), *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 3663-3668.