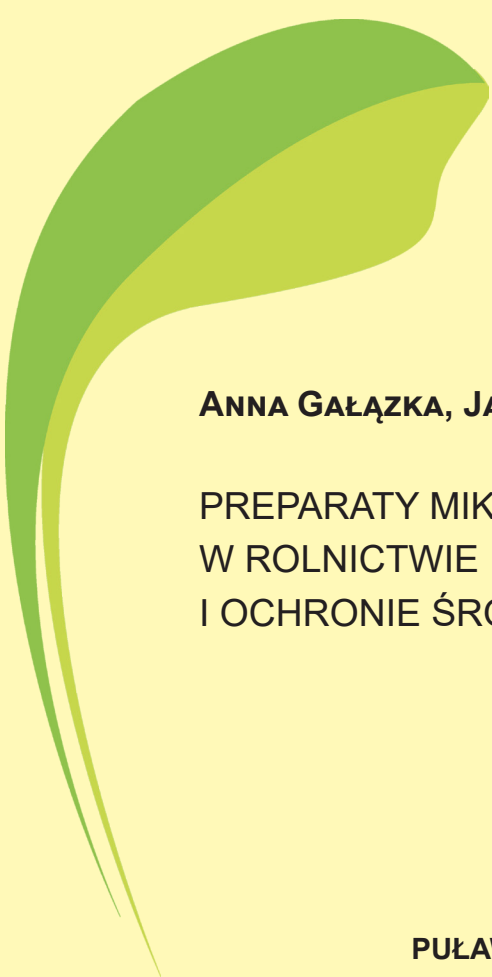


# **MONOGRAFIE I ROZPRAWY NAUKOWE**

**66**

A large, stylized graphic of a green leaf, curved and pointing downwards, positioned on the left side of the cover.

**ANNA GAŁĄZKA, JANUSZ PODLEŚNY (RED.)**

**PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE  
W ROLNICTWIE  
I OCHRONIE ŚRODOWISKA**

**PULAWY 2024**

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

MONOGRAFIE  
I ROZPRAWY NAUKOWE

66

ANNA GAŁĄZKA, JANUSZ PODLEŚNY (RED.)

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: *prof. dr hab. Janusz Podleśny*

Recenzent: *prof. dr hab. Wiesław Barabasz*

Opracowanie redakcyjne i techniczne: *mgr Katarzyna Mikulska*

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; fax (81) 4786721  
e-mail: [dkn@pulawy.pl](mailto:dkn@pulawy.pl); <http://www.iung.pulawy.pl>

Anna Gałązka, Janusz Podleśny (red.)

PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE W ROLNICTWIE  
I OCHRONIE ŚRODOWISKA

## SPIS TREŚCI

<b>I. PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE – POTRZEBY, SZANSE I ZNACZENIE – ANNA GAŁĄZKA</b>	
1. WSTĘP.....	10
2. PODSTAWY PRAWNE .....	12
3. PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE PRZEGLĄD I ZNACZENIE .....	13
4. PODSUMOWANIE .....	24
5. LITERATURA .....	25
<b>II. ZNACZENIE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH DLA WZROSTU I OCHRONY ROŚLIN UPRAWNYCH – ANNA MARZEC-GRZĄDZIEL</b>	
1. WSTĘP.....	29
2. RODZAJE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH.....	29
3. ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH .....	30
4. UDZIAŁ W OBIEGU PIERWIASTKÓW W ŚRODOWISKU.....	31
5. UDZIAŁ W BIODEGRADACJI SZKODLIWYCH SUBSTANCJI ...	33
6. ZWALCZANIE PATOGENÓW ROŚLINNYCH .....	35
7. PROMOWANIE WZROSTU I ROZWOJU ROŚLIN.....	36
8. IZOLACJA MIKROORGANIZMÓW ORAZ ICH CHARAKTERYSTYKA.....	37
9. PODSUMOWANIE .....	39
10. LITERATURA .....	39
<b>III. CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW STOSOWANYCH W PRODUKTACH MIKROBIOLOGICZNYCH – BAKTERIE Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i> – MONIKA KOZIEŁ</b>	
1. WSTĘP.....	45
2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i> .....	46
3. WIĄZANIE AZOTU ATMOSFERYCZNEGO.....	47
4. ROLNICZE I PRZEMYSŁOWE ZNACZENIE BAKTERII Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i> SPP. ....	48
5. WPŁYW BAKTERII Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i> NA WZROST I PŁONOWANIE ROŚLIN .....	50

6. AZOTOBAKTERYNA I INNE PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE NA BAZIE BAKTERII Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i> .....	52
7. PODSUMOWANIE .....	54
8. LITERATURA .....	55
<b>IV. CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW STOSOWANYCH W PRODUKTACH MIKROBIOLOGICZNYCH – BAKTERIE Z RODZAJU <i>RHIZOBIUM</i> – MONIKA KOZIEL</b>	
1. WSTĘP.....	62
2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU <i>RHIZOBIUM</i> .....	62
3. ETAPY WYTWARZANIA PREPARATÓW MIKROBIOLOGICZNYCH ZAWIERAJĄCYCH BAKTERIE Z RODZAJU <i>RHIZOBIUM</i> .....	65
4. NITRAGINA I INNE PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE NA BAZIE BAKTERII Z RODZAJU <i>RHIZOBIUM</i> .....	67
5. AKTUALNY STAN WIEDZY NA TEMAT BIONAWOZÓW RIZOBIOWYCH .....	68
6. PODSUMOWANIE .....	70
7. LITERATURA .....	71
<b>V. MIKROORGANIZMY SOLUBILIZUJĄCE FOSFORANY I ICH POTENCJAŁ DO ZASTOSOWANIA W ROLNICTWIE ZRÓWNOWAŻONYM – MAŁGORZATA WOŹNIAK</b>	
1. WSTĘP.....	75
2. ZNACZENIE FOSFORU W PRODUKCJI ROLNEJ.....	75
3. ŹRÓDŁA FOSFORU .....	76
4. MIKROORGANIZMY SOLUBILIZUJĄCE FOSFORANY.....	78
5. MECHANIZMY SOLUBILIZACJI.....	79
5.1. NIEORGANICZNYCH FORM FOSFORU .....	79
5.2. ORGANICZNYCH FORM FOSFORU .....	80
6. BADANIA LABORATORYJNE.....	81
7. ZASTOSOWANIE W ROLNICTWIE.....	82
8. PODSUMOWANIE .....	84
9. LITERATURA .....	84

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

1. WSTĘP.....	90
2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU <i>BACILLUS</i> .....	90
2.1. WYSTĘPOWANIE.....	91
2.2. ZASTOSOWANIE .....	92
3. BAKTERIE Z RODZAJU <i>BACILLUS</i> W BIOPREPARATACH.....	94
3.1. PREPARATY DO OCHRONY ROŚLIN .....	94
3.2. STYMULATORY WZROSTU ROŚLIN I NAWOZY .....	97
4. OKOŁOROLNICZE OBSZARY ZASTOSOWANIA <i>BACILLUS</i> SP.....	100
4.1. BIOREMEDIACJA GLEB .....	100
4.2. AKWAKULTURY .....	100
4.3. PROBIOTYKI DLA ZWIERZĄT .....	100
5. PODSUMOWANIE .....	101
6. LITERATURA .....	101

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

1. WSTĘP.....	106
2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII KWASU MLEKOWEGO.....	106
3. WYSTĘPOWANIE.....	107
4. METABOLITY BAKTERII KWASU MLEKOWEGO 108 ORAZ ICH ZNACZENIE.....	108
5. ZASTOSOWANIE BAKTERII KWASU MLEKOWEGO.....	110
5.1. PRZEMYSŁ SPOŻYWCZY .....	110
5.2. PRZEMYSŁ CHEMICZNY .....	111
5.3. MEDYCYN.....	111
5.4. ROLNICTWO.....	111
6. PODSUMOWANIE .....	118
7. LITERATURA .....	118

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

1. WSTĘP.....	125
---------------	-----

2. GRZYBY MYKORYZOWE.....	125
2.1. WYKORZYSTANIE GRZYBÓW MYKORYZOWYCH W PRAKTYKACH ROLNICZYCH .....	128
2.2. ZNACZENIE INTERAKCJI GRZYB MYKORYZOWY–ROŚLINA.....	130
3. GRZYBY ENDOFITYCZNE .....	132
3.1. INTERAKCJA GRZYB ENDOFITYCZNY–PATOGEN .....	134
3.2. INTERAKCJA ENDOFIT–ROŚLINA.....	135
4. GRZYBY ENTOMOPATOGENICZNE .....	137
5. PODSUMOWANIE .....	141
6. LITERATURA .....	141

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

1. WSTĘP.....	153
2. WŁAŚCIWOŚCI ANTAGONISTYCZNE <i>TRICHODERMA</i> SPP....	154
2.1. KONKURENCJA O SKŁADNIKI ODŻYWCZE I PRZESTRZEŃ.....	155
2.2. ANTYBIOZA.....	156
2.3. MYKOPASOŻYTNICTWO.....	158
3. WSPOMAGANIE WZROSTU ROŚLIN .....	159
4. INDUKCJA ODPORNOŚCI ROŚLIN .....	160
5. <i>TRICHODERMA</i> SPP. JAKO ŚRODEK KONTROLI BIOLOGICZNEJ .....	161
6. PODSUMOWANIE .....	162
7. LITERATURA .....	163

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

1. WSTĘP.....	169
2. ZANIECZYSZCZENIA W ŚRODOWISKU PRZYRODNICZYM..	169
3. PIERWIASTKI ŚLADOWE WPŁYW NA GLEBĘ I ROŚLINĘ .....	170
4. TECHNIKI FITOREMEDIACJI ZANIECZYSZCZONYCH GLEB .....	171
5. BAKTERIE W REMEDIACJI ZANIECZYSZCZONYCH GLEB...	172
6. PODSUMOWANIE .....	174
7. LITERATURA .....	175



**XI. RODZAJE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH  
STOSOWANYCH W ROLNICTWIE – JAROSŁAW CIEPIEL**

1. WSTĘP.....	179
2. NAWOZOWE PRODUKTY MIKROBIOLOGICZNE .....	179
3. BIONAWOZY.....	180
4. BIOPESTYCYDY .....	181
5. BIOSTYMULATORY .....	181
6. PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE .....	182
7. LITERATURA .....	183



**Anna Gałazka**

**I ■ 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](mailto: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 jakim jest 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 wzrost produkcji bez ingerencji w naturalne zasoby środowiska przyrodniczego, bazuje na wspieraniu naturalnych procesów biologicznych bez naruszania procesów odtwarzających życie biocenozy i naturalną strukturę gleby (Nannipieri i in. 2003, Kodeks Dobrej Praktyki Rolniczej 2002, Augustyniak i Roszak 2017).

Obecnie w wielu krajach prowadzone są badania mające na celu poszukiwania i zastosowania 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 oraz zwiększenie aktywności biologicznej gleb i jej bioróżnorodności (Derkowska i in. 2015, Churilov i in. 2019, Dubey i in. 2020, Basso i Diaz 2024).

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 (niedostrzegalne gołym okiem) – wirusy, bakterie, grzyby, pierwotniaki, glony;
- mezobiota (0,2–2 mm) – wazonkowce, nicienie, ślimaki, owady bezskrzydłe, wiję, roztocza i inne, małe rośliny,
- makrobiota (>2 mm) – dżdżownice, krety, gryzonie 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 dobrym wskaźnikiem decydującym o prawidłowym układzie całego kompleksu właściwości glebowych, stanowiących o jej żyzności i urodzajności (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 i in. 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 mogą 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.

Produkcja preparatów mikrobiologicznych jest aktualnie jednym z najszybciej rozwijających się segmentów rynku rolno-spożywczego. Obecne strategie UE tzw. „Green Deal” zakładają zwiększenie powierzchni upraw ekologicznych do 25% do roku 2030. Strategia na rzecz bioróżnorodności 2030 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. Celami 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 (Gobelak i in. 2016, Jamily i in. 2019). Praktyczne 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 Bioróżnorodności. Do 2050 r. różnorodność biologiczna oraz usługi ekosystemowe w Unii Europejskiej będą chronione i zostaną odpowiednio odtworzone ze względu na wartość różnorodności biologicznej samej w sobie oraz ich fundamentalnego udziału 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 (Dz.U. 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 (Dz.U. 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 EOG). Według Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1009 na liście produktów nawozowych zawierających mikroorganizmy dopuszczone są następujące bakterie i grzyby: *Azotobacter* spp., *Rhizobium* spp. oraz *Azospirillum* spp. oraz grzyby mykoryzowe. Ponadto produkt nawozowy UE należący do PFC 6(A) 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 pilna konieczność oraz zasadność rozszerzenia listy mikroorganizmów, wchodzących w skład biostymulatorów mikrobiologicznych/produktów nawozowych, określonych w CMC 7, w części II załącznika II do rozporządzenia 2019/1009 (1).

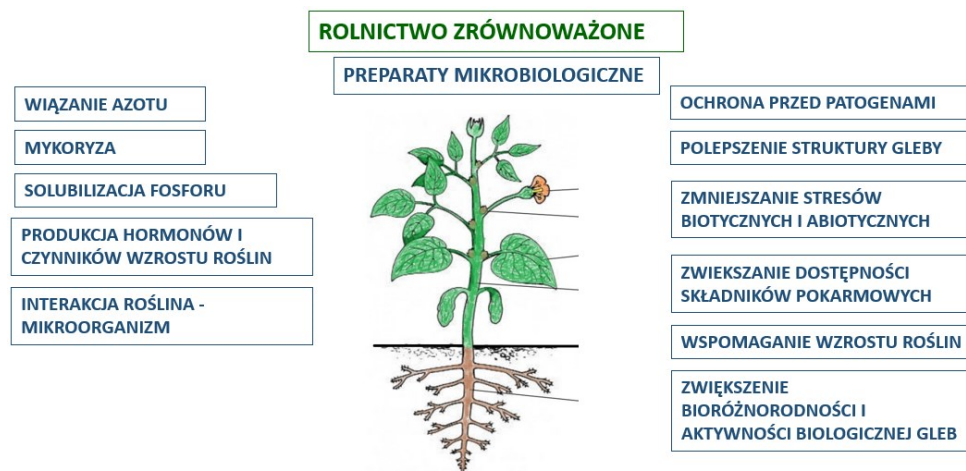
Z dniem 1 grudnia 2022 r. na mocy rozrządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz.U. z 2022 poz. 2490) Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach (IUNG-PIB) został upoważniony do prowadzenia wykazu nawozowych produktów mikrobiologicznych. Według Art. 2.ust.1, pkt.10a ustawy o nawozach i nawożeniu „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 doprowadziły do wyodrębnienia i zidentyfikowania wielu ważnych grup mikroorganizmów glebowych, a także coraz dokładniejsze poznawanie ich biologii, ekologii, fizjologii i kluczowej roli w przeprowadzaniu wyżej wymienionych procesów, rozwijały się również badania nad wykorzystywaniem różnych grup pożytecznych drobnoustrojów w praktyce rolniczej (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 to produkt, którego aktywność opiera się na działaniu organizmów. To produkty, które po zastosowaniu na nasiona, powierzchnię roślin lub glebę kolonizują ryzosferę lub wewnątrz rośliny i wspomagają jej wzrost i rozwój poprzez zwiększenie dostępności podstawowych składników pokarmowych w wyniku naturalnych procesów takich jak wiązanie azotu, rozpuszczania 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 oraz 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 korzeniowego i zwiększenie biodostępności składników (Mishra i in. 2019 Toader i in. 2020). Preparaty zawierające mikroorganizmy, na przykład bionawozy, biopestycydy, nawozowe produkty mikrobiologiczne wykorzystują naturalne procesy biologiczne do wspomaganie 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 (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

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<b>Bakteryjne preparaty z jednym komponentem mikrobiologicznym</b>	
<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



Mikroorganizm	Nazwa produktu
<b>Bakteryjne preparaty z jednym komponentem mikrobiologicznym</b>	
<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
<b>Bakteryjne preparaty z jednym komponentem mikrobiologicznym</b>	
<i>Pseudomonas</i>	BioRace SL Elbio FeN SL SyderoFERT
<i>Pantoea spp.</i>	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 grochRhizobium seradela Rhizobium bobik Rhizobium koniczyna Rhizobium łubinRhizobium 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 Soja
<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
<b>Grzybowe preparaty z jednym komponentem mikrobiologicznym</b>	
<i>Glomus spp</i>	Mycotech BIO
<i>Trichoderma</i>	TrichofitVitafer Soil Protect, VitaSoil Protect Agrosonic Tricho CONDOR SHIELD BIO-Trichoderma B-Trichomax Mocne KORZENIE
<i>Coniothyrium</i>	Öko-ni WP

cd. tab. 1

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<b>Bakteryjne preparaty z jednym komponentem mikrobiologicznym</b>	
<i>Beauveria</i>	BORA
<b>Bakteryjne preparaty z dwoma komponentami mikrobiologicznym</b>	
<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 spp.</i> , <i>Lactobacillus spp</i>	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 sp.</i>	Bio-Bacthur
<i>Pseudomonas sp.</i> <i>Azotobacter sp</i>	BIO-Supl Bio Azot
<i>Bacillus spp.</i> <i>Azotobacter spp.</i>	NUTRI BIO FERT
<i>Bacillus</i> <i>Yarrownia</i>	bi system24
<i>Rhizobium lupini</i> , <i>Bradyrhizobium sp. (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

cd. tab. 1

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<b>Bakteryjne preparaty z jednym komponentem mikrobiologicznym</b>	
mezofilne bakterie fermentacji mlekowej szczepy drożdży probiotycznych	EM ReviGreen EM OGRÓD
Drobnoustroje tlenowe mezofilne Bakterie fermentacji mlekowej	Terra Biosa Probios Terra Biosa Probios Plus do Sądów i Ogrodów
<i>Bacillus mucilaginosus</i> <i>Ochrobactrum</i> sp. I-4362	INO SEED BACT
<b>Bakteryjno-grzybowe preparaty z dwoma komponentami</b>	
<i>Bacillus</i> <i>Trichoderma</i>	Vitafer Soil FastRecovery, VitaSoil FastRecovery N-FORTEMADSOILFIDELGREENBIONPROOACTSOIL HUMIZATOR
<b>Bakteryjne i bakteryjno-grzybowe preparaty z trzema komponentami</b>	
<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 croococum</i> <i>Azospirillum brasiliense</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

cd. tab. 1

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<b>Bakteryjne preparaty z jednym komponentem mikrobiologicznym</b>	
<i>Bacillus</i> <i>Paecilomyces</i> <i>Pochonia</i>	OtorSTOP P-Drakol Nematado
<i>Serratia marcescens</i> <i>Serratia plymuthica</i> <i>Pseudomonas protegens</i>	B-Fert Zielony ROZKWIT
<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 (Kuźniar i in. 2021). Dodatkowo w połączeniu z biopreparatami zawierającymi związki występujące naturalnie w przyrodzie, są doskonałym rozwiązaniem, biorąc pod uwagę naturalne nawożenie upraw. Stosowanie preparatów mikrobiologicznych to rozwiązanie, które może okazać się niezbędne w obliczu intensyfikacji produkcji rolnej i coraz częstszych 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, 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

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<b>Bakteryjne i bakteryjno-grzybowe preparaty z czterema komponentami mikrobiologicznymi</b>	
<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

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<b>Bakteryjne i bakteryjno-grzybowe preparaty z czterema komponentami mikrobiologicznymi</b>	
<i>Bacillus</i> <i>Rhizobium</i> <i>Paenibacillus sp.</i> <i>Trichoderma</i>	TERRA biofix
<i>Pchanerochaete chrysosporium</i> , <i>Trichoderma reesei</i> , <i>Streptomyces sp.</i> <i>Bacillus sp.</i>	BacterX START
<i>Rhizophags irregularis</i> <i>Claroideoglomus luteum</i> <i>Claroideoglomus claroideum</i> <i>Claroideoglomus etunicatum</i>	MycosApply® EndoMaxx
<b>Bakteryjne i bakteryjno-grzybowe preparaty wieloskładnikowe</b>	
<i>Paenibacillus azotofixans</i> <i>Bacillus megaterium</i> <i>Bacillus mucilaginosus</i> <i>Bacillus mycoides</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 mycoides</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 mycoides</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Trichoderma viride</i> mycorrhizal fungi	BIOSTART WG

cd. tab. 1

Mikroorganizm	Nazwa produktu
<b>Bakteryjne i bakteryjno-grzybowe preparaty z czterema komponentami mikrobiologicznymi</b>	
<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>Rodhopsedomonas janowiec</i> <i>Saccharomyces,</i> <i>Bacillus</i>	Microbiotix Complex
<i>Lactobacillus</i> <i>Lacticaseibacillus</i> <i>Limosilactobacillus</i> <i>Rhodococcus</i> <i>Rodhopsedomonas</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>Rodhopsedomonas</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Saccharomyces, Bacillus</i>	Complex Bio
<i>Azotobacter sp.</i> <i>Polyangium sp.</i> <i>Pseudomonas putida sp.</i> <i>Rhizobium sp.</i> <i>Streptomyces spp.</i> <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 endomykoryzowych)
- ograniczanie rozwoju szkodników i patogenów roślin. Ta aktywność mikroorganizmów związana jest przede wszystkim z występowaniem w glebie konkurencji, m.in. o pokarm, pomiędzy jej mieszkańcami, a także zjawiskom antagonizmu i nadpasożytnictwa.
- wiązanie azotu oraz tworzenie układów symbiotycznych z roślinami. Najlepiej znanym przykładem symbiozy mikroorganizmów glebowych z roślinami jest współzycie 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 wysokość 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. Stosowanie preparatów mikrobiologicznych wiąże się też z ograniczeniem stosowania chemicznych środków ochrony roślin i nawozów mineralnych. Umożliwia także szybszą regenerację roślin oraz wpływają na fotosyntezę i przyspieszają procesy biochemiczne. Rozwój produkcji związany 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 opraco-

wano i wdrożono do produkcji liczne biopreparaty, wśród których dominują preparaty promujące wzrost roślin oraz 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). Preparaty mikrobiologiczne coraz aktywniej stają się popularną ekologiczną alternatywą dla nawozów syntetycznych i środków ochrony roślin, co jest zgodne z koncepcją zrównoważonego rolnictwa i wytycznymi rolnictwa precyzyjnego i 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.
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 Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 422, 012014, 2019.
4. Derkowska E., Paszt L.S., Harbuzov A., Sumorok B.: Root Growth, Mycorrhizal Frequency and Soil Microorganisms in Strawberry as Affected by Biopreparations. *Adv. Microbiol.*, 2015, **5**: 65-73.
5. Domańska-Świątkiewicz I.: Wpływ działalności rolniczej na środowisko naturalne. Wydział Ogrodniczy AR w Krakowie, Katedra Uprawy Roli i Nawożenia Roślin, 2005.
6. Dubey A., Malla M.A., Kumar A., Dayanandan S., Khan M.L.: Plants endophytes: unveiling hidden agenda for bioprospecting toward sustainable agriculture. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2020, **40(8)**: 1210-1231.
7. Gałązka A., Bigos J., Siebielec S.: Promowanie wzrostu roślin przez bakterie z rodzaju *Azospirillum* oraz ich zastosowanie w rolnictwie. *Pol. J. Agron.*, 2015, **23**: 48-62.
8. Gałązka 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, Vol. 63, 7: 300-306; doi: 10.17221/207/2017-PSE
9. Gałązka A., Kocoń A.: Wpływ preparatów z mikroorganizmami pożytecznymi na liczebność i biomasa mikroorganizmów glebowych. *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 2015b, **45(19)**: 127-142.
10. 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*, 2016, nr 49, ISBN 978-83-7562-246-1.

