

MONIKA JANKOWSKA, DOROTA SWĘDRZYŃSKA

*Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej
Szydlowska 50, 60-656 Poznań
E-mail: Monika.Jankowska@med.uni-heidelberg.de
dorotas@up.poznan.pl*

ANALIZA ODDZIAŁYWAŃ WYBRANYCH DROBNOUSTROJÓW W ŚRODOWISKU GLEBOWYM

WPROWADZENIE

Gleba stanowi skomplikowaną mozaikę mikronisz, z której korzystać mogą różne mikroorganizmy. Obecność korzeni oraz innych podziemnych elementów roślin stanowi dodatkowy czynnik potęgujący złożoność środowiska glebowego. Strefa gleby przylegająca bezpośrednio do korzeni rośliny określana jest mianem ryzosfery (DE BELLIS I ERCOLANI 2001). Jest to dynamiczny obszar, gdzie prócz szerokiego wachlarza oddziaływań pomiędzy drobnoustrojami a korzeniami, występują liczne, wzajemne oddziaływania pomiędzy populacjami mikroorganizmów. Wspólne bytowanie drobnoustrojów w jednej niszy jaką jest ryzosfera, oraz ich styczność z korzeniami roślin, wymusiło wytworzenie pomiędzy nimi szeregu zależności, które mogą przyjmować charakter antagonistyczny bądź mutualistyczny. Podstawą do zajścia jakichkolwiek interakcji, zarówno pomiędzy samymi drobnoustrojami, jak i ich oddziaływań z roślinami, jest wymiana związków sygnałowych (allelopatia), na którą mogą mieć wpływ czynniki biotyczne oraz abiotyczne (ORTÍZ-CASTRO i współaut. 2009). Bogate w związki węgla wydzieliny pochodzące z żywych korzeni oraz metabolity uwalniane z martwych korzeni są pożywieniem dla organizmów ryzosferowych. Sygnały, wliczając w to składniki antybakteryjne i przeciwrzybowe, odgrywają kluczową rolę w regulacji liczby drobnoustrojów w ryzosferze i powstawaniu infekcji korzeniowej. Dzięki produ-

kowanym regulatorom wzrostu roślin, jak auksyny czy cytokininy, rozmaite gatunki grzybów i bakterii są zdolne do wykrywania obecności rośliny i inicjowania kolonizacji korzenia w obrębie ryzosfery. Z drugiej strony, rośliny mogą rozpoznawać związki wysyłane przez drobnoustroje i dostosowywać odpowiedzi obronne i wzrostowe w zależności od rodzaju napotkanego mikroorganizmu (ORTÍZ-CASTRO i współaut. 2009).

ZALEŻNOŚCI MIĘDZY BAKTERIAMI I ROŚLINAMI

Wzrost i rozwój roślin w dużej mierze zależą od aktywności mikroorganizmów glebowych znajdujących się w ryzosferze (DE BELLIS I ERCOLANI 2001). Tak usytuowane mikroorganizmy wpływają na kształtowanie roślin w różny sposób. Niektóre z nich, jak np. ryzosferowe bakterie (ryzobakterie), promujące wzrost roślin (ang. plant growth promoting rhizobacteria, PGPR), mogą polepszać zdrowotność i wydajność roślin poprzez syntezę fitohormonów, zwiększanie lokalnej dostępności składników odżywczych, ułatwianie wchłaniania składników odżywczych przez rośliny, zmniejszanie toksyczności metali ciężkich w roślinach, antagonizowanie patogenów roślinnych czy wzbudzanie w roślinach odporności systemicznej (ang. induced systemic resistance, ISR) na patogeny. Negatywne skutki wywoływane są przez inne

Słowa kluczowe: allelopatia, interakcje roślin z drobnoustrojami, PGPR, ryzosfera, wzajemne oddziaływania pomiędzy drobnoustrojami

organizmy, takie jak tzw. ryzosferowe szkodliwe mikroorganizmy (ang. deleterious rhizosphere microorganisms, DRMO), a te efekty obejmują uwolnienie toksycznych produktów metabolizmu drobnoustrojów, zmianę obiegu składników pokarmowych, zaburzenia wchłaniania składników pokarmowych, konkurencję o składniki odżywcze czy opóźnienie wzrostu korzeni (DE BELLIS I ERCOLANI 2001).

