

Mikrobiologiczny komponent biopreparatów - w teorii i praktyce laboratoryjnej

dr Małgorzata Woźniak

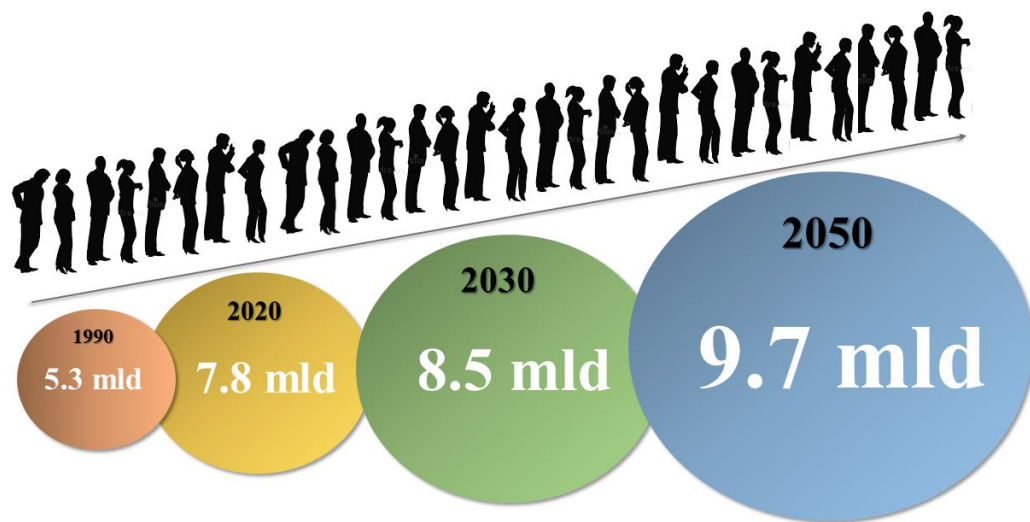


GLOBALNE WYZWANIA ...

„Musimy lepiej wykorzystywać dostępne zasoby, aby produkować więcej żywności z gruntów rolnych, którymi dysponujemy już teraz”

Tobias Erb,

Dyrektor i kierownik grupy badawczej w Instytucie Mikrobiologii Ziemi im. Maxa Plancka w Marburgu



AMBITNE CELE...

KOSZTY ŚRODOWISKOWE



ZYSKI EKONOMICZNE



„Świeża” Zielona Rewolucja



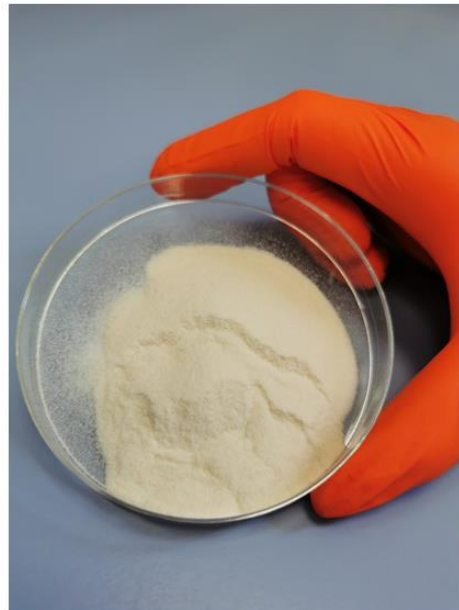
„Biorewolucja”



Biopreparaty

Nazwa „biopreparat” pochodzi od greckiego słowa bios, czyli „życie” i łacińskiego preparatum, oznaczającego przygotowanie

Preparat zawierający żywe mikroorganizmy, bądź ich formy przetrwalne i odpowiednio przygotowane produkty ich metabolizmu



w formie proszku



w formie granulek



w formie płynu

Podział biopreparatów:

Ze względu na mikrobiologiczny skład, biopreparaty dzieli się na:

- Bakteryjne np. bakterie z rodzaju *Rhizbium*, *Bacillus*, *Psudomonas* → **PGPB**
- Grzybowe np. grzyby z rodzaju *Trichoderma*, *Mortierella*, drożdże → **PGPF**
- Bakteryjno-grzybowe → **PGPM**

Nośniki stosowane w skali przemysłowej można podzielić na nośniki **płynne, półpłynne i nośniki stałe**.

Wśród nich można wymienić:

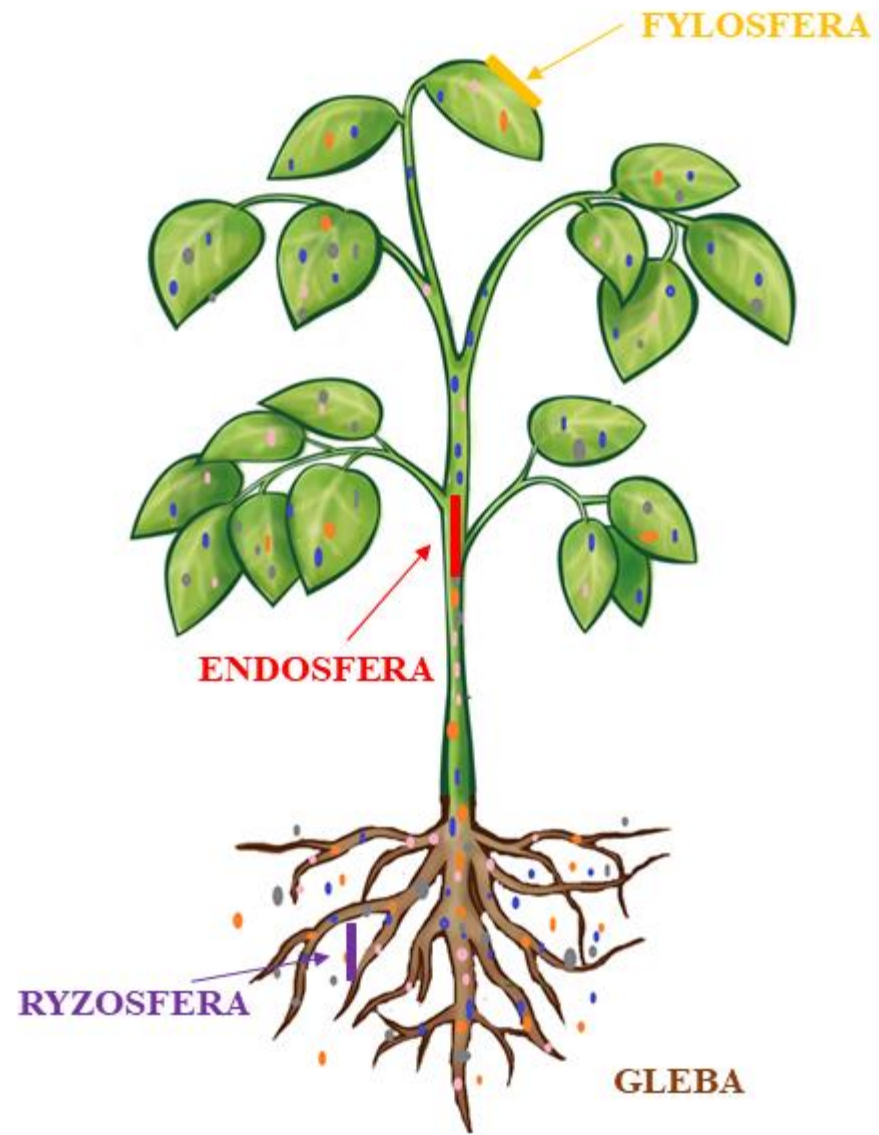
- ❖ gleby: torf, glina, muł,
- ❖ nośniki pochodzenia roślinnego (trociny, kompost, olej sojowy, słonecznikowy, otręby pszenne, odpady rolnicze np. rozdrobniona kolba kukurydzy, wytloki z jabłek, skorupki orzechów
- ❖ przemysłowe produkty uboczne np. przemysł mleczarski generuje nadmierne ilości odpadów i produktów ubocznych np. serwatka, mleko paszowe, ścieki
- ❖ materiały obojętne np. żele poliakrylamidowe, kulki alaginanau, wermikulit, perlit, mielony fosoforyt, zeolit,
- ❖ można też zastosować zliofilizowane bakterie