11. Grobelak A., Nopora A., Hiller J., Kacprzak M.: Alysis of commercialisation possibilities of biopreparation „rhizofertum” for plant growth stimulation in unfavourable soil conditions. Act. Innov., 2016, **19**: 45-51.
12. Grzyb A., Waraczewska Z., Niewiadomska A., Wolna-Maruwka A.: Czym są biopreparaty i jakie jest ich zastosowanie? Nauka Przyr. Technol., 2019, **13(2)**: 65-76.
13. 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. J. Plant Prot. Res., 2019, **59**: 193-205.
14. Kodeks Dobrej Praktyki Rolniczej, I. Duer, M. Fotyma, A. Madej (red.). Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi, Ministerstwo Środowiska. Warszawa 2002, s. 83.
15. Komisja Europejska, Fabryka życia. Dlaczego różnorodność biologiczna gleby jest tak istotna. Luksemburg, 2010, s. 1-24.
16. Król M.J.: Przemiany mikrobiologiczne potasu, magnezu, manganu i wapnia w glebie. Monografie i Rozprawy Naukowe, Puławy 2013, **42**: 1-15.
17. Książek 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, 2018, **58**: 1-120; ISBN 978-83-7562-285-0;
18. Kuzniara A., Włodarczyk K., Gromadzka P., Siara A., Wolińska A.: Aktualny stan wiedzy na temat biopreparatów stosowanych w rolnictwie. Wydawnictwo KUL, 2021, ss. 32; ISBN 978-83-8061-964-7
19. Kuzniara A., Włodarczyk K., Wolińska A.: Agricultural and Other Biotechnological Applications Resulting from Trophic Plant-Endophyte Interactions. Agronomy, 2019, **9(12)**: 779.
20. Kyrychenko O.V.: 2015. Market analysis and microbial biopreparations creation for crop production in Ukraine. Biotech. Acta., 2015, **8(4)**: 40-52.
21. Martyniuk S., Książek J.: Ocena pseudomikrobiologicznych biopreparatów stosowanych w uprawie roślin. Polish Journal of Agronomy, 2011, **6**: 27-33.
22. 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. Int. J. Seed Spices., 2019, **9**: 53-56.
23. Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G.: Microbial diversity and soil functions. Eu. J. Soil Sci., 2003, **54**: 655-670.
24. Oszust K., Pylak M., Frąc M.: *Trichoderma*-Based Biopreparation with Perbiotics Supplementation for the Naturalization of Raspberry Plant Rhizosphere. Int J Mol Sci., 2021, **22(12)**: 6356.
25. Piwowara A.: Środki biologiczne i biotechniczne w produkcji roślinnej. Zagadnienia Doradztwa Rolniczego, 2015, **4**: 92-102.
26. Poradnik preparaty mikrobiologiczne dla roślin rolniczych, ISBN 978-83-7562-406-9, Publikacja elektroniczna, <https://doi.org/10.26114/por.iung.2023.12.01>
27. Pylak M., Oszust K., Frąc M.: Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. Rev. Environ. Sci. Biotechnol., 2019, **18**: 597-616.
28. Santoyo G., Moreno-Hagelsieb G., Orozco-Mosqueda C., Glick B.R.: Plant growth-promoting bacterial endophytes. Microbiol. Res., 2016, **183**: 92-99.
29. Singh M., Kumar A., Singh R., Pandey K.D.: Endophytic bacteria: a new source of bioactive compounds. 3 Biotech., 2017, **7(5)**: 315.

30. S m a g a c z J.: Rola zmianowania w rolnictwie zrównoważonym. Pamiętnik Puławski, 2000, 120.
31. T o a d e r G., Chiurciu V., Mrierean N., Sevcuic 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.
32. W o ź n i a k M., Gałązka A.: Mikrobom ryzosfery i jego korzystny wpływ na rośliny – aktualna wiedza i perspektywy. Post. Mikrobiol., 2019, **58(1)**: 59-69.
33. Y a d a v A.: Exploring the Potential of Endophytes in Agriculture: A Minireview. Adv. Plants Agric. Res., 2017, **6(4)**: 00221.
34. Y a k h i n O.I., Lubyarov A.A., Yakhin I.A., Brown P.H.: Biostimulants in Plant Science: A Global Perspective. Front Plant Sci., 2016, **7**: 2049.



**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](mailto:agrzadziel@iung.pulawy.pl)

## 1. WSTĘP

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, znaczeniu 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.

## 2. RODZAJE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH

Potrzeba ograniczenia stosowania nawożenia chemicznego, oraz konieczność ochrony środowiska naturalnego 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 „*bios*” oraz przygotowanie „*preparatum*” (Sosnowska 2019). Biopreparaty wykorzystują różne mechanizmy działania, mogą działać na glebę, roślinę, lub jednocześnie na roślinę i glebę. Działanie takich preparatów ma za zadanie zwiększenie wchłaniania substancji pokarmowych przez roślinę, ograniczenie negatywnego wpływu abiotycznych czynników środowiskowych, walkę z fitopatogenami, zwiększanie intensywności wzrostu i rozwoju roślin. W związku z różnicowaniem pełnionych funkcji preparaty podzielić możemy 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 nieczęsto 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 wykorzystaniu 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). Niemniejże znaczenie mają tutaj także koszty użytkowania. Zarówno proces produkcji jak i zastosowania na uprawie wiążą się ze znacznie mniejszym zapotrzebowaniem finansowym, niż ma to miejsce w przypadku nawozów chemicznych (Kuźniar i in. 2019). Należy jednak mieć na uwadze, że efektywność zastosowania biopreparatów uzależniona jest od odpowiedniego ich doboru, warunków środowiskowych oraz atmosferycznych (Pylak i in. 2019). Bakterie i grzyby stanowiące główny składnik biopreparatów izoluje się ze środowiska naturalnego, bardzo często bezpośrednio z gleby, która jest z jednym z kluczowych elementów otaczającego nas środowiska. Szacuje się, że 25% wszystkich organizmów żywych ma swoje siedlisko właśnie w glebie (Bach i in. 2020). Odgrywa znaczącą rolę w życiu zarówno człowieka jak i innych organizmów. Gleba jest wykorzystywana głównie w celu produkcji żywności. Pełni ona jednak 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 wysokości 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 środowisku,

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 mogą także stanowić konkurencję dla patogenów roślinnych poprzez wydzielanie metabolitów w postaci hormonów i antybiotyków, lub mogą wpływać na reakcje odpornościową rośliny, co może ograniczyć 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 oraz skład mikroorganizmów glebowych, 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.



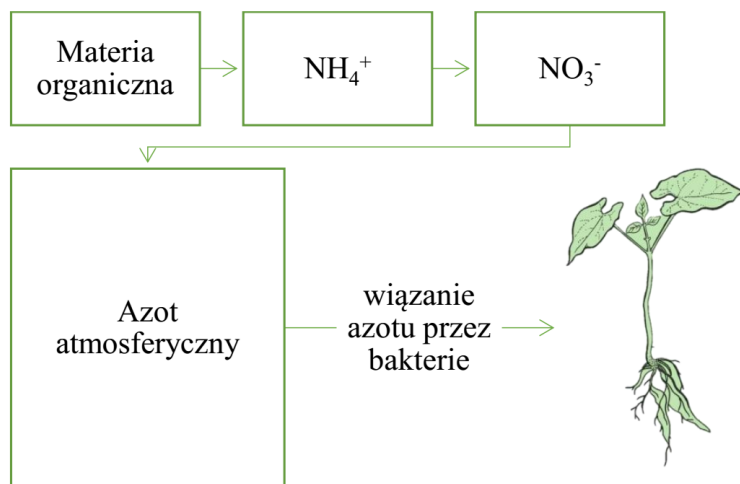
Rys. 2. Funkcje mikroorganizmów w środowisku (opracowanie własne)

#### 4. UDZIAŁ W OBIEGU PIERWIASTKÓW W ŚRODOWISKU

Przykładem zaangażowania mikroorganizmów w obiegu pierwiastków może być 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, azotu w formie atmosferycznej (Paśmionka 2017). Następnie bakterie posiadające zdolność do wiązania azotu atmosferycznego mogą nawiązywać symbiozę z rośliną gospodarza, tym samym umożliwiając jej korzystanie z tego pierwiastka w tej formie (rys. 3) (Martyniuk 2020). Proces symbiozy jest bar-



dzo 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 naturalnego azotu obecnego w środowisku, jednocześnie pozwalając na ograniczenie stosowania nawozów mineralnych.

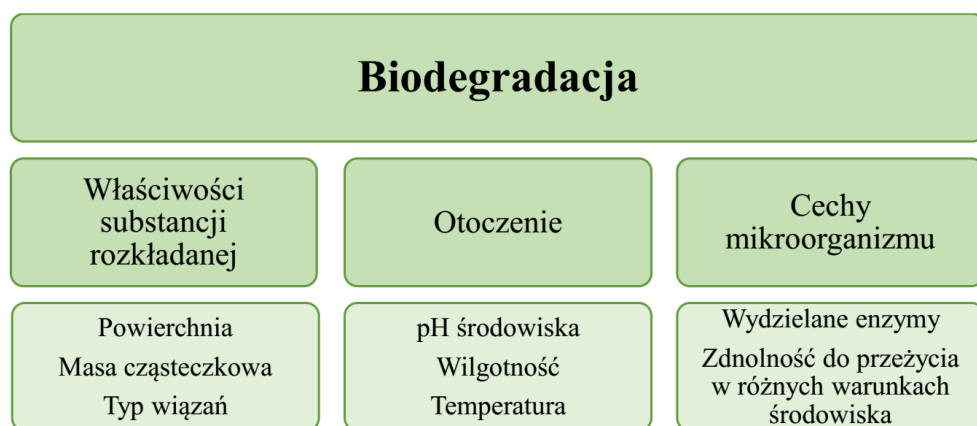


Rys. 3. Proces przemiany azotu w środowisku (opracowanie własne)

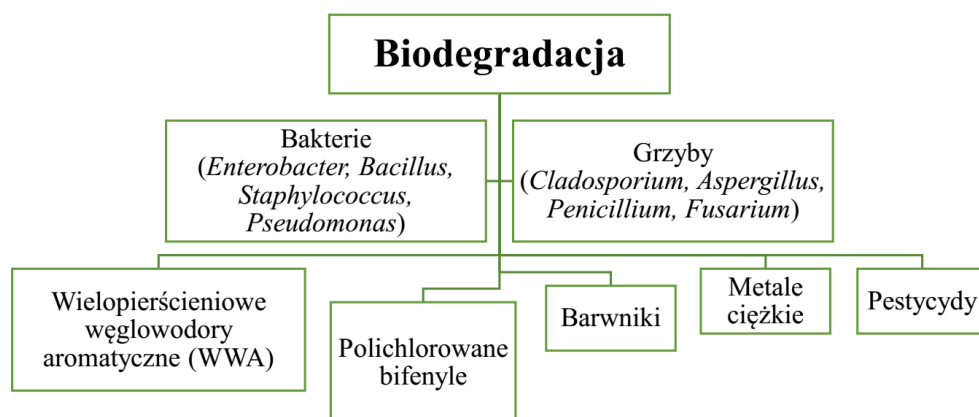
Jednym z kluczowych składników mineralnych niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania roślin jest fosfor. Pełni on funkcję budulcową, wchodząc między innymi w skład ATP, głównego nośnika energii w komórce. Bierze on także udział w metabolizmie komórkowym. Jego niewystarczający poziom ma znaczący wpływ 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 chemicznych w celu zaspokojenia zapotrzebowania na ten pierwiastek w uprawach. W celu ograniczenia zastosowania nawożenia syntetycznego prowadzone są liczne badania nad możliwością wykorzystania bakterii solubilizujących fosfor. 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 różne 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, natura, a także właściwości chemiczne degradowanego WWA (Ghosal i in. 2016). Liczne badania udowodniły, że różne bakterie degradują WWA, przy czym najszerzej 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, jak także budowę genów kodujących kluczowe dla tych mechanizmów enzymy i białka (Lu i in. 2011, Mallick i in. 2011). Obok *Pseudomonas*, wysoki odsetek izolatów degradujących WWA należy do *Sphingomonas*, *Sphingobium* i *Novosphingobium*. Gatunki należące do tych rodzajów wykazują dużą wszechstronność kataboliczną, 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. udokumentowali rozkład fenantrenu przez *Ochrobactrum* sp., wyizolowany z próbki gleby zanieczyszczonej odpadami komunalnymi (Ghosal i in. 2010). 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, takie jak 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 ze sobą niesć 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 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 *Aureobasidium*, *Metschnikowia*, *Pichia*, działając antagonistycznie względem patogenów z rodzaju *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, glukozazy (Witkowska i in. 2009), oraz proteiny (Howell 2003). Prawdopodobnie głównym mechanizmem kontroli wzrostu patogenów grzybowych przez bakterie jest antybioza. Do związków o takim działaniu możemy zaliczyć 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 produkujących antybiotyki niesie ze sobą jednak ryzyko powstania zjawiska oporności na te substan-

cje 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, które prowadzą 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 wzmacniać 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* natomiast indukowały 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*). Możemy do nich zaliczyć 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).

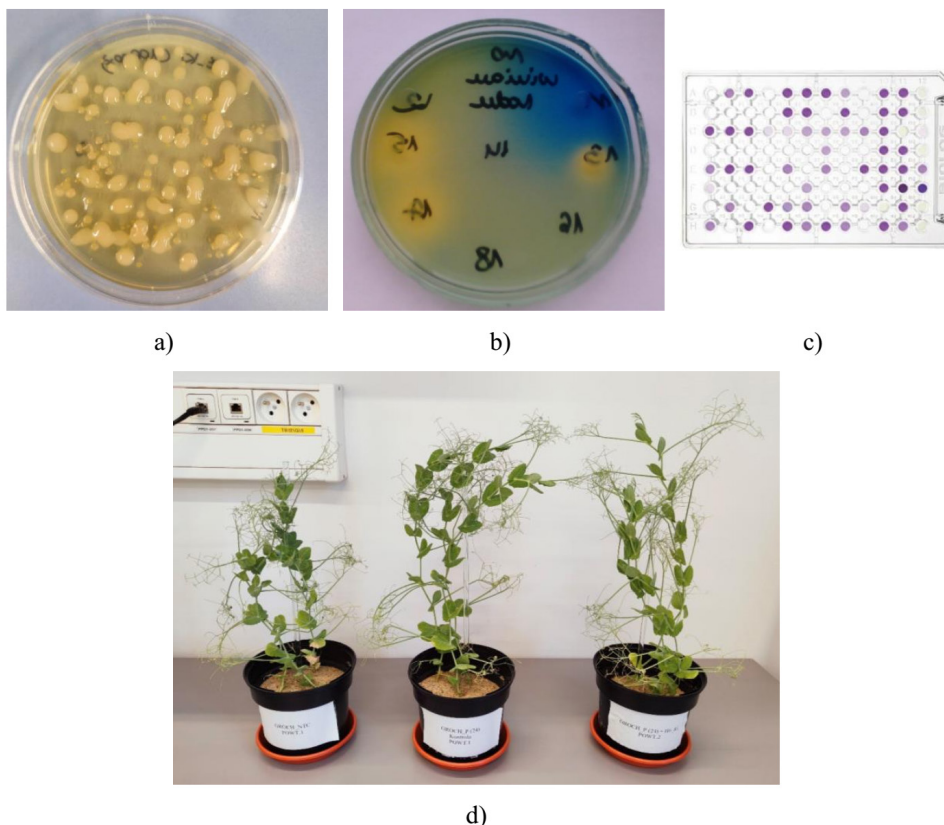
Mechanizmy ich działania możemy podzielić na bezpośrednie oraz pośrednie. Do tej pierwszej grupy zaliczamy zdolność szczepów do wiązania atmosferycznego, uwalniania fosforu z form nierozpuszczalnych, produkcji fitohormonów, sideroforów, oraz enzymów. Mechanizmy pośrednie opierają się na produkcji antybiotyków, 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 to są warunkowane obecnością w genomie tych bakterii odpowiednich genów *nif* (Steenhoudt, Vanderleyden 2000, Mohanty i in. 2021). Analogiczne zjawisko zachodzi w czasie symbiozy bakterii z rodzaju *Rhizobium* z roślinami motylkowatymi (Janczarek i in. 2014, Mohanty i in. 2021). Bakterie promujące wzrost i rozwój roślin są także zdolne do asymilacji żelaza ze środowiska i udostępnianie 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, oraz 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 *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 rozpowszechnionym w roślinach wyższych, algach i bakteriach (Tirichine i in., 2007). Spadek poziomu cytokinin w warunkach suchy 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). Użytkane 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, określenie jego potencjalnych funkcji i możliwości. W genomie



poszukiwane są geny kodujące białka biorące udział w takich procesach jak biologiczne 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/grzyb. Wykorzystywane są tu metody klasyczne, gdzie mikroorganizm hodowany jest na szalkach Petriego w obecności podłoża zawierającego konkretne substancje. W ten sposób możemy zbadać wzrostu mikroorganizmu w różnych warunkach (rys. 7b). Nowoczesne metody mikromacieczy (analiza BIOLOG) pozwalają na jednoczesną analizę wzrostu mikroorganizmu i jego zdolności do wykorzystywania wielu różnych substratów (różne źródła węgla, azotu, siarki, fosforu, warunki stresu chemicznego) (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 także wzrost produkcji roślinnej oraz intensyfikację rolnictwa. Ważnym aspektem tego procesu jest jednak 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 zdrowotności na odpowiednim poziomie, czy to detoksykacji szkodliwych substancji obecnych w otoczeniu. W związku z tym na całym świecie prowadzone są liczne badania mające na celu izolacje 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. Benchergoun 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, 9–18, Gałązka, A., Podleśny, J. (Red.), *Przegląd wybranych wskaźników do oceny bioróżnorodności i aktywności mikroorganizmów glebowych*, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy, Puławy 2020.



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. Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy, Puławy 2016.
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 Sci. Pol., 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. Jankievicz U.: Charakterystyka i znaczenie piowerdyn bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, *Postępy Mikrobiologii*, 2009, **48**: 243-254.
21. Kalaý 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., Beloëv 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, 87–104, Gałązka, A., Podleśny, J. (Red.), *Przegląd wybranych wskaźników do oceny bioróżnorodności i aktywności mikroorganizmów glebowych*, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy, Puławy 2020.
25. Król M.J.: Przemiany mikrobiologiczne potasu, magnezu, manganu i wapnia w glebie. Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy, Puławy 2013.
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. Mallick 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, pp. 64-90.
34. Martyniuk S.: Znaczenie i metody badania glebowych populacji bakterii wiążących azot atmosferyczny, 67–86, Gałązka, A., Podleśny, J. (Red.), Przegląd wybranych wskaźników do oceny bioróżnorodności i aktywności mikroorganizmów glebowych, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy, Puławy 2020.
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, 11–34, Podleśny, J., Kowalska, B. (Red.), Ochrona bioróżnorodności gleby warunkiem zdrowia obecnych i przyszłych pokoleń, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy, Puławy 2019.
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. Pocięwska 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. S a r a v a n a k u m a r D., Ciavorella 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. S e o 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. S h a r m a 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. S h i m i z u 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. 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**: 315-320.
50. S o s n o w s k a D.: Parasitic and antagonistic fungi in biological plant protection in Poland, Progress in Plant Protection, 2019, **59**: 2019-2029.
51. S p a d a r o 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. S t e e n h o u d t 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. S t o l z 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. 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, Agrarian Economy and Rural Development – Realities and Perspectives for Romania, 2020, **11**: 230-237.
56. V i l a J., Tauler M., Grifoll M.: Bacterial PAH degradation in marine and terrestrial habitats, Current Opinion in Biotechnology, 2015, **33**: 95-102.
57. W a l t e r s D.R., McRoberts N.: Plants and biotrophs: a pivotal role for cytokinins?, Trends in Plant Science, 2006, **11**: 581-586.
58. W e y e n s 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. W i t k o w s k a 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. Y e d i d i a 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.

---

## 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](mailto:mkoziel@iung.pulawy.pl)

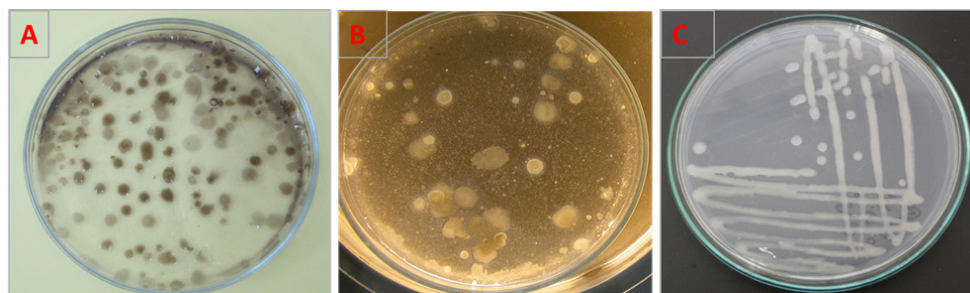
## 1. WSTĘP

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 naturalnym. Jednym z dostępnych na rynku preparatów są szczepionki zawierające wolnożyjące 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. jest drobnoustrojem niesymbiotycznym, jego 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 których skład wchodzi tylko wyselekcjonowane doświadczalnie szczepy bakterii z rodzaju *Azotobacter*, jak i innowacyjne i 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 chemicznych 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  $\gamma$ -*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  $\mu\text{m}$  i średnicy 1,0–2,0  $\mu\text{m}$ , 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* (Thompson, 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* (Krasilnikov 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 bakterie te 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). Ilość *Azotobacter* spp. 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, Zawisłak 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, tj. właściwościami gleby (zawartość materii organicznej, wilgotność, żyzność, stosunek C/N, odczyn), czy warunkami klimatycznymi (Kizilkaya 2009, Bag i in. 2017, Ramadhan i Issa 2022).

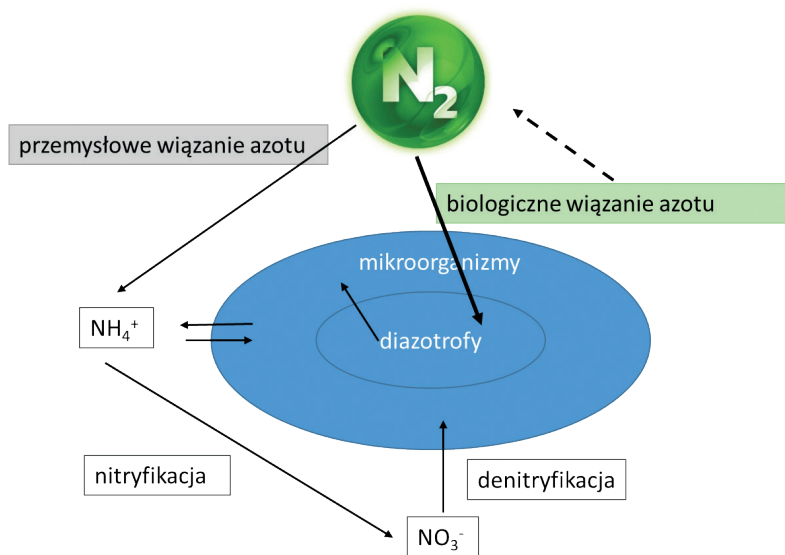
Wolno żyjące asymilatory N<sub>2</sub> z rodzaju *Azotobacter* są przedmiotem licznych badań od dziesięcioleci, a w Polsce mają już one ponad 100-letnią historię. Stały się one modelowymi mikroorganizmami w badaniach nad biochemizmem, energetyką i regulacją genetyczną procesu BWAA (Paul i Clark 2000). Zainteresowanie tymi bakteriami związane jest z ich właściwościami, pozwalającymi na wykorzystywanie tych drobnoustrojów 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* posiadające 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 i na żyzność gleby.