Mechanizmy PGPR wykorzystywane do zwiększenia dostępności składników odżywczych dla roślin żywicielskich obejmują m.in. biologiczne wiązanie azotu (N_2) i mineralizację organicznych związków fosforu (P) (KREY i współaut. 2011). Na skutek niewielkiego stopnia pobierania oraz czasowej immobilizacji, fosfor jest jednym ze składników odżywczych najczęściej limitujących wzrost roślin. Niestety, dostępność odpowiednich nawozów mineralnych bogatych w ten pierwiastek będzie coraz bardziej ograniczona. Alternatywą wydaje się być zastosowanie specyficznych mikroorganizmów wpływających na mobilizację (uruchamianie) fosforu, m.in. za sprawą wydzielanych przez nie fosfataz o wysokiej aktywności (KREY i współaut. 2011). Dotychczas nie było wiadomo czy nawożenie organiczne połączone z inokulacją szczepami bakteryjnymi wywoła efekty stymulujące, czy raczej oba wspomniane źródła fosforu będą się wzajemnie hamować w zaopatrywaniu upraw w ten pierwiastek (KREY i współaut. 2011). Prowadzono badania polowe dotyczące wpływu dwóch szczepów PGPR (*Pseudomonas fluorescens* DR54 i *Enterobacter radicincitans* DSM16656), pojedynczo oraz w kombinacji z nawożeniem organicznym (obornik bydlęcy i kompost odpadów organicznych), na wzrost i pobieranie fosforu przez rośliny kukurydzy i rzepaku (KREY i współaut. 2011). Efekt działania PGPR okazał się znacznie lepszy, niż po nawożeniu organicznym. Stwierdzono, że stosowanie PGPR może stymulować uruchamianie fosforu i zaopatrywanie upraw na glebach z niedoborem tego pierwiastka, jednak w połączeniu z nawożeniem organicznym efekty te mogą być maskowane (KREY i współaut. 2011). Efekty wzajemnego oddziaływania zaaplikowanych szczepów bakteryjnych i nawożenia organicznego zależą od rodzaju nawozu organicznego, a także używanych gatunków roślin (KREY i współaut. 2011). Podobne wyniki zaobserwowano podczas szczepienia kukurydzy cukrowej szczepem *Azospirillum brasilense* w różnych warunkach uprawy. Badania polowe wykazały największy wzrost plonów (o 41%) w wyniku inokulacji kukurydzy przez *Azospirillum* w kombinacji bez nawożenia azotowego (SWĘDRZYŃSKA i SAWICKA 2000).

Efektywność zasiedlania ryzosfer przez mikroorganizmy, a tym samym możliwość ich wykorzystania w roli czynnika o korzystnym wpływie na plonowanie roślin uprawnych, w dużej mierze zależy od sposobu inokulacji. W doświadczeniach wazonowych przeprowadzonych w warunkach szklarniowych na owsie i kukurydzy wykazano, że inokulacja gleby szczepem *A. brasilense*, przed siewem oraz po wschodach, zwiększała liczebność bakterii z rodzaju *Azospirillum* w ryzosferze tych roślin. Z kolei, najmniej efektywną okazała się być inokulacja ziarniaków. Żywotność roślin po inokulacji wyrażono koncentracją chlorofilu w blaszkach liściowych testowanych roślin (SWĘDRZYŃSKA i współaut. 2008, 2010).

Innym przykładem pozytywnych oddziaływań bakterii z roślinami jest symbioza *Rhizobium* z roślinami motylkowymi, prowadząca do wytworzenia brodawek korzeniowych. Do intrygujących, lecz wciąż słabo poznanych właściwości symbiozy należy swoistość rośliny, która jest kontrolowana na wielu poziomach, z udziałem genów zarówno gospodarza (rośliny), jak i bakterii wiążących azot (YANG i współaut. 2010). Badania genetyczne przeprowadzone na soi umożliwiły identyfikację genów dominujących, które ograniczają możliwość zajścia procesu brodawkowania z określonymi szczepami bakterii z rodzaju *Rhizobium*. Gen *Rj2* zapobiega procesowi brodawkowania u soi, w szczególności przez szczepy *Bradyrhizobium japonicum*, jak USDA122, natomiast gen *Rfg1* ogranicza wytwarzanie brodawek przez niektóre szybko rozwijające się szczepy *Sinorhizobium fredii*, jak np. USDA257 (YANG i współaut. 2010). Eksperymenty dowiodły, że wspomniane geny kodują jedno z białek odpornościowych roślin oraz, że powstanie symbiozy w obrębie brodawek korzeniowych wymaga omińnięcia roślinnej odpowiedzi immunologicznej wywołanej przez czynniki efektorowe bakterii *Rhizobium* (YANG i współaut. 2010).

Negatywne interakcje między florą bakteryjną a roślinami są przyczyną wielu chorób różnych ważnych gospodarczo upraw na całym świecie. Do patogenów wywołujących bakteryjne wędnięcie roślin należy m.in. *Ralstonia solanacearum*. Niewiele dotychczas wiadomo na temat zachowania tego patogenu w ryzosferze i wczesnych stadiach patogenezы (COLBURN-CLIFFORD i współaut. 2010). W ryzosferze, *R. solanacearum* spotyka się często ze zjawiskiem stresu oksydacyjnego. W odpowiedzi na wiele bodźców, korzenie roślin produkują reaktywne formy tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS). Zidentyfikowano geny *R. solanacearum* pobudzone w warunkach stresowych w ryzosferze pomidora (COLBURN-CLIFFORD i współaut. 2010).