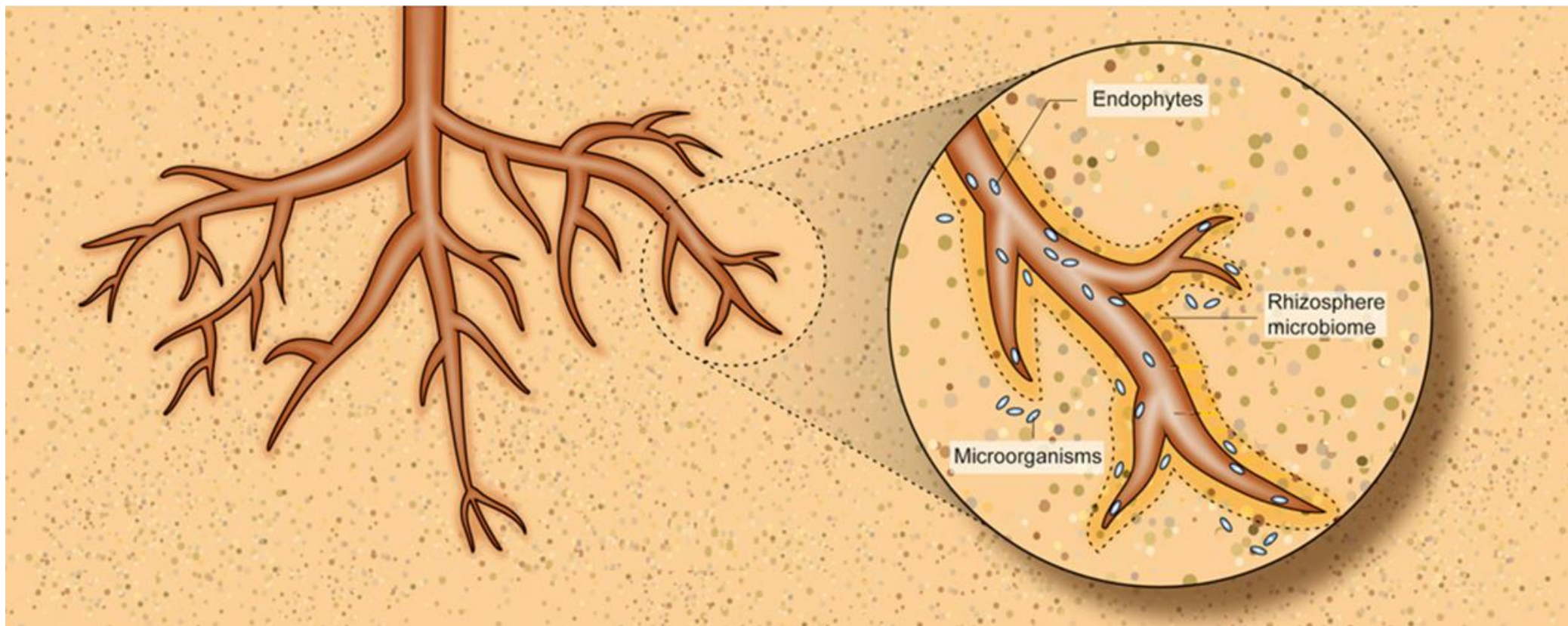


Wybór nośników zależy głównie od ich ceny i dostępności. W związku z tym przy wyborze materiału nośnikowego należy wziąć pod uwagę następujące kwestie:

- ❖ nośniki powinny być łatwo dostępne,
 - ❖ tanie,
 - ❖ stabilne fizycznie i chemicznie,
 - ❖ nietoksyczne dla drobnoustrojów stymulujących wzrost roślin,
- ❖ biodegradowalne i wolne od zanieczyszczeń,
 - ❖ łatwe do przetwarzania,
- ❖ powinny mieć dobrą zdolność buforowania
 - ❖ wysoką zdolność zatrzymywania wilgoci.

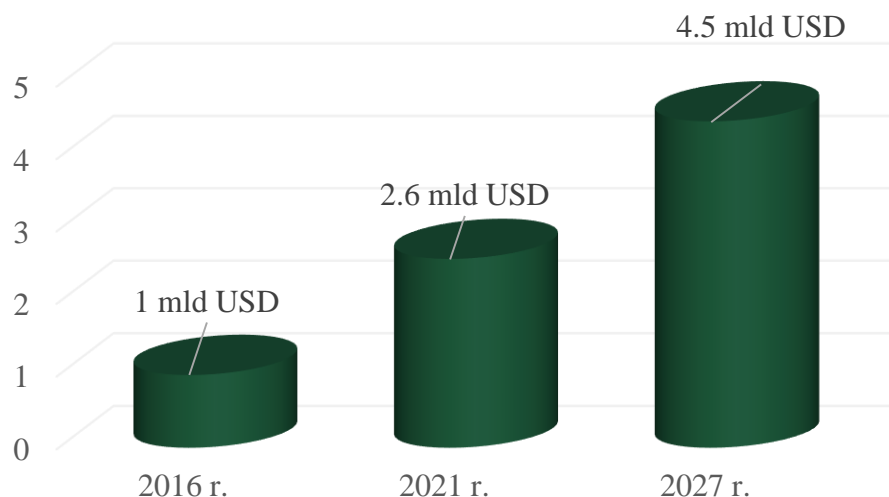






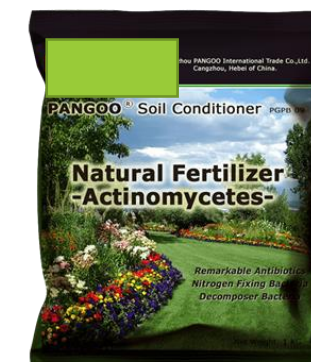
„PRZYSZŁOŚĆ” BAKTERII W ROLNICTWIE ...