Rys. 2. Wiązanie azotu atmosferycznego przez *Azotobacter* spp.

(Źródło: 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 bio-

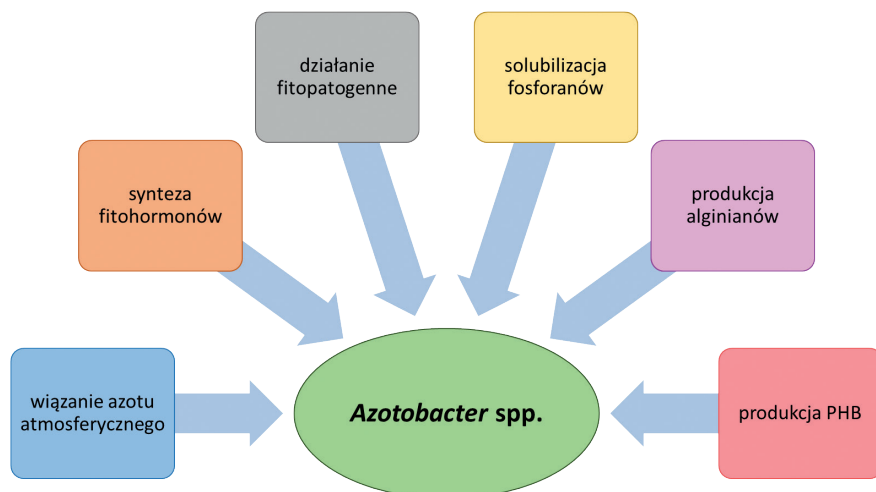
logicznie czynnych stymulujących wzrost i rozwój roślin, tj.: auksyny, gibereliny, cytokiny, witaminy z grupy B (kwas nikotynowy, kwas pantotenowy) i siderofory (Jnawali i in. 2015, Kumari i in. 2017, Aasfar i in. 2021). Wydzielając fitohormony do podłoża zwiększają ich wyprodukowaną przez rośliny ilość w środowisku, 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. 2006, Kizilkay 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 wykazujący 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 biodostępności 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. wibrioferyna, 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 związków tj.: alginiany i poli- $\beta$ -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 rodzaju *Pseudomonas* i *Azomonas*. Znajdują one zastosowanie w przemyśle papierniczym, tekstylnym, spożywczym jako substancje żelujące, zagęstniki i stabilizatory, a nawet farmaceutycznym, między innymi w opatrunkach do ran (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- $\beta$ -hydroksymaślan (PHB) to jeden z kwasów polihydroksykarboksylowych (PHA), wykorzystywany 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 zdolności do wiązania azotu atmosferycznego, produkcji substancji stymulujących wzrost i rozwój roślin, zdolności do produkcji związków hamujących rozwój patogenów, a także stymulacji drobnoustrojów ryzosferowych 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, biomasę korzeni i pędów oraz ilość i powierzchnię liści (Wani i in. 2016). Licz-

ne 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 Singh 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 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

Komponenci bionawozów	Roślina	Rodzaj doświadczenia	Wzrost plonu roślin (%)	Źródło
<i>Azotobacter Azospirillum</i> PSB	ziemniaki	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	21,7	Saeed i in. 2015
<i>Azotobacter</i>	kapusta	polowe	12,9	Sarkar i in. 2010
<i>Azotobacter</i> PSB	brokół	doniczkowe	17,27	Singh i in. 2014
<i>Azotobacter</i> PSB	pomidor	polowe	23,8	Singh i in. 2015
<i>Azotobacter</i> PSB	marchew	polowe	19,6	Sarma i in. 2015
<i>Azotobacter Chlorella Nostoc</i>	ryż	analiza in situ	26,92	Zayadan i in. 2014
<i>Azotobacter</i>	bawełna	szklarniowe	13,6	Romero-Perdomo i in. 2017
<i>Azotobacter Azospirillum</i>	rzepak	polowe	1,52	Ahmadi-Rad i in. 2016
<i>Azotobacter</i>	pszenica	polowe	14,32	Milošević i in. 2012
<i>Azotobacter Glomus intraradices</i>	krokosz barwierski	polowe	2,63	Mirzakhani i in. 2014
<i>Azotobacter</i> PSB	groch	doniczkowe i polowe	35,5	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 do plonu uzyskanego 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 bar-

wierskiego. Nawożenie samymi nawozami mineralnymi uprawy krokosza barwierskiego nie dało takich efektów (Soleimanzadeh, Gooshchi, 2013).

Tabela 2

% wzrost plonu roślin uprawnych inokulowanych *Azotobacter* spp. w porównaniu z plonem uzyskanym przy zastosowaniu nawozów mineralnych (Źródło: 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
Pszemica	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 cechy wyróżniające je na plus 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 czy oparzenia roślin. Poza tym preparaty mikrobiologiczne na bazie bakterii z rodzaju *Azotobacter* wspomagają rośliny w sytuacjach 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 prepa-

raty płynne można aplikować w różnych zabiegach uprawowych oraz hodowlanych. Można je stosować m.in. do zaprawiania nasion, szczepienia gleby przed wysadzeniem roślin i opryskiwania upraw (Bashan i in. 2014, Malusá i in. 2012, Jambhulkar i in. 2016).

*Azotobacter* spp. był stosowany jako bionawóz już ponad 100 lat temu. Preparaty mikrobiologiczne zawierające w swoim składzie bakterie wiążące azot atmosferyczny z rodzaju *Rhizobium*, *Azotobacter* i *Azospirillum* 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 i ogrodnictwie jest Azotobakteryna (rys. 4). Zastosowanie Azotobakteryny w uprawie roślin okopowych, krzyżowych i niektórych warzywnych przyczynia się do wzrostu plonowania, korzystnie wpływając na rozwój roślin. 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 kg azotu na 1 ha/1 rok (Kosicka i in. 2015, Kozieł i in. 2018).



Rys. 4. Azotobakteryna – szczepionka dla roślin niemytłkowych

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.



Tabela 3

Przykłady preparatów mikrobiologicznych na bazie *Azotobacter* spp. stosowane na świecie (Aasfar i in. 2021, Farmer 2023)

Kraj	Preparat	Składniki aktywne	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, bawełna, 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	Dimargon1	<i>Azotobacter chroococcum</i>	ryż, bawełna
Polska	Bacti-N AzotoPower	<i>Azotobacter</i> spp. <i>Azotobacter</i> , <i>Arthrobacter</i>	zboża jare, rzepak, kukurydza 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 wydaje się 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 chemicznych, pestycydów i sztucznych regulatorów wzrostu powodujących różnorodne skutki uboczne w zrównoważonym rolnictwie.

## 8. LITERATURA

1. 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)**: 1183457.
4. Ansari M.F., Tiple 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, s. 141.
12. Balandra J.: Ecological factors and adaptive processes in  $N_2$ -fixing bacterial populations of the plant environment. *Plant and Soil*, 1986, **90**: 73.
13. Bashan 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. Behl 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. Beijerinck M.W.: Über ologonitrophile mikroben. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. II Abt.*, 1901, **9**: 561-582.
16. Bhattacharjee 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 õ 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.
22. E b r a h i m i M., Safari Sinegani 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. Hussain 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. Jai Paul 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. Jamhulkar P.P., Sharma P., Yadav R.: Delivery systems for introduction of microbial inoculants in the field, pp. 199-218, Singh D., Singh H., Prabha R. (eds.), In: *Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity*, Springer, New Delhi 2016.
36. Jnawali 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. Jin 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. Kamiński P.A., Batut J., Boistard P.: A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia, s. 431-460, Spaink H.P., Kondorosi A., Hooykaas J. (red.) W: *The Rhizobiaceae-Dordrecht*. The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 1998.
39. Kennedy I.R., Tchan Y.T.: Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: recent advances. *Plant and Soil*, 1992, **141**: 93-118.
40. Kennedy 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. Kosravi 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. Kizilkaya 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. Kobus A., Sach M.: Asortyment produktów mikrobiologicznych roślin jak grzyby po deszczu. *Farmer*, 2023, **5**: 95-97.
44. Kosicka D., Wolna-Maruwka A., Trzeciak M.: Wpływ preparatów mikrobiologicznych na glebę oraz wzrost i rozwój roślin. *Kosmos*, 2015, **64**: 327-335.
45. Kozieł 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. Kozieł M., Gałązka A.: Systematyka i analizy genomiczne bakterii z rodzaju *Azotobacter*. *Postępy Mikrobiologii*, 2021, **60**: 299-308.
47. Krasil'nikov N.A.: Guide to the bacteria and actinomycetes. Red. Akademia Nauk SSSR, Moscow 1949.
48. Kumar 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. Kumari S., Chourasia S.K., Singh U., Kant R.: *Azotobacter*: Its role in sustainable agriculture. *New Agriculturist*, 2017, **28**: 485-492.
50. Lenart 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. Lipman 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. Lipman 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. Liu 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. Mahato 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. Malusá E., Sas-Paszt L., Ciesielska J.: Technologies for beneficial microorganisms inocula used as biofertilizers. The Scientific World Journal, 2012, 491206.
56. Martyniuk S., Martyniuk M.: Occurrence of *Azotobacter* spp. in some Polish soils. Polish Journal of Environmental Studies, 2003, **12**: 371-374.
57. Martyniuk S.: Wytwarzanie preparatów mikrobiologicznych na przykładzie bakterii symbiotycznych roślin motylkowatych. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 2010, **55**: 20-23.
58. Milošević 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. Mirzakhani 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, pp. 153-164, Miransari M. (eds.), In: Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses: Volume 2: Alleviation of Soil Stress by PGPR and Mycorrhizal Fungi, Springer, New York 2014.
60. Nongthombam J., Kumar A., Sharma S., Ahmed S.: *Azotobacter*: A complete Review. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 2021, **10**: 72-79.
61. Page 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. Paul E.A., Clark F.E.: Mikrobiologia i biochemia gleb, s. 400, Jędrych M. (red.), Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin 2000.
63. Pridachina N.N., Novogrudskaya E.D., Kruglyak E.B.: *Azotobacter chroococcum*, producer of a new antifungal antibiotic. Antibiotiki, 1982, **27**: 3-5.
64. Ramadhan 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. Ritika B., Utpal D.: Biofertilizer, a way towards organic agriculture: a review. African Journal of Microbiology Research, 2014, **8**: 2332-2343.
66. Robson 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. Romero-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. Rubio 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. Sa 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. Sa 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. Sa r a v a n a n V.S., Kumar M.R., Sa T.M.: Microbial zinc solubilization and their role on plants, pp. 47-63, Maheshwari D.K. (eds.) In: *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Nutrient Management*, Springer, Berlin 2011.
72. Sa 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. Sa 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. Sa 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. Sa 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. Se t u b a I.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. Si n g h M.S., Dutta S.: Mustard and rapeseed response to *Azotobacter* – a review. *Agricultural Reviews*, 2006, **27**: 232-234.
79. Si n g h 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. Si n g h A., Maji S., Kumar S.: Effect of biofertilizers on yield and biomolecules of anti-cancerous vegetable broccoli. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 2014, **5**: 262.
81. Si n g h 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. Si v a p r i y a 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. So l e i m a n z a d e h H., Gooshchi F.: Effects of *Azotobacter* and nitrogen chemical fertilizer on yield and yield components of wheat (*Triticumaestivum* L.). *World Applied Sciences Journal*, 2013, **21**: 1176-1180.

84. S o u m a r e A., Diedhiou A.G., Thuita M., Hafidi M.: Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. *Plants*, 2020, **9**: 1011.
85. S u m b u l 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. T h o m p s o n 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.
87. T i l a k K., Sharma K.C.: Does *Azotobacter* help in increasing the yield. *Indian Farming Digest*, 2007, **9**: 25-28.
88. T o r r e s-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. T u r e s i n 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. V a n c e C.P., Graham P.H.: Nitrogen fixation in agriculture: application and perspectives, pp. 77-86. Tikhonovich I.A., Provorov N.A., Newton W.E. (eds.) In: Nitrogen fixation: Fundamentals and applications. Current plant science and biotechnology in agriculture, Springer, Dordrecht 1995.
91. V o j i n o v i v Z.: Microbiological properties of main types soil in Serbia for nitrogen cycling. *Journal for Scientific Agricultural Research*, 1961, **43**: 3-25.
92. W a k a r e r a 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. W a n i S.A., Chand S., Wani M.A., Ramzan M., Hakeem K.R.: *Azotobacter chroococcum* – a potential biofertilizer in agriculture: an overview, pp. 333-348, Hakeem K.R., Akhtar J., Sabir M. (eds.) In: Soil Science: Agricultural and Environmental Perspectives, Springer, Cham 2016.
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. Z a y a d a n 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.



**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 preparatów najbardziej znanych i powszechnie stosowanych w uprawie roślin na całym świecie, również w Polsce. Wykorzystywane są one do otoczkowania 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 sztucznego nawożenia azotem (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 (Aloo i in. 2022, Koskey i in. 2021, Fahde i in. 2023, Kobus i Sach 2023).

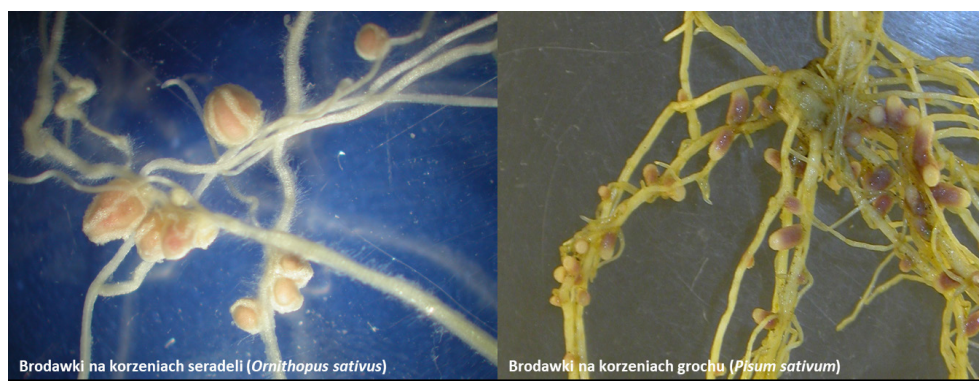
## 2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU *RHIZOBIUM*

Bakterie z rodzaju *Rhizobium* są Gram-ujemnymi, tlenowymi, urzęsionymi pałeczkami, które nie tworzą form przetrwalnych. Należą one do klasy  $\alpha$ -*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 niescharak-



teryzowanych i nieuprawianych gatunków, pochodzących z różnych środowiska (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 rodzajami 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 azotu, 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) (Źródło: Martyniuk 2019)

Większość gatunków bakterii brodawkowych charakteryzuje się dużą specyficznością symbiotyczną, czyli powinowactwem do określonego rodzaju 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 wszystkimi 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  
(Źródło: Łyszcz, 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:

- jakość gleby, a zwłaszcza jej żyzność i pH,
- częstotliwość uprawiania roślin bobowatych na danym terenie,
- nawożenie NPK i wapnowanie,
- właściwości bakterii brodawkowych (Podleśna 2018, Martyniuk 2019, Fahde i in. 2023).

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, Martyniuk i in. 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 bakteri-

ami 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. Przedśiewne otoczkowanie 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-Zięmięcka 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 w oparciu o cechy morfologiczne komórek oraz właściwości fizyczno-biochemiczne 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 rodzajów i 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 w oparciu o takie cechy jak wygląd i liczba brodawek na korzeniach roślin czy aktywność en-

zymu 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 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 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 z etapów przenoszenia i powiększania hodowli, ponieważ od tego zależy jakość wytwarzanego biopreparatu (Martyniuk 2010).

W przypadku szczepionek rizobiowych 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 ilością 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 otoczkowania nasion roślin bobowatych, co jest dużym ułatwieniem przy wprowadzaniu dużej liczby bakterii bezpośrednio do strefy korzeniowej siewek roślin. Większa ilość rizobiów w glebie zwiększa szanse bakterii brodawkowych na nawiązanie skutecznej symbiozy z rośliną (Martyniuk 2010). Technologię wytwar-

zania 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 zawierają 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, jednocześnie nie zaburzając 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 wiN<sub>2</sub>backter (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. 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 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 kilkudziesięciu 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	Mikroorganizmy	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 Legume Fix	<i>Azotobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>Rhizobium</i> sp., <i>Bradyrhizobium japonicum</i> <i>Mesorhizobium ciceri</i>	ogórek, pomidor, pieprz	Oдох i in., 2019 Adeleke in., 2019 Adeleke i in., 2019 Adeleke i in., 2019
	Chickpea Nodulator Cowpea Inoculant	<i>Rhizobium</i> spp.	fasola zwyczajna, soja ciecierzyca wspięga wężowata	

Najbardziej dominującym i postępowym rynkiem bionawozów na świecie jest Europa, gdzie popyt na bionawozy wzrósł z około 2566 mln dolarów w 2012 r. do 4582 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 o 10 do 28%. W warunkach stresu suszy zaszczerpienie nasion bobiku szczepem *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (F46) wpłynęło istotnie na suchą masę korzeni i zawartości azotu ogólnego (Dashadi i in. 2011). W badaniu przeprowadzonym przez Chaintruela i in. (2000), stwierdzono, że rośliny ryżu inokulowane *Bradyrhizobium* wykazywały 20% wzrost całkowitej biomasy. Ponadto Hussain i in. (2009) odnotowali znaczną poprawę plonów (43%), biomasy roślin (18%) i wielkości ziaren ryżu (25%) zaszczerpionego *Rhizobium leguminosarum*. Egamberdiyeva i in. (2004) prowadząc doświadczenia połowe stwierdzili 77% wzrost plonu bawełny w porównaniu z grupą kontrolną. Największy wzrost plonów 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 zarówno w warunkach laboratoryjnych, szklarniowych, a także 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 systemu korzeniowego i liczbę brodawek.

## 6. PODSUMOWANIE

Największym i najważniejszym globalnym wyzwaniem XXI wieku jest ograniczenie chemizacji rolnictwa, które porowadzi do zmniejszania ilości substancji odżywczych gleby oraz spadku jej żyzności, co z kolei skutkuje ograniczeniem wzrostu i rozwoju wielu 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 rosło. Przygotowanie preparatu rizobiowego o wysokiej jakości

jest niezwykle trudne, a proces jego wytwarzania wieloetapowy. Dużego nakładu pracy wymaga zgromadzenie kolekcji mikroorganizmów, długotrwałe ich namnażanie oraz kontrolowanie czystości uzyskiwanych hodowli. Niemniej duże znaczenie ma przygotowanie i dobranie nośnika, mieszanie biomasy z nośnikami, a także odpowiednie przechowywanie szczepionki. Istotne znaczenie ma utrzymanie sterylnych warunków, związanych z zachowaniem czystości preparatu wprowadzanego do handlu. Wyniki badań prowadzone 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, pp. 137-172. Giri B., Prasad R., Wu Q. S., Varma A. (eds.) In: *Biofertilizers for Sustainable Agriculture and Environment*, Cham: Springer International Publishing, 2019.
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., Diczenco 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**: 529.
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, pp. 317-335. Kumar V., Kumar M., Sharma S., Prasad R. (eds.) In: *Probiotics and Plant Health*, Singapore, Springer, 2017.
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> (Accessed July 2, 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 Lajudie 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. Egamberdiyeva 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, pp. 58-65. In: Proceedings of the 26th annual conservation tillage conference for sustainable agriculture, Auburn, Australia, 8 June 2004.
66. Fahde 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**: 1279.
67. Gałązka A.: Praktyczne wykorzystanie mikroorganizmów. w rolnictwie, ss. 125-135. Podleśny J., Kowalska B. (red.) W: Ochrona bioróżnorodności gleby warunkiem zdrowia obecnych i przyszłych pokoleń, 2019, ISBN 978-83-7562-318-5.
68. Hussain 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. Ismail S., Dhamak A.L., Mohanty S.R.: Technical Bulletin – Rhizobium Biofertilizer Technology for Legumes of Maharashtra. AINP SBB Technical Bulletin VNMKV: Parbhani, India 2021.
70. Jaiswal 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.
71. Kobus A., Sach M.: Asortyment produktów mikrobiologicznych rośnie jak grzyby po deszczu. *Farmer*, 2023, **5**: 95-97.
72. Koskey 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.
73. Lupwayi 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. Łyszcz M., Gałązka A.: Proces biologicznego wiązania azotu atmosferycznego. *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 2016, **49(3)**: 59-70.
75. Martyniuk 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. Martyniuk 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. Martyniuk S.: Znaczenie procesu biologicznego wiązania azotu w rolnictwie ekologicznym. *Journal of Research and Application in Agricultural Engineering*, 2008, **53(4)**: 9-14.
78. Martyniuk S.: Wytwarzanie preparatów mikrobiologicznych na przykładzie bakterii symbiotycznych roślin motylkowatych. *Journal of Research and Applications on Agricultural Engineering*, 2010, **55(4)**: 20-23.
79. Martyniuk 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. Martyniuk S.: Naukowe i praktyczne aspekty symbiozy roślin strączkowych z bakteriami brodawkowymi. *Polish Journal of Agronomy*, 2012, **9**: 17-22.
81. Martyniuk S.: Biologiczne wiązanie N<sub>2</sub>, bakterie symbiotyczne roślin bobowatych w glebach Polski i oszacowywanie ich liczebności. *Polish Journal of Agronomy*, 2019, **38**: 52-65.

82. Mitter E.K., Tosi M., Obregón D., Dunfield K.E., Germida J.J.: Rethinking Crop Nutrition in Times of Modern Mikrobiology: Innovative Biofertilizer Technologies. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, **5**: 606815.
83. Odoh 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. Paudyal S.P., Gupta V.: Substitution of chemical fertilizer nitrogen through rhizobium inoculation technology. *Our Nature*, 2018, **16(1)**: 43-47.
85. Peoples 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. Podleśna A.: Proces wiązania N<sub>2</sub> przez rośliny bobowate jako źródło azotu dla roślin uprawnych. *Studia i Raporty IUNG-PIB*, 2018, **56(10)**: 71-85.
87. Savala C.E.N., Wiredu A.N., Chikoye D., Kyei-Boahen S.: Prospects and Potential of *Bradyrhizobium diaoefficiens* Based Bio-Inoculants on Soybean Production in Different Agro-Ecologies of Mozambique. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2022, **6**: 908231.
88. Siddiqui 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. Sobieszek P.: Bakterie wykorzystywane w produkcji roślinnej, ss. 172-213. Maleszy S. (red.) W: *Biotechnologia roślin*, PWN Warszawa 2009.
90. Stephens J.G.H., Rask H.M.: Inoculant production and formulation. *Field Crop Research*, 2000, **65**: 249-258.
91. Sujkowska M.: Przebieg procesu infekcji w układzie symbiotycznym rośliny motylkowate – *Rhizobium*. *Wiadomości botaniczne*, 2009, **53(1/2)**: 35-53.
92. Tairó 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. Wani S.P., Gopalakrishnan S.: Plant growth-promoting microbes for sustainable agriculture, pp. 19-45. In: *Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Prospects for Sustainable Agriculture*, Springer, Singapore 2019.
94. Wróbel 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. Yadav 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. Zamłyńska 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.