Do genów tych należy m.in. gen kodujący białko Dps wiążące się z DNA w warunkach głodu komórek (ang. DNA binding protein from starved cells). W badaniach *in vitro* wykazano, że Dps pomaga *R. solanacearum* dostosować się do warunków wewnątrz rośliny, a także przyczynia się do ilościowej kolonizacji rośliny oraz wirulencji prowadzącej do choroby więdnienia bakteryjnego. Wyniki sugerują także, że w początkowym stadium cyklu chorobowego *R. solanacearum* musi pokonać barierę stresu oksydacyjnego, aby mogło dojść do rozwinięcia się choroby (COLBURN-CLIFFORD i współaut. 2010).

Niektóre bakterie przyczyniają się do usuwania zanieczyszczeń nagromadzonych w środowisku glebowym. Ryzosfera jako obszar wzajemnego oddziaływania między glebą a rośliną, odgrywa znaczącą rolę w fitoremediacji gleby skażonej metalami ciężkimi. Rodzaj fitoremediacji, obejmujący strefę korzeniową roślin, określane jest mianem ryzofiltracji (JING i współaut. 2007). Szczególną rolę przy tego typu zanieczyszczeniach odgrywają populacje mikroorganizmów wpływające na przemieszczanie metali ciężkich oraz ich dostępność dla roślin poprzez uwalnianie czynników chelatujących, zakwaszenie, rozpuszczanie fosforanów i reakcje redoks (utleniania i redukcji), a zatem posiadające potencjał do zwiększenia stopnia procesów fitoremediacji. Dobrym rozwiązaniem jest potraktowanie roślin bakteriami PGPR. Ich obecność spowoduje znaczny przyrost biomasy, a tym samym, przyczyni się do ustabilizowania, ponownej wegetacji i remediacji zanieczyszczonych metalami gleb (JING i współaut. 2007). Inne badania donoszą, że bakterie PGPR mogą pełnić znaczącą rolę w fitostabilizacji odpadów górniczych (GRANDLIC i współaut. 2009).

Inokulacja roślin PGPR, poza wzmożonym wzrostem, może zapewnić także systemiczną odporność na szerokie spektrum patogenów roślinnych. Choroby grzybowe, bakteryjne i wirusowe oraz, w niektórych przypadkach, uszkodzenia spowodowane przez owady i nicienie, można ograniczyć stosując właśnie wspomniane bakterie promujące wzrost (PING i BOLAND 2004). Obecność bakterii w ryzosferze roślin prowadzi do stanu określanego jako indukowana odporność systemiczna (ang. induced systemic resistance, ISR). Zjawisko to obserwujemy, kiedy roślina uruchamia mechanizmy obronne (w następstwie reakcji nadwrażliwości) przeciwko infekcji patogenów. W przypadku kolonizacji korzenia przez bakterie PGPR nie odnotowuje się natomiast żadnych widocznych objawów nadwrażliwości (RYU i współaut. 2004, LANOUE i współaut. 2010). Ostatnio dowiedziono, że kluczową rolę w tym procesie odgrywają

lotne związki organiczne (LZO) (ang. volatile organic compounds, VOCs). Wykazano, że mieszanka przenoszonych drogą powietrzną substancji uwalnianych przez specyficzne bakteryjne szczepy PGPR (*Bacillus subtilis* GB03 i *Bacillus amyloliquefaciens* IN937) wywołuje ISR w siewkach *Arabidopsis*. Zauważono, że LZO, takie jak 2,3-butanodiol i acetoina (3-hydroksy-2-butan), znacząco złagodziły, zwykle ostry przebieg choroby wywołanej patogenem bakteryjnym, *Erwinia carotovora* (w porównaniu z siewkami niepotraktowanymi tymi związkami przed zainokulowaniem patogenem) (RYU i współaut. 2004).

ODDZIAŁYWANIA GRZYBÓW Z ROŚLINAMI

Istotny wpływ na wzrost i rozwój roślin mają także oddziałujące z nimi grzyby. Należące do klasy grzybów symbiotycznych endofity grzybowe mogą wpływać korzystnie na kondycję roślin, zapewniając im odporność na temperaturę, zasolenie, choroby czy suszę (SINGH i współaut. 2011). Z badań przeprowadzonych na glebach geotermalnych (Park Narodowy Yellowstone), dotyczących analizy możliwości wzrostu roślin (*Dichanthelium lanuginosum*) w tych warunkach wynika, że rośliny te kolonizował jeden dominujący endofit (*Curvularia protuberata*). Wykryto, że gdy oba te gatunki rosły osobno, ani grzyb ani roślina nie wytrzymały temperatury powyżej 40°C, natomiast żyjąc w symbiozie tolerowały temperaturę nawet do 65°C. Podobną zależność zaobserwowano u *Fusarium culmorum*, kolonizującego tkanki występujących na nadmorskich plażach traw wydmowych (*Leymus mollis*). W warunkach wzrostu niesymbiotycznego, w zasolonym środowisku (w ilości jakiej doświadczają w naturalnych siedliskach), roślina nie była w stanie przetrwać, a endofit wykazywał opóźniony wzrost. Z kolei wzrost w warunkach symbiozy prowadził do tolerancji obu osobników na zasolenie rzędu wody morskiej (SINGH i współaut. 2011). Rośliny z rodzin Brassicaceae i Chenopodiaceae mogą zawdzięczać odporność na suszę współżyciu z kolonizującym ich korzenie grzybem *Piriiformospora indica*, który wyizolowany został z pustynnych piasków. Wystawione na warunki łagodnej suszy sadzonki *Arabidopsis* (Brassicaceae), w przypadku wspólnej uprawy z endofitem, kontynuowały wzrost, podczas gdy niepoddane skolonizowaniu sadzonki kontrolne przestawały rosnąć i wykazywały objawy więdnienia (SINGH i współaut. 2011). Poza endofitami, do klasy grzybów symbiotycznych zalicza się także arbuskularne grzyby mikoryzowe (ang. arbuscular