GLOBAL BIOFERTILIZERS MARKET



W oparciu o najnowsze raporty, przewiduje się, że rosnące ceny nawozów mineralnych w połączeniu ze świadomością zagrożeń związanych z wykorzystaniem agrochemikaliów oraz preferencje spożywania ekologicznej żywności pozostaną kluczowymi czynnikami zwiększającymi wykorzystanie bionawozów w nadchodzących latach.

Postęp biotechnologiczny umożliwi obserwację mikrobiomu roślin jako rezerwuaru dodatkowych genów i funkcji dla gospodarza

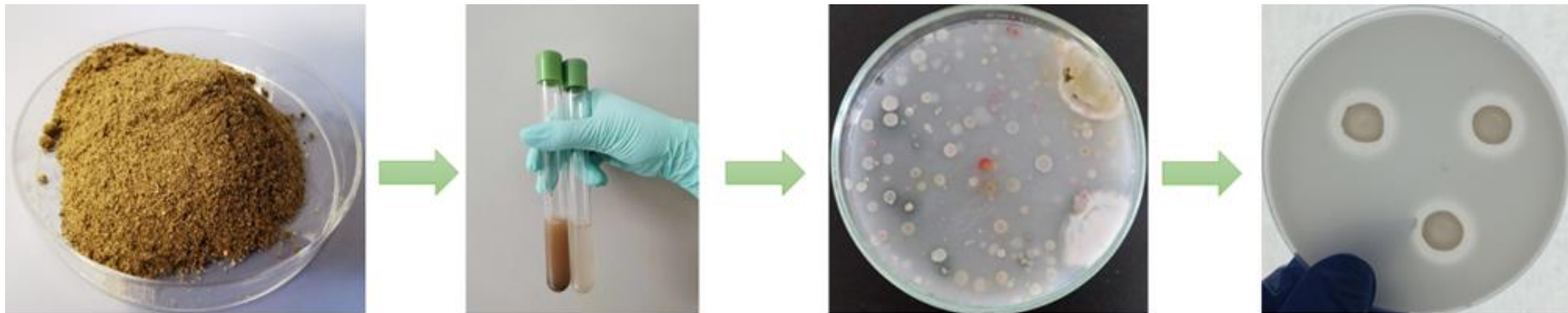


IZOLACJA BAKTERII Z TKANEK ROŚLIN LUB Z GLEBY

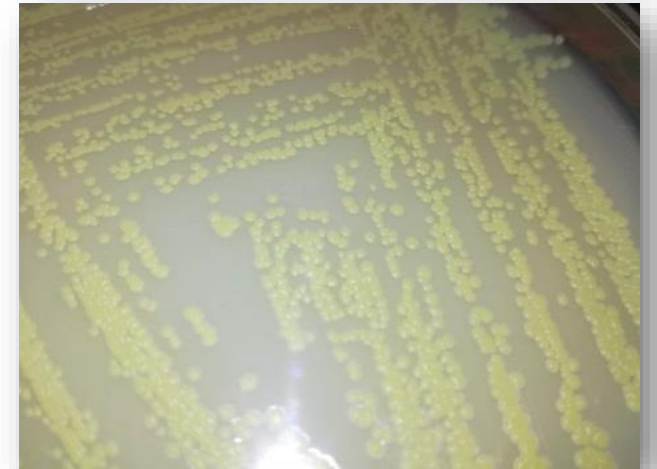
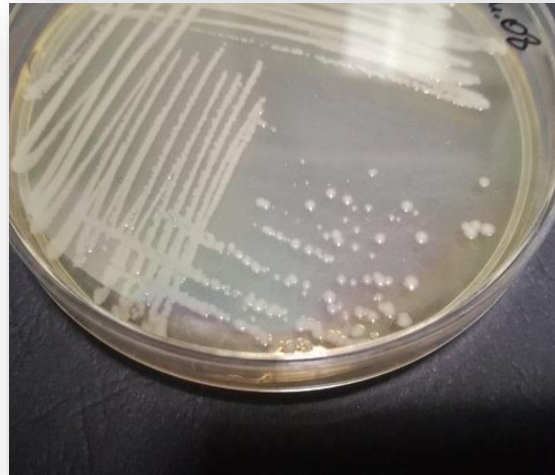
1



2



HODOWLA SZCZEPÓW BAKTERII

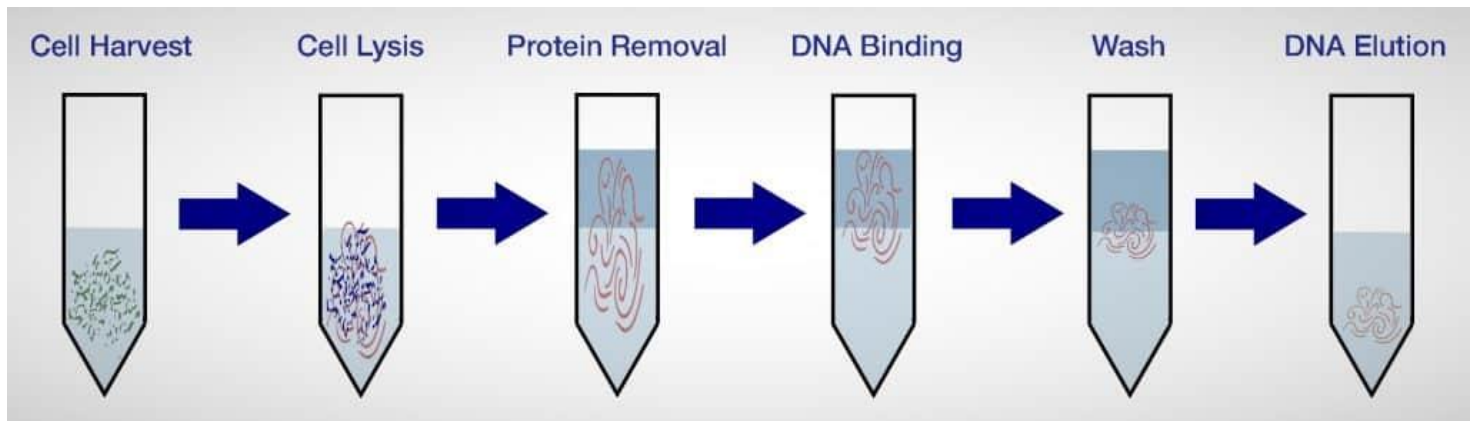


IDENTYFIKACJA IZOLATÓW NA PODSTAWIE SEKWENCJI GENU 16S rRNA

Izolacja genomowego DNA

Amplifikacja genu 16S rRNA

- ❑ 27F (5' GAG TTT GAT CCT GGC TCA G 3')
- ❑ 1492R (5' GGT TAC CTT GTT ACG ACT T 3')