**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](mailto:m.wozniak@iung.pulawy.pl)

## 1. WSTĘP

Według szacunków Organizacji ds. Wyżywienia i Rolnictwa (FAO – 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 stanowią również wyzwanie dla światowej produkcji roślinnej (FAO 2017). Wraz z nadejściem Zielonej Rewolucji i stosowaniem niezrównoważonych praktyk rolniczych, w tym wylesianie, nadmierne stosowanie 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 naturalne (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 istotnym 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, modyfikację cech roślin oraz wykorzystanie naturalnych preparatów (bionawozów, biostymulatorów, biopreparatów, biomodyfikatorów) (Syers 2008, Ajmera i in. 2019).

## 2. ZNACZENIE FOSFORU W PRODUKCJI ROLNEJ

Fosfor (P; phosphorus) jest obok azotu drugim istotnym makroskładnikiem niezbędnym do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin (Roch i in. 2019). Fosfor odgrywa 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-fosforany, 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 P 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. 2021). 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 plonów. Wpływ fosforu na wzrost i rozwój roślin przedstawiono na poniższym schemacie (rys. 1) (Bechtaoui i in. 2021).



Rys. 1. Schemat przedstawiający role fosforu we wroście i rozwoju roślin

Typowymi fenotypowymi objawami niedoboru fosforanów są zahamowanie wzrostu i rozgałęzienia pędów, ciemnozielone do niebieskozielonego zabarwienie liści, słabsze i cieńsze łodygi, zmniejszone krzewienie, nieskuteczne zapylenie, mniejsza ilość 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 starzenie się starszych liści i mobilizację Pi do młodszych liści, merystemów, kwiatów i nasion (Smith 2002, Ajmera i in. 2019).

### 3. ŹRÓDŁA FOSFORU

Fosfor glebowy występuje w dwóch formach, a mianowicie w postaci związków organicznych (Po – organic phosphate) i nieorganicznych (Pi – 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, jest również znany jako fitynian i 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:

- $\text{H}_2\text{PO}_4^-$
- $\text{HPO}_4^{2-}$
- $\text{PO}_4^{3-}$

W wielu glebach całkowita zawartość P mieści się w przedziale 400–1200 mg·kg<sup>-1</sup>.

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 (Pi) dostępnych do pobierania przez rośliny. W glebach biodostępność P jest bardzo niska, sięga zaledwie 1 mg·kg<sup>-1</sup> 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 mg P·kg<sup>-1</sup>. 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. 1898).

W zależności od dostępności dla roślin, pulę fosforu glebowego można podzielić na:

- fosfor aktywny – tj. dostępny dla korzeni roślin w formie jonów  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ;
- fosfor ruchomy – tj. 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 – tj: apatyt, waryscyt, strengit i fosforyt (Ciopińska i Bezak-Mazur 2018, Siebielec i in. 2021).

Nawozy mineralne tj. fosforowe są głównym czynnikiem zwiększającym dostępność P w nowoczesnych systemach produkcji rolnej. Podstawowym źródłem fosforu 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 (Nesme i in. 2018). Obecna światowa podaż nawozów fosforowych wynosi około 50 ton i przewiduje się, że do 2050 r. wzrośnie do około 90 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 P (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 chemiczne tymczasowo zwiększają poziom P w glebie. Takie straty P mają znaczący szkodliwy wpływ na funkcjonowanie ekosystemu, na co zwracano uwagę w ciągu ostatnich kilku dziesięcioleci (Weihrach 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 gleb, 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 rośliny pobierają P. Kluczowe jest zbadanie zaawansowanych strategii i zarządzania agronomicznego w zakresie racjonalnego wykorzystania skał fosforytowych i łagodzenia ich wpływu na środowiska naturalne. 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 (Ibrahim i in. 2022, Siebielec i in. 2021, Nadeem i in. 2022).

#### 4. MIKROORGANIZMY SOLUBILIZUJĄCE FOSFORANY

Mikroorganizmy solubilizujące fosforany (PSM – 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 1–50%, a grzyby solubilizujące P od 0,1 do 0,5% całkowitej populacji PSM. Większość PSM wyizolowano z ryzosfery różnych roślin, gdzie wiadomo, że są one najbardziej aktywne metabolicznie (Chen i in. 2006, Khan i in. 2009). Djuuna i in. (2022) pobrali próbki tych mikroorganizmów w Indonezji. Zebrano gleby rolnicze z odpowiednią historią uprawy warzyw, zbóż i roślin strączkowych z różnych regionów. Wyniki wykazały, że populacja bakterii solubilizujących wahała się od  $25 \times 10^3$  do  $550 \times 10^3 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$  gleby i grzybów solubilizujących od  $2,0 \times 10^3$  do  $5,0 \times 10^3$



CFU·g<sup>-1</sup> gleby na wszystkich badanych obszarach. W PSM panuje także duża różnorodność. Bakterie mają kilku przedstawicieli np. z rodzaju *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Nitrosomonas*, *Erwinia*, *Serratia*, *Rhizobium*, *Xanthomonas*, *Enterobacter* i *Pantoea*. Do grzybów niemikoryzowych należą rodzaje *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Arthrotrichum* i *Trichoderma*. Przykładami grzybów mikoryzowych PSF są *Rhizophagus niereularis*, *Glomus mossea*, *G. fasciculatum* i *Entrophospora colombiana*. Wśród promieniowców przykłady PSM stanowią rodzaje *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.1). 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. 2021, 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 syntetyzują 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 wydają 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. 1) oraz wydzielanie innych czynników np. enzymów, egzopolisacharydów, siederoforów, uwalnianie protonów, produkcja H<sub>2</sub>S 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

## 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 – 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 fosfoniowe 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-

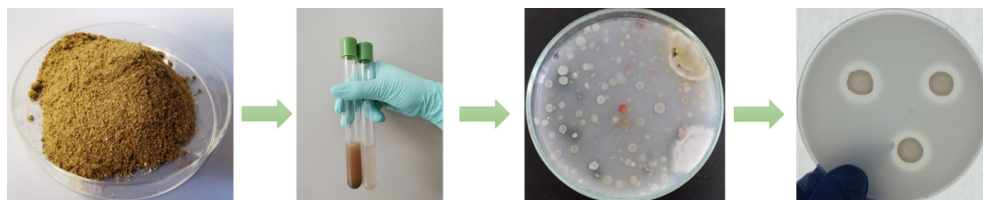
ustroje należą interakcje z innymi mikroorganizmami w glebie, rodzaj rośliny, etap wegetacji roślin, warunki ekologiczne, strefa klimatyczna, praktyki agronomiczne, systemy użytkowania gruntów oraz właściwości fizykochemiczne gleby, takie jak zawartość materii organicznej oraz pH (Seshachala i Tallapragada 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 sprzyjać 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). Zdolność do solubilizowania fosforanów poszczególnych mikroorganizmów jest być oceniana na podstawie wskaźnika solubilizacji (SI – 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

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 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 istotnie ważna 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 indolo-3-octowy (IAA – 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

szyło 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 zaszczipionej *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, zaszczipienie 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 in. 2007). Co więcej, badania Patil i in. 2012 wskazują np. że grzyby solubilizujące fosforany *Penicillium bilaji* i *Penicillium* spp. istotnie wpłynęły na wysokość kukurydzy, liczbę liści, produkcję suchej masy, długość kolby, masę ziaren na kolbę, 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% wyższą wydajność wzrostu kukurydzy w porównaniu z kontrolą (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), 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 odbywa się 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. 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>.
4. 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.
5. 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>.
6. 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>.
7. C i o p i ń s k a J., Bezak-Mazur E.: Phosphorus solubilizing bacteria – review article. *Structure and Environment*, 2018, **10**(3): 266-277.

8. 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>.
9. D j u n a 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>.
10. E l h a i s o u f i 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>.
11. E l s e r 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>.
12. F i x e n 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>.
13. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. The future of food and agriculture: trends and challenges, 2017. Dostęp online: <http://www.fao.org/3/a-i6583e.pdf> (24.09. 2024).
14. G i l b e r t N.: Environment: The disappearing nutrient. *Nature*, 2009, **461**: 716-718; <https://doi.org/10.1038/461716a>.
15. I b r a h i m 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>.
16. J o h n 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>.
17. K e n n e l l y 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>.
18. K h a n 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.
19. L e s s i e 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>.
20. L i 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>.
21. L i 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>.
22. L i n d s a y W.L., Vlek P.L.G., Chien S.H.: Phosphate minerals, 1089–1130, B. Dixon, S.B. Weed, *Minerals in soil environment*, Soil Science Society of America, Madison, 1989.
23. 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, 171–190, M. Hasanuzzaman, M. Fujita, H. Oku, K. Nahar, B. Hawrylak-Nowak, *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*, Springer, Singapore 2018.



24. Mander C., Wakelin S., Young S., Condrón 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>.
25. Mehlich 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>.
26. Nadeem 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>.
27. Nautiyal C.S.: An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms, *FEMS Microbiology Letters*, 1999, **170**: 265-270.
28. Nédélec 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>.
29. 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>.
30. Olsen 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.
31. Oubrie 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*, 1990, **18**: 5187-5194; <https://doi.org/10.1093/emboj/18.19.5187>.
32. Pandey 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>.
33. Patil 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.
34. Pikořská R.I.: Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiology*, 1948, **17**: 362-370.
35. Rawat 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>.
36. Razzaq 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>.
37. Roch 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>.
38. Ros 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>.
39. Schelfhout S., Wasof S., Mertens J., Vanhellemont 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>.

40. 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>.
41. 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>.
42. 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. Springer plus, 2013, **2**: 587; <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-587>.
43. 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, 137–165, V. Meena, *Rhizospheric Microbes in Soil*. Springer, Singapore 2018.
44. 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, ISBN 978-83-7562-360-4
45. S m i t h F.W.: Food Security in Nutrient-Stressed Environments, 235–244, J.J. Adu-Gyamfi, *Exploiting Plants' Genetic Capabilities*. In: *The phosphate uptake mechanism*, Springer, Dordrecht, The Netherlands, 2002.
46. 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>.
47. 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: Dostęp online: <https://www.fao.org/3/a1595e/a1595e00.htm> (Dostęp 24.09. 2024).
48. 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>.
49. 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>.
50. 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>.
51. 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>.
52. W e 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>.
53. W o ź n i a k M., Gałązka A., Tyśkiewicz R., Jaroszuk-Ścisł 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>.
54. 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>.



55. 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>.
56. 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>.
57. 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>.
58. <https://agrarius.eu/produkty/bi-fosfor/>
59. <https://fosfopower.pl/>

## 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](mailto:kfurtak@iung.pulawy.pl)

## 1. WSTĘP

Powszechnie występujące w środowisku naturalnym bakterie z rodzaju *Bacillus* stanowią przedmiot badań wielu naukowców, ze względu na ich, jak się wydaje, wciąż całkowicie nie 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 (Castaldi i in. 2021, Hlordzi i in. 2020, Pietraszek i Walczak 2014, Poveda i González-Andrés 2021). Szerokie spektrum zastosowania tych mikroorganizmów wynika z ich zdolności do produkcji antybiotyków, związków przeciwdrobnoustrojowych, przeciwinsekcyjnych, fitohormonów oraz uczestnictwa w procesach biogeochemicznych zachodzących w środowisku glebowym.

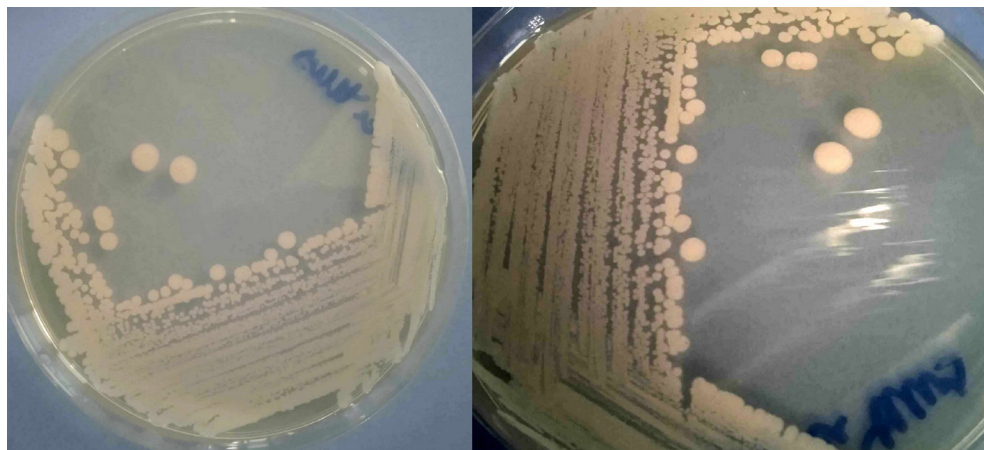
W niniejszym rozdziale opisano znaczenie tych bakterii w rolnictwie ze szczególnym wyróżnieniem preparatów wspomagających wzrost roślin.

## 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 na czynniki fizyczne i chemiczne, takie jak ciepło, zimno, wysychanie, promieniowanie UV i jonizujące, środki dezynfekujące, antybiotyki i inne czynniki. Dzięki tej zdolności bakterie mogą przetrwać w niekorzystnych warunkach środowiska np. w glebie ubogiej w składniki pokarmowe czy wodę oraz zanieczyszczonej. W roku 1995 Cano i Borucki opisali przypadek wyizolowanie żywego szczepu *B. sphaericus* 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 (Logan i Vos 2015, Pietraszek i Walczak 2014). 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 auktotrofy, a metabolizm może się odbywać na drodze oddychania tlenowego, fermentacji, jak i połączeniu tych dwóch procesów (Logan i Vos 2015). Niektóre bakterie są ruchli-

we, 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* (zdjęcia własne Zakładu Mikrobiologii Rolniczej, 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 naturalnym (Logan i Vos 2015) (tab. 1). *Bacillus* sp. jest powszechnym rodzajem bakterii występującym na całym świecie - warto zaznaczyć, że *B. thuringiensis* został wyizolowany ze wszystkich kontynentów w tym z Antarktydy (Forsyth i Logan 2000).

Większość gatunków *Bacillus* to saprofity występujące w środowisku naturalnych, 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, acydoofilne, 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	Przedstawiciele
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 in. (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 współaut. wykazali, że obróbka wełny proteazą pochodzącą z *B. subti-*

lis pozwoliła na poprawę właściwości fizycznych tkaniny wełnianej w porównaniu z enzymem komercyjnym (Demirkan i in. 2020). Aktualnie prowadzone badania wskazują, że bakterie tego gatunku mogą produkować dużą ilość enzymów proteolitycznych, w tym ciągle nie zbadanych, 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 współaut. 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 (Al-Thubiani i in. 2018).

Tabela 2

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

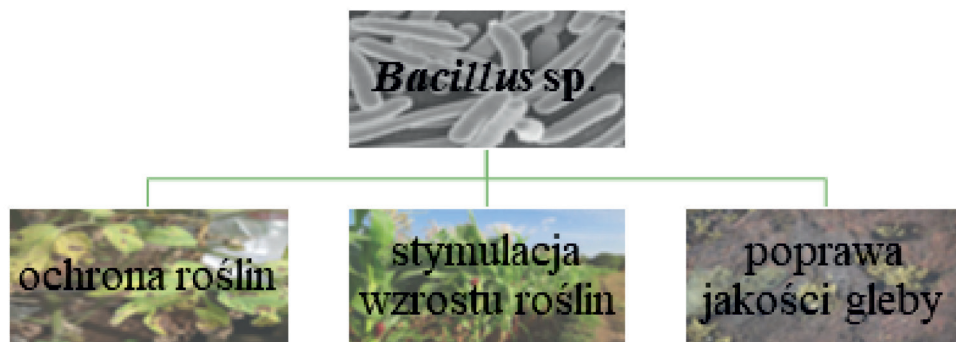
Bakteria	Związek	Działanie
<i>Bacillus</i> spp.	mersacydyna	przeciwko <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>B. amyloliquefaciens</i>	amylolizyna A	przeciwko <i>Enterococcus faecium</i>
<i>B. subtilis</i> i <i>B. amyloliquefaciens</i>	Bacylizyna	przeciwko <i>E. coli</i>
<i>B. subtilis</i> i <i>B. amyloliquefaciens</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>	$\epsilon$ -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>

Najważniejszą linią związków produkowanych z wykorzystaniem *B. amyloliquefaciens*, *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis* oraz nowo odkrywane szczepy są  $\alpha$ -amylazy, 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, amylozy (Abd-Elaziz i in. 2020). Amylaza produkowana przez *B. subtilis* uzyskana w badaniach Gebnga i in. wykazuje

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

### 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 zastosowań bakterii z rodzaju *Bacillus* w rolnictwie

Na liście „*Nawozowych produktów mikrobiologicznych*” prowadzonej przez IUNG-PIB 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, insektycydy.

Zaletą bakterii z rodzaju *Bacillus* w kontekście tworzenia i stosowania preparatów jest niewątpliwie ich niewielki wpływ na rdzenny mikrobiom glebowy, tworzenie endospor (ułatwia formułację 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 (Poveda i González-Andrés 2021, Skubis 2017) (tab. 3). Wśród związków produkowanych przez *Bacillus* sp. należy wymienić peptydy przeciwdrobnoustrojowe (np. surfaktyna, fengycyna, bacylizyna i bacylibaktyna), poliketydy (np. makrolaktyna), czy cyjanowodór (Fazle Rabbee i Baek 2020, Ngalimat i in. 2021).



Pandey i Palni w 1997 zaobserwowali, że *B. subtilis* i *B. mycooides* dominują w ryzosferze krzewów herbacianych, a szczepy *B. mycooides* wykazują aktywność przeciwgrzybiczą (Pandey i Palni 1997). Wykazano więc, że epifityczne szczepy *Bacillus* mogą pełnić funkcje ochronne w filosferze (Collins i Jacobsen 2003). Wykazano skuteczność bakterii *Bacillus* spp. w zwalczaniu szarej pleśni, czyli zakażenia *Botrytic 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, wywoływanej przez *Cercospora beticola* (Collins i Jacobsen 2003). W trakcie swoich badań Castaldi i in. (2021) wykazali, że *B. vallismortis* wyizolowany z ryzosfery jałowca (*Juniperus sabina*) wykazuje potencjał antagoniczny 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 bacylilabaktyny syderoforowej. Badania potwierdzają, że wydzielane związki działają antagonistycznie wobec grzybów najczęściej odpowiedzialnych za choroby w uprawach: *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 nicenio- i owadobójcze (Logan i Vos 2015, Ngalimat i in. 2021).

Preparaty zawierające *B. thuringiensis* były pierwszymi insektycydami biologicznymi stosowanymi już od początku lat 60 XX wieku na szeroką skalę w celu ochrony upraw (Malinowski 2000). Bakteria ta produkuje toksynę –  $\delta$ -endotoksynę, która działa 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 IOR wykazały, że zastosowanie preparatu z *B. thuringiensis* o 78% zmniejsza uszkodzenia liści spowodowanych przez stonkę ziemniaczaną.

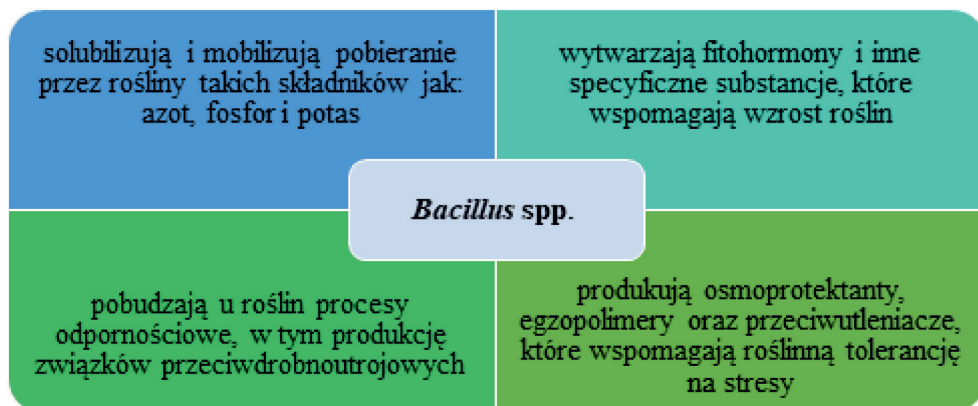
Tabela 3

Przykłady preparatów stosowanych w ochronie roślin zawierających bakterie z rodzaju *Bacillus* zarejestrowanych w Polsce

Preparat	Składnik	Działanie	Zastosowanie
<i>Integral Pro</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	fungicyd; przeciwko suchej zgniliznie kapusty	rzepak ozimy i jary
<i>OstriniaSTOP</i>	<i>Bacillus</i> spp.	insektycyd; przeciwko larwom omacnicy prosowianki	kukurydza
<i>DeliaSTOP</i>	<i>Bacillus</i> spp.	insektycyd; do zwalczania larw śmietki kapuścianej i innych gatunków z rodzaju <i>Deli</i>	uprawy warzywnicze
<i>Novodor SC</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	insektycyd; do zwalczania larw stonki ziemniaczanej	ziemniak
<i>Amylo-X WG</i>	<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)
<i>Serenade ASO</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	fungicyd; przeciwko chorobom grzybowym: szara pleśń, mączniak prawdziwy, rak bakteryjny, zaraza ogniowa, brunatna zgnilizna, plamistość zgodzelowa, fuzarioza zgorzelowa, zgnilizna twardzikowa	uprawy sadownicze, warzywne i ogrodnicze
<i>Serifel</i>	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	fungicyd; chroni przed szarą oraz zieloną pleśnią, a także przed zgnilizną twardzikową	uprawy warzywnicze i sadownicze
<i>Zumba Plant</i>	<i>Bacillus</i> spp.	zwiększa odporność roślin na wiele chorobotwórczych drobnoustrojów, w tym rasy odporne grzybów patogennych	uprawy warzywnicze i sadownicze
<i>Lepinox Plus</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	insektycyd; zwalcza ćmę bukszpanową oraz gąsienice motyli: zwójka krzyżoweczka, piętnówka kapustnica, tantniś krzyżowiaczek, bielinek kapustnik i inne	uprawy bardzo wielu roślin, ozdobnych, warzywnych oraz owocowych
<i>Dipel DF</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	insektycyd; selektywne zwalczanie gąsienic motyli	uprawy warzywnicze i sadownicze
<i>BacterPlant</i>	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	ogranicza występowanie chorób	uprawy warzywnicze i sadownicze

### 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, czyli ryzobakterii sprzyjających wzrostowi roślin (ang. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Bakterie z rodzaju *Bacillus* mogą poprawiać stan fizjologiczny roślin w oparciu o różne mechanizmy (rys. 3).



Rys. 3. Właściwości bakterii z rodzaju *Bacillus* mające wpływ na rozwój roślin

Wykazano 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. M.in. *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 poźniowych.