mycorrhizal fungi, AMF), które związane są z około 90% wszystkich roślin lądowych. Dowiedziono, że roślina skolonizowana przez grzyby mikoryzowe jest lepiej odżywiona oraz lepiej dostosowana do środowiska. Zyskuje w ten sposób zwiększoną ochronę przed stresami środowiskowymi. Przykładowo, symbioza grzybów mikoryzowych z trzciną pospolitą (*Phragmites australis*) zapewnia roślinie utrzymanie równowagi mikroelementów. Z kolei, mikoryza grzyba *Glomus fasciculatum* z akacją (*Acacia nilotica*) chroni ją przed silnym zasoleniem, zapewniając równowagę jonów (SINGH i współaut. 2011).

WZAJEMNE ODDZIAŁYWANIA MIĘDZY DROBNOUSTROJAMI

Populacje drobnoustrojów glebowych są powiązane siecią interakcji decydujących m.in. o kondycji roślin i jakości gleby (BAREA i współaut. 2005). Wszystkie procesy przebiegające w ryzosferze roślin ściśle się ze sobą zazębiają. Nie sposób zatem mówić o oddziaływaniach zachodzących pomiędzy drobnoustrojami bez uwzględnienia allelopatii, bowiem relacje te opierają się na wydzielaniu substancji o działaniu stymulującym, bądź hamującym rozwój mikroorganizmu, z którym reagują. Nie uniknie się także omawiania wzajemnych interakcji między drobnoustrojami bez uwzględnienia wpływu na rośliny. Chcąc podkreślić znaczenie korelacji między różnymi populacjami środowiska ryzosferowego, poniżej przedstawiono kilka przykładów takich zależności. Drobnoustroje mogą się wzajemnie zwalczać niwelując u roślin szkodliwe efekty wywołane przez patogeny, bądź wspólnie potęgować swoje działanie, wywołując np. wzmocniony wzrost rośliny, w sąsiedztwie której występuje.

PGPR, znane z korzystnego wpływu na rozwój roślin, są bakteriami chętnie stosowanymi w ekosystemach rolniczych. Obawy budzą jednak potencjalne skutki inokulacji w relacji do mikroorganizmów naturalnie bytujących w ryzosferze. Badania przeprowadzone *in vitro* wykazały, że oddziaływanie PGPR produkujących antybiotyki (zmniejszające szkodliwe skutki działania fitopatogenów) z bakteriami tubylczymi może prowadzić do długoterminowych następstw. Przykładowo, produkcja 2,4-acetylofloroglucyny (ang. 2,4-diacetylphloroglucinol, DAPG) przez należący do PGPR *Pseudomonas fluorescens* F113Rif, powoduje redukcję bioróżnorodności wśród bakterii ryzosferowych (CASTRO-SOWINSKI i współaut. 2007). Inne badania wskazują na silne zmiany w obrębie struktury populacyjnej niektórych specyficznych grup bakterii. Na przykład, produk-

cja przez *Rhizobium etli* wąskiego spektrum antybiotyków peptydowych, znanych jako „trifolitoksyny” (ang. trifolitoxin, TFX), silnie redukuje obecność wrażliwych na TFX bakterii należących do klasy α -Proteobacteria (ROBLETO i współaut. 1998).

Wzajemne oddziaływania pomiędzy drobnoustrojami glebowymi mogą mieć także charakter synergiczny. Oznacza to, że ich wspólne działanie daje efekt większy, niż suma poszczególnych czynników. Dane literaturowe wskazują, że jednoczesne inokulowanie roślin różnymi szczepami bakterii potęguje ich aktywność biologiczną, wpływając korzystnie na rozwój roślin (np. KLAMA i współaut. 2010, NIEWIADOMSKA i SWĘDRZYŃSKA 2011). Przeprowadzono badania dotyczące wpływu koinokulacji lucerny siewnej szczepami *Sinorhizobium meliloti* (bakterie brodawkowe) i *Herbaspirillum frisingense* (bakterie endofityczne), w odniesieniu do wzajemnych interakcji zachodzących pomiędzy tymi szczepami bakterii (NIEWIADOMSKA i SWĘDRZYŃSKA 2011). Wykazano stymulujący wpływ *H. frisingense* na wzrost *S. meliloti*, we wszystkich testowanych kombinacjach (48-h kultura, osad, supernatant). Z kolei, inokulacja tych samych szczepów bakterii w odwrotnej kolejności powodowała pozytywny wpływ *S. meliloti* na *H. frisingense* w przypadku osadu, natomiast w pozostałych przypadkach obserwowano relacje antagonistyczne. Niekorzystne oddziaływania wytłumaczono nagromadzeniem w podłożu, w trakcie inkubacji, wtórnych metabolitów wytwarzanych przez *H. frisingense*, toksycznych dla *S. meliloti*. Jednoczesna inokulacja lucerny wspomnianymi szczepami wpłynęła pozytywnie na proces symbiozy i plonowanie lucerny siewnej, co oceniono poprzez wyraźny przyrost korzeni włosowatych, wyższą aktywność nitrogeazy oraz zwiększoną masę roślin (NIEWIADOMSKA i SWĘDRZYŃSKA 2011).