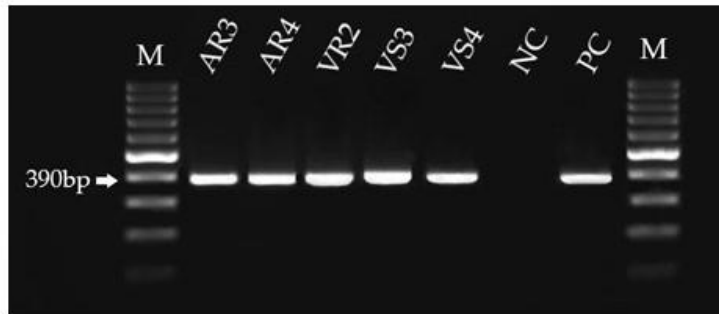
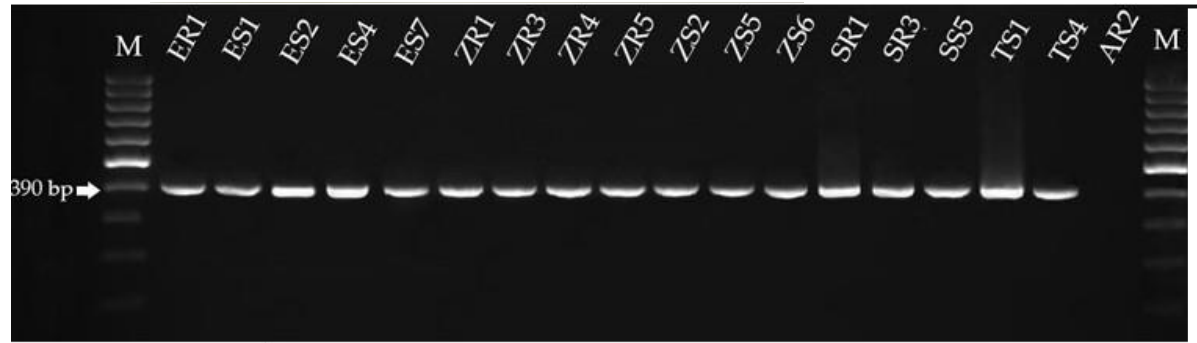
Potencjał biologicznego wiązania azotu atmosferycznego



Azot jest jednym z najważniejszych składników odżywczych dla wzrostu i produktywności roślin. Bakterie wykazują wysoki potencjał **biologicznego wiązania azotu atmosferycznego** (BNF - Biological nitrogen fixation).

W środowisku naturalnym, proces biologicznego wiązania N jest jedną z najskuteczniejszych metod wprowadzania dostępnych dla roślin związków azotowych. Enzymatyczna konwersja azotu cząsteczkowego do amoniaku, (forma azotu przyswajana przez rośliny) jest katalizowana przez - **nitrogenazę**, nietrwały tlenowo kompleks enzymów wysoce konserwatywny, który jest powszechnie spotykany we wszystkich **diazotofach** - bakteriach wiążących azot

Zdolność do wiązania azotu atmosferycznego



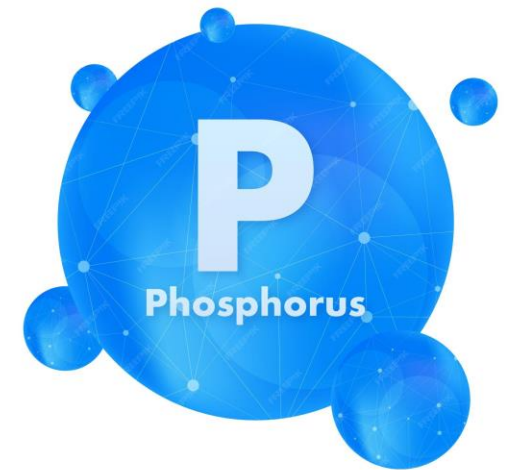
Solubilizacja fosforanów

Fosfor (P; phosphorus) jest obok azotu drugim istotnym makroskładnikiem niezbędnym do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin.

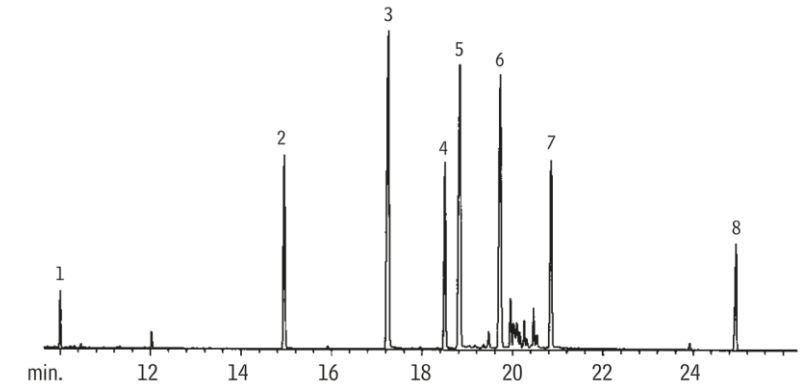
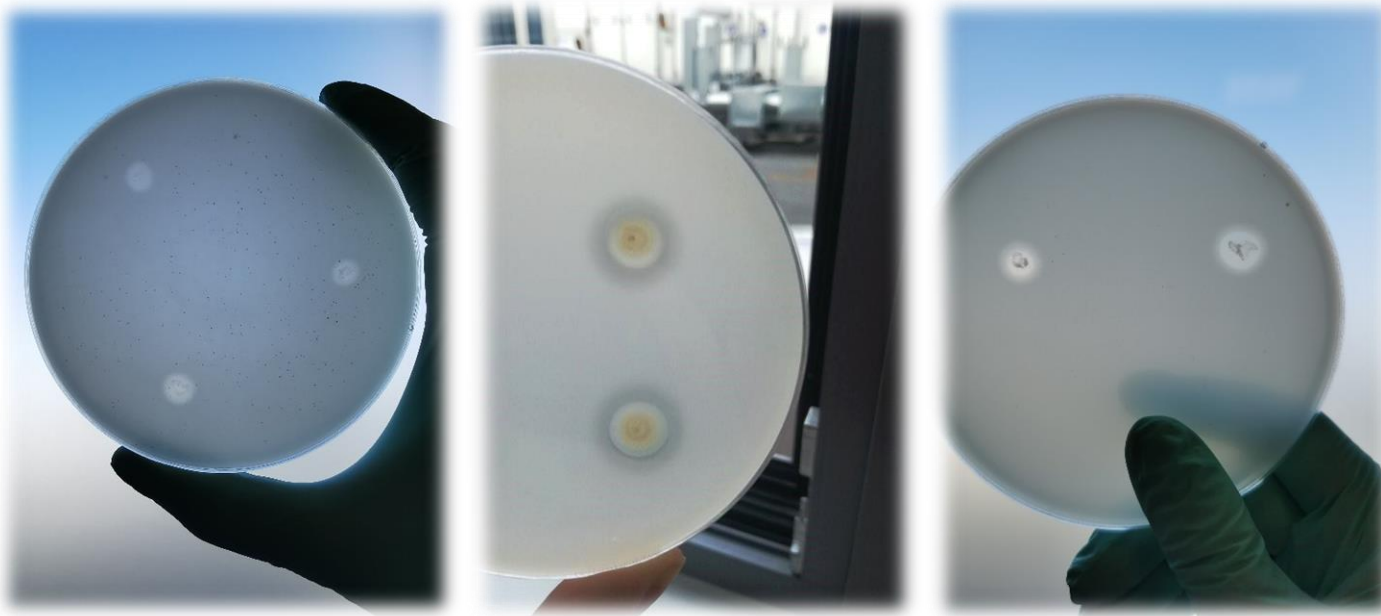
Fosfor w większości jest niedostępny do pobrania przez rośliny z powodu szybkiego unieruchomienia przez organiczne i nieorganiczne składniki gleby.