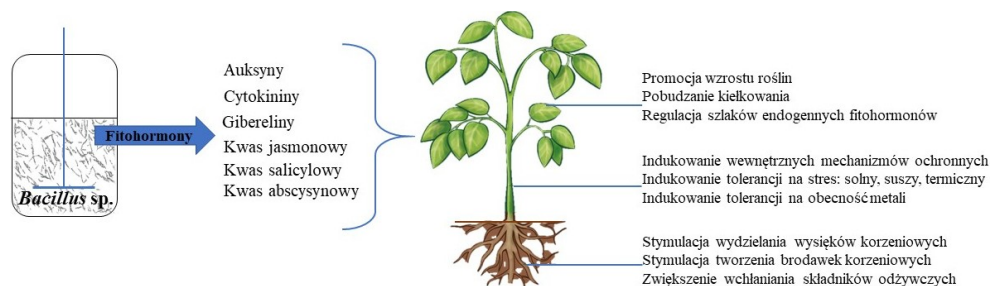
Badania wykazały również zdolność do wiązania azotu przez niektóre gatunki z rodzaju *Bacillus* (m.in. *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. sphaericus* i *B. azotofixans*) wyizolowane z ryzosfery oraz z miejsc endofitycznych i mikoryz (Różycki i in. 1999). Zdolność ta sprawia, że bakterie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

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

- a) produkcję fitohormonów;
- b) zwiększanie dostępności składników odżywczych dla rośliny lub innych bakterii;
- c) tłumienie produkcji etylenu przez roślinę w jej ryzosferze;

- d) interakcje z symbiotycznymi bakteriami i grzybami;  
e) 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 (Ayaz i in. 2022, Sorokan i in. 2021).



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

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

Tabela 4

Przykłady mikrobiologicznych preparatów nawozowych zarejestrowanych w Polsce zawierających bakterie z rodzaju *Bacillus*

Preparat	Składniki mikrobiologiczne	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

cd. tab. 4

Preparat	Składniki mikrobiologiczne	Działanie
<i>Glebostan</i>	<i>Bacillus</i> sp.	odbudowuje warstwę próchniczą gleby, zwiększa jej właściwości sorpcyjne
<i>bi azot</i>	<i>Bacillus azotofixans</i>	przyspieszający rozkład materii organicznej oraz wzbogacający glebę w łatwo przyswajalny dla roślin azot pochodzący z atmosfery
<i>bi fosfor</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	pomaga wzbogacać glebę w łatwo przyswajalny dla roślin fosfor
<i>bi protect</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	przyspiesza rozkład materii organicznej, bierze udział w tworzeniu struktury gleby, poprawia stan fitosanitarny i udostępniania składniki odżywcze roślinom
<i>bi complex</i>	<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
<i>bi safe</i>	<i>Bacillus</i> sp. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp.	poprawiający stan biologiczny gleby, zwiększający liczbę dostępnych form makro i mikroelementów, przyczyniający się do rozwoju pożytecznej mikroflory i poprawy struktury gleby oraz wspierający wzrost i plonowanie roślin
<i>bi słoma</i>	<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%, a długości pędu o 100% (Ghosh i in. 2003). Również badania dotyczące wpływu *Bacillus* spp. na wzrost kukurydzy i soi wykazały zwiększoną masą 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 i 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 (Hlodzi 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 i ryb (Pereira i in. 2019). Przykładem takiego zastosowania jest szczep *B. velezensis*, który wpływa na poprawę strawności i zatrzymywania azotu, co prowadziło 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).

*B. amyloliquefaciens* został również określony jako probiotyk wspomagający hodowle 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 chemicznych i pestycydów oraz ograniczanie emisji szkodliwych związków. Efektem stosowania preparatów z bakteriami *Bacillus* spp. jest m.in. przyspieszony wzrost 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  $\alpha$ -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. Castaldi S., Petrillo C., Donadio G., Piaz F.D., Cimmino A., Masi M., Evidente A., Istatico 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). <https://doi.org/10.3390/IJMS22073324>
7. Chowdhury S.P., Uhl J., Grosch R., Alquéres S., Pittroff S., Dietel K., Schmitt-Koppin 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>
8. 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)
9. David S., Femi B., Gbenga A., Saanu A.B.: Purification and Characterization of  $\alpha$ -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>
10. Demirkan 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>
11. 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>
12. 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>
13. Ghosh 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)
14. Hafez 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>
15. Hernández-Heredia S., del Moral S.: Biochemical and Kinetic Characterization of the  $\alpha$ -Amylase from *Bacillus amyloliquefaciens* JJC33M, Amyj33, On Raw Starch. *JSM Biotechnol Bioeng*, 2016, **3**(5): 1067.
16. 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>
17. 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>
18. 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>

19. 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>
20. 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>
21. Llarío F., Romano L.A., Rodilla M., Sebastián-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.
22. Logan N.A., Vos P.De.: *Bacillus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 2015, 1-163. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.GBM00530>
23. Lopes 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**, 7, 94. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2479-7>
24. Mahajan 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>
25. Malinowski H.: Wykorzystanie *Bacillus thuringiensis* w ochronie roślin: perspektywy i ograniczenia. *Biotechnologia*, 2000, **3(50)**: 81-92.
26. Medina 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)
27. Meng 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)
28. Minnardi J., Rolny I.S., Pérez P.F.: *Bacillus*. *Laboratory Models for Foodborne Infections*, 1996, 131-154. <https://doi.org/10.1201/9781315120089-8>
29. Ngali 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>
30. Pandey 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)
31. Pereira 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>
32. Pham V.H.T., Kim J., Shim J., Chang S., Chung W.: Purification and Characterization of Strong Simultaneous Enzyme Production of Protease and  $\alpha$ -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>

33. Pietraszek P., Walczak P.: Charakterystyka i możliwości zastosowania bakterii z rodzaju *Bacillus* wyizolowanych z gleby. *Polish Journal of Agronomy*, 2014, **16**: 37-44.
34. Poveda 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>
35. Ren 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>
36. Rózycki 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)
37. Satyanti 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>
38. Skubis M.: *Naturalne środki Ochrony Roślin*. Małopolski Ośrodek Doradztwa Rolniczego, 2017.
39. Sorokan 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>
40. Talpur 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>
41. Tran 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>
42. Urruti 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)
43. Wang 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**. <https://doi.org/10.4014/jmb.0901.0008>
44. Zlotnikov 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)



**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

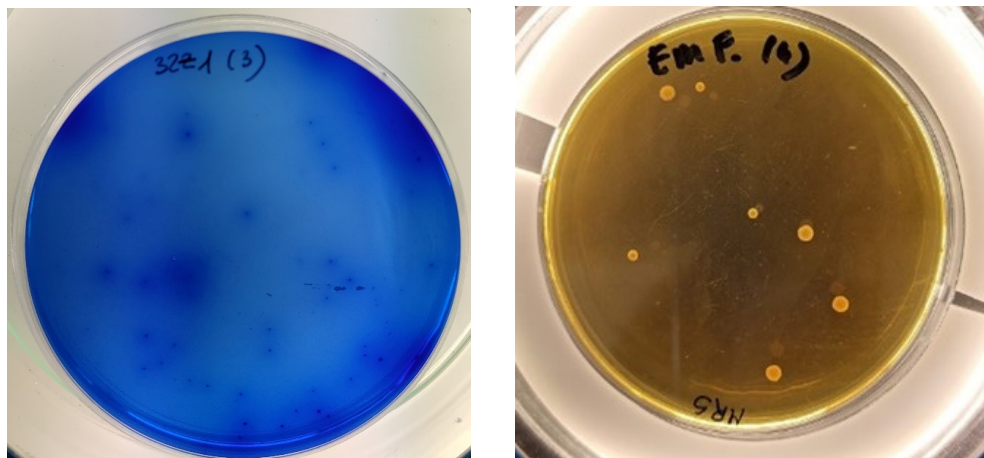
## 1. WSTĘP

Bakterie kwasu mlekowego stanowią przedmiot badań naukowców ze względu na ich powszechność występowania w przyrodzie oraz charakteryzujące je specyficzne właściwości. Od zaranie 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 (Ramann 2022).

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

## 2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII KWASU MLEKOWEGO

Bakterie kwasu mlekowego (z ang. *Lactic Acid Bacteria* – LAB) to grupa bakterii zdolnych do beztlenowej fermentacji mlekowej (Sadowska i Grajek 2009). Bakterie o tej zdolności należą do rodziny *Lactobacteriaceae*: do ziarniaków z rodzaju *Enterococcus*, *Lactococcus Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Weissella*, *Vagococcus* oraz do pałeczek z rodzaju *Lactobacillus*, *Carnobacterium* i *Bifidobacterium* (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 (Bintsis 2018b; Gajewska i Błaszczuk 2012, 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 (z ang. *Generally Recognised As Safe*), czyli powszechnie uznawane są za bezpieczne do stosowania przez ludzi (Sadiq i in. 2019, Kluczyńska 2013, Bintsis 2018a).



Rys. 1. Bakterie kwasu mlekowego na podłożu z błękitem chińskim i na podłożu MRS (zdjęcie własne 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 Błaszczyk 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 Błaszczyk 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 2022), surowym mięsie oraz 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 Błaszczyk 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 filofosferze, endosferze oraz ryzosferze wielu gatunków roślin (Lamont i in. 2017). Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* występują jako endofity roślin uprawnych. Badacze stwierdzili

obecność tych bakterii między innymi w burakach cukrowych (Jacobs i in., 1985), owocach truskawek (de Melo Pereira i in. 2012), pomidorów (Shrestha i in. 2009) czy nasionach 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 w 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 **kwas organiczne**. **Kwas mlekowy** jest głównym produktem fermentacji mlekowej. Powoduje obniżenie pH podłoża, co stwarza warunki niekorzystne dla rozwoju drobnoustrojów. Jego niezdysoncjowana, hydrofobowa postać dyfunduje przez błonę komórkową. Wewnątrz komórki ulega dysoncji i uwalnia jony wodorowe powodując zakwaszenie cytoplazmy. Niezdysoncjowany 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 szczepy bakterii z rodzaju *Lactobacillus* między innymi *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 *Candida* (Souza i in. 2014). **Nadtlenek wodoru** produkowany jest przez bakterie kwasu mlekowego w środowisku tlenowym. Jego przeciwdrobnoustrojowa aktywność polega na silnym działaniu utlenia-



jącym 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 między innymi *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* czy *Salmonella typhimurium* (Ratajczak i Piotrowska-Cyplik 2017). **Diacetyl** produkowany jest przez część szczepów bakterii z rodzaju *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), przed 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 bliskospokrewnionych 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 mlekowe to między innymi acidolina, reuteryna, laktolina czy enterocyna. Związki te wykazują działanie antybakteryjne przeciwko *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* oraz bakterii z rodzaju *Listeria* i *Klebsiella* (Trzeciak i in. 2016). Plantarycyny produkowane przez szczepy bakterii *Lactobacillus plantarum* cechuje działanie przeciwdrobnoustrojowym, 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 rodzaju *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-Fiertek i in. 2016). Bakterie fermentacji mlekowej są także powszechnie stosowane do produkcji wędlin surowych dojrzewających (Łaszkiwicz 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 zasiedlania tych obszarów przez bakterie o działaniu probiotycznym (Samaszko-Fiertek 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 zahamowaniu 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. MEDYCINA

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 stosowana 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* – między innymi *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. bulgaricus*, *L. delbrueckii*, *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 współaut. 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 (Paradhipta i in. 2021). Badania z zastosowaniem tych dwóch gatunków bakterii przeprowadziła Suterska wraz z zespołem. Stwierdzono 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 (Suterska i in. 2009). Zhang i współaut. 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 (Zhang i in. 2023).

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

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 motylkowymi 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 spp.</i> <i>Lactobacillus buchneri</i>	kukurydza

Coraz bardziej powszechne 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. faecium*, *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 antybakteryjne 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 rodzaju *Fusarium*, *Penicillium* czy *Aspergillus*. Zagrożenie stanowią nie tylko same drobnoustroje patogenne, które mogą 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 współaut. 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 (Quattrini i in. 2018). W swoich badaniach Guimarães i współaut. stwierdzili, że gatunek ten może skutecznie hamować wzrost *Aspergillus flavus* oraz produkcję alfatoksyn (Guimarães i in. 2018), natomiast Lappa wraz zespołem wykazali skuteczność *L. plantarum* wobec szczepów *Aspergillus carbonarius*, wyizolowanych z owoców winogron. Stwierdzili również ograniczenie wytwarzania toksyn przez te grzyby (Lappa i in. 2018). 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 deoksyniwalenolu (Cao i in. 2021). W doświadczeniach Wei oraz zespołu wykazano skuteczność *L. plantarum* w degradacji patuliny – mykotoksyny wytwarzanej przez grzyby z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*, występującej głównie na jabłkach (Wei i in. 2020), natomiast De Simone i współaut. odnotowali skuteczność części badanych szczepów *L. plantarum* przeciwko *Botrytis cinerea*, grzybowi wywołującemu szarą pleśń na owocach (De Simone i in. 2021). Baffoni i współaut. 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 (Baffoni i in. 2015). Również Gwiazdowski i współaut. wykazali fungicystyczne działanie bakterii kwasu mlekowego na grzyby z rodzaju *Fusarium* (Gwiazdowski i in. 2013) oraz na patogeny rzepaku – *Alternaria alternaria*, *A. brassicae*, *Leptosphaeria maculans*, *Pythium spp.* oraz *Thanatephorus cucumeris* (Gwiazdowski i in. 2015). Laury-Shaw oraz współaut. zaobserwowali wyraźne zmniejszenie się liczebności *Escherichia coli* na liściach szpinaku po zastosowaniu na ich powierzchni inokulum bakterii kwasu mlekowego (Laury-Shaw i in. 2019). Shrestha wraz z zespołem 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 (Shrestha i in. 2009). Blainski i współaut. zastosowali egzopolisacharydy (EPS) wytwarzane przez *Lactobacillus plantarum* w celu zwalczania 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 (Blainski i in. 2018).

W literaturze możemy również znaleźć doniesienia na temat wykorzystywania bakterii kwasu mlekowego jako stymulatorów wzrostu. Limańska wraz zespołem wykazała przyspieszenie kiełkowania nasion pomidora po zastosowaniu moczenia ich w zawieszynie *Lactobacillus plantarum*. Po inokulacji bakteriami zwiększyła się długość pędów korzeni głównych, pobocznych oraz włośników (Limańska i in. 2013). Podobne badania przeprowadzili Konappa i współaut., 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 antibakteryjnym. (Konappa i in., 2016). W badaniach Kang i zespołu zastosowano zaszczerpienie ogórka mikroorganizmami *Rhodobacter sphaeroides*, *Lactobacillus plantarum* i *Sacharomyces cerevisiae*. Stwierdzono znaczący wpływ szczepienia na wzrost oraz zawartość chlorofilu w roślinie (Kang i in. 2015).

Na liście nawozowych produktów mikrobiologicznych IUNG-PIB znajduje się 16 preparatów zawierających bakterie kwasu mlekowego (tab. 2). Zaledwie 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)

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 patogenicznego grzyba; redukcja „stresu sadzeniowego”; szybszy rozkład resztek poźniwnych



cd. tab. 2

Preparat	Skład	Zastosowanie	Działanie (wg producenta)
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
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 trudnodostępne 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	poprawa żyzności i struktury gleby, neutralizacja bakterii odglebowych i grzybów chorobotwórczych, zwiększenie dostępności 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 rodzaju *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 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 do sprzedaży 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. doi: 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. DOI 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. DOI: 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. DOI: 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. doi: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. DOI: 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. 589-614. Red. Kongo M. *Lactic Acid Bacteria – R&D for Food, Health and Livestock Purposes*, InTech, Rijeka 2013,
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. doi: 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. Gwiązdowska K., Kluczyńska K., Gwiązdowska D.: Fungistatyczna aktywność bakterii fermentacji mlekowej wyizolowanych z kiszzonek. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin*, 2013, **53(3)**: 505-509.
23. Gwiązdowska K., Kluczyńska K., Gwiązdowska D.: Wpływ wybranych bakterii fermentacji mlekowej na wzrost patogenów występujących w uprawie rzepaku. *Progress in Plant Protection*, 2015, **55(4)**: 446-451. DOI: 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. Jurkowski M., Błaszczyk M.: Charakterystyka fizjologiczno-biochemiczna bakterii fermentacji mlekowej. *Kosmos*, 2012, **61(3)**: 493-504.

27. Kang 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, DOI: 10.1080/09064710.2014.960889
28. Klewicka E., Lipińska L.: Aktywność przeciwgrzybowa bakterii fermentacji mlekowej z rodzaju *Lactobacillus*. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2016, **23(1)**: 17-31. DOI: 10.15193/zntj/2016/104/098
29. Kluczńska 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. Konappa 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. Kukier E., Goldsztejn M., Kozieł N., Kwiatek K.: Drobnoustroje probiotyczne w żywieniu zwierząt. *Pasze przemysłowe*, 2018, **4**: 74-80.
32. Kumariya 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. Lamont 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. Lanciotti 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. Lappa 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. Laranjo 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. Lury-Shaw 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. Li 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. DOI 10.1007/s11738-012-1200-y
40. Liu W., Pang H., Zhang H., Cai Y.: Biodiversity of lactic acid bacteria, 103-203. Red. Zhang H., Cai Y. *Lactic Acid Bacteria. Fundamentals and Practice*. Springer Science & Business Media: Dordrecht, The Netherlands 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8841-0>
41. Łaskiewicz 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., Arrijoja-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. doi: 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. doi: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. doi: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. *Microorganisms*, 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. doi: 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. Roman J., Lipińska E.: Właściwości przeciwplesniowe supernatantów z hodowli bakterii fermentacji mlekowej. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 2012, **45(3)**: 739-742.
58. Sadiq 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. Sadowski J., Grajek W.: Odpowiedź komórkowa bakterii kwasu mlekowego na stresy środowiskowe. *Biotechnologia*, 2009, **4(87)**: 115-132.
60. Samaszko-Fiertel J., Kuźma M., Dmochowska B., Ślusarz R., Madej J.: Egzopolisacharydy bakteryjne- budowa i funkcje. *Wiadomości chemiczne*, 2016, **70**: 473- 496.
61. Sator P., Celej D., Skotniczny M., Trojan N.: Żywność. Nauka. Technologia. Jakość., 2017, **24(4)**: 27-36.
62. Schürer J., Magnusson J.: Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food & Technology*, 2005, **16**: 70-78. doi:10.1016/j.tifs.2004.02.014
63. Seddik 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. Shin 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. doi:10.1111/jam.13033
65. Shrestha 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. Sjögren 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. Soltani 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. doi: 10.1093/femsre/fuua039
68. Sosnowska D.: Grzyby pasożytnicze i antagonistyczne w biologicznej ochronie roślin w Polsce. *Progress in Plant Protection*, 2019, **59(4)**: 223- 231. DOI: 10.14199/ppp-2019-029
69. Souza 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. Suterska 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. Szafrańska J.O.: Bacteriocyny – naturalne konserwanty żywności. *Nauki Przyrodnicze*, 2018, **4(22)**: 89-97.
72. Szafrańska J.O., Polak-Berecka M.: Plantarycyny – biosynteza, mechanizm działania i potencjał w zapewnianiu bezpieczeństwa żywności. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość.*, 2020, **27(2)**: 38-49. DOI: 10.15193/zntj/2020/123/333
73. Todorov S.D., Franco B.D.G.d.M.: *Lactobacillus plantarum*: characterization of the species and application in food production. *Food Reviews International*, 2012, **26(3)**: 205-229
74. Trzeciak M., Wolna-Maruwka A., Kosicka D.: Wpływ preparatów probiotycznych na stan zdrowia i cechy hodowlane zwierząt. *Kosmos*, 2016, **65(1)**: 57-67.



75. Urbńska 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. DOI 10.1007/s00431-014-2328-0
76. Vollenweider S., Lacroix C.: 3-Hydroxypropionaldehyde: applications and perspectives of biotechnological production. *Applied microbiology and biotechnology*, 2004, **64**: 16-27. DOI 10.1007/s00253-003-1497-y
77. Wagner N., Tran Q.H., Richter H., Selzer P.M., Uden 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. Wei 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. Wróbel 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. Yanagida F., Chen Y.S., Yasaki M.: Isolation and characterization of lactic acid bacteria from lakes. *Journal of Basic Microbiology*, 2007, **47(2)**: 184-190. DOI 10.1002/jobm.200610237
81. Zannini 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. DOI 10.1007/s00253-015-7172-2
82. Zhang 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. Zielińska 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.



**Małgorzata Woźniak**

**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: [m.wozniak@iung.pulawy.pl](mailto:m.wozniak@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 wykorzystywanie grzybów jako potencjalnych czynników biokontroli. Przeprowadzane dotychczas eksperymenty dotyczą grzybów mykoryzowych, grzybów endofitycznych oraz grzybów entomopatogenicznych głównie ze względu na możliwość skutecznego zwalczania patogenów i szkodników roślinnych oraz pozytywanego działania na samą roślinę.

## 2. GRZYBY MYKORYZOWE

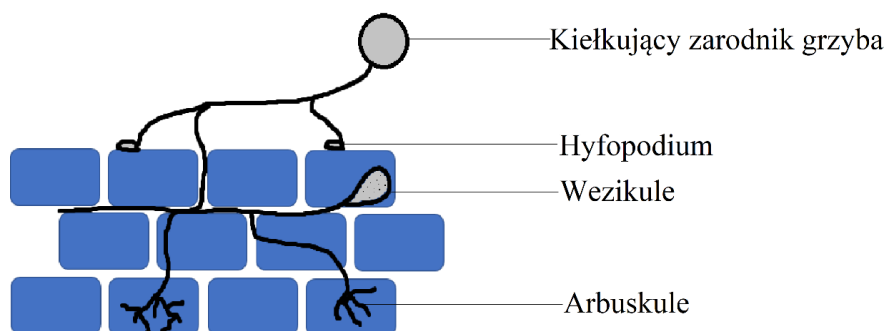
Słowo mykoryza zostało poraz pierwszy użyte w 1885 roku przez niemieckiego badacza A.B. Franka (Zydlík 2013, Nath i Meena 2018). Pochodzi od greckich słów „mycos” czyli grzyb i „rhiza” czyli korzenie (Krupa 2010, Nath i Meena 2018, Santoyo i in. 2021). Mykoryza jest zatem silnym związkiem symbiotycznym 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: mykoryzę zewnętrzną (ektomykoryzę), mykoryzę wewnętrzną (endomikoryzę), ektendomikoryzę oraz mykoryzę perytroficzną (Krupa 2010, Poonam i in. 2014).

Ektomykoryza tworzona jest przez grzyby należące do *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 nagozalążkowych (Krupa 2010), głównie wśród drzew takich jak sosna, dąb i buk (Kuyper i in. 2023). Strzępki grzybów ektomykoryzowych tworzą płaszcz osłonkowy (mufkę) w postaci luźnego splotu lub ustrukturyzowanej wielowarstwowej 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 rozwija się wokół komórek naskórka i kory. War-

stwa ta przenika w kierunku endodermy 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 arbuskularną, 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 różnegatunki roślin, takich jak lasy tropikalne (Figueiredo i in. 2021). Mykoryza arbuskularna 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 mykoryzuarbuskularnej stanowią ponad 70% roślin lądowych (Akhtar i Abdullah 2014, Emmanuel i Babalola 2020). Powszechnymi rodzajami grzybów tworzącymi mykoryzę arbuskularną 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 arbuskule 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 i in. 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

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

Grzyby mykoryzowe rzadko są specyficzne wyłącznie dla jednego gospodarza, oznacza to, 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 mikoryzową (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. Tworzą ją rośliny autotroficzne, myko-heterotrofy oraz częściowe myko-heterotrofy. Te połączenia zapewniają większą 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

	<b>Ektomykoryza</b>	<b>Endomykoryza (Mykoryza arbuskularna)</b>	<b>Ektendomykoryza (Mykoryza erikoidalna)</b>	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	-Płaszcz osłonkowy - Sieć Hartiga	- Arbuskuły - Wesikuły	- Płaszcz 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 w postaci płynnej przy czym dominującą formą jest proszek. Inokulanty można stosować doglebowo, z zaprawionymi nasionami, jednocześnie z nawozami chemicznymi lub zastosować dowolny spośród wymienionych sposobów aplikacji. Skuteczność komercyjnych inokulantów grzybów mykoryzowych uzależniona jest od

jakości i ilości inokulantów, zgodności z właściwościami gleby, gatunków uprawianych roślin, rodzimych społeczności dorobnoustrojów, czynników środowiskowych i praktyk zarządzania żyznością gleby rodzimej (Basiru i in. 2021).