ALLELOPATIA W INTERAKCJACH DROBNOUSTROJÓW

Rośliny wytwarzają szereg związków organicznych, w tym cukry, kwasy organiczne i witaminy, które mogą być wykorzystane przez populacje drobnoustrojów jako substancje odżywcze, bądź jako sygnały. Z drugiej strony, mikroorganizmy uwalniają fitohormony lub inne substancje, które mogą działać, bezpośrednio lub pośrednio, na aktywność odporności roślin lub regulację ich wzrostu i morfogenezy (ORTIZ-CASTRO i współaut. 2009).

Pośród czynników zaangażowanych w interakcje roślin z mikroorganizmami, a także wzajemnych oddziaływań pomiędzy drobnoustrojami, na szczególną uwagę zasługują

siderofory (chelatory żelaza) oraz kwas cyjanowodorowy (HCN). W warunkach niedoboru żelaza niektóre mikroorganizmy wytwarzają chelatory o wysokim powinowactwie do jonów żelaza, zwane sideroforami, które są dostępne dla mikroorganizmów i roślin posiadających receptory dla tych związków. U roślin tych, przyswajanie i przetwarzanie żelaza będzie zatem zwiększone (DE BELLIS i ERCOLANI 2001). Kwas cyjanowodorowy uwalniany jest przez niektóre mikroorganizmy jako produkt ich wtórnego metabolizmu. Za pośrednictwem oksydazy cytochromowej wpływa na zahamowanie syntezy ATP u wrażliwych na niego organizmów. Dlatego też mikroorganizmy wytwarzające HCN uznawane są, w zależności od organizmów docelowych, za szkodliwe, gdy osłabiają kondycję roślin, lub za korzystne, kiedy likwidują składniki niepożądane (DE BELLIS i ERCOLANI 2001, RUDRAPPA i współaut. 2008). Z przeprowadzonych badań wynika, że szczepy bakteryjne *Pseudomonas* różniące się pod względem wytwarzania HCN (producenci/nieproducenci), odpowiednio dobrane do danego gatunku roślin mogą sprawdzić się jako środki kontroli biologicznej (ang. biological control agents), np. do zwalczania chwastów lub pozbycia się niechcianych mikroorganizmów, przyczyniając się tym samym do poprawy wzrostu niektórych roślin (DE BELLIS i ERCOLANI 2001). Podobne wnioski wysnuwano w odniesieniu do mikroorganizmów wytwarzających siderofory, które w warunkach niedoboru żelaza zapewniają roślinom zwiększone jego przyswajanie i przetwarzanie (DE BELLIS i ERCOLANI 2001).

W ostatnich latach znaleziono także inne związki odgrywające rolę w procesach morfogenezy roślin, a mianowicie laktony N-acylo-L-homoseryny (LAH) (ang. N-acyl-L-homoserine lactones, AHLs) (ORTIZ-CASTRO i współaut. 2009). LAH należą do klasy sygnałów bakteryjnych, tzw. „quorum sensing” (porozumiewanie się za pomocą cząstek związków chemicznych), pochodzących od Gram-ujemnych bakterii, takich jak *Pseudomonas*. Cząsteczki te dyfundują swobodnie przez błonę bakterii i w ten sposób rozpowszechniane są w ryzosferze. Okazało się, że LAH mogą być rozpoznawane przez rośliny, zmieniać ekspresję genów w korzeniach i pędach, oraz modulować reakcje obronne i wzrost komórek. Związki te umożliwiają komórkom bakteryjnym regulację ekspresji genów w zależności od gęstości populacji. Obecność bakterii produkujących LAH w ryzosferze pomidora indukuje reakcje odpornościowe zależne od kwasu salicylowego i etylenu, które pełnią istotną rolę w aktywacji systemicznej odporności (ISR) roślin i zapewniają im ochronę przed grzybowym pa-

togiem *Alternaria alternata* (ORTIZ-CASTRO i współaut. 2009).

