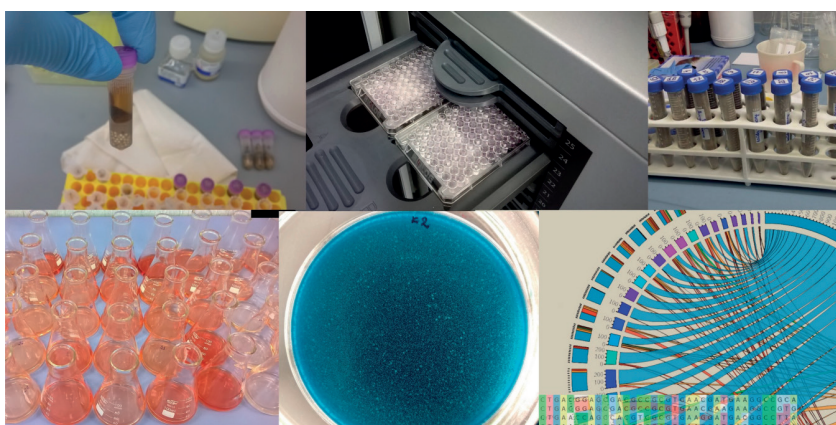




# PORADNIK PREPARATY MIKROBIOLOGICZNE DLA ROŚLIN ROLNICZYCH



*Poradnik został opracowany w ramach realizacji zadania 1.7 pt. „Preparaty mikrobiologiczne” finansowanego z rezerwy budżetowej MRiRW w 2023 r.*

**Puławy, 2023 r.**

INSTYTUT UPRAWY NAWOŻENIA I GLEBOZNAWSTWA  
PAŃSTWOWY INSTYTUT BADAWCZY  
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy  
tel. (81) 4786 700, 4786 800; fax: (81) 4786 900  
e-mail: iung@iung.pulawy.pl www.iung.pulawy.pl  
Dyrektor: prof. dr hab. Wiesław Oleszek

Zakład Mikrobiologii Rolniczej  
Kierownik: dr hab. Anna Gałązka, prof. IUNG-PIB  
tel. (81) 4786 951; www.mikro-iung.pl

ISBN 978-83-7562-406-9

Publikacja elektroniczna

**<https://doi.org/10.26114/por.iung.2023.12.01>**

# SPIS TREŚCI

---

1. WPROWADZENIE – AUTOR ANNA GAŁĄZKA.....	4
2. RODZAJE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH STOSOWANYCH W ROLNICTWIE – AUTOR JAROSŁAW CIEPIEL.....	6
3. ZNACZENIE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH DLA WZROSTU I OCHRONY ROŚLIN UPRAWNYCH - AUTOR ANNA MARZEC – GRZĄDZIEL.....	11
4. CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW STOSOWANYCH W PRODUKTACH MIKROBIOLOGICZNYCH:.....	16
4.1. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU <i>AZOTOBACTER</i> – AUTOR MONIKA KOZIEŁ.....	16
4.2. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU <i>RHIZOBIUM</i> – AUTOR MONIKA KOZIEŁ.....	20
4.3. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII Z RODZAJU <i>BACILLUS</i> – AUTOR KAROLINA FURTAK.....	25
4.4. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII ROZPUSZCZAJĄCYCH FOSFORANY – AUTOR MAŁGORZATA WOŹNIAK.....	31
4.5. CHARAKTERYSTYKA BAKTERII KWASU MLEKOWEGO – AUTOR KAROLINA GAWRYJOŁEK.....	37
4.6. GRZYBY MYKORYZOWE ORAZ GRZYBY ENTOMOPATOGENICZNE JAKO SKŁADNIK PREPARATÓW MIKROBIOLOGICZNYCH – AUTOR AGATA JANCZAREK.....	43
4.7. CHARAKTERYSTYKA GRZYBÓW Z RODZAJU <i>TRICHODERMA</i> I INNYCH GRZYBÓW STOSOWANYCH W PREPARATACH – AUTOR BARBARA ABRAMCZYK.....	51

# 1. WPROWADZENIE

---

Rozwój badań mikrobiologicznych na przełomie XX i XXI wieku doprowadził do wyodrębnienia i zidentyfikowania wielu ważnych grup mikroorganizmów glebowych, a także do dokładniejszego poznawania ich biologii, ekologii i fizjologii. Ze względu na intensywny rozwój rolnictwa, który wiąże się z nadużywaniem nawozów mineralnych i środków ochrony roślin przyczyniających się do zachwiania równowagi w środowisku przyrodniczym poszukiwanie takich alternatywnych metod jakim jest stosowanie produktów mikrobiologicznych zapewniających wzrost plonowania oraz ochronę roślin jest bardzo zasadne.

W wielu krajach prowadzone są badania mające na celu wykorzystanie pożytecznych grup mikroorganizmów w praktyce rolniczej. Dotychczas w efekcie tych badań opracowano i wdrożono do produkcji liczne biopreparaty, wśród których dominują preparaty wykorzystywane w biologicznej ochronie roślin. Preparaty te zawierają w swoim składzie mikroorganizmy antagonistyczne lub pasożytnicze w stosunku do patogenów i szkodników roślin. Na rynku dostępne są również liczne produkty mikrobiologiczne stymulujące aktywność mikrobiologiczną gleb lub korzystnie oddziaływujące na wzrost i plonowanie roślin, np. biopreparaty zawierające mikroorganizmy symbiotyczne (bakterie brodawkowe dla roślin bobowatych oraz grzyby mykoryzowe).

Mikroorganizmy zawarte w biopreparatach dostarczają roślinom hormonów, witamin, aminokwasów i stymulatorów co powoduje ich lepszy wzrost i rozwój. Biopreparaty przyczyniają się do zwiększenia przyswajalności trudnodostępnych pierwiastków oraz poprawiają warunki do tworzenia próchnicy w glebie. Dodatkowo wpływają stymulująco na aktywność i różnorodność mikrobiologiczną środowiska glebowego. Aktualny rynek nawozowych produktów mikrobiologicznych rozwija się bardzo dynamicznie, czego efektem jest coroczne wprowadzanie na rynek nowych produktów zawierających komponent mikrobiologiczny. W przypadku tego rodzaju preparatów nie jest wymagana procedura rejestracyjna, tak więc istnieje ryzyko wprowadzenia na rynek produktów o niepotwierdzonej jakości i efektywności. Stąd też zasadne jest prowadzenie ich kontroli i weryfikacji w szczególności komponentu mikrobiologicznego. Istnieje także pilna potrzeba prowadzenia działań edukacyjnych w celu podniesienia wiedzy w zakresie stosowania nawozowych produktów mikrobiologicznych ich zasadności i korzyści wpływających na środowisko glebowe i roślinę. Z dniem 1 grudnia 2022 r. na mocy rozrządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz. U. z 2022 poz. 2490) IUNG-PIB został upoważniony do prowadzenia wykazu nawozowych produktów mikrobiologicznych. Dostępne na rynku bioprepara-

raty, 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.

Nawozowe produkty mikrobiologiczne – produkty zawierające wyłącznie mikroorganizmy, w tym mikroorganizmy martwe lub nieaktywne, lub konsorcja tych mikroorganizmów oraz substancje stanowiące pożywkę dla tych mikroorganizmów i ich metabolity, a także nieszkodliwe substancje resztkowe z pożywek, które poprawiają aktywność biologiczną gleby lub stymulują procesy odżywiania roślin lub grzybów, a wyłącznym celem ich zastosowania jest poprawa efektywności wykorzystania składników pokarmowych przez rośliny lub grzyby, ich odporności na stres abiotyczny, ich cech jakościowych lub przyswajalności przez nie składników pokarmowych z form trudno dostępnych w glebie. Z kolei biopreparaty mikrobiologiczne 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. Inną grupę stanowią produkty, w tym zawierające kwasy humusowe, których działanie polega na stymulowaniu rozwoju systemu korzeniowego, dzięki czemu zwiększa się wykorzystanie składników pokarmowych z gleby. Wyciągi roślinne, w tym wyciągi z alg, zawierają substancje, do których należą hormony, wpływające korzystnie na wzrost roślin oraz ich aktywność fotosyntetyczną. Podobne działanie wykazują aminokwasy obecne w hydrolizatach białkowych roślinnych i zwierzęcych.