Stosuje się dwie techniczne metody wykorzystania grzybów mykoryzuarbuskularnej w praktykach rolniczych. Podejście redukcjonistyczne zwane kontrolowaną mykoryzacją rozpoczyna się od selekcji potencjalnych symbiontów grzybowych, którą 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 roślin strączkowej i zbóż. Przeprowadza się zwiększenie infekcyjności mykoryzowej gleby co daje zachowanie lub przywrócenie usług ekosystemowych zależnych od grzybów mykoryzuarbuskularnej (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* (Tabela 2). Podstawą do rozróżniania tych bakterii jest różna lokalizacja wokół systemów korzeniowych. MHB promujące mykoryzuarbuskularną znajdziemy w ścianach i cytoplazmie zarodników. Czynnikiem wpływającymi na kolonizację grzybów przez MHB są: skład mikrobiomu glebowego, struktura gleby, konkurencja o składniki odżywcze, stesy 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 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 *Medicago sativa*, *Sorghum bicolor*, *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

Plantacje rolne rosnące w niesprzyjających warunkach wykazują ograniczony wzrost oraz zaburzony metabolizm wynikające z ograniczenia pobierania makroelementów i mikroelementów co przekłada się na spadek prawdopodobieństwa przetrwania populacji (Riaz i in. 2021). Wśród roślin wchodzących w relacjez 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 odporności roślin, 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 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 mykoryzuarbuskularnej. 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-Karaki i in. 2004, Gholamhoseini i in. 2013). Li i in. (2019) ocenili wpływ grzybów mykoryzuarbuskularnej 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 mykoryzuarbuskularnej 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 do roślin 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, pogroszenia 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 mykoryzuarbuskularnej (Santander i in. 2019). Badania przeprowadzone przez Ait-El-Mokhtar i in. (2019) oceniały wpływ zasolenia środowiska na *Phoenix dactylifera* L. inokulowa-

nego grzybami mykoryzuarbuskularnej. 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. Wahania temperatury wpływają 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 porówniu 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, Felfoldi i in. 2022). Konkuruje z mikroorganizmami chorobotwórczymi o składniki odżywcze produkowane przez rośliny i miejsca kolonizacji w korzeniach. Stymulują roślinę do produkcji i wydzielania związkowo charakterze obronnym takich jak fitooleksyny, fenole, kwas szczawiooctowy i inne. Produkują biobójcze dla patogenów antybiotyki (Krupa 2010, Sikes 2010, Dey i Ghosh 2022, Goiceoechea 2020). Grzyby ektomykoryzowe tworzą z roślinami mufkę, która zabezpiecza korzeń przed infekcją powodowaną przez patogeny np. *Phytophthora Guercina* atakująca korzenie dębu (a 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* w winorośli, *Phytophthora parasitica* w pomidorach, *Aphanomyces euteiches* w grochu lub *Rhizoctonia solani* w fasoli (Goiceoechea 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 Tokarczuk 1993, Aly i in. 2013, Mikołajczak i in. 2021). „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 (Koczwarą i in. 2015).

Do cech charakterystycznych endofitów grzybowych należy wysoka bioróżnorodność. Ten sam gatunek rośliny może być zasiedlany przez różne grzyby co zależy od czynników tj. warunki środowiskowe oraz wiek gospodarza. 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 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 do wyższych szerokości geograficznych. 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 i zdrowiu roślin (Hartley i Gange 2009, Hodgson i in. 2014, Koczwarą 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 *Balansia* spp., *Acremonium coenophialum*, *Epichloe* spp., *Neotyphodium coenophialum* i *Epichloe festucae*. Rośliny żywicielskie zalicza się do rodziny *Hypocreales* (trawy i turzyce). 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 protuberante*, *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 in. 2022). 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 związana jest 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. W skutek 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  $\beta$ -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 patogena (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 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. IR jest stymulowana przez kwas  $\beta$ -aminomasłowy (BABA) a rolę cząsteczki sygnalizacyjnej pełni kwas abscysynowy (ABA) (Choudhary i in. 2007, Jaroszuk-Ściśeł i Kurek 2012, Hartman i in. 2016, Nowaki in. 2022, Tyśkiewicz i in. 2022, Regliński i in. 2023).

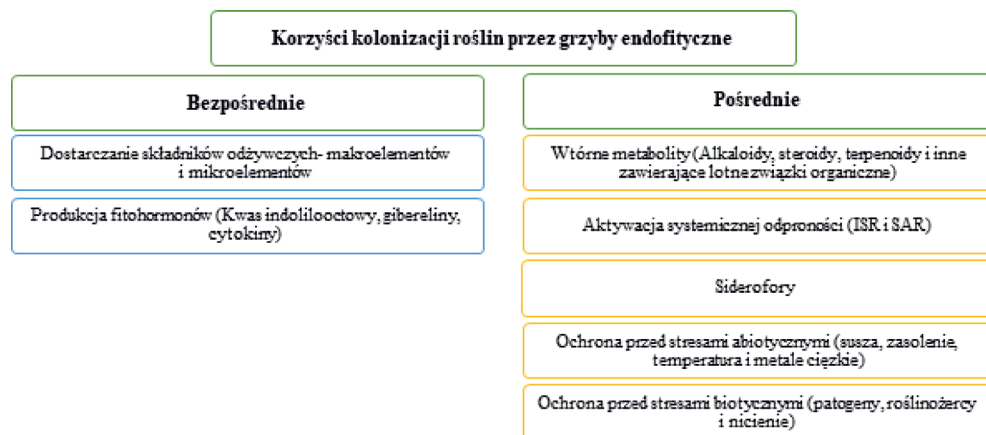
### 3.2. INTERAKCJA ENDOFIT–ROŚLINA

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 ilości przypadków grzyby zasiedlają roślinę jako endofity. Kolonizacja tkanek żywiciela przez endofity rozpoczyna

się wydzielaniem cząsteczek sygnałowych przez roślinę żywicielską w skutek 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 wnikanie korzystnych mikroorganizmów 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 indooctowego, cytokininy oraz solubilizację fosforanów. Jednocześnie poprawiają odżywianie przez dwukierunkowy transfer składników pokarmowych. Grzyby endofityczne regulują wpływ stresów abiotycznych negatywnie oddziałujących na roślinę. Zwiększą 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*, *Phaeoemoniellaceae*, *Togniniaceae*, *Helotiales*, *Hymenochaetaceae*, *Stereaceae*, *Diatrypidae*, *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 (Mondello i in. 2018). Większość chorób pnia winorośli (GTD) była kontrolowana przez stosowanie arsenianu sodu. Z względu na negatywny wpływ arsenianu sodu na zdrowie został on zakazany co utrudnia zarządzanie GTD przez brak metod o podobnej skuteczności (Trouvelot i in. 2023). Wykazano, że grzyby endofityczne są skuteczne w zwalczaniu GTD. Poprzez kolonizację zdrowych tkanek i brak wyłowywania 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 nigricum*. Ich działanie polega na rywalizacji o składniki pokarmowe oraz przestrzeń do rozwoju z patogenami, działając jako inhibitory 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 puniti vetris*) 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 skutecznych w zwalczaniu szkodników roślin izolatów grzybowych (Sosonowska 2005).

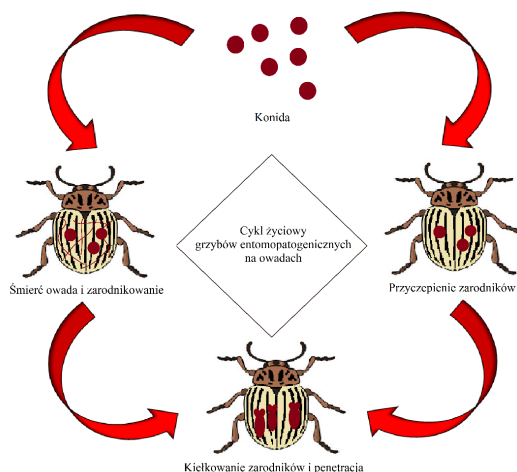
Stosowanie grzybów entomopatogenicznych jako składnik środków owadobójczych stało się powszechne dzięki łatwej dystrybucji, łatwym technikom produkcji oraz dostępności dużej liczby zidentyfikowanych szczepów. W porównaniu z chemicznymi środkami ochrony roślin są precyzyjne, bezpieczne i zrównoważone 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 opracowywaniem preparatów na ich bazie. Istotnym jest znalezienie metabolitów toksycznych dla szkodników owadzych 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* (Litwini in. 2020, Bamislie i in. 2021).

Stawonogi zostają zainfekowane przez grzyby entomopatogeniczne przez kontakt z zarodnikami, które spotkać można na powierzchni roślin, w glebie oraz w powietrzu. Mogą zostać 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 hamując konkurencję 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, Mondali in. 2016, Sinha

i in. 2016, Zimowska i Król 2019, Mantzoukas i Eliopoulos 2020, Sharma i Sharma 2021, Bava i in. 2022).

Ziemniak (*Solanum tuberosum* L.) jest jedną z najczęściej uprawianych roślinnych 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 (Sosonowska 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 stonce ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata*). 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.



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

Oprócz działania owadobójczego grzyby entomopatogeniczne pełnią rolę endofitów, gatunków antagonistycznych oraz wspomagają wzrost roślin i kolonizację ryzosfery.

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 ochronę roślin przez szkodnikami i patogenami (Bruck 2010, Zimowska i Król 2019). Na stopień kolonizacji tkanek i organów oraz trwałość grzyba w czasie wpływają czynniki takie 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, pomidory, winogrona, pszenicę, kukurydzę, fasolę czy ziemniaki. 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 (roślinie) 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 przystosowywaniem 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 (Meylin i Eilrberg 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* może 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 przetestowania interakcji rónych szczepów pod względem działania synergistycznego (Senthilkumar i in. 2014).

## 5. PODUSMOWANIE

W związku z rosnącym zapotrzebowaniem na produkcję żywności oraz negatywnym wpływem na środowisko oraz konsumentów poszukuje się alternatywnych w stosunku do chemicznych metod ochrony upraw rolnych. Środki biologicznej ochrony oprócz bezpieczeństwa 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 najpopularniejszymi są grzyby mykoryzariuszowe. 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 często dodatkowo 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 selekcjonować mikroorganizmy i wybierać te wywołujące najmniejsze reakcje szkodliwe. Ograniczenia ekonomiczne, społeczne oraz polityczne są kolejnymi aspektami wpływającymi na wdrażenie preparatów mikrobiologicznych.

## 6. LITERATURA

1. Abdull-Baki A.A., Teasdale J., Korcak R., Chitwood D., Huettel R.: Fresh-market Tomato Production in a Low-input Alternative System Using Cover-crop Mulch. Hort Science, 1996, **31**: 65-69.
2. Abramczyk B., Gałązka A.: Pozytywny wpływ grzybów endofitycznych na roślinę gospodarza. Studia i Raporty IUNG-PIB, 2016, **49(3)**: 71-82, doi: 10.26114/sir.iung.2016.49.06
3. Adellek B.S., Ayilara M.S., Akinola S.A., Babalola O.O.: Biocontrol mechanisms of endophytic fungi. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2022, **32**: 46, doi: 10.1186/s41938-022-00547-1
4. Adnan 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, doi: 10.1155/2018/7362148
5. Ahmad I., Jiménez-Gasco M.D.M., Luthe D.S., Barbercheck M.E.: Endophytic *Metarhizium robertsii* suppresses the phytopathogen, *Cochliobolus heterostrophus* and modulates maize defenses. PLoS One, 2022, **22**, **17(9)**: e0272944, doi: 10.1371/journal.pone.0272944
6. Ait-El-Mokhtar M., Laouane R.B., Anli M., Boutasknit A., Wahbi S., Meddich A.: Use of mycorrhizal fungi in improving tolerance of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings to salt stress. Scientia Horticulturae, 2019, **253**: 429-438, doi: 10.1016/j.scienta.2019.04.066

7. Akhtar M.S., Abdullah S.N.: Mass production techniques of arbuscular mycorrhizal fungi: Major advantages and disadvantages: A Review. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 2014, **28**, **11(3)**: 1199-204.
8. Akram 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, doi: 10.3390/jof9010072
9. Al-Karaki G., McMichael B., Zak J.: Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza*, 2004, **14**: 263-269, doi: 10.1007/s00572-003-0265-2
10. Aly A.H., Debbab A., Proksch P.: Fungal endophytes – secretproducers of bioactive plant metabolites. *Pharmazie*, 2023, **68(7)**: 499-505
11. Arnold A.E., Mejía L.C., Kyllö D., Rojas E.I., Maynard Z., Robbins N., Here E.A.: Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, **100(26)**: 15649-15654, doi: 10.1073/pnas.2533483100
12. Bak D., Tosun H.S., Erler F.: Efficacy of indigenous isolates 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, doi: 10.1186/s41938-021-00406-5
13. Bamsilie 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**, doi: 10.3389/fpls.2021.741804
14. Baron 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. Barra-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, doi: 10.3390/insects11090591
16. Basiru S., Mwanza H.P., Hijri M.: Analysis of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Inoculant Benchmarks. *Microorganisms*, 2021, **9(1)**: 81, doi: 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, doi: 10.3390/vetsci9020095
18. Begum 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, doi: 10.3389/fpls.2019.01068
19. Bertini S.C.B., Azevedo L.C.B.: Chapter 3 – Soil micro be contributions in the regulation of the global carbon cycle, pp. 69-84. In: *Microbiome Under Changing Climate*, Kumar A., Singh J., Ferreira L.F.R. (eds). Woodhead Publishing, 2022, doi: 10.1016/B978-0-323-90571-8.00003-1
20. Bidondo L.F., Silvani V., Colombo R., Pèrgola 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**:1866-72, doi: 10.1016/j.soilbio.2011.05.004
21. Bing L.A., Lewis L.C.: Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Environmental Entomology*, 1991, **20**: 1207-1211.



22. Boerave 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, doi: 10.1016/j.soilbio.2022.108673
23. Bruck D.J.: Fungal entomopathogens in the rhizosphere. *BioControl*, 2010, **55**: 103-112.
24. Brundrett M.C., Bougher N., Dell B., Grove T.: Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research, 1996, **32**. 374 + x p, doi: 10.13140/2.1.4880.5444
25. Brundrett M.C.: Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil*, 2009, **320**: 37-77, doi: 10.1007/s11104-008-9877-9
26. Bücking 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
27. Burragóni S.G., Jeon J.: Applications of endophytic microbes in agriculture, biotechnology, medicine and beyond. *Microbiological Research*, 2021, **24**: 126691, doi: 10.1016/j.micres.2020.126691
28. Cao 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 cell wall-degrading enzymes in vitro. *Current Microbiology*, 2009, **59**: 584-592, doi: 10.1007/s00284-009-9477-9
29. Chaddha 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, doi: 10.1007/s00203-015-1130-3.
30. Choudhary 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, doi: 10.1007/s12088-007-0054-2
31. Dahalari 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, doi: 10.3390/agronomy10060815
32. De Almeida 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.
33. Deka B., Baruah C., Babu A.: Entomopathogenic microorganisms: their role in insect pest management. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 2021, **31**: 121, doi: 10.1186/s41938-021-00466-7
34. Dey M., Ghosh S.: Arbuscular mycorrhizae in plant immunity and crop pathogen control. *Rhizosphere*, 2022, **22**: 100524, doi: 10.1016/j.rhisph.2022.100524
35. Dighton J.: Mycorrhizae, pp.153-162. In: *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*, Elsevier Inc., United States, 2009, doi:10.1016/B978-012373944-5.00327-8
36. Domínguez-Núñez J.A., Albanesi A.S.: Ectomycorrhizal Fungi as Biofertilizers in Forestry. *Biostimulants in Plant Science*. Intech Open, 2020, doi: 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. *Eur. J. Plant Pathol.*, 2019, **155**: 39-52. doi: 10.1007/s10658-019-01748-5



38. E m m a n u e l O.C., Babalola O.O.: Productivity and quality of horticultural crop sthrough co-inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting bacteria. *Microbiological Research*, 2020, **239**: 126569, doi: 10.1016/j.micres.2020.126569
39. E t e s a m i 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*, Kumar, M., Etesami, H., Kumar, V. (eds). Springer, Singapore 2019, doi: 10.1007/978-981-13-8335-9\_1
40. F a d i j i 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, doi: 10.3389/fbioe.2020.00467
41. F e l f ö l d i 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, doi:10.3390/plants11131743
42. F e r r o l 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, doi:10.1093/jxb/erw403
43. F e s e l P.H., Zuccaro A.: Dissecting endophytic life style along the parasitism/mutualism continuum in Arabidopsis. *Current Opinion in Microbiology*, 2016, **32**: 103-112, doi: 10.1016/j.mib.2016.05.008
44. F i g u e i r e d o A.F., Boy J., Guggenberger G. (2021). Common Mycorrhizae Network: A Review of the Theories and Mechanisms Behind Underground Interactions. *Frontiers in Fungal Biology*, 2021, **2**: 735299, doi:10.3389/ffunb.2021.735299
45. F i s h e r 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, doi: 10.1016/j.jip.2010.11.001
46. F r e y-Klett P., Garbaye J., Tarkka M.: The mycorrhiza helper bacteriare visited. *New Phytology*, 2007, **176**: 22-36.
47. G a b a r d i 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), doi: 10.5281/ZENODO.8025221
48. G a v i t o 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, doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01481.x
49. G e t i n g e r-Panek A., Bednarek I.: Grzyby endofityczne w roli potencjalnych producentów związków przeciwnowotworowych. *Postępy Mikrobiologii*, 2022, **61**(2): 63-72, doi: 10.2478/am-2022-0006
50. G h o l a m h o s e i n i 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 droughtstress. *Agricultural Water Management*, 2013, **117**: 106-114, doi: 10.1016/j.agwat.2012.11.007
51. G h o s h S.K., Panja A.: 13 - Signatures of signaling pathways under lying plant-growth promotion by fungi, pp. 321-346. In: *Biocontrol Agents and Secondary Metabolites*, Jogaiah S. (ed.). Woodhead Publishing, 2021, doi:10.1016/B978-0-12-822919-4.09993-2
52. G o i c e o e c h e a N.: Mycorrhizal Fungi as Bioprotectors of Crops Against Verticillium Wilt-A Hypothetical Scenario Under Changing Environmental Conditions. *Plants*, 2020, **9**: 1468, doi: 10.3390/plants9111468

53. G o r z e l a k M.A., Asay A.K., Pickles B.J., Simard S.W.: Inter-plant Communications through mycorrhizal networks mediates complex adaptive behaviour in plant communities. 2015, *AoBPlants*7: plv050, doi: 10.1093/aobpla/plv050
54. G r z y w a c z A.: Grzyby ektomikoryzowe, str. 11-16. Ektomikoryzy. Nowe biotechnologie w polskim szkolkarstwie leśnym, Kowalski S. (red.). Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Warszawa 2007.
55. G u o 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 roggenskampii* ED5, a NitrogenFixing Plant Growth Promoting Endophytic Bacterium With Biocontrol and Stress Tolerance Properties. Isolated From Sugarcane Root. *Frontiers in Microbiology*, 2020, **11**: 580081.
56. H a r t l e y S.E., Gange A.C.: Impacts of plant symbiotic fungi on insect herbivores: Mutualism in a multitrophic context. *Annual Review of Entomology*, 2019, **54**: 323-342.
57. H a r t m a n 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, pp. 43-66. In: *Emerging Technologies for Promoting Food Security*, Madramootoo C.(ed.). Woodhead Publisher, Oxford, 2016, doi: 10.1016/B978-1-78242-335-5.00003-2
58. H e r z i g V., Bende N.S., Alam M.S., Tedford H.W., Kennedy R.M., King G.F.: Chapter 8 – Methods for Deployment of SpiderVenomPeptides as Bioinsecticides. In: *Advances in Insect Physiology*, Tarlochan S. Dhadialla, Sarjeet S. Gill (eds), Academic Press, 2014, doi: 10.1016/B978-0-12-800197-4.00008-7
59. H o d g s o n S., de Cates C., Hodgson J., Morley N.J., Sutton B.C., Gange A.C.: Vertical transmission of fungal endophytosis wide spread in forbs. *Ecology and Evolution*, 2014, **4(8)**: 1199-208, doi: 10.1002/ece3.953
60. H o ł u b o w i c z-Kliza G., Niedźwiecki J.: Ochrona gleby jako źródła życia. Instytut Uprawy Nawożenia I Gleboznawstwa Państwowy Instytut Badawczy. Wydawnictwo IUNG, Puławy 2021, doi: 10.26114/por.iung.2021.12.06
61. I s l a m 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, doi: 10.1016/j.micpath.2021.105122
62. J a c q u e s 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, <http://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/leaf/potato>. Dostęp 26 listopada 2020 r.
63. J a r o s z u k-Ściseł J., Kurek E.: Hydrolysis of fungal and plant cellwalls 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 Eelemnty 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, pp. 229-240. *Silicon and Nano-silicon in Environmental Stress Management and CropQualityImprovement*, Etesami H., Al Saeedi A.H., Hassan El-Ramady H., Fujita M., Pessaraki M., Hossain A.M. (eds), Academic Press, 2022.
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)**, doi:10.1128/microbiolspec.funk-0016-2016.