Wśród kilku potencjalnych mechanizmów solubilizacji fosforanów, najbardziej przyjazny dla środowiska jest mechanizm przeprowadzany przez mikroorganizmy solubilizujące fosforany (**PSM - Phosphorus Solubilizing Microorganisms**).

Bakterie mogą poprawić zaopatrzenie roślin w fosfor poprzez **produkcje kwasów organicznych**, mineralizacja i chelatacja



Zdolność do solubilizacji nierozpuszczalnych form fosforu



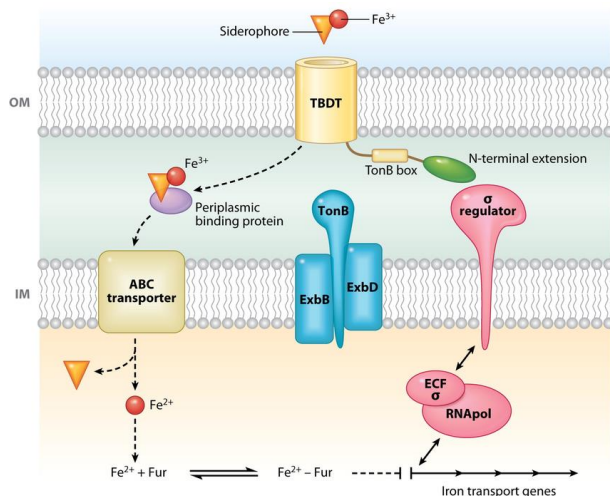
Klasyfikacją zaproponowaną przez Berraquero i in. - SI, *Phosphate Solubilization Index* < 2 wskazuje na niską zdolność do solubilizacji fosforanów; $2 < SI \leq 4$ wskazuje na średnią zdolność do solubilizacji fosforanów; $SI > 4$ wskazuje na wysoką zdolność do solubilizacji fosforanów

Zdolność do sekwestracji żelaza



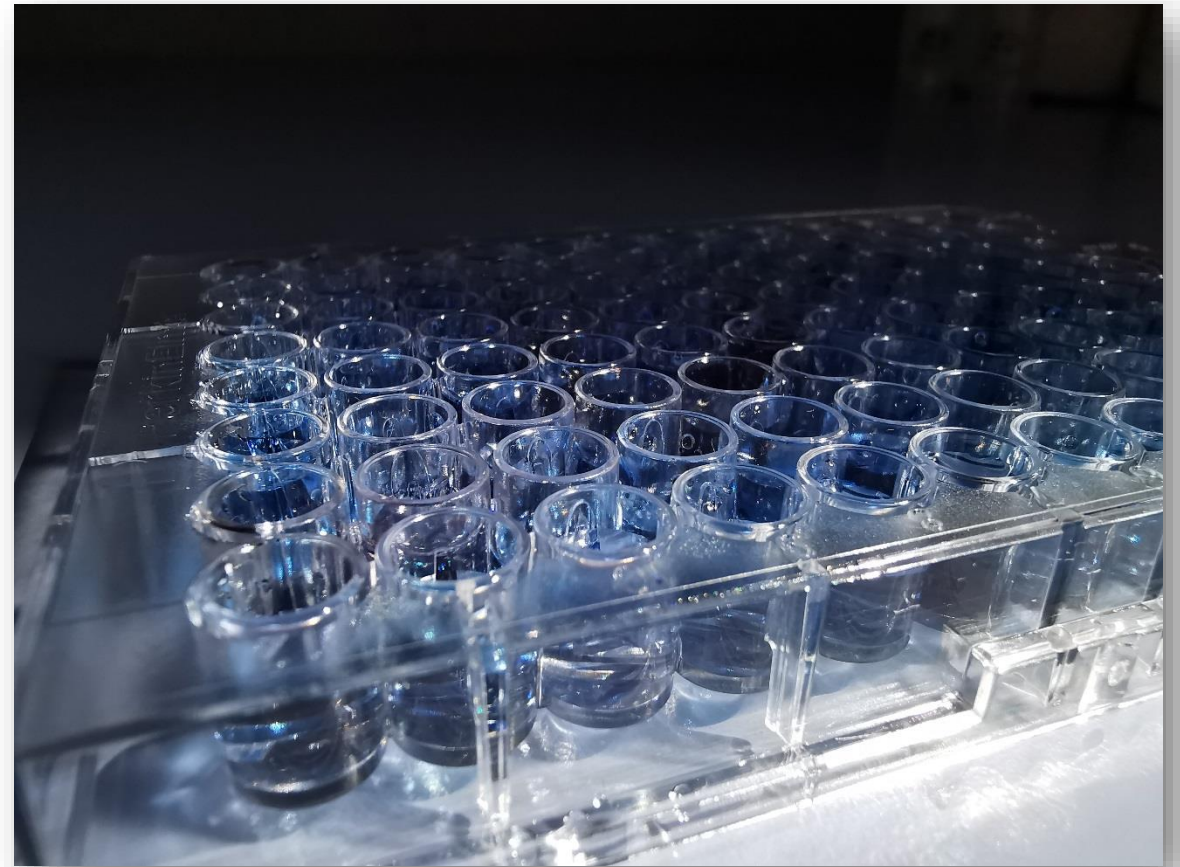
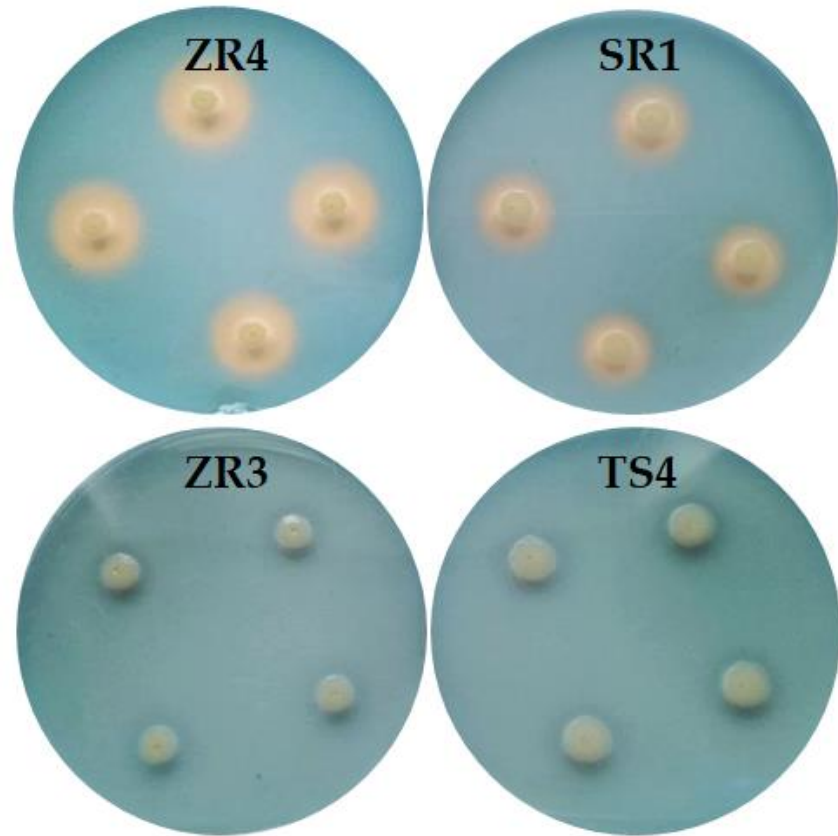
Żelazo (Fe) jest jednym z istotnych mikroelementów biorących udział w metabolizmie roślin, a jego niedobór może prowadzić do nieprawidłowego procesu **oddychania i fotosyntezy**.