Sekrecja fitohormonów (auksyny, gibbereliny, czy cytokininy) przez bakterie może wpływać na strukturę korzenia poprzez nadprodukcję włóśników lub korzeni bocznych, a następnie wzrost pobierania składników odżywczych i wody, przyczyniając się w ten sposób do wzrostu (ORTIZ-CASTRO i współaut. 2008). W trakcie badań mających na celu wyjaśnienie mechanizmów sygnalizacji, dzięki którym PGPR stymulują wzrost i modyfikują rozwój roślin, zidentyfikowano nowy szczep *Bacillus megaterium* (UMCV1), który poprawiał wzrost roślin *Arabidopsis thaliana* i *Phaseolus vulgaris* zarówno *in vitro*, jak i w glebie. Wykazano, że stymulacja wzrostu roślin wywołana inokulacją *B. megaterium* związana jest z sygnalizacją cytokininową oraz, że w procesie tym niezbędna jest obecność trzech receptorów cytokininowych: CRE1, AHK2 i AHK3 (ORTIZ-CASTRO i współaut. 2008). Rośliny gromadzą zapasy antybakteryjnych metabolitów wtórnych, spośród których niektóre stanowią konstytutywne bariery chemiczne przeciw atakom drobnoustrojów (tzw. „fitoantycypiny”), inne zwalczają je (fitoaleksyny). Są one intensywnie badane jako obiecujące czynniki kontroli chorób u roślin i ludzi (GONZÁLEZ-LAMOTHE i współaut. 2009). Obecny podział antybiotyków roślinnych uwzględnia dwie klasy: fitoaleksyny i fitoantycypiny (DYAKOV i współaut. 2007). Po wystawieniu na działanie patogenu, fitoaleksyny wymagają ekspresji *de novo* enzymów zaangażowanych w ich szlakach biosyntetycznych. Wprowadzony przez Mansfielda (1994 r.) termin fitoantycypiny, odnosi się do preformowanych antybiotyków, które są obecne w roślinach przed atakiem mikroorganizmu lub są produkowane po zakażeniu wyłącznie z wcześniej istniejących składników (VAN ETEN i współaut. 1994). Ponieważ enzym biorący udział w ostatecznym wydzieleniu cząsteczki nie powstaje *de novo*, związki te nie są uznawane za fitoaleksyny. Co ciekawe, ta sama substancja chemiczna u jednej rośliny może być fitoaleksyną, a u innej fitoantycypiną. Obie klasy antybiotyków pełnią rolę bioaktywatorów w ochronie roślin przeciw chorobotwórczym grzybom i bakteriom (GONZÁLEZ-LAMOTHE i współaut. 2009). Do fitoantycypin należą wydzielane przez korzenie owsa awenacyny (zaliczane do saponin), które wykazują aktywność przeciwgrzybową. Ponadto, akumulacja w korzeniach owsa związków pośrednich, pochodzących ze szlaku biosyntezy awenacyn, skutkuje gromadzeniem kalozy, stanowiącej dobrze znany mechanizm obronny, co sugeruje, że akumulacja fitoantycypin może także powodować inne reakcje odpornościowe (GONZÁLEZ-LAMOTHE i współaut. 2009).

Jedną z najlepiej poznanych fitoaleksyn jest kamaleksyna, produkowana głównie przez rośliny z rodzaju krzyżowych. Znanych jest kilka przykładów grzybów metabolizujących kamaleksyny, obejmujących m.in. wirulentne szczepy *Rhizoctonia solani* (GONZÁLEZ-LAMOTHE i współaut. 2009). Daje to możliwość zastosowań biotechnologicznych dla nowej generacji związków chemicznych zwanych paldoksynami (ang. phytoalexins detoxification inhibitors, paldoxins), zaprojektowanych z myślą o rolnictwie zrównoważonym. Związki te, określane jako nowe „zielone” fungicydy, są bezpieczne dla środowiska, gdyż selektywnie powstrzymują inwazję grzybów wywołujących choroby roślin, nie szkodząc innym organizmom (GONZÁLEZ-LAMOTHE i współaut. 2009).

Antybioza jest ważnym mechanizmem wykorzystywanym przez mikroorganizmy sprzyjające roślinom do zwalczania glebowych patogenów. Kluczowym czynnikiem aktywności biologicznej *Pseudomonas fluorescens* CHA0 jest produkcja poliketydowego, przeciwdrobnoustrojowego metabolitu, 2,4-diacetyloflo-roglucyny (ang. 2,4-diacetylphloroglucinol, DAPG). Jest to skuteczny środek przeciwko bakteriom, grzybom i innym organizmom (BRENCIC i WINANS 2005), dzięki czemu stosowany jest do hamowania szerokiego spektrum chorób zbożowych. Ekspresja genów odpowiadających za biosyntezę tego antybiotyku w dużym stopniu zależy od rezydującej w ryzosferze mikroflory, jak i od roślin. Zaobserwowano silniejszą ekspresję w korzeniach kukurydzy i pszenicy, niż np. fasoli, czy ogórka (BRENCIC i WINANS 2005).