67. Kaur H., Garg N.: Chapter 24 – Microbial community in soil-plant systems: Role in heavy metal (loid) detoxification and sustainable agriculture, Rhizosphere Engineering, pp. 471-498. Academic Press, Dubey R. C., Kumar P., 2022, doi: 10.1016/B978-0-323-89973-4.00015-6
68. Kempen E., Jones J.D.: Obligate biotroph parasitism: can we link genomes to lifestyles?. Trends Plant Science, 2012, **17(8)**: 448-457, doi: 10.1016/j.tplants.2012.04.005.
69. Khare E., Mishra J., Arora N.K.: Multifaceted Interactions Between Endophytes and Plant: Developments and Prospects. Frontiers in Microbiology, 2018, **9**: 2732, doi: 10.3389/fmicb.2018.02732
70. Kim S.H., Vujanovic V.: Relationship between mycoparasites life styles and biocontrol behaviors against *Fusarium* spp. and mycotoxins production. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, **100**: 5257-5272, doi: 10.1007/s00253-016-7539-z
71. Koczara K., Pańka D., Lisiecki K., Juda M.: Możliwość wykorzystania endofitów w biologicznej ochronie roślin = The possibility of use of endophytes in biological plant protection. Journal of Education, Health and Sport, 2015, **5(6)**: 333-340, doi: 10.5281/zenodo.18696
72. Kordoska-Wiater M.: Drożdże jako czynniki ochrony biologicznej roślin. Postępy Mikrobiologii, 2011, **50(2)**: 107-119.
73. Kowalski T., Sadłowski W.: Grzyby endofityczne I. Skład gatunkowy i występowanie. SYLWAN, 1993, **9**: 21-30.
74. Krupa A.: Mikoryzy i ich wielofunkcyjna rola w środowisku. Chemistry, Environment, Biotechnology, 2010, **14**: 175-182.
75. Kumar 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, Giri B., Prasad R., Wu QS., Varma A. (eds). Soil Biology (Volume 55), Springer, Cham, 2019, doi: 10.1007/978-3-030-18933-4\_22
76. Kuyper T.W., Suz L.M.: Do Ectomycorrhizal Trees Select Ectomycorrhizal Fungi That Enhance Phosphorus Uptake under Nitrogen Enrichment? Forests, 2023, **14**: 467, doi:10.3390/f14030467
77. Lacey A.J., Evans D.E.: Biologia roślin. Krótkie wykłady. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003.
78. Lahlioui 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, doi: 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, doi: 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, doi: 10.3389/fpls.2019.00499
81. Liu Y., Yang Y., Wang B.: Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* play roles of maize (*Zea mays*) growth promoter. 2022, **12**: 15706, doi: 10.1038/s41598-022-19899-7
82. 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, doi: 10.1007/s13205-017-0612-1

83. L u g t e n b e r g B.J.J., Caradus J.R., Johnson L.J.: Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, **92(12)**:17, doi: 10.1093/femsec/fiw194.
84. Łaska G., Sienkiewicz A., Łukasiuk M., Hoeksemaj D., Roy M., Horning A., Abbott M., Tran C., Mattox J.: Zmienność morfologiczna grzybów ektomikoryzowych w ryzosferze *Pulsatillapatens* (L.) Mill. i *Pinussylvestris* L. w aspekcie interakcji międzygatunkowych, str.127-147. Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu. Interdyscyplinarne i aplikacyjne znaczenie badań biologicznych, Białystok 2017.
85. M a n t z o u k a s S., Eliopoulos P.A.: Endophytic entomopathogenic fungi: a valuable biological control tool against plant pests. *Applied Science*, 2020, **10**: 360, doi:10.3390/app10010360
86. M a ń k a K.: Fitopatologia Leśna. Wydanie VI zmienione i poprawione. PWRiL, Warszawa 2005.
87. M a r s c h n e r P.: Chapter 15 – Rhizosphere biology, pp. 587-614. In: Marschner's Mineral Nutrition of Plants (Fourth Edition), Rengel Z., Cakmak I., White P.J. (eds). Academic Press, San Diego 2022.
88. M e n a-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 chileancho (*Capsicumannuum* L. cv San Luis) plants exposed to drought. *Mycorrhiza*, 2006, **16**: 261-267, doi: 10.1007/s00572-006-0043-z.
89. M e y l i n g 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, doi: 10.1016/j.biocontrol.2007.07.007
90. M i k o ł a j c z a k K., Salamon S., Basińska-Barczak A., Błaszczuk L.: Grzyby endofityczne zasiedlające pszenicę zwyczajną (*Triticum aestivum* L.). *Biuletyn Instytutu Hodowli Aklimatyzacji Roślin*, 2019, **285**: 93-94.
91. M i s h r a S., Stany B., Ravi L.: Chapter 14 – Bacterial symbiosis in edible mushrooms, pp. 263-276. In: *Microbial Symbionts Functions and Molecular Interactions on Host. Developments in Applied Microbiology and Biotechnology*, Dharumadurai D. (ed.), Elsevier Science, 2023, doi:10.1016/B978-0-323-99334-0.00014-1
92. M o n d a l 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.
93. M o n d e l l 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, doi: 10.1094/PDIS-08-17-1181-FE
94. M o n e y N.P.: Chapter 12 – Fungi and Biotechnology. *The Fungi* (Third Edition), 2016, Pages 401-424. Academic Press, doi: 10.1016/B978-0-12-382034-1.00012-8
95. M o r t e A., Lovisolo C., Schubert A.: Effect of droughtstress on growth and water relations of the mycorrhizal association *Helianthe mumalmeriense* – *Terfeziac Laveryi*. *Mycorrhiza*, 2000, **10**: 115-119, doi: 10.1007/s005720000066
96. N a s s l a h s e n 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, doi: 10.3389/fsoil.2022.979246
97. N a t h D., Meena V.S.: Chapter 10 - Mycorrhizae: A Potential Microorganism and Its Implication in Agriculture, pp.251-276. In book: *Role of Rhizospheric Microbes in Soil*, 2018, doi: 10.1007/978-981-10-8402-7\_10
98. Nowak A., Tyśkiewicz R., Wiater A., Jaroszuk-Ścisiel J.: (1→3)- $\alpha$ -D-glucooligosaccharides as Elicitors Influencing the Activity of Plant Resistance Pathways in Wheat Tissues. *Agronomy*, 2022, **12**: 1170. doi: 10.3390/agronomy12051170

99. Parthasarathi T., Firdous S., Mariya David E., Lesharadevi K., Djanaguiraman M.: Effects of High Temperature on Crops. Intech Open, 2022, doi: 10.5772/intechopen.105945
100. Pirsarandib Y., Hassanpouraghdam M.B., Rasouli F., Aazami M.A., Puglisi I., Baglieri A.: Phytoremediation of Soil Contaminated with Heavy Metals via Arbuscular Mycorrhiza (Funneliformis mosseae) Inoculation Ameliorates the Growth Responses and Essential Oil Content in Lavender (*Lavandula angustifolia* L.). Agronomy, 2022, **12**: 1221. doi: 10.3390/agronomy12051221
101. Ponchon 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, doi: 10.3390/microorganisms10122437
102. 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 pp. 449-470. In: Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance (Volume 2): A Sustainable Approach, Ahmad P., Rasool S. (eds). Elsevier, Academic Press, 2014, doi:10.1016/B978-0-12-800875-1.00019-3
103. Quesada-Moraga E.: Entomopathogenic fungi as endophytes: their broader contribution to IPM and crop production. Biocontrol Science Technology, 2020, **30**: 864-877.
104. Quesada-Moraga E., Garrido-Jurado I., Yousef-Yousef M., González-Mas N.: Multitrophic interactions of entomopathogenic fungi in BioControl. BioControl, 2022, **67**: 457-472.
105. Rajaramohan S.: Redefining Plant-Necrotroph Interactions: The Thin Line Between Hemibiotrophs and Necrotrophs. Frontiers in Microbiology, 2021, **12**: 673518, doi: 10.3389/fmicb.2021.673518
106. 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, Singh B. (eds). Fungal Biology. Springer, Cham, 2019, doi: 10.1007/978-3-030-03589-1\_6
107. 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, doi: 10.9735/0975-2862.10.2.360-364
108. Reglinski T., Havis N., Rees H.J., de Jong H.: The Practical Role of Induced Resistance for Crop Protection. Phytopathology, 2023, **113**: 719-731, doi: 10.1094/PHYTO-10-22-0400-IA
109. 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, doi:10.1016/j.jhazmat.2020.123919
110. 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, doi: 10.1590/S1517-83822010000400002
111. Roy H.E., Cottrell T.E.: Forgotten natural enemies: interactions between coccinellids and insect-parasitic fungi. European Journal of Entomology, 2008, **105**: 391-398.
112. Rudawska M.: Ektomikoryza, jej znaczenie i zastosowanie w leśnictwie. Instytut Dendrologii PAN, Kórnik 2000.
113. 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, doi: 10.1007/s00248-021-01831-7

114. 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.
115. Santoyo G., Gamalero E., Glick B.R.: Mycorrhizal-Bacterial Amelioration of Plant Abiotic and Biotic Stress. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2021, **5**: 672881, doi: 10.3389/fsufs.2021.672881
116. 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, *Tectonagrandis* L. *Journal of Agriculture and Life Sciences*, 2014, **1**: 108-114.
117. 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. doi: 10.3389/fpls.2018.00024
118. Shang Y., Feng P., Wang C.: Fungi That Infect Insects: Altering Host Behavior and Beyond. *PLoS Pathogens*, 2015, **11**(8): e1005037, doi:10.1371/journal.ppat.1005037
119. Sharma R., Sharma P.: Fungal entomopathogens: a systematic review. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 2021, **31**: 57, doi: 10.1186/s41938-021-00404-7
120. 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, doi:10.5772/intechopen.107373.
121. Sikes B.A.: When do arbuscular mycorrhizal fungi protect plant roots from pathogens? *Plant Signaling & Behavior*, 2010, **5**(6): 763-765.
122. Simard 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, doi:10.1016/j.fbr.2012.01.001
123. Sinha K.K., Choudhary A. Kr., Kumari P.: Chapter 15 – Entomopathogenic Fungi, pp. 475-505, In: *Ecofriendly Pest Management for Food Security*, Omkar (ed.), Academic Press, San Diego 2016, doi: 10.1016/B978-0-12-803265-7.00015-4
124. Sosnowska D.: Biopreparaty grzybowe w biologicznym zwalczaniu szkodników upraw szklarniowych i polowych. *Postępy Nauk Rolniczych*, 2005, **5**: 1-27.
125. Sosnowska 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.
126. Sullivan S.B.: Use of Vesicular–Arbuscular Mycorrhiza (VAM) as Biofertilizer for Horticultural Plants in Developing Countries. In: *Horticulture — New Technologies and Applications*, Prakash, J., Pierik, R.L.M. (eds). *Currents Plant Science and Biotechnology in Agriculture*, 12. Springer, Dordrecht, 1991, doi: 10.1007/978-94-011-3176-6\_8
127. Sumorok B., Michalska-Hejduk D., Zdanowicz A., Dobroniewska A., Sas Paszt L.: Występowanie Grzybów Mikoryzowych U Wybranych Roślin Zbiorowisk Doliny Rzeki Kurówka. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*, 2009, **9**(3:27): 195-204.
128. Szabla K., Pabian R.: Szkółkarstwo kontenerowe. Nowe technologie i techniki w szkółkarstwie leśnym, str.193-214. Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Świącicka B., Warszawa 2003.
129. Tang 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, doi: 10.3389/fpls.2022.919166



130. Taylor T.N., Taylor E.L., Krings M.: Fungi, Bacteria, and Lichens, pp. 71-119. In: Paleobotany (Second Edition), Taylor T.N., Taylor E.L., Krings M. (eds). Academic Press, London 2009, doi: 10.1016/B978-0-12-373972-8.00003-6
131. Tiago 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, doi: 10.1590/S0103-84782014000400012
132. Toader 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, pp. 230-237. The Research Institute for Agricultural Economy and Rural Development, Bucharest, 2020.
133. Trouvelot 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, doi: 10.3389/fpls.2023.1141700
134. Tyśkiewicz R., Nowak A., Ozimek E., Jaroszek-Ścisł 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.
135. Velmougan K., Saxena G., Prasanna R.: Plant-Microbe Interactions in the Rhizosphere: Mechanisms and Their Ecological Benefits. In: Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives, Singh, D., Singh, H., Prabha, R. (eds). Springer, Singapore, 2017, doi: 10.1007/978-981-10-6593-4\_7
136. Wasilewska-Nascimento B.: Niedoceniony potencjał grzybów owadobójczych w uprawie ziemniaka. *Ziemniak Polski*, 2021, (4): 40-48.
137. Wojtasik W., Kulma A.: Odporność roślin na biotyczne czynniki stresowe. *Postępy Biologii Komórki*, 2016, **43**(3): 453-476.
138. Wojtkowiak-Gębarowska E.: Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*. *Postępy Mikrobiologii*, 2006, **45**(4): 261-273.
139. Wyrebek M., Huber C., Sasan R.K., Bidochka M.J.: Three sympatrically occurring species of *Metarhizium* show plant rhizosphere specificity. *Microbiology*, 2011, **157**: 2904-2911, doi: 10.1099/mic.0.051102-0
140. Zimowska B., Król E.D.: Entomopatogeniczne Grzyby i Ich Znaczenie Biocenotyczne. *Advancements Of Microbiology – Postępy Mikrobiologii*, 2019, **58**(4): 471-482, doi: 10.21307/PM-2019.58.4.471
141. Zydlik 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.



---

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

**Summary**

**Keywords:** Fungi, mycorrhiza, endophytic, entomopathogenic, 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.

Endophyticfungi 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**

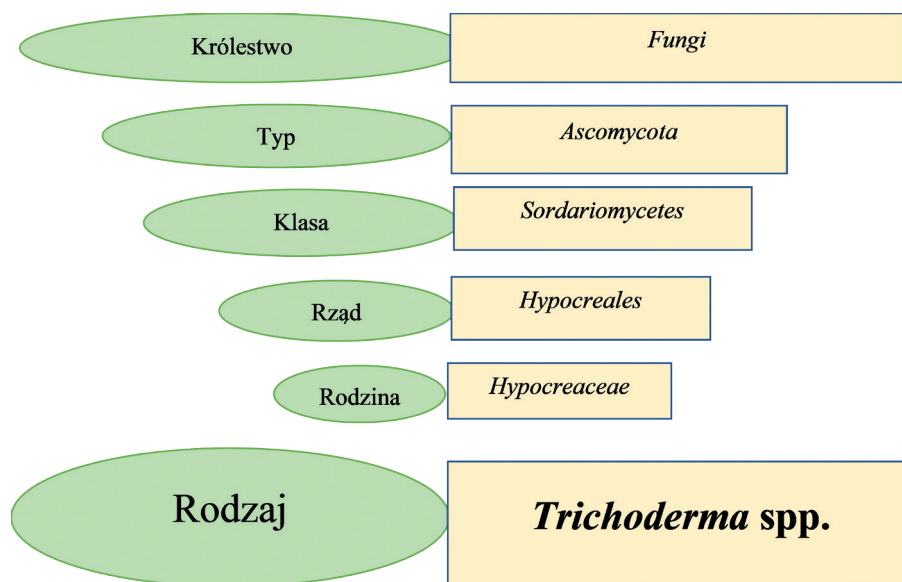
**IX. WYKORZYSTANIE GRZYBÓW Z RODZAJU  
*TRICHODERMA* SPP. W PREPARATACH  
MIKROBIOLOGICZNYCH**

---

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 związanych z nadmiernym stosowaniem pestycydów zarówno dla zdrowia ludzi jak i środowiska. Przyjęte przez Komisję Europejską strategie w ramach Europejskiego Zielonego Ładu, ograniczają w znacznym stopniu dotychczas stosowane chemiczne środki ochrony roślin i nawozy (COM 2020). 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).



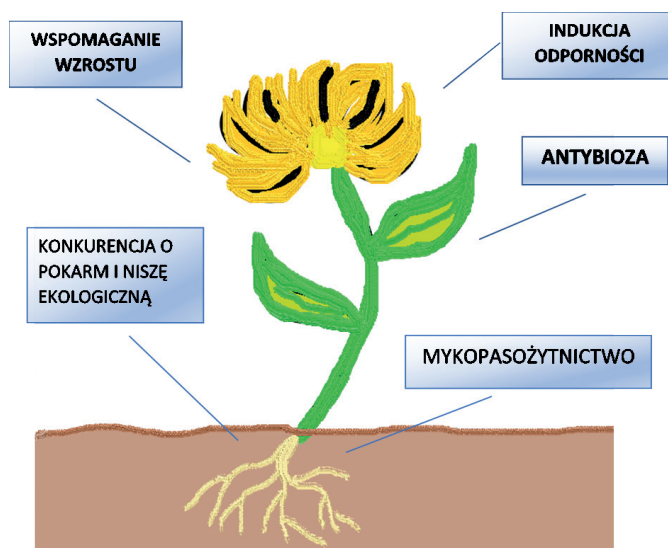
Rys.1. Systematyka *Trichoderma* spp. (wg Index Fungorum, 20.09.2023)

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 trzydziestych 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: 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 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 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.

## 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 (Oszust i in. 2020, Błaszczuk i in. 2014, Wojtkowiak-Gębarowska 2006, Benitez i in. 2004). 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*, które dzięki wytwarzaniu sideroforów, wychwytyją jony żelaza ze środowiska i tym samym hamują rozwój patogenów roślin, m.in. *Botrytis cinerea*, *Pythium* i *Fusarium* poprzez pozbawienie ich źródeł tego pierwiastka (Błaszczuk i in. 2014, Wojtkowiak-Gębarowska 2006, Benitez i in. 2004, 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. może 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 (Reino i in. 2008, Ghisalberti 2002). 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), poliketyny (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 poniższej 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.

Nazwa metabolitu	Gatunek grzyba	Bioaktywność antygrzybowa	Publikacje
Gliotoksyna	<i>T. virens</i> ITC-4777	Hamowanie wzrostu: <i>Rhizoctonia bataticola</i> (ED <sub>50</sub> of 0.03 g/mL), <i>Macrophomina phaseolina</i> (ED <sub>50</sub> of 1.76 g/mL), <i>Pythium deharyanum</i> (ED <sub>50</sub> of 29.38 g/mL), <i>Pythium aphanidermatum</i> (ED <sub>50</sub> of 12.02 g/mL), <i>Sclerotium rolfsii</i> (ED <sub>50</sub> of 2.11 g/mL), <i>Rhizoctonia solani</i> (ED <sub>50</sub> of 3.18 g/mL)	Shyamli i in. 2005
Glioviryna	<i>T. longibrachiatum</i>	Hamowanie wzrostu <i>Rhizoctonia solani</i>	Nakano i in. 1990
	<i>T. virens</i>	Hamowanie wzrostu <i>Pythium ultimum</i>	Howell i in. 1983
Trichokonina VI Trichokonina VII Trichokonina VIII	<i>T. koningii</i> SMF2	Hamowanie wzrostu: <i>R. solani</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Verticillium dahliae</i> , <i>B. cinerea</i>	Yan i in. 2006
Trichokonina VI	<i>T. pseudokoningii</i>	Silne działanie przeciwgrzybowe wobec <i>Ascochyta citrullina</i> , <i>B. cinerea</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>Phytophthora parasitica</i> , oraz umiarkowane wobec <i>V. dahliae</i>	Shi i in. 2012
6-pentyl- $\alpha$ -piron (6-pp)	<i>Trichoderma harzianum</i> IMI 288012	<i>R. solani</i> (zahamowanie wzrostu średnicy kolonii o 69,6%) <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Lycopersici</i> (zahamowanie wzrostu średnicy kolonii o 31,7% oraz całkowite zahamowanie kiełkowania zarodników)	Scarselletti i in. 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 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>Trichoderma harzianum</i> M10	<i>R. solani</i> (45% zahamowania wzrostu po 24 h inkubacji w stężeniu 100 ng )	Staropoli i in. 2023



Nazwa metabolitu	Gatunek grzyba	Bioaktywność antygrzybowa	Publikacje
T22azaphilon	<i>T. harzianum</i> T22	Całkowite zahamowanie wzrostu przy różnych dawkach podanych w nawiasie: <i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i> (1 µg), <i>R.solani</i> (10µg), <i>Pythium ultimum</i> (100 µg)	Vinale i in. 2006
T39 butenolid	<i>T. harzianum</i> T39	Hamowania wzrostu <i>R.solani</i> , <i>Pythium ultimum</i> , oraz całkowite zahamowanie wzrostu <i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i> przy stężeniu 100 µg	
Harzianolid		Hamowania wzrostu <i>R.solani</i> , <i>Pythium ultimum</i> , oraz całkowite zahamowanie wzrostu <i>Gaeumannomyces graminis</i> var. <i>tritici</i> przy stężeniu 200 µg	
Trichodermin	<i>T. brevicompactum</i>	Hamujące działanie na <i>R. solani</i> , (EC50 0.25 µg /mL(-1)), <i>B. cinerea</i> (EC50 of 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 150mg/l	Shi i in. 2009

### 2.3. MYKOPASOŻYTNICTWO

Mykopasożytnictwo jest jednym z ważnych mechanizmów biologicznej aktywności *Trichoderma* spp. Szczepy *Trichoderma* spp. 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 (Harman i in. 2004, Steyaert i in. 2003). Chitynaza i  $\beta$ -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 antago-

nistyczne właściwości *T. harzianum* przeciwko *Colletotrichum acutatum* i *C. gloeosporioides*, sprawcom antraknozy w uprawach sadowniczych. W doświadczeniu *in vitro*, polegającym na wspólnym wzroście badanych grzybów w kulturach dwuorganizmowych 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, Błaszczuk 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 (Błaszczuk i in. 2014, Benitez 2004). 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, cytokiny 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 międzykomórkową 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. stymuluje w roślinach indukcję odporności systemicznej (Induced Systemic Resistance – **ISR**) (Benitez i in. 2004; Vinale i in. 2008). Grzyby te były w stanie korzystnie modyfikować odpowiedź roślin z rodziny *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 *S. 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 Sml 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 również, 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 *Solanum lycopersicum*.

## 5. TRICHODERMA SPP. JAKO ŚRODEK KONTROLI BIOLOGICZNEJ

Szczepy *Trichoderma* spp. są powszechnie stosowane jako biopestycydy, bionawozy 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 (Lorito i in. 1996, Woo i in. 2002, Schirmböck i in. 1994). 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 Trianum 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 rodzaju *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 (<https://trichoderma.agro.pl/>, Gospodarstwo Badawczo Rozwojowe dr inż. Robert Cysewski, data dostępu: 12.07.2023). TRICHOFIT (BIOFELD) to biopreparat poprawiający właściwości gleby. Może być stosowany w uprawach roślin owocowych, warzywnych, ozdobnych oraz zbóż (<https://enzim-biofeld.eu/trichofit/>, data dostępu: 12.07.2023). VITAL PLUS (ROLMIX) zawiera szczep grzyba *Trichoderma viride* B35, który chroni system korzeniowy rośliny przed patogenami. Wspomaga również naturalne mechanizmy odpornościo-

we i wzrost rośliny. Stosowany w uprawach truskawek, warzyw, roślin ozdobnych, oraz drzew i krzewów owocowych i ozdobnych, jako dodatek do podłoża i zaprawa sadzonek przed posadzeniem (<http://www.rolmix.pl/vital-plus.html>, data dostępu: 12.07.2023). 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 również 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 naturalnego (Heong i in. 2015). Zatem, wyzwaniem, przed jakim stoi współczesne rolnictwo, jest uzyskanie jak największych plonów 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 odkrycia wykazały, że grzyby te wprowadzone do gleby wspomagają wzrost roślin oraz indukują systemiczną odporność roślin, co prowadzi do zwiększenia plonów (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. Alfano G., Lewis Ivey L.M., Cakir C., Bos J.I.B., Miller S.A., Madden Kamoun V.L., Hoitink J.A.H.: Systemic modulation of gene S. expression in tomato by *Trichoderma hamatum* 382. *Biolog Control*, 2007, **97**: 429-437.
2. 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. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, **65**: 2926-2933.
3. Benitez T., Rincón A.M., Limón M.C., Codón A.C.: Biocontrol mechanism of *Trichoderma* strains. *Int. Microbiol.* 2004, **7**: 249-260.
4. Błaszczyk L., Siwulski M., Sobieralski K., Lisiecka J., Jędryczka M.: *Trichoderma* spp. Application and prospects for use in organic farming and industry. *J. Plant Prot. Res.* 2014, **54**: 309-317.
5. Chet I., Inbar J., Hadar I.: Fungal antagonists and mycoparasites. In: Wicklow DT, Söderström B (eds) *The Mycota IV: Environmental and microbial relationships*. Springer-Verlag, Berlin, 1997, 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. *J. Bacteriol.*, 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. *Nat. Rev. Microbiol.*, 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*. *Euk Cell*, 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*. Eds. H. Lyr, P.E. Russell, H.W. Dehne, and H.D. Sisler). Andover, Hants, UK: Intercept. 1999, 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, 57-73.
11. Ferreira F.V., Musumeci M.A.: *Trichoderma* as biological control agent: scope and prospects to improve efficacy. *World J Microbiol Biotechnol*, 2021, **37**: 90.
12. Ghisalberti E.L.: Anti-infective agents produced by the hyphomycetes genera *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Curr Med Chem*, 2002, **1**: 343-74.
13. 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.
14. Hanson J.R.: *Natural products: the secondary metabolites*. Vol. 17 Ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry 2003.
15. Haran S., Schickler H., Oppenheim A., Chet I.: Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. *Phytopathology*, 1996, **86**: 980-985.
16. Harman G.E.: Multifunctional fungal plant symbionts: new tools to enhance plant growth and productivity *New Phytologist*, 2011, **189**: 647-649.



17. Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M.: *Trichoderma* species—Opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004, **2**: 43-56.
18. Harman G.E.: Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 2006, **96**: 190-194.
19. 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*. *Nat. Prod. Res.*, 2019, 1-9.
20. 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*. eds. K.L. Heong, J.A. Cheng and M.M. Escalada (Dordrecht: Springer), 2015, 179-189.
21. 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. *Appl Environ Microbiol* 2000, **66**: 1890-1898.
22. Hermosa R., Viterbo A., Chet I., Monte E.: Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 2012, **158**: 17-25.
23. 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: Herrera-Estrella, M.S., Druzhinina, R.S.U., Tuohy, M.G. (Eds.), *Biotechnology and Biology of Trichoderma*. Elsevier, Amsterdam, 2014, 125-137.
24. 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 Biol*, 2011, **115**: 759-767.
25. Howell C.R.: Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases; the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.*, 2003, **87**(1): 4-10.
26. Howell C.R.: The role of antibiosis in biocontrol. In: Harman G.E., Kubicek C.P. (eds) *Trichoderma & Gliocladium*, vol. 2. Taylor & Francis, Padstow, 1998, 173-184.
27. Howell C.R., Stipanovic R.D.: Gliovirin, a new antibiotic from *Gliocladium virens*, and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. *Can. J. Microbiol.*, 1983, **29**: 321-324.
28. 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. *Mycol Progress*, 2014, **13**: 589-600.
29. 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*. *Microbiol Res*, 2019, **227**: 126294.
30. Johnson L.: Iron and siderophores in fungal-host interactions. *Mycol Res*, 2008, **112**: 170-83.
31. Keller N.P., Turner G., Bennett J.W.: Fungal secondary metabolism — from biochemistry to genomics. *Nat Rev Microbiol*, 2005, **3**: 937-47.
32. Komunikat KE: Strategia „od pola do stołu” na rzecz sprawiedliwego, zdrowego i przyjaznego dla środowiska systemu żywnościowego. COM(2020) 381 final, 20.05.2020 r
33. Komunikat KE: Unijna strategia na rzecz bioróżnorodności 2030. Przywracanie przyrody do naszego życia. COM(2020) 380 final, Bruksela, dnia 20.5.2020 r.
34. Lorito M., Woo S.L., D'Ambrosio M., et al.: Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. *Mol Plant Microbe In*, 1996, **9**(3): 206-13.
35. Mahmood I., Imadi S.R., Shazadi K., Gul A., Hakeem K.R.: Effects of pesticides on environment. *Plant, soil and microbes*. eds. K.R. Hakeem, M.S. Akhtar, S.N.A. Abdullah (Switzerland: Springer), 2016, 253-269.



36. Martinez Y., Ribera J., Schwarze F.W.M.R., De France K.: Biotechnological development of *Trichoderma*-based formulations for biological control. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 2023, **107(18)**: 5595-5612.
37. Martinez-Medina A., Pozo M.J., Cammue B.P.A., Vos C.M.F.: Belowground defence strategies in plants: the plant – *Trichoderma* dialogue. 2016, 301-327.
38. Mithke M.: Molecular strategies of microbial iron assimilation: from high-affinity complexes to cofactor assembly systems. *Metallomics*, 2013, **5**: 15-28.
39. Monte E.: Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *Int Microbiol*, 2001, **4**: 1-4.
40. Mukherjee P.K., Horwitz B.A., Herrera-Estrella A., Schmoll M., Kenerley C.M.: *Trichoderma* research in the genome era. *Annu Rev Phytopathol.*, 2013, **51**: 105-129.
41. Nahr L., Yusuf U.K., Isamil A., Hossain K.: *Trichoderma* spp.: a biocontrol agent for sustainable management of plant diseases. *Pak. J. Bot.*, 2014, **46**: 1489-1493.
42. Nakano H., Hara M., Mejiro T., Ando K., Saito Y., Morimoto M.: DC1149B, DC1149R and their manufacture with *Trichoderma*. 1990, JP Patent 02218686.
43. Osust K., Cybulska J., Frac M.: How Do *Trichoderma* Genus Fungi Win a Nutritional Competition Battle against Soft Fruit Pathogens? A Report on Niche Overlap Nutritional Potentials. *Int J Mol Sci.*, 2020, **21(12)**: 4235.
44. Papavizas G.C.: *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and Potential for Biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 1985, **23**: 923.
45. Poole 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*. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, **77**: 81-86.
46. Pylak M., Oszust K., Frac M.: Review report on the role of bioproducts, biopreparations, biostimulants and microbial inoculants in organic production of fruit. *Rev Environ Sci Biotechnol* 2019, **18**: 597-616.
47. Reino J.L., Guerrero R.F., Hernández-Galán R., Collado I.G.: Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochem Rev*, 2008, **7**: 89-123.
48. 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. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej*, 24.11.2009 PL, 309: str. 1–50.
49. Sala 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 Sml proteins from *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens* differentially modulate systemic disease resistance against different life style pathogens in *Solanum lycopersicum*. *Front. Plant Sci.*, 2015, **6**: 77.
50. Scarselletti R., Faull J.L.: *In vitro* activity of 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone, a metabolite of *Trichoderma harzianum*, in the inhibition of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Mycol. Res.*, 1994, **98**: 1207-1209.
51. 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. *Appl Environ Microbiol* 1994, **60(12)**: 4364-70.
52. 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.

53. 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. *Braz. J. Microbiol.*, 2014, **45**: 248-254.
54. 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 Phytopathol. Sin.*, 2009, **39**: 362-367.
55. Shorish M., Harman G.E., Mastouri F.: Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annu Rev Phytopathol*, 2010, **48**: 21-43.
56. Shyamli S., Prem D., Rs T., Atar S.: Production and antifungal activity of secondary metabolites of *Trichoderma virens*. *Pestic. Res. J.*, 2005, **17**: 26-29.
57. Sivasithamparam K., Ghisalberti F.L.: Secondary metabolism *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: *Trichoderma and Gliocladium*. Volume I. Eds. C.P. Kubicek and G.E. Harman. Taylor and Francis Ltd. London., 1998, 139-191.
58. Staropoli A., Iacomino G., De Cicco P. et al.: Induced secondary metabolites of the beneficial fungus *Trichoderma harzianum* M10 through OSMAC approach. *Chem. Biol. Technol. Agric.*, 2023, **10**: 28.
59. Steyaert J.M., Ridgway H.J., Elad Y., Stewart A.: Genetic basis of mycoparasitism: A mechanism of biological control by species of *Trichoderma*. *J. Crop. Horticult. Sci.*, 2003, **31**: 281-291.
60. Strakowska J., Błaszczuk L., Chełkowski J.: The significance of cellulolytic enzymes produced by *Trichoderma* in opportunistic lifestyle of this fungus. *J. Basic Microb.*, 2014, **54** (Suppl. 1): S2-13.
61. Tyśkiewicz R., Nowak A., Ozimek E., Jaroszek-Ścisł J.: *Trichoderma*: the current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, **23**: 2329.
62. 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. *Lett Appl Microbiol.*, 2006, **43**(2): 143-8.
63. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., Marra R., Woo S.L., Lorito M.: *Trichoderma* – plant–pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.*, 2008, **40**(1): 1-10.
64. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E.L., et al.: *Trichoderma* Secondary Metabolites Active on Plants and Fungal Pathogens. Published online, 2014, 127-139.
65. Vittia A., La Monaca E., Sofo A., Scopa A., Cuyper 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.
66. Weindling R., Emerson O.H.: The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. *Phytopathology*, 1936, **26**: 1068-1070.
67. Weindling R.: *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology*, 1932, **22**: 837-845.
68. Wojtkowiak-Gębarowska E.: Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju *Trichoderma*. *Postępy Mikrobiologii*, 2006, **45**: 261-273.
69. Woo 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.
70. Woo 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.
71. Woo 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 Mycol J*, 2014, **8**: 71-126.

72. Yan 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 Microbiol. Lett., 2006, **260**: 119-125.
73. Yao X., Guo H., Zhang K., Zhao M., Ruan J., Chen J.: *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. Front. Microbiol., 2023, **14**: 1160551.
74. Zin N.A., Badaluddin N.A.: Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. Ann. Agric. Sci., 2020, **65**: 168-178.
75. Živković S., Stojanović S., Ivanović Z., Gavrilović V., Popović T., Jelica B.: Screening of Antagonistic Activity of Microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. Archives of Biological Sciences, 2010, **62**: 611-623.

## 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](mailto: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 konieczne jest 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, Marlon i in. 2019, Hewelke i Graczyk 2016). 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 (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 (Living Lab) i Latarni Morskich (Lighthouse) do 2030 r. w celu promowania zrównoważonego zarządzania glebami na obszarach miejskich, wiejskich, leśnych i przemysłowych.

Jednym ze sposobów rozwiązania światowego problemu jakim są zanieczyszczenia środowiska jest większa świadomość społeczna w połączeniu z multidyscypli-

narnym podejściem naukowym (Manisalidis i in. 2020). Już dziś wiemy, że wkraczymy w nową epokę geologiczną – epokę antropocenu, która charakteryzuje się znacznym wpływem działalności człowieka na ekosystem. Antropocen charakteryzuje 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 WPŁYW 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 istotnie zależy od formy w jakiej trafiły do gleby, ich postaci chemicznej oraz właściwości gleb. 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 (z ang. *metal excluders*),

II – hiperakumulatory (z ang. *hyperaccumulators*),

III – metalindykatory (z 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 nawet do nawet kilku procent suchej masy części nadziemnych (Brooks i in. 1977, Brooks 1998). Badania nad hiperakumulatorami pozwalają na szczegółowe badania 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 procesie związanych z oczyszczaniem środowiska) oraz w biofortyfikacji (czyli wzbogacania roślin w niezbędne dla ludzi pierwiastki) (Clemens 2016, Chaney i in. 2007). Metalindykatory z kolei to rośliny wskaźnikowe, które są zwykle wrażliwe na obecność metali w podłożu. Mogą być stosowane jako biologiczne wskaźniki wysokich 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 (Vangronsveld i in. 2009, Stuczyński i in. 2007). Jedną z grup metod remediacyjnych są techniki oparte na podejściu biologicznym z wykorzystaniem roślin, tzn. fitoremediacja. Strategie te są przyjazne dla środowiska i mogą stanowić skuteczne rozwiązanie, umożliwiające 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 biomasa wnoszone z pola (fitoekstrakcja), oraz swoim systemem korzeniowym lub zwartą biomasa 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 stosunkowo niewiele jest 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 przewyciężaniu skutków stresu chemicznego, wywołanego zanieczyszczeniem lub zasoleniem oraz 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 i 2008); 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 (ang. PGPR – plant growth promoting rhizobacteria), oraz interakcji roślin i powiązanych mikroorganizmów w zastosowaniach na obszarach skażonych metalami mogłoby 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 skutecznych inokulantów mają wpływ różne czynniki środowiskowe oraz 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 wpłynęła 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 badanych szczepów 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, Oubohssaine i in. 2022b).

Szczególne znaczenie na gruntach zdegradowanych chemicznie mają bakterie solubilizujące fosforany (PSB z ang. phosphate solubilizing bacteria). PSB mają duży potencjał do stosowania szczególnie na glebach ubogich w fosfor – takimi często są gleby na terenach przemysłowych, zanieczyszczone pierwiastkami śladowymi.

Wśród najczęściej izolowanych PSB można wymienić bakterie z rodzaju *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 zarówno do remediacji gruntów silnie skażonych, takich jak składowiska toksycznych odpadów lub gleby 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 do inżynierskich metod 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 zastosowaniom w remediacji zanieczyszczonych gleb i różnym rodzajom zanieczyszczeń, sprzyja optymalizacji metod remediacyjnych i zwiększaniu efektywności ich zastosowań.

## 7. LITERATURA

1. Ali H., Khan E., Sajad M.A.: Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere*, 2013, **91**: 869-881.
2. Ashworth D.J., Alloway B.J.: Soil mobility of sewage sludge-derived dissolved organic matter, copper, nickel and zinc. *Environ. Pollut.*, 2004, **127**: 137-144.
3. Baby R., Saifullah B., Hussein M.Z.: Carbon Nanomaterials for the Treatment of Heavy Metal-Contaminated Water and Environmental Remediation. *Nanoscale Res. Lett.*, 2019, **14**: 341.
4. Baker A.J.M.: Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *J. Plant Nutr.*, 1981, **3**: 643-654.
5. Billah M., Khan M., Bano A., Hassan T.U., Munir A., Gurmani A.R.: Phosphorus and phosphate solubilizing bacteria: keys for sustainable agriculture. *Geomicrobiol. J.*, 2019, **36**: 904-916.
6. Briffa J., Sinagra E., Blundell R.: Heavy metal pollution in the environment and their toxicological effects on humans. *Heliyon*, 2020, **6(9)**: e04691.
7. Brooks R.R., Lee J., Reeves R.D., Jaffre T.: Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium species of indicator plants. *J. Geochem. Explor.*, 1977, 49-57.
8. Brooks R.R.: *Geobotany and hyperaccumulators in Plants that Hyperaccumulate Heavy Metals*, red. R.R. Brooks (Wallingford, UK: CAB International), 1998, ss. 55-94.
9. Chaney 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. *J. Environ. Qual.*, 2007, **36**: 1429-1443.
10. Clements S.: How metal hyperaccumulating plants can advance Zn biofortification. *Plant and Soil*, 2016, **411**: 111-120.
11. Cotter-Howels J.: Lead phosphate formation in soils. *Environ. Pollut.*, 1996, **1**: 9-16.
12. Delany-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.
13. Grobelak A., Napora M., Kacprzak M.: Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. *Ecological Engineering*, 2015, **84**: 22-28.
14. He 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. Environ. Saf.*, 2020, **205**: 111333.
15. Hewelke E.A., Graczyk M.: Usługi ekosystemów jako instrument wspierania decyzji w gospodarce przestrzennej i ochronie środowiska. *Ecol. Eng.*, 2016, **49**: 33-40.
16. Jacob 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. *Environ. Manage.*, 2018, **217**: 56-70.
17. Jin Y., Luan Y., Ning Y., Wang L.: Effects and Mechanisms of Microbial Remediation of Heavy Metals in Soil: A Critical Review. *Appl. Sci.*, 2018, **8**: 1336.
18. Kabata-Pendias A., Piotrowska M., Motowicka-Terelak T., Maliszewska-Kordybach B., Filipiak K., Krakowiak A., Pietruch C.: *Podstawy oceny chemicznego zanieczyszczenia gleb. Metale ciężkie, Siarka i WWA, Dział Wydawnictw Politechniki Świętokrzyskiej, Kielce, 1995.*

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. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, **22(17)**: 9557.
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. *Environ. Pollut.*, 2008, **152(3)**: 686-92.
21. K u c e y R.M.N., Janzen H.H., Leggett M.E.: Microbial mediated increases in plant available phosphorus. *Adv. Agron.*, 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. *Front. Public Health*, 2020, **8**: 14.
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. *Front. Commun.*, 2019, **4**: 20.
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 o 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.
28. O l a w o y i n R.: Adverse Human Health Impacts in the Anthropocene. *Environmental health insights*, 2018, **12**: 1178630218812791.
29. 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. *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, 2022b, **39**: 102236.
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.
31. 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. *Mar. Pollut. Bull.*, 2015, **92**: 227-232.
32. 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.
33. 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 Crit. Rev. Plant Sci.*, 2002, **21**: 539-566.
34. 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.
35. S h a r m a P., Pandey S.: Status of Phytoremediation in World Scenario. *International Int J Environ. Bioremediat. Biodegrad.*, 2014, **2(4)**: 178-191.
36. S h a r m a P., Pandey S.: Status of Phytoremediation in World Scenario. *International Int. J. Environ. Bioremediat. Biodegrad.*, 2014, **2(4)**: 178-191.

37. Shio 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. *J. Environ. Qual.*, 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. *J. Environ. Qual.*, 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. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 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. *Biol. Fertil. 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. *Appl. Sci.*, 2021, **12**: 1231.
42. 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.
43. 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. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 2007a, **170**: 283-287.
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. *Adv. Bot. Res.*, 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, ss. 1-127.
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. *J. Dispers. Sci. Technol.*, 2020, **43(11)**: 1-15.



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](mailto:jciepiel@iung.pulawy.pl)



## 1. WSTĘP

Postanowienia Europejskiego zielonego ładu wymuszają na sektorze rolniczym krajów UE wprowadzenie szeregu praktyk mających na celu redukcję użycia mineralnych środków nawozowych. 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 korzystanie z pestycydów, nawozów i sprzedaż środków przeciwdrobnoustrojowych, a także zwiększenie arealów rolnictwa ekologicznego. (Komunikat Komisji Europejskiej – Europejski Zielony Ład). Alternatywą do syntetycznych środków ochrony roślin i nawozów są biopreparaty (Kuźniar i in. 2021). Są to produkty pochodzenia biologicznego, w składzie mogą zawierać żywe organizmy lub ich metabolity. Skład biopreparatu definiuje nam rodzaj z jakim produktem 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 2007r. 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” (Dz.U. 2007 nr 147 poz. 1033). Produkty te dzielimy ze względu na skład i technologię produkcji: organiczne i organiczno-mineralne, pozostałości pofermentacyjne z biogazowni, 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 reszkowe 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/> dostęp 02.10.2024r. ).

Kluczowymi zadaniami produktów mikrobiologicznych są:

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

- polepszanie produktywności,
- zwiększenie odporności na patogeny,
- zwiększenie odporności na abiotyczne czynniki środowiskowe i stres,
- utrzymanie lub zwiększanie ilości węgla organicznego w glebie,
- zwiększanie porowatości gleb

wsparcie lub uzupełnienie konwencjonalnej chemii ochronnej:

- biopestycydy
- bioinsektocydy
- biofungocydy

wsparcie wzrostu i rozwoju roślin:

- biostymulatory

zastępowanie mineralnych nawozów lub stymulowanie przemian mikrobiologicznych w glebie:

- bionawozy
- preparaty mikrobiologiczne

(Ciepiał J., 2023, Kuźniar i in., 2021)

### 3. BIONAWOZY

Bionawozy składają się z materii organicznej i jednego lub kilku aktywnych związków organicznych, m.in. aminokwasy, witaminy, hormony roślinne czy mikro- i makroelementy wpływające 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, żywność gleb, a także ulepszyć jakość plonów (Grzyb i in. 2019, Miranda i in. 2024). Stanowią bezpieczną alternatywę do nawozów sztucznych 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 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. Dlatego 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 łacińskiego *pestis*- szkodnik, i *cedeo*- zabijać. Biopestycydy należą do naturalnych środków ochrony roślin (Sikorska & Wędzisz 2009.). Posiadają w swoim składzie mikroorganizmy – wirusy, bakterie, grzyby jak również nicienie. Biopestycydy są istotnym elementem zrównoważonego rolnictwa.

Zalety stosowania biopestycydów:

- 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

(Kawalekar, 2013, Dhakal, 2019).

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

#### 5. BIOSTYMULATORY

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

- efektywność wykorzystania składników pokarmowych;
- odporność na stres abiotyczny;
- cechy jakościowe;
- przyswajalność składników pokarmowych z form trudnodostępnych 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. Zastosowany

w odpowiednim czasie biostymulator, zmienia metabolizm roślin, 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 biostymulatory: 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 rodzaju *Nitromonas*, *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-Mczka i in. 2010).

Inokulanty mikrobiologiczne tak samo jak inne biostymulatory mają za zadanie wspomóc wzrost roślin, poprzez podanie ich doglebowo, na ziarno lub powierzchnię rośliny. 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 pozyskiwane są z białek roślinnych lub zwierzęcych. Mają istotny wpływ 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 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 fizyko-chemiczne i biologiczne. Główne

bakterie występujące w szczepionkach dla roślin bobowatych to *Azotobacter*, *Rhizobium*. Preparat stymuluje wzrost i rozwój masy korzeniowej. Nośnikami bakterii mogą być perlit, węgiel brunatny po uprzednim zmieleniu, lub torf. Wdraża się go poprzez zaprawę nasion dzięki temu większa część preparatu trafia bezpośrednio do systemu korzeniowego siewek roślin (Grzyb i in. 2019, Kowalska i Łukaszyk 2022).

## 7. 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)**. <https://doi.org/10.3390/HORTICULTURAE10050449>
2. Ciepiel J.: Poradnik preparaty mikrobiologiczne dla roślin rolniczych. 2023, 6-11. <https://doi.org/10.26114/por.iung.2023.12.01>
3. 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>
4. 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>
5. 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. <https://doi.org/10.17306/J.NPT.2019.2.7>
6. Huculak-Mezka 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>
7. Kawalek J.S.: Role of biofertilizers and biopesticides for sustainable agriculture, 2013.
8. Kowalska J., Łukaszyk J.: Metody zaprawiania materiału siewnego dozwolone w rolnictwie ekologicznym Seed dressing methods allowed in organic farming. *Progress IN PLANT ProTeCTIoN*, 2022, **62(2)**: 2022-2084. <https://doi.org/10.14199/ppp-2022-012>
9. Kuzniar A., Włodarczyk K., Gromadzka P., Siara A., Wolińska A.: Aktualny stan wiedzy na temat biopreparatów stosowanych w rolnictwie. Wydawnictwo KUL, 2021.
10. Lichner 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. <https://doi.org/10.1016/J.CATENA.2012.02.016>
11. Mahanty 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>
12. Matysiak 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.

13. Miranda 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). <https://doi.org/10.3390/BIOLOGY13030199>
14. Mytkowska 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>
15. Rutkowska 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>
16. Pipiak P., Skwarek M.: Zastosowanie nawozów aminokwasowych w rolnictwie. *Technologia i Jakość Wytrobów*, 2020, R. 65.
17. Piwoń 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\\_roslinnej](https://www.Researchgate.net/publication/293487527_Srodki_biologiczne_i_biotechniczne_w_produkcji_roslinnej)
18. Sikorska K., Wędzisz A.: Nowoczesne pestycydy – SPINOSAD. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2009, **2**: 203-212.
19. Solangi 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>
20. Sundh 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>
21. Wach 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>
22. 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.
23. IUNG-PIB <https://www.iung.pl/nawozowe-produkty-mikrobiologiczne/> dostęp 02.10.2024r.
24. Ustawa z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu (Dz.U. 2007 nr 147 poz. 1033).
25. 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).

## 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<sup>-1</sup>)

### **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 tubinu 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 Księżak – *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 Bieńkowska – *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 Kołozko-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 wąwózowej w Polsce oraz metody zagospodarowania wąwózów*. 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. Berbeć, Jarosław Stalenga – *Wpływ różnych praktyk rolniczych na różnorodność flory na gruntach ornych*. Puławy, 2017.
53. Anna Brinken, Janusz Podleśny, Wacław 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.