Mikroorganizmy opracowały aktywne strategie pobierania żelaza. Bakterie pozyskują żelazo poprzez wydzielanie chelatorów żelaza o niskiej masie cząsteczkowej, znanych jako **siderofory**, które umożliwiają pozyskiwanie Fe ze środowiska.



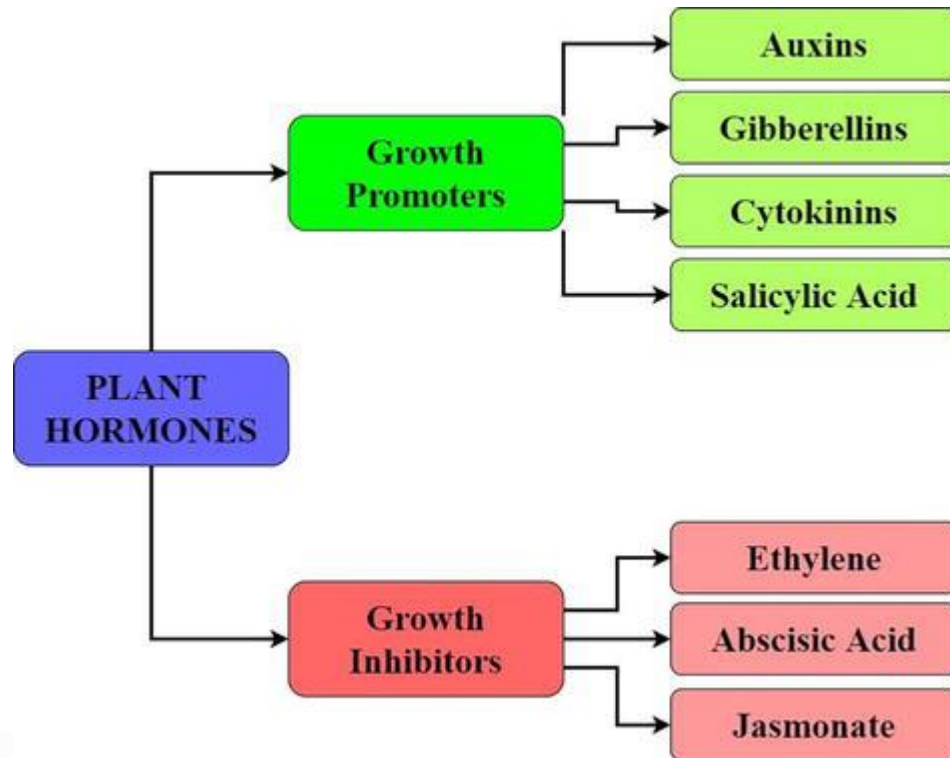
Ponadto doniesiono, że siderofory pośredniczą w kontroli biologicznej przeciwko fitopatogenom, ograniczając im dostępność żelaza ze względu na konkurencję żywieniową, a tym samym hamując ich proliferację i kolonizację roślin

Zdolność do syntezy sideroforów



Zdolność do syntezy fitohormonów

Hormony roślinne (fitohormony) odgrywają kluczową rolę we wzroście i rozwoju roślin.



Mikroorganizmy syntetyzują oraz modują poziomy fitohormonów w roślinach żywicielskich, przez co znacząco wpływają na ich równowagę hormonalną i poziom endogennych fitohormonów w tkankach roślin.

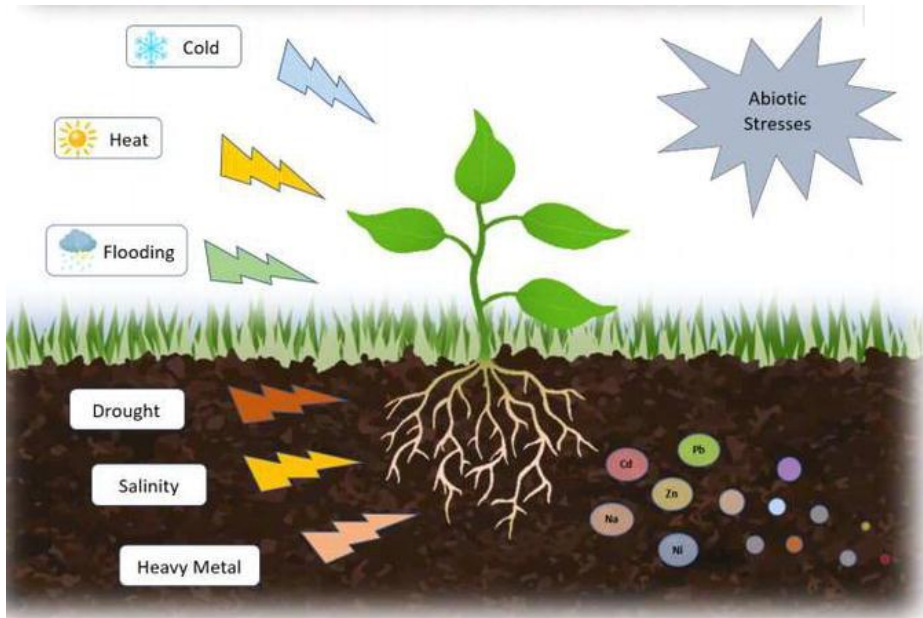
Szczepy bakterii syntetyzujące IAA m.in. stymulują wzrost roślin i zwiększają ogólną biomasę korzeni, umożliwiając roślinie lepsze pobieranie wody i składników mineralnych