PODSUMOWANIE

Wspólne występowanie drobnoustrojów w ryzosferze wymusiło wytworzenie pomiędzy nimi wielu wzajemnych zależności, zarówno pozytywnych, jak i antagonicznych. Ponadto, mikroorganizmy związane są szeregiem interakcji również z roślinami, w ryzosferze których przebywają. Podstawą do zajęcia wspomnianych oddziaływań jest szeroko pojęta allelopatia. Przez wzgląd na obszerność i złożoność środowiska glebowego, wiele spośród przebiegających tam procesów nie zostało w ogóle poznanych, zaś inne nie są do końca wyjaśnione ani zrozumiałe. Dlatego też istnieje potrzeba identyfikowania kolejnych drobnoustrojów glebowych i poznania interakcji, w które są zaangażowane, oraz dokonywania wnikliwej analizy dotąd niewyjaśnionych zależności. Może to przynieść znaczące korzyści dla rozwoju wielu dziedzin rolnictwa oraz tych, związanych z poprawą zdrowia ludzi oraz unowocześnieniem technologii. Należy pamiętać, że wiele zależności i oddzia-

ływań odkryto i wykazano jedynie w warunkach *in vitro*. Zachodzą one również w środowisku glebowym, jednak tam, zwłaszcza w warunkach polowych, gdzie złożoność wszystkich procesów biologicznych i ekologicznych jest o wiele większa, nie zawsze udaje się je potwierdzić.

Streszczenie

Gleba stanowi złożone środowisko, w którym przebiegają liczne, skomplikowane i często ściśle zależające się procesy biologiczne. Wynikają one przede wszystkim, z obecności bogatej i różnorodnej mikrobioty glebowej oraz oddziaływań zachodzących z jej udziałem. Najbardziej dynamicznym obszarem gleby, charakteryzującym się wzmożoną intensywnością interakcji, jest strefa bezpośrednio przylegająca do korzeni roślin, zwana ryzosferą. W jej obrębie obserwuje się rozmaite wzajemne oddziaływania między drobnoustrojami, do których zalicza się zarówno stosunki antagonistyczne, jak i nieantagonistyczne. Mikroorganizmy mogą również wchodzić w interakcje z roślinami, w ryzosferze których przebywają, stymulując bądź hamując ich wzrost. Zjawiskiem koniecznym do zajęcia powyższych zależności jest allelopatia, czyli wymiana cząsteczek sygnałnych, wytwarzanych przez mikroorganizmy w postaci fitohormonów, czy lotnych związków organicznych, ale także uwalnianych przez rośliny w formie wydzielin korzeniowych. Z racji złożoności środowiska glebowego wiele spośród zachodzących tam procesów nie jest jeszcze w ogóle poznanych. Z kolei, inne nie są w pełni wyjaśnione ani też zrozumiałe, co często stanowi znaczną przeszkodę w osiaganiu przez rolników oczekiwanej wydajności plonów. Wnikliwa analiza oddziaływań zachodzących między drobnoustrojami w środowisku glebowym może przyczynić się do osiągnięcia licznych korzyści w wielu aspektach dotyczących rolnictwa, rozwoju licznych technologii czy też związanych z poprawą zdrowia ludzi. Stąd też istnieje silna potrzeba pogłębiania wiedzy na temat zachodzących w glebie interakcji.

LITERATURA

- BAREA J. M., POZO M. J., AZCÓN R., AZCÓN-AGUILAR C., 2005. *Microbial co-operation in the rhizosphere*. J. Exp. Bot. 56, 1761-1778.
- BRENCIC A., WINANS S. C., 2005. *Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 69, 155-194.
- CASTRO-SOWINSKI S., HERSCHKOVITZ Y., OKON Y., JURKEVITCH E., 2007. *Effects of inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on resident rhizosphere microorganisms*. FEMS Microbiol. Lett. 276, 1-11.
- COLBURN-CLIFFORD J.M., SCHERF J.M., ALLEN C., 2010. *Ralstonia solanacearum dps contributes to oxidative stress tolerance and to colonization of and virulence on tomato plants*. Appl. Environ. Microbiol. 72, 7392-7399.
- DE BELLIS P., ERCOLANI G., 2001. *Growth interactions during bacterial colonization of seedling rootlets*. Appl. Environ. Microbiol. 67, 1945-1948.
- DYAKOV Y. T., DZHAVAKHLYA V .G., KORPELA T., 2007. *Comprehensive and molecular phytopathology*. Stud. Plant Sci, 2, 164-165.
- GONZÁLEZ-LAMOTHE R., MITCHELL G., GATTUSO M., DIARRA M. S., MALOUIN F., BOUARAB K., 2009. *Plant antimicrobial agents and their effects on*