Obecnie według Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2019/1009 z dnia 5 czerwca 2019 r. ustanawiającym przepisy dotyczące udostępniania na rynku produktów nawozowych UE, zmieniającym rozporządzenia (WE) nr 1069/2009 i (WE) nr 1107/2009 oraz uchylające rozporządzenie (WE) nr 2003/2003 (Dz. Urz.UE L170 z 25.6.2019 r., str. 1) na liście produktów nawozowych zawierających mikroorganizmy dopuszczone są następujące bakterie i grzyby: *Azotobacter* spp., grzyby mykoryzowe, *Rhizobium* spp. oraz *Azospirillum* spp. Ponadto produkt nawozowy UE 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.

Niniejszy poradnik ma na celu kompleksowe przedstawienie najważniejszych biotechnologicznie grup mikroorganizmów glebowych będących komponentami preparatów mikrobiologicznych.

## 2. RODZAJE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH STOSOWANYCH W ROLNICTWIE

---

Termin „*biopreparat*” wywodzi się od greckiego słowa *bios* oznaczającego życie oraz łacińskiego *preparatum*, czyli „przygotowane”. Produkty pochodzenia biologicznego, ze względu na skład, dzielą się na: grzybowe, bakteryjne, bakteryjno/grzybowo enzymatyczne, bakteryjno-grzybowe i enzymatyczne. Podział ten możemy rozwinąć o produkty zawierające pojedyncze szczepy drobnoustrojów (biopreparaty jednoskładnikowe) lub konsorcja składające się z wielu szczepów, charakteryzujące się szerokim spektrum działania. Inna klasyfikacja dzieli preparaty na zawierające jeden lub kilka biologicznie aktywnych związków organicznych (witaminy, enzymy, hormony roślinne), jak również mikro- i makroelementy.

W opozycji do nich badacze stawiają biopreparaty wyprodukowane z wykorzystaniem żywych mikroorganizmów. W ich składzie znajdziemy różne rodzaje bakterii i grzybów, a w szczególności grzybów mykoryzowych stymulujących wzrost i plonowanie roślin. Do tej grupy zalicza się również preparaty mikrobiologiczne, zawierające żywe mikroorganizmy: symbiotyczne, pasożytnicze, drapieżne lub antagonistyczne w stosunku do patogenów roślinnych. Najczęściej stosowanym podziałem jest ten który dzieli biopreparaty na: bionawozy, biopestycydy, biostymulatory oraz preparaty mikrobiologiczne. Niestety to usystematyzowanie nie jest precyzyjne, w następstwie czego granica pomiędzy poszczególnymi grupami produktów jest trudna do ukazania.

Według ustawy z dnia 10 lipca 2007 r. o nawozach i nawożeniu „środki poprawiające właściwości gleby są 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”. Środki poprawiające właściwości użytków rolnych dzielimy na kilka grup uwzględniając skład surowcowy i technologię:

- środki pochodzenia organicznego i organiczno-mineralnego,
- pozostałości pofermentacyjne pochodzące z biogazowni,
- preparaty mikrobiologiczne.

### **Nawozowe produkty mikrobiologiczne**

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 (IUNG PIB).

Do najważniejszych zadań produktów mikrobiologicznych zalicza się:

- 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.

## **Bionawozy**

Wraz z rozwojem rolnictwa zwiększył się popyt na nawozy i środki ochrony roślin. Nadmierne stosowanie nawozów mineralnych działa szkodliwie na zdrowie, wyjaławia glebę, a także zwiększa prawdopodobieństwo zanieczyszczenia wód gruntowych. Alternatywą dla nawozów syntetycznych są bionawozy. Produkty te zwiększają żyzność gleby w sposób przyjazny dla środowiska. Bionawozy to preparaty zawierające mikroorganizmy, które poprawiają właściwości gleb oraz wpływają na większe wchłanianie składników pokarmowych w sferze korzeniowej. W swoim składzie zawierają materię organiczną i jeden lub kilka aktywnych związków organicznych takich jak aminokwasy, enzymy, witaminy, hormony roślinne czy makro- i mikroelementy. Ponadto stosowane są również związki hamujące wzrost i rozwój niepożąda-

nych bakterii i grzybów takie jak: alifatyczne aldehydy, flawonoidy endogenne, monoterpény, chitozan, nutkaton. M.in. chitozan powstrzymuje wzrost i rozwój bakterii i grzybów, które porażają pomidory i rośliny ozdobne. Bionawozy zaopatrują rośliny w niezbędne substancje, które są przez nie naturalnie syntetyzowane w procesach biochemicznych.

## Biopestycydy

Biopestycydy to środki ochrony roślin, które zawierają w swoim składzie grupy mikroorganizmów takich jak wirusy, bakterie i grzyby, a także nicienie. Najczęściej spotykane są biopestycydy zawierające bakterie (*Bacillus*, *Pseudomonas*) i grzyby z rodziny m.in. *Trichoderma*, *Beauveria*, *Pythium*. Ze względu na rodzaje mikroorganizmów jako składniki biopestycydów wymieniamy: bioherbicydy, biobakteriocydy, biofungicydy, bioinsektycydy oraz bionematocydy. Niektóre źródła zaliczają do grupy biopestycydów biologiczne czynne substancje pochodzenia roślinnego lub zwierzęcego (olejki, chitozan, kwasy organiczne, saponiny), semiozwiązki (feromony, atraktanty, repelenty) i regulatory wzrostu roślin.

Tabela 1. Przykładowe mikroorganizmy jako czynne składniki w poszczególnych grupach biopestycydów

Grupa biopestycydów	Mikroorganizmy jako czynne składniki
Bioherbicydy	<i>Alternaria destruens</i>
Biobakteriocydy	<i>Agrobacterium</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i>
Biofungicydy	<i>Trichoderma</i> , <i>Gliocladium</i> , <i>Pythium</i> , <i>Coniothyrium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Streptomyces</i>
Bioinsektycydy	<i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Beauveria bassiana</i>
Bionematocydy	<i>Metarhizium</i> , <i>Paecilomyces</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Heterorhabditis</i> , <i>Steinernema</i>

## Biostymulatory

Dnia 16 lipca 2022 r. weszło w życie rozporządzenie Parlamentu Europejskiego nr 2019/1009, które definiuje biostymulatory jako: „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”.



W rozporządzeniu tym występuje podział biostymulatorów na mikrobiologiczne (np. *Azotobacter spp.*, *Rhizobium spp.*, *Azospirillum spp.*, grzyby mikoryzowe.) i niemikrobiologiczne („biostymulator inny niż biostymulator mikrobiologiczny”).

Jedną z głównych cech biostymulatorów jest ochrona roślin przed stresem biotycznym i abiotycznym, ale także regeneracja roślin po działaniu niekorzystnych czynników. W sezonie wegetacyjnym roślina nierzadko narażona jest na wpływ czynników stresogennych takich jak susza czy działanie patogenów. Wydajność polowa rośliny może się zmieniać w każdym sezonie wegetacyjnym. Aby ochronić roślinę przed różnego rodzaju zagrożeniem, można użyć biostymulatora. Biostymulatory poprawiają biochemiczne, morfologiczne i fizjologiczne procesy zachodzące w roślinie uprawnej. Indukowana odporność nabyta (SAR) połączona jest z akumulacją białek, mających wpływ na metabolizm rośliny. Biostymulator zastosowany w odpowiednim momencie ma za zadanie zmiany metabolizmu na taki, aby roślina mogła powstrzymać atak patogenu, czy działanie suszy.

Do biostymulatorów możemy zaliczyć związki na bazie aminokwasów, pozyskiwane z alg morskich, zawierające substancje humusowe, czy związki bazujące na bakteriach i grzybach. Związki organiczne zawierające grupę amidową i karboksylową tj. aminokwasy odgrywają główną rolę w budowaniu białka, które z kolei ma funkcję budulcową, kontrolną i odpornościową, regulatorową, transportową, magazynową czy buforującą. Roślina zdolna jest do samodzielnego syntetyzowania aminokwasów lecz jest to proces czasochłonny i wymagający dostępności składników budulcowych. Dostarczenie tych substancji wraz z biostymulatorami pozwala na zaoszczędzenie energii poprzez roślinę co przekłada się na lepsze procesy życiowe. Wzrost rośliny jest bardziej intensywny, wzrasta również biomasa. Z kolei biostymulatory pozyskiwane z alg morskich w swoim składzie zawierają laminarynę. Jest to polisacharyd pełniący rolę materiału zapasowego oraz stymulującego odporność roślin. Istotną rolę odgrywa także alginian, który jest składnikiem ścian komórkowych przez co zapobiega utracie wody przez roślinę. Auksyny, cytokininy i gibereliny zaliczane do podstawowych fitohormonów występujących w algach także odpowiadają za m.in. tworzenie związków korzeniowych, transport asymilatów, stymulację kiełkowania, regulują wzrost, zapobiegają starzeniu się roślin.