Zdolność do syntezy związków podobnych do IAA (IAA- like compounds)



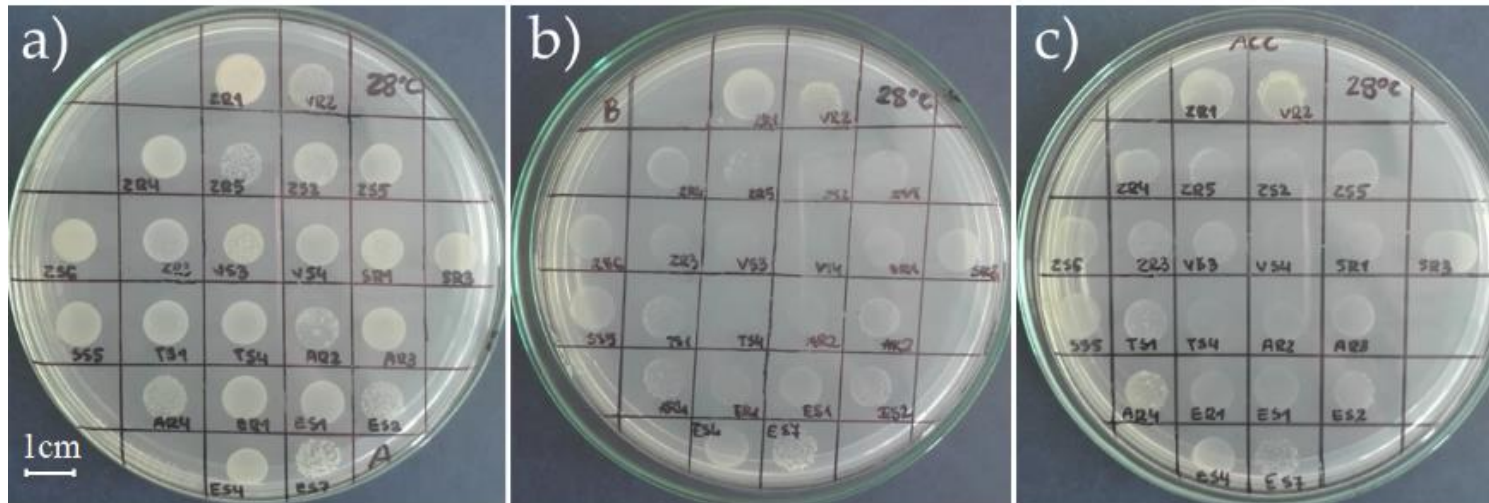
Ograniczanie stresu u roślin

Głównym mechanizmem wykorzystywanym przez bakterie do **ograniczania stresu** u roślin jest **redukcja poziomu etylenu** poprzez hydrolizę kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksyłowego (ACC), prekursora etylenu we wszystkich roślinach wyższych, katalizowana przez enzym deaminazę ACC (ACCD).

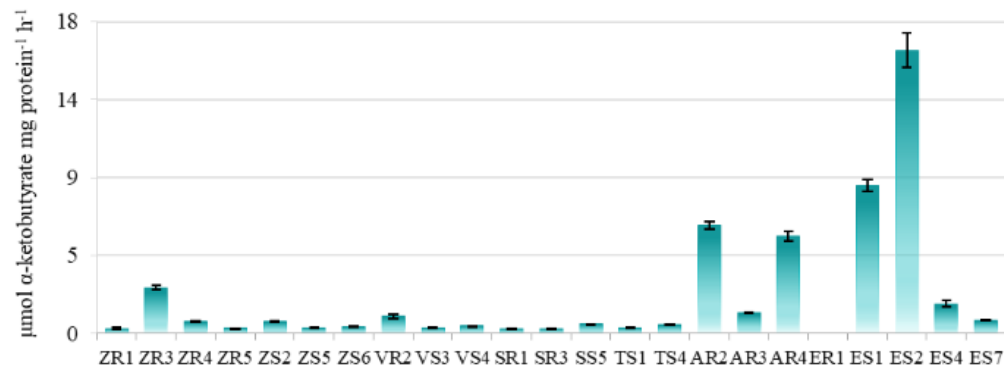


Etylen bierze udział w reakcjach roślin na różne stesy biotyczne i abiotyczne; jednakże wysoki poziom etylenu może hamować wydłużanie i wzrost korzeni, prowadząc do degradacji roślin. Zatem aktywność enzymatyczna deaminazy ACC zapobiega nadmiernemu wzrostowi syntezy etylenu w różnych warunkach stresowych, co czyni ją jednym z najskuteczniejszych mechanizmów indukowania tolerancji roślin.