- plant and human pathogens. *Int. J. Mol. Sci.* 10, 3400-3419.
- GRANDLIC C. J., PALMER M. W., MAIER R., 2009. Optimization of plant growth-promoting bacteria-assisted phytostabilization of mine tailings. *Soil Biol. Biochem.* 41, 1734-1740.
- JING Y., HE Z., YANG X., 2007. Role of soil rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *J. Zhejiang Univ. Science B* 8, 192-207.
- KLAMA J., WOLNA-MARUWKA A., NIEWIADOMSKA A., 2010. Wpływ koinokulacji bakteriami diazotroficznymi na rozwój siewek pszenicy zwyczajnej. *Nauka Przyroda Technol.* 4, 1-7.
- KREY T., CAUS M., BAUM C., RUPPEL S., EICHLER-LÖBERMANN B., 2011. Interactive effects of plant growth-promoting rhizobacteria and organic fertilization on P nutrition of *Zea mays L.* and *Brassica napus L.* *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 174, 602-613.
- LANOUE A., BURLAT V., HENKES G. J., SCHURR U., RÖSE U. S. R., 2010. Induced root-secreted phenolic compounds as a belowground plant defense. *Plant Signal. Behav.* 5, 1037-1038.
- NIEWIADOMSKA A., SWĘDRZYŃSKA D., 2011. Effect of coinoculation of lucerne (*Medicago sativa L.*) with *Sinorhizobium meliloti* and *Herbaspirillum frisingense* in relation to the interactions between bacterial strains. *Arch. Environ. Protect.* 37, 37-48.
- ORTÍZ-CASTRO R., CONTRERAS-CORNEJO H. A., MACÍAS-RODRÍGUEZ L., LÓPEZ-BUCIO J., 2009. The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signal. Behav.* 4, 701-712.
- ORTÍZ-CASTRO R., VALENCIA-CANTERO E., LÓPEZ-BUCIO J., 2008. Plant growth promotion by *Bacillus megaterium* involves cytokinin signaling. *Plant Signal. Behav.* 3, 263-265.
- PING L., BOLAND W., 2004. Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci.* 9, 263-269.
- ROBLETO E. A., BORNEMAN J., TRIPLETT E. W., 1998. Effects of bacterial antibiotic production on rhizosphere microbial communities from a culture-independent perspective. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 5020-5022.
- RUDRAPPA T., SPLAINE R. E., BIEDRZYCKI M. L., BAISS H. P., 2008. Cyanogenic pseudomonads influence multitrophic interactions in the rhizosphere. *PLoS ONE* 3, 2073.
- RYU C. M., FARAG M. A., HU C.-H., REDDY M. S., KLOPPER J. W., PARÉ P. W., 2004. Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 134, 1017-1026.
- SINGH L. P., SINGH GILL S., TUTEJA N., 2011. Unraveling the role of fungal symbionts in plant abiotic stress tolerance. *Landes Biosc. J. Plant Signal. Behav.* 6, 175-191.
- SWĘDRZYŃSKA D., SAWICKA A., 2000. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on development and yielding of maize (*Zea mays* spp. *Saccharata L.*) under different cultivation conditions. *Polish J. Environ. Stud.* 9, 505-509.
- SWĘDRZYŃSKA D., NIEWIADOMSKA A., KLAMA J., 2008. Koncentracja chlorofilu w blaszkach liściowych kukurydzy i owsa jako wskaźnik żywotności roślin inokulowanych bakteriami z rodzaju *Azospirillum*. *Ekologia i Technika* 4, 165-169.
- SWĘDRZYŃSKA D., NIEWIADOMSKA A., WOLNA-MARUWKA A., 2010. Sposób inokulacji a efektywność zasiedlania ryzosfery owsa (*Avena sativa L.*) i kukurydzy (*Zea mays L.*) przez bakterie z rodzaju *Azospirillum*. *Nauka Przyroda Technol.* 4, 95.
- VAN ETTEN H. D., MANSFIELD J. W., BAILEY J. A., FARMER E. E., 1994. Two classes of plant antibiotics: phytoalexins versus "phytoanticipins". *Plant Cell* 6, 1191-1192.
- YANG S., TANG. F., GAO M., KRISHNAN H., ZHU. H., 2010. R gene-controlled host specificity in the legume-rhizobia symbiosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 18735-18740.

KOSMOS Vol. 65, 1, 49-55, 2016

ANALYSIS OF THE INTERACTIONS OF MICROORGANISMS IN SOIL ENVIRONMENT

MONIKA JANKOWSKA, DOROTA SWĘDRZYŃSKA

Department of General and Environmental Microbiology, Poznań University of Life Sciences, Szydlowska 50, 60-656 Poznań, e-mail: Monika.Jankowska@med.uni-heidelberg.de, dorotas@up.poznan.pl

Summary

Soil is a complex environment in which there occur numerous complicated and often closely overlapping processes. They stem mainly from the presence of an extensive and varied soil microbiota and interactions occurring with their participation. The most dynamic area of the soil, characterized by an increased intensity of interactions, is the zone directly adhering to plant roots, called a rhizosphere. A variety of interactions between microorganisms, which include both the negative and positive relationships, is observed in this area. Microorganisms may also interact with plants and thereby stimulate or inhibit their growth. A phenomenon necessary for the occurrence of these dependencies is allelopathy, that is exchange of signaling molecules produced by microorganisms (phytohormones, volatile organic compounds), and released also from plant root exudates. Because of the spaciousness and complexity of the soil environment, many of the underground processes are not yet known at all, others are neither fully clarified, nor understood; lack of such knowledge often prevents attainment of crop yields expected by farmers. A thorough analysis of interactions between microorganisms in the soil environment may contribute to the development of new technologies in agriculture, also those related to improvement of human health. Hence, there is a strong requirement of further studies on the soil interactions.