Kwasy humusowe występujące w biostymulatorach wchodzi w skład próchnicy glebowej, powstają w wyniku rozpadu materii organicznej na mniejsze cząsteczki. Substancje humusowe składają się głównie z węgla organicznego, który wiąże gleby piaszczyste i przyczynia się do zatrzymania i dłuższego utrzymania wody w podłożu glebowym. W przypadku gleb cięższych- rozluźnia jej związłość, w rezultacie gleba jest bardziej napowietrzona. Kwasy humusowe pozwalają na utrzymanie stałego odczynu pH w glebie, stwarzają warunki do namnażania i bytowania większej ilości mikroorganizmów m.in. bakterie z rodzajów *Azotobacter*, *Nitrosomonas*. Zastosowanie biostymulatora zawierającego substancje humusowe pomaga roślinie w pełni

wykorzystać składniki pokarmowe, chroni roślinę przed stresem środowiskowym, poprzez to zwiększa się poziom plonowania.

Do grupy biostymulatorów zalicza się także środki zawierające w swoim składzie różne gatunki bakterii i grzybów w tym grzyby mikoryzowe. Można je stosować jako zaprawa nasion, opryski lub bezpośrednio na glebę. Wpływają na rośliny w sposób pośredni (ochrona przed patogenami) lub bezpośredni (dostarczanie składników mineralnych, synteza fitohormonów).

## **Preparaty mikrobiologiczne**

Do preparatów mikrobiologicznych zaliczamy szczepionki bakteryjne. Dzielimy je na szczepionki zawierające bakterie symbiotyczne roślin bobowatych (motylkowate) i szczepionki, które mają zastosowanie w leśnictwie do mykryzacji sadzonek. Biopreparaty takiego rodzaju muszą przejść ścieżkę rejestracji w Ministerstwie Rolnictwa i Rozwoju Wsi, poprzez wcześniejsze dwuletnie badania prowadzone w IUNG w Puławach. Po uzyskaniu badań właściwości fizykochemicznych, chemicznych i biologicznych oraz opinii o spełnieniu wszelkich wymagań jakościowych preparat może zostać zarejestrowany.

W uprawie roślin szczepionki bakteryjne mają powszechne zastosowanie, wytwarza się je na bazie różnych szczepów mikroorganizmów. Rolę nośnika może odgrywać perlit, zmielony węgiel brunatny lub torf. Wykorzystuje się je poprzez otoczkowanie nasion, co ułatwia wprowadzenie dużej ilości bakterii bezpośrednio do systemu korzeniowego siewek roślin. Efektywna symbioza bakterii brodawkowych z rośliną zawdzięcza zwiększonej ilości rizobiów w glebie. Bakterie bytujące na roślinie strączkowej mają dobre warunki do rozwoju poprzez pobieranie z niej węgla, zostawiając roślinie przyswajalne formy azotu. Szczepionki bakteryjne zwiększają plon roślin, sprzyjają rozwijaniu się ekologicznego rolnictwa, pozwala to na wyeliminowanie mineralnego nawożenia azotem.

## **Efektywne Mikroorganizmy**

Efektywne Mikroorganizmy, EM (z ang. effective microorganisms)- pod tym pojęciem kryje się zespół naturalnie występujących mikroorganizmów (bakterii, grzybów i promieniowców), będących wzajemnie w bliżej nieokreślonym stanie równowagi. To uwarunkowanie rzekomo jest niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmów wyższych znajdujących się w środowisku glebowym. Za model koncepcji EM odpowiedzialny jest prof. Teruo Higa.

Według zagranicznej literatury EM traktujemy jako bionawóz. Preparat mikrobiologiczny EM w swoim składzie posiada bakterie mlekowe (*Lactobacillus casei*, *Streptococcus lactis*), drożdże (*Candidia utilis*, *Saccharo-mycetes albus*), bakterie fotosyntetyzujące (*Rhodospseudomonas palustris*, *Rhodobacter spae*), grzyby pleśniowe (*Aspergillus oryzae*, *Mucor hiemalis*) oraz promieniowce (*Strep-tomyces griseus*,

*Streptomyces albus*). Środek ten ma szerokie spektrum działania, przez co budzi wiele kontrowersji. Ma zastosowanie nie tylko w uprawie roślin, ale także w hodowli zwierząt oraz kompostowaniu odpadów. Niektóre badania ukazują wiele korzyści ze stosowania EM, jednak są autorzy którzy opisują mały wpływ efektywnych mikroorganizmów na jakość i plon roślin. Rezultaty badań nad tymi preparatami są skrajne dlatego nie można jednoznacznie określić ich efektywność oraz wpływ na morfologię roślin.

Stosowanie biopreparatów mikrobiologicznych w rolnictwie przede wszystkim ma za zadanie stymulację wzrostu roślin i poprawę jakości plonów, zwiększyć żyzność gleb, także po nadmiernym stosowaniu nawozów mineralnych, ochronę roślin i korzeni przed różnymi patogenami. Zaaplikowanie biopreparatu w odpowiednim momencie wspomaga również przekształcenie nierozpuszczalnej materii organicznej w glebie w formę rozpuszczalną. Zastosowanie biopreparatów przynosi wiele korzyści ekonomicznych i środowiskowych. Funkcjonalność biopreparatów to kolejna z zalet, dzięki temu, że składają się z mikroorganizmów danego gatunku, można dopasować preparat do określonej uprawy roślin. Może to zaowocować zrównoważoną gospodarką nawozową w Polsce. Biorąc pod uwagę fakt, że rośnie liczba odkrywanych mikroorganizmów oraz potencjalne współdziałanie różnych gatunków, nieodzowne jest prowadzenie dalszych badań nad biopreparatami.

### 3. ZNACZENIE PRODUKTÓW MIKROBIOLOGICZNYCH DLA WZROSTU I OCHRONY ROŚLIN UPRAWNYCH

---

Potrzeba ograniczenia stosowania nawożenia chemicznego, oraz konieczność ochrony środowiska przyrodniczego doprowadziła do rozwoju prac nad stworzeniem preparatów, których główną substancję aktywną stanowią mikroorganizmy. Biopreparaty wykorzystują różne mechanizmy działania, mogą działać na glebę, roślinę, lub jednocześnie na roślinę i glebę. Działania takich preparatów mają za zadanie zwiększenie wchłaniania substancji pokarmowych przez roślinę, ograniczenie negatywnego wpływu abiotycznych czynników środowiskowych, walkę z fitopatogenami, zwiększanie intensywności wzrostu i rozwoju roślin. Bakterie i grzyby stanowiące główny składnik takich preparatów izoluje się ze środowiska naturalnego, bardzo często bezpośrednio z gleby.

Gleba jest z jednym z kluczowych elementów otaczającego nas środowiska. Szacuje się, że 25% wszystkich organizmów żywych ma swoje siedlisko właśnie w glebie. Odgrywa znaczącą rolę w życiu zarówno człowieka jak i innych organi-

zmów. Gleba jest wykorzystywana głównie w celu produkcji żywności. Pełni ona jednak także kilka innych, kluczowych dla prawidłowego działania ekosystemu funkcji (Fig.1).



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

Mikroorganizmy zasiedlające glebę uważane są często za najważniejszy czynnik decydujący o jej żyzności i wysokości uzyskiwanych plonów. Bakterie i grzyby obecne w środowisku odpowiadają za wiele zachodzących w nim procesów, ich liczebność podlega ciągłym wahaniom. Stosunek poszczególnych grup mikroorganizmów powinien być na odpowiednim poziomie, przy czym w glebach zdegradowanych ulega on znacznym wahaniom (Fig.2).



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

Przykładem zaangażowania mikroorganizmów w obiegu pierwiastków może być udział w przemianach azotu zamkniętego w materii organicznej gleby do form, które mogą być przyswajalne dla roślin. Poszczególne grupy bakterii biorą udział

w kolejnych procesach przemiany, które prowadzą do powstania kolejno jonów amonowych, azotanowych, azotu w formie atmosferycznej. 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 (Fig.3). Proces symbiozy jest bardzo skomplikowany i bierze w nim udział wiele czynników pochodzących zarówno od bakterii jak i od rośliny gospodarza. Roślina produkuje liczne białka, substancje stanowiące swoiste atraktanty względem bakterii. Mikroorganizmy natomiast wytwarzają substancje zewnątrzkomórkowe (EPS, LPS), czynniki Nod, białka, oraz niskocząsteczkowe składniki, które ułatwiają połączenie z komórkami gospodarza i nawiązanie symbiozy. 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.

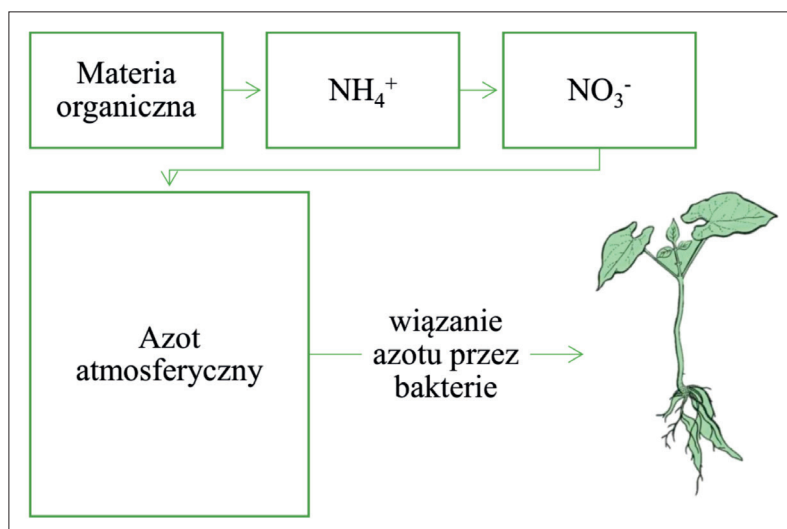


Fig.3. Proces przemiany azotu w środowisku (opracowanie własne)

Działalność człowieka prowadzi do zanieczyszczenia naszego środowiska. Prrowadzone 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 (Fig.4).

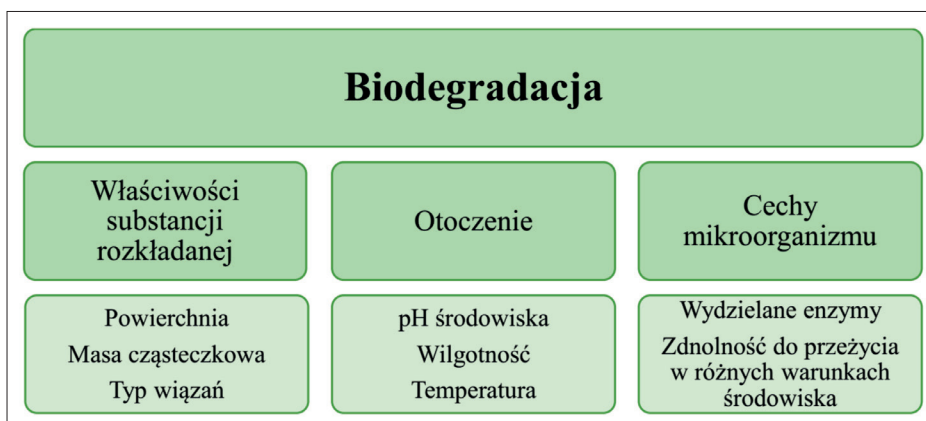


Fig.4. Czynniki wpływające na proces biodegradacji

Procesowi biodegradacji mogą ulegać różne związki i substancje. Biorą w tym udział zarówno różne rodzaje grzybów jak i bakterii (Fig.5). Mikroorganizmy zdolne do rozkładu szkodliwych substancji izoluje się z naturalnych, w dużej mierze zanieczyszczonych środowisk. Udział wyizolowanych szczepów mikroorganizmów w rozkładzie związków toksycznych uwarunkowany jest zdolnością do produkcji odpowiednich enzymów. 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.

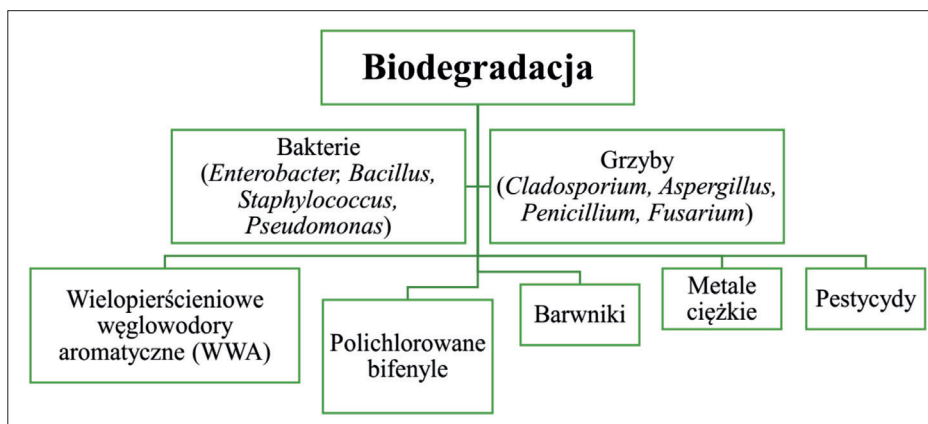


Fig.5. Rodzaje mikroorganizmów biorących udział w biodegradacji szkodliwych substancji (opracowanie własne)

Mikroorganizmy obecne w glebie mogą wykazywać zdolność do blokowania wzrostu bakterii i grzybów patogenicznych dla roślin. Hamowanie wzrostu może zachodzić przez mechanizmy bezpośrednie (produkcja antybiotyków, produkcja enzymów litycznych, konkurencja o substancje odżywcze) lub pośrednie (indukcja

odporności u gospodarza) (Fig.6). Wiele szczepów wyizolowanych ze środowiska naturalnego wykazuje zdolność do hamowania wzrostu grzybów patogenicznych należących do rodzajów *Bortytis* (Szara pleśń), *Verticillium* (Werticilioza) czy *Fusarium* (Fuzarioza).

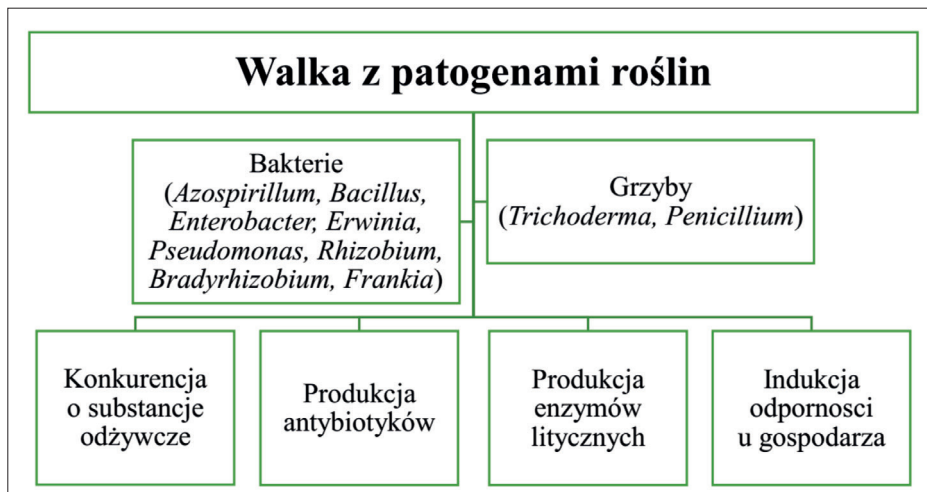


Fig.6. Rodzaje mikroorganizmów biorących udział w walce z patogenami roślin (opracowanie własne)

Bakterie i grzyby mogą wykazywać cechy warunkujące promowanie wzrostu i rozwoju roślin. Mechanizmy tego działania możemy podzielić na bezpośrednie oraz pośrednie. Do tej pierwszej grupy zaliczamy zdolność szczepów do wiązania azotu atmosferycznego, uwalniania fosforu z form nierozpuszczalnych, produkcji fitohormonów, sideroforów, oraz enzymów. Mechanizmy pośrednie opierają się na produkcji antybiotyków, zdolności do degradacji toksyn, oraz produkcji enzymów. Mikroorganizmy takie izoluje się bezpośrednio z gleby, ryzosfery bądź części roślinnych. Uzyskane czyste hodowle bada się pod względem genetycznym (przypisanie taksonomiczne), oraz fenotypowym (metody klasyczne, mikromacierze). Analizuje się także ich 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).



## 4. CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE MIKROORGANIZMÓW STOSOWANYCH W PRODUKTACH MIKROBIOLOGICZNYCH

---

### 4.1. Charakterystyka bakterii z rodzaju *Azotobacter*

W ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat rozwój rolnictwa i przemysłu doprowadził do nadmiernego stosowania nawozów mineralnych i chemicznych środków ochrony roślin. Przynosiło to efekt w postaci lepszego plonowania i ochrony roślin lecz jednocześnie przyczyniało się do degradacji środowiska. Negatywne skutki środowiskowe chemizacji rolnictwa skłoniły naukowców do poszukiwania alternatywnych preparatów, 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 mikroorganizmy wiążące azot atmosferyczny. Bakterie wiążące azot atmosferyczny dostarczają roślinom składników mineralnych, syntetyzują fitohormony stymulujące wzrost roślin, a także chronią rośliny przed działaniem fitopatogenów. Dzięki wyżej wymienionym cechom znajdują one zastosowanie w rolnictwie, ogrodnictwie, leśnictwie i remediacji środowiska.

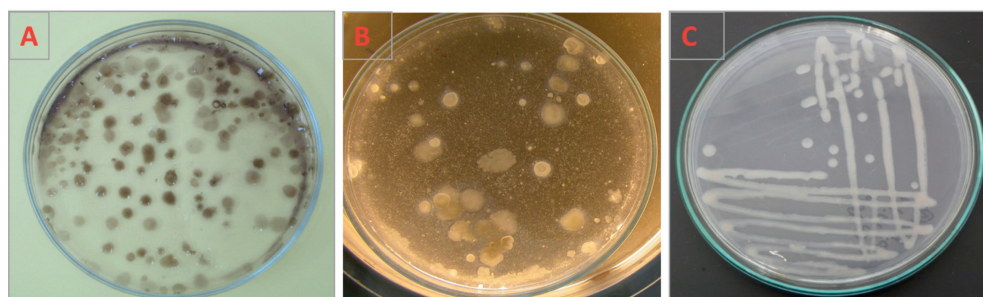
Bakterie tlenowe należące do rodzaju *Azotobacter* reprezentują zróżnicowaną grupę wolno żyjących diazotrofów powszechnie występujących w glebie. *Azotobacter* spp. są bakteriami pożytecznymi dla rolnictwa ze względu na zdolność do wiązania azotu atmosferycznego i udostępniania go roślinom wyższym w formie przyswajalnej, a także wytwarzania szeregu związków stymulujących wzrost i rozwój roślin. Ponadto są to mikroorganizmy, które silnie reagują w glebie na czynniki chemiczne i fizyczne, dlatego wahania liczebności tych bakterii są dobrym wskaźnikiem zmian zachodzących w środowisku.

Aktualnie na świecie znanych jest 8 gatunków bakterii w obrębie rodzaju *Azotobacter*. Są to: *A. armeniacus*, *A. beijerinckii*, *A. bryophylli*, *A. chroococcum*, *A. nigricans*, *A. paspali*, *A. salinestris* i *A. vinelandii*. 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*. Bakterie z rodzaju *Azotobacter* cechuje duża wrażliwość na kwaśny odczyn środowiska glebowego, w związku z tym bakterie te rzadko wystę-



pują w glebach o pH poniżej 6. 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. 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.

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



Zdjęcie 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) [zdjęcia własne]

### **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 (Fig. 7). Bakterie te syntetyzują i wydzielają znaczne ilości substancji biologicznie czynnych stymulujących wzrost i rozwój roślin, tj.: auksyny, gibereliny, cytokiny i witaminy z grupy B (kwas nikotynowy, kwas pantotenowy). Wydzielając fitohormony do podłoża zwiększają ich wyprodukowaną przez rośliny ilość w środowisku, a to wpływa stymulująco na plonowanie roślin uprawnych. W wielu doświadczeniach potwierdzono pozytywny wpływ *Azotobacter* spp. na plonowanie takich roślin jak: pszenicę, jęczmień, kukurydzę, owies, ogórek i pomidor. Poza zdolnością do syntezy fitohormonów bakterie te wytwarzają również związki hamujące rozwój patogenów, w szczególności grzybów. *Azotobacter vinelandii* wytwarza politifosforantetraaminy sacharozy wykazujący działanie grzybobójcze w stosunku do niektórych gatunków fitopatogennych, m.in.: *Helminthosporium* sp., *Macrophomina* sp. i *Fusarium* sp. Na podstawie badań przeprowadzonych stwierdzono, że wyżej wymieniony metabolit produkowany przez *Azotobacter chroococcum* hamuje wzrost takich grzybów jak: *Bi-*

*polaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*, *Pythium debarianum*, *Verticilliumdahliae* i *Fusarium sp.* Zdolność *Azotobacter spp.* do solubilizacji fosforanów, potasu i cynku jest także ważną cechą wpływającą na promowanie wzrostu roślin.

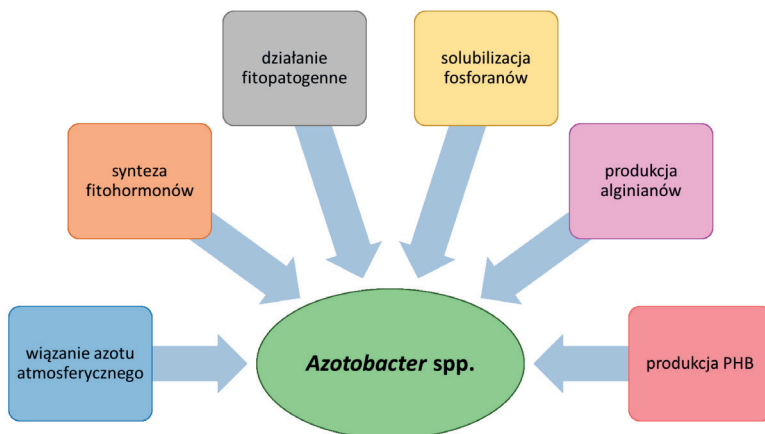


Fig. 7. Znaczenie bakterii z rodzaju *Azotobacter* (opracowanie własne)

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).

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. 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*.

Poli- $\beta$ -hydroksymaślan (PHB) to jeden z kwasów polihydroksykarboksylowych (PHA), wykorzystywany w produkcji biodegradowalnych i biokompatybilnych plastików, a także w niekontrolowanym uwalnianiu leków.

## **Azotobakteryna i inne preparaty mikrobiologiczne na bazie bakterii z rodzaju *Azotobacter*.**

Najstarszym i najbardziej znanym przykładem preparatu mikrobiologicznego zawierającego wyselekcjonowane szczepy bakterii z rodzaju *Azotobacter* i znajdującego zastosowanie w rolnictwie i ogrodnictwie jest Azotobakteryna.

Zastosowanie Azotobakteryny w uprawie roślin okopowych, krzyżowych i niektórych warzywnych przyczynia się do wzrostu plonowania, korzystnie wpływając na rozwój roślin w wyniku dostarczania im azotu. 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 wiązać co najmniej 20 mg N na 1 g zużytego cukru. W środowisku glebowym efektywność wiązania azotu atmosferycznego przez bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* nie jest duża. 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. Według naukowców bakterie wchodzące w skład Azotobakteryny dostarczają do gleby tylko niewielkie ilości azotu przyswajalnego dla roślin, ale to właśnie te niewielkie ilości zasymilowanego azotu wywierają korzystny wpływ na metabolizm glebowy i na żyzność gleby.

Na rynku dostępne są również inne preparaty zawierające w swym składzie bakterie z rodzaju *Azotobacter* zaopatrujące glebę w trudno przyswajalne formy azotu (tabela 2). Należy zaznaczyć, iż skuteczność biopreparatów różni się w zależności od rodzaju gleby, odmiany rośliny i innych parametrów fizycznych, chemicznych i biologicznych.

Tabela 2. Przykłady preparatów mikrobiologicznych w skład których wchodzi bakterie z rodzaju *Azotobacter*.

Nazwa preparatu	Składniki aktywne	Przeznaczenie
Bacti-N (Agrosonic)	<i>Azotobacter</i> spp. ( $1 \times 10^9$ jtk/g)	zboża jare, rzepak, kukurydza
AzotoPower (Bio-Gen)	<i>Azotobacter</i> ( $1 \times 10^9$ jtk/g) <i>Arthrobacter</i> ( $1 \times 10^9$ jtk/g)	pszenica ozima, kukurydza, burak cukrowy
Bactim Nutri N+ (Intermag)	<i>Azotobacter</i> spp. ( $1 \times 10^8$ jtk/ml)	zboża, rzepak, kukurydza
Novobakt Azo+ (BGD)	<i>Azospirillum lipoferum</i> ( $1 \times 10^9$ jtk/g) <i>Azotobacter chroococcum</i> ( $1 \times 10^9$ jtk/g)	zboża, rzepak, kukurydza, ziemniaki, warzywa
Rhizosum N Plus (Ceres Biotics/Agrosimex)	<i>Azotobacter salinestris</i> ( $1,3 \times 10^9$ jtk/g)	agrest, burak, cebula, czereśnia, grusza, jabłoń, kapusta, kukurydza, łąki i pastwiska, malina, marchew, ogórek, papryka, pietruszka, pomidor, por, porzeczka, rośliny ozdobne, rośliny strączkowe, rzepak, seler, soja, śliwa, trawa, truskawka, winorośl, wiśnia, zboża jare, zboża ozime, ziemniak

## 4.2. 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”.

Bakterie brodawkowe zaliczane są do grupy bakterii glebowych, które współżyją z roślinami bobowatymi powodując powstawanie na nich brodawek korzeniowych, w których zachodzi procesie wiązania azotu atmosferycznego, czyli jego redukcja do formy amonowej, przyswajalnej dla roślin (Fig. 8). Proces biologicznego wiązania azotu atmosferycznego dostarcza corocznie do gleb uprawnych około 140 mln ton azotu, z czego ilość azotu związanego przez bakterie występujące w układach symbiotycznych stanowi około 70 - 80%.



Fig. 8. Brodawki na korzeniach roślin bobowatych (opracowanie własne)

Bakterie symbiotyczne roślin bobowatych 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 polu
- stosowanie nawożenia azotem mineralnym
- właściwości bakterii brodawkowych

W Instytucie Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach prowadzono badania dotyczące zasiedlenia wybranych gleb Polski przez różne gatunki bakterii z rodzaju *Rhizobium*. Wyniki analiz wykazały, że bakterie symbiotyczne koniczyny, grochu i bobiku występują w glebach powszechnie. Symbiontów łubinu nie wykryto w około 30 % gleb. W większości gleb na terenie Polski brakuje też bakterii symbiotycznych lucerny lub ich liczebność jest bardzo niska. W wypadku soi, która pochodzi z Chin, oczywiście jest, że bakterii, które współżyją z tym gatunkiem, nie spotkamy w naszych glebach. W związku z tym, aby wykorzystać zjawisko symbiozy, nasiona lucerny i soi należy bezwzględnie szczepić. Jest to też bardzo wskazane w stosunku do nasion gatunków rodzimych, jakimi są np. łubiny, bobik, bób, groch, ze względu na niewielki areał obsiewany obecnie tymi roślinami, czyli długie przerwy w ich uprawie na danym polu. Przez to liczebność tych bakterii w glebie jest zwykle mała.

Większość gatunków roślin bobowatych tworzy układ symbiotyczny ze specyficznymi tylko dla nich gatunkami bakterii z rodzaju *Rhizobium*. Na przykład, bakterie brodawkowe fasoli nie tworzą symbiozy z korzeniami koniczyny, lucerny lub grochu, tak samo jak symbionty koniczyny, lucerny lub grochu 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 (Tabela 3).

**Tabela 3.** Rodzaje i gatunki bakterii brodawkowych i ich symbiotyczni gospodarze roślinni

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

### **Dlaczego i kiedy należy stosować preparaty mikrobiologiczne zawierające bakterie z rodzaju *Rhizobium***

Zastosowanie preparatów zawierających liczne i żywe kultury bakterii brodawkowych można w prosty sposób:

- wprowadzić do gleby aktywne szczepy bakterii z rodzaju *Rhizobium*,
- ułatwić roślinom bobowatym nawiązanie efektywnej symbiozy z bakteriami brodawkowymi,
- przyczynić się do wzrostu plonowania roślin bobowatych,
- polepszyć jakość otrzymanego plonu poprzez zwiększenie zawartości białka
- zwiększyć ilość azotu pozostającego w glebie.

Zastosowanie preparatów mikrobiologicznych wskazane jest szczególnie wtedy gdy:

- na danym obszarze przez długi okres czasu (4-5 lat) nie uprawiano wysiewanej rośliny,
- gleba charakteryzuje się zbyt kwaśnym odczynem,
- rekultywujemy gleby lub nieużytki rolne,
- zamierzamy uprawiać soję, która nie jest gatunkiem rodzimym, a bakterii, które wchodzi w symbiozę z tymi gatunkami, nie spotykamy w naszych glebach.



## 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, również w Polsce. Powstają na bazie różnorodnych szczepów tych bakterii wyodrębnionych najczęściej z brodawek korzeniowych wymienionych roślin. 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 rizobiowe produkowane są oddzielnie dla gatunku 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 enzymu zwanego nitrogenazą. Znajomość tych cech jest ważna ze względów praktycznych, gdyż do produkcji preparatów, których komponentami są bakterie z rodzaju *Rhizobium*, wybierane są izolaty najefektywniejsze pod względem symbiotycznym. Nośnikiem dla odpowiednio namnożonej hodowli bakteryjnej może być perlit, zmielony torf lub węgiel brunatny. 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 zwiększają się bakterie brodawkowych na nawiązanie skutecznej symbiozy z rośliną. Technologia wytwarzania biopreparatów zawierających bakterie symbiotyczne roślin bobowatych obejmuje następujące etapy: - zgromadzenie kolekcji różnych szczepów bakterii z rodzaju *Rhizobium*, - kontrolowanie czystości i jakości tych szczepów, - rozmnażanie bakterii i kontrolowanie czystości otrzymanych hodowli, - przygotowanie nośnika, - mieszanie hodowli bakteryjnych z nośnikiem i odpowiednie przechowywanie przygotowanych preparatów mikrobiologicznych (Fig.).

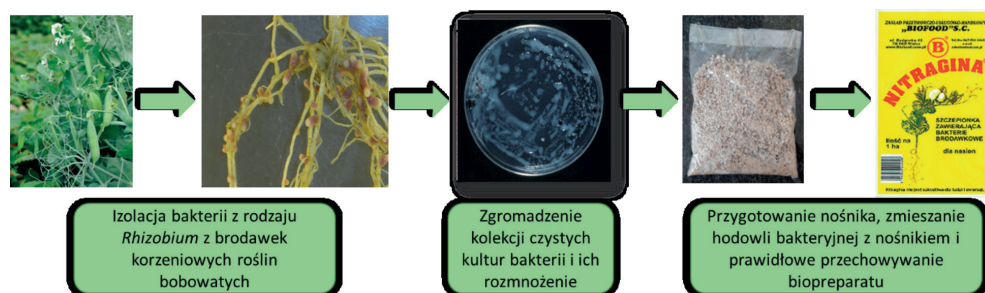


Fig 9. Etapy produkcji preparatu mikrobiologicznego na przykładzie Nitraginy

## **Nitrogenaza i inne preparaty mikrobiologiczne na bazie bakterii z rodzaju *Rhizobium***

W Polsce Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi dopuszcza do obrotu preparaty mikrobiologiczne, które zawierają bakterie symbiotyczne, spełniające wymogi procedury rejestracyjnej. Obejmuje ona dokładne dane dotyczące składu, opisu technologii wytwarzania i sposobu stosowania produktu. Obowiązkowe jest także przedstawienie wyników doświadczeń zarówno laboratoryjnych jak i polowych, które potwierdzają skuteczność rejestrowanego biopreparatu w praktyce. Z tego powodu, szczepionki bakteryjne są biopreparatami o sprawdzonej efektywności i dobrej jakości po względem mikrobiologicznym. Obecnie rolnicy mają do dyspozycji szeroki wybór szczepionek bakteryjnych dla roślin bobowatych, po które chętnie sięgają, ponieważ oprócz zwiększenia plonu pozwalają prowadzić zrównoważone i ekologiczne rolnictwo, które nie wymaga nawożenia azotem mineralnym.

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 porcję należy wymieszać z niewielką ilością czystej wody ogrzanej do temperatury otoczenia (20-28°C). Tak przygotowany 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 tylko przez 24-48 godzin może bardzo istotnie zmniejszyć skuteczność szczepionki bakteryjnej. Spowodowane jest to zamieranie bakterii brodawkowych na przechowywanych nasionach.

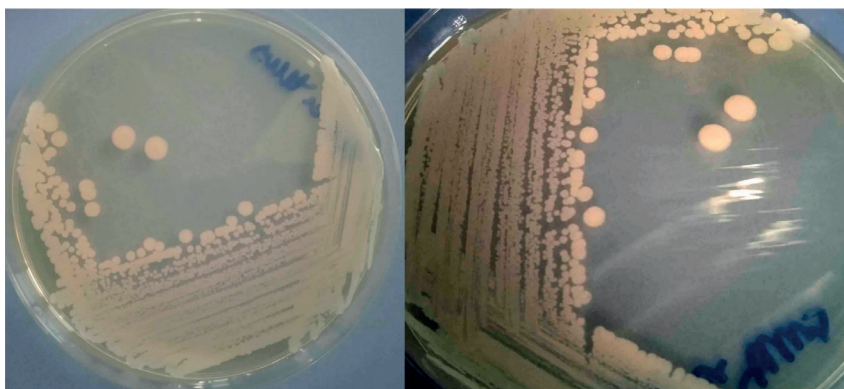
Doglebowe stosowanie preparatów mikrobiologicznych może przyczyniać się do poprawy warunków zdrowotnych gleby. W porównaniu ze stosowanymi na szeroką skalę pestycydami biopreparaty charakteryzują się mniejszą skutecznością i wolniejszym oddziaływaniem na patogeny. Pomimo tego poprawiają właściwości



próchnicotwórcze gleby, nie zaburzają równowagi biologicznej i zwiększają plony roślin. Do zalet, które skłaniają rolników do stosowania biopreparatów należy zaliczyć zwiększenie dostępności przyswajalnych dla roślin pierwiastków (azot, fosfor), eliminacja procesów gnilnych i uodpornienie roślin na szkodniki. Przygotowanie preparatu mikrobiologicznego 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 ma znaczenie przygotowanie i dobranie nośnika, mieszanie biomasy z nośnikiem, a także odpowiednie przechowywanie szczepionki. Istotne znaczenie ma utrzymanie sterylnych warunków, związanych z zachowaniem czystości preparatu wprowadzanego do handlu. Wprowadzanie do obrotu handlowego efektywnych biologicznie preparatów, będących alternatywą konwencjonalnych środków ochrony roślin, ma na celu ograniczenie chemizacji rolnictwa i degradacji środowiska przyrodniczego.

#### **4.3. Charakterystyka i znaczenie mikroorganizmów stosowanych w produktach mikrobiologicznych - bakterie z rodzaju *Bacillus***

Bakterie z rodzaju *Bacillus* to zazwyczaj tlenowe bądź względnie beztlenowe bakterie o kształcie laseczki, które są zdolne do tworzenia form przetrwalnikowych. Dzięki tej zdolności bakterie mogą przetrwać w niekorzystnych warunkach środowiska np. w glebie ubogiej w składniki pokarmowe, wodę czy zanieczyszczonej. Ponadto, przetrwalniki te są odporne na wysuszenie, wysokie temperatury, a także na środki dezynfekujące. Inną cechą charakterystyczną bakterii z rodzaju *Bacillus* jest zdolność do szybkiego wzrostu.



Zdjęcie 2. Bakterie z rodzaju *Bacillus* (Fot. M. Kozieł)

*Bacillus* sp. jest powszechnym rodzajem bakterii występującym na całym świecie w glebie, wodach słodkich i słonych, głębinach oceanów, osadach dennych i powierzchniowych, gorących źródłach, roślinach, przewodzie pokarmowym ssaków oraz żywności. Większość gatunków *Bacillus* to saprofity występujące w środowisku naturalnych, przede wszystkim w glebie, jednak wyróżnia się wśród nich kilka gatunków patogennych np. *B. anthracis*, które wywołają choroby u ludzi. Bakterie z rodzaju *Bacillus* produkują wiele różnych związków chemicznych, z których część może być wykorzystywana przez człowieka do produkcji enzymów, antybiotyków, insektycydów, witamin, kwasu hialuronowego i in.. Najlepiej poznanym i powszechnie wykorzystywanym do produkcji enzymów proteolitycznych gatunkiem jest *B. subtilis*. Natomiast *B. circulans*, *B. cereus* i *B. licheniformis* są wykorzystywane do produkcji antybiotyków (bacytracyny i gramicydyny S). Najważniejszą linią związków produkowanych z wykorzystaniem *B. amyloliquefaciens*, *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis* oraz *B. subtilis* są  $\alpha$ -amylazy, stosowane w przemyśle chemicznym, spożywczym, farmaceutycznym, tekstylnym i papierniczym. Z punktu widzenia rolnictwa bakterie z rodzaju *Bacillus* mogą być wykorzystywane na kilka sposobów (Fig. 10.).



Fig 10. Możliwości zastosowań bakterii z rodzaju *Bacillus* w rolnictwie

Na liście „Nawozowych produktów mikrobiologicznych” prowadzonej przez IUNG-PIB znajduje się 57 preparatów zawierających bakterie z rodzaju *Bacillus*. Większość z nich jest dedykowana ogólnie jako środki poprawiające właściwości gleby. Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że niektóre z nich mogą działać precyzyjnie jako fungicydy, insektycydy bądź po prostu jako nawóz czy biostymulator.

## Ochrona roślin

Bakterie z rodzaju *Bacillus* spp. wchodzi w skład biofungicydów oraz nawozów o działaniu fungistatycznym, a także insektycydów.

Preparaty z bakteriami *B. thuringiensis* były pierwszymi insektycydami biologicznymi stosowanymi już od początku lat 60 XX wieku na szeroką skalę w celu ochrony upraw. Bakteria ta produkuje toksynę -  $\delta$ -endotoksyna, 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 przykła-

du, badania IOR wykazały, że zastosowanie preparatu z *Bacillus thuringiensis* o 78% zmniejsza uszkodzenia liści spowodowanych przez stonkę ziemniaczaną. 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. amyloliquifaciens*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *B. megaterium*.

Tabela 1. Przykłady preparatów stosowanych w ochronie roślin zawierających bakterie z rodzaju *Bacillus*

Preparat	Składnik	Działanie	Zastosowanie
Integral Pro	<i>Bacillus amyloliquifaciens</i>	fungicyd; przeciwko suchej zgniliznie kapusty	rzepak ozimy i jary
OstriniaSTOP	<i>Bacillus</i> spp.	insektycyd; przeciwko larwom omacnicy prosowianki	kukurydza
DeliaSTOP	<i>Bacillus</i> spp.	insektycyd; do zwalczania larw śmietki kapuścianej i innych gatunków z rodzaju <i>Deli</i>	uprawy warzywnicze
Novodor SC	<i>Bacillus thuringiensis</i>	insektycyd; do zwalczania larw stonki ziemniaczanej	ziemniak
Amylo-X WG	<i>Bacillus amyloliquifaciens</i>	fungicyd; do zwalczania chorób roślin powodowanych przez grzyby i organizmy grzybopodobne	sałata głowiasta, roszonek i inne gatunki warzyw liściowych, truskawka, pomidor, oberżyna, papryka (w uprawie pod osłonami), pieczarka (w uprawie pod osłonami)
Serenade ASO	<i>Bacillus subtilis</i>	fungicyd; przeciwko chorobom grzybowym: szara pleśń, mączniak prawdziwy, rak bakteryjny, zaraza ogniowa, brunatna zgnilizna, plamistość zgodzelową, fuzarioza zgorzelowa, zgnilizna twardzikowa	uprawy sadownicze, warzywnicze i ogrodnicze
Serifel	<i>Bacillus amyloliquifaciens</i>	fungicyd; chroni przed szarą oraz zieloną pleśnią, a także przed zgnilizną twardzikową	uprawy warzywnicze i sadownicze

Zumba Plant	<i>Bacillus</i> spp.	zwiększa odporność roślin na wiele chorobotwórczych drobnoustrojów, w tym rasy odporne grzybów patogennych	uprawy warzywnicze i sadownicze
Lepinox Plus	<i>Bacillus thuringiensis</i>	insektycyd; zwalcza ćmę bukszpanową oraz gąsienice motyli: zwójka krzyżoweczka, piętnówka kapustnica, tantniś krzyżowiaczek, bielnek kapustnik i inne	uprawy bardzo wielu roślin, ozdobnych, warzywnych oraz owocowych
Dipel DF	<i>Bacillus thuringiensis</i>	insektycyd; selektywne zwalczanie gąsienic motyli	uprawy warzywnicze i sadownicze
BacterPlant	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus megaterium</i>	ogranicza występowanie chorób	uprawy warzywnicze i sadownicze

### Stymulacja wzrostu roślin i poprawa żyzności gleby

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 (Fig. 11.).



Fig. 11. Właściwości bakterii z rodzaju *Bacillus* mające wpływ na rozwój roślin (opracowanie własne)

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.

Wśród związków produkowanych przez *Bacillus* spp. można wymienić:

- kwas indolilo-2-octowy (IAA) oraz inne auksyny;
- gibereliny;
- proteazy;
- amylazy;
- celulazy;
- siderofory.

Ponadto, niektóre bakterie z tego rodzaju - *B. azotofixans* - mają również zdolność do asymilacji azotu atmosferycznego i przekształcania go w związki azotowe, które są łatwo przyswajalne dla roślin.

Tabela 5. Przykłady mikrobiologicznych preparatów nawozowych 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 patogeny grzybowe
Glebostan	<i>Bacillus</i> sp.	odbudowuje warstwę próchniczą gleby, zwiększa jej właściwości sorpcyjne
bi azot	<i>Bacillus azotofixans</i>	przyspieszający rozkład materii organicznej oraz wzbogacający glebę w łatwo przyswajalny dla roślin azot pochodzący z atmosfery

bi fosfor	<i>Bacillus megaterium</i>	pomaga wzbogacać glebę w łatwo przyswajalny dla roślin fosfor
bi protect	<i>Bacillus subtilis</i>	przyspiesza rozkład materii organicznej, bierze udział w tworzeniu struktury gleby, poprawia stan fitosanitarny i udostępniania składniki odżywcze roślinom
bi complex	<i>Bacillus</i> sp.	przyspiesza rozkład materii organicznej, wzbogaca glebę w łatwo dostępny dla roślin azot i fosfor, naturalnie poprawia stan fitosanitarny gleby oraz działa wzmacniająco na rośliny
bi safe	<i>Bacillus</i> sp. <i>Trichoderma</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp.	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
bi słoma	<i>Bacillus</i> sp. <i>Trichoderma</i> sp.	przeznaczony do stosowania w celu przyspieszania rozkładu resztek poźniwnych i słomy

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

Efektem stosowania preparatów z bakteriami *Bacillus* spp. jest m.in. przyspieszony wzrost kiełkowania, poprawa ukorzenienia roślin oraz rozbudowa systemu korzeniowego, zwiększony plon roślin, wzrost akumulacji selenu, większa odporność na długotrwałe warunki stresowe. Na przykład, 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%. Również badania dotyczące wpływu *Bacillus* spp. na wzrost kukurydzy i soi wykazały zwiększoną masę pędów i korzeni oraz znaczny wzrost produktywności po zaprawieniu nasion bakteriami.

## 4.4. Charakterystyka bakterii rozpuszczających fosforany

Fosfor (P) zajmuje ważne miejsce obok azotu i potasu i jako jeden z trzech podstawowych makroskładników odżywczych jest niezbędny do prawidłowego wzrostu roślin. Składnik ten odgrywa kluczową rolę w złożonych przemianach energetycznych niezbędnych do życia roślin, przede wszystkim w procesie fotosyntezy. Jest także głównym składnikiem DNA i RNA (materiał genetyczny). Ponadto, fosfor stymuluje rozwój korzeni - pobieranie przez roślinę składników pokarmowych z gleby, utrzymania rośliny w podłożu oraz pobieranie wody.

Fosfor jest potrzebny roślinie od etapu siewki do osiągnięcia pełnej dojrzałości – i ma wymierny wpływ na jakość i ilość plonów. Wpływ fosforu na wzrost i rozwój roślin przedstawiono na Fig. 12. schemacie.



Fig. 12. Schemat przedstawiający role fosforu we wzroście i rozwoju roślin (opracowanie własne)

### Niedobór fosforu

Znaczenie fosforu w uprawie roślin jest bardzo korzystne. Dlatego też, niedobór fosforu może mieć niszczący wpływ na wzrost i rozwój roślin. Rośliny cierpiące na niedobór fosforu wykazują kilka charakterystycznych oznak, takich jak zahamowanie wzrostu i zabarwienie włókien od ciemnozielonego do czerwono-fioletowego (spowodowane nagromadzeniem cukrów). Niedobory fosforu w późniejszym okresie wegetacji negatywnie wpływają na rozwój nasion i owoców, a także na dojrzałość płodów rolnych.

### Źródła fosforu w glebie

Stężenia P mieści się w zakresie 500-800 mg/kg suchej gleby. Średnia zawartość fosforu w glebie wynosi około 0,05% (w/w), jednak tylko 0,1% tego fosforu jest dostępna dla roślin. Największa jego ilość znajduje się w przypowierzchniowych warstwach gleby, a zmniejsza się wraz z głębokością profilu glebowego.



Fosfor glebowy występuje w dwóch formach, a mianowicie w organicznej i nieorganicznej. Organiczne formy fosforu obejmują martwe pozostałości roślinne/zwierzęce i mikroorganizmy glebowe. Te dwie formy razem składają się na całkowity fosfor glebowy.

Formy glebowego fosforu dostępne dla roślin to:

- anion ortofosforanowy  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (fosforan dwuwodorowy)
- anion ortofosforanowy  $\text{HPO}_4^{2-}$  (fosforan jednowodorowy).

Niedobór fosforu glebowego jest często uzupełniany poprzez stosowanie nawozów fosforowych (organicznych oraz nieorganicznych/mineralnych). Skuteczność stosowanych mineralnych nawozów fosforowych jest ograniczona, ze względu na ich utrwalenie w postaci fosforanu żelaza/glinu w glebach kwaśnych albo w postaci fosforanu wapnia w glebach obojętnych do zasadowych. Ponadto, nadmierne stosowanie nawozów mineralnych może przyczynić się do pogorszenia stanu środowiska przyrodniczego m.in.:

- zanieczyszczenie wód gruntowych
- eutrofizacja zbiorników wodnych
- utrata jakości i różnorodności biologicznej gleb
- akumulacja szkodliwych związków.

W związku z powyższym poszukuje się alternatywnych źródeł fosforu, tak by nie powodować zanieczyszczenia środowiska glebowego oraz przeciwdziałać negatywnym scenariuszom dotyczącym kurczenia się zasobów fosforu. Jednym z możliwych sposobów jest wykorzystanie biopreparatów zawierających w swoim składzie mikroorganizmy wykazujące wysoki potencjał w mobilizacji składników pokarmowych.

### **Mikroorganizmy solubilizujące fosforany - Biopreparaty**

Mikroorganizmy solubilizujące fosforany (z ang. Phosphate solubilizing microorganisms, PSM), to duża grupa mikroorganizmów, która pośredniczy w zwiększeniu biodostępności fosforu w glebie, odgrywając kluczową rolę w cyklu biochemicznym P w glebie poprzez mineralizację organicznego P, solubilizację nieorganicznych minerałów P i magazynowanie dużych ilości P w biomacie (Fig. 13.). Mikroorganizmy są w stanie solubilizować nierozpuszczalny w glebie fosforan, udostępniając go roślinom i w ten sposób biorą udział w ochronie środowiska, zmniejszając negatywne skutki stosowania agrochemikaliów.



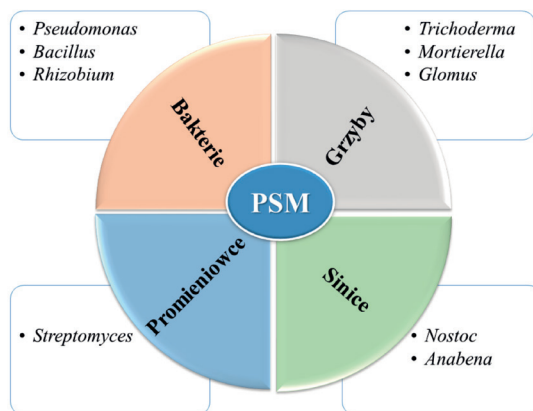


Fig. 13. Bioróżnorodność PSM – przykładowe rodzaje mikroorganizmów PSM (opracowanie własne)