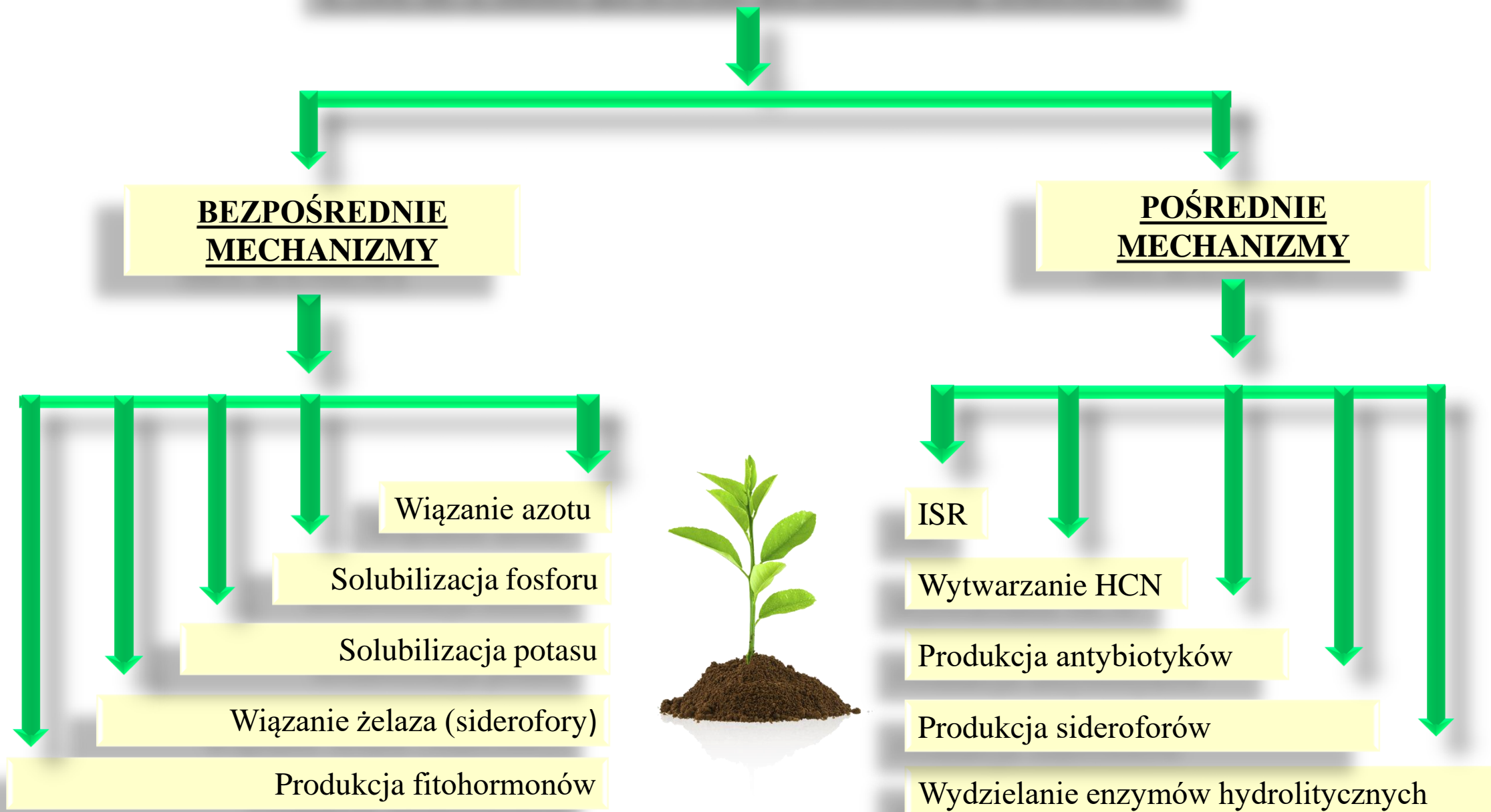
Zdolność do syntezy deaminazy ACC



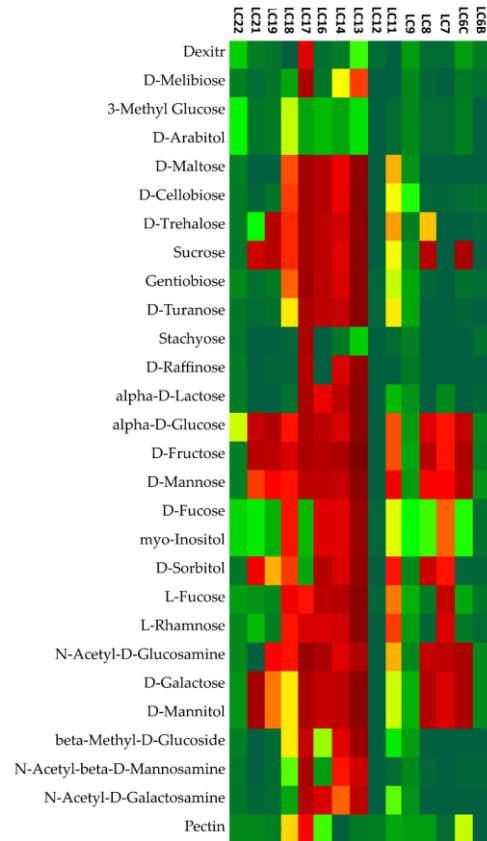
ACC deaminase activity



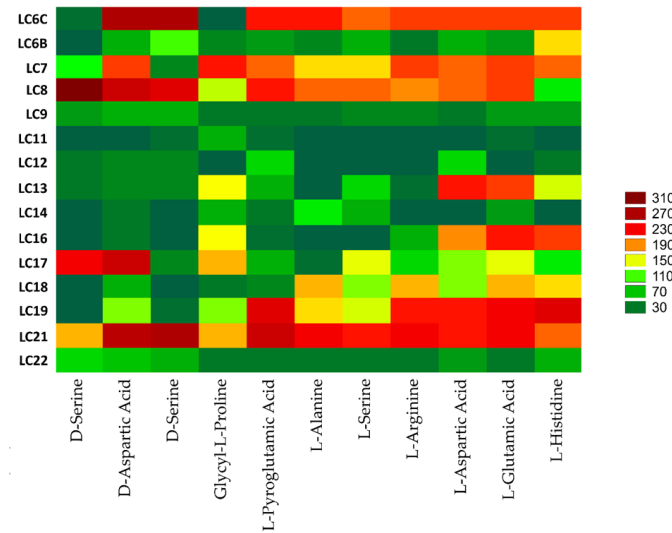
PGPB Plant growth promoting bacteria



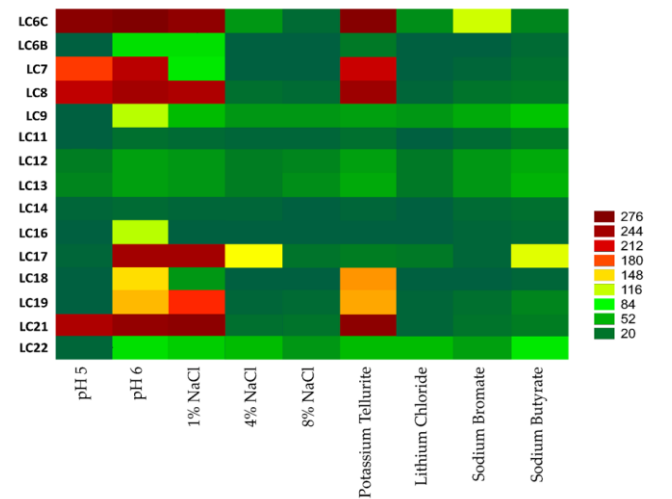
OKREŚLENIE PROFILU METABOLICZNEGO BAKTERII



AMIO ACIDS



SELECTED TESTS OF CHEMICAL SENSITIVITY



PODSUMOWANIE

Mając na uwadze potencjał biologiczny i rolę mikroorganizmów we wzroście i rozwoju roślin, w dalszym ciągu należy prowadzić badania nad ich wykorzystaniem w technologiach agroekologicznych, tak aby osiągnąć jak najbardziej zadowalające efekty w zakresie produktywności rolnictwa i ochrony środowiska



dr Małgorzata Woźniak,

kontakt: m.wozniak@iung.pulawy.pl

Tel: 81 47 86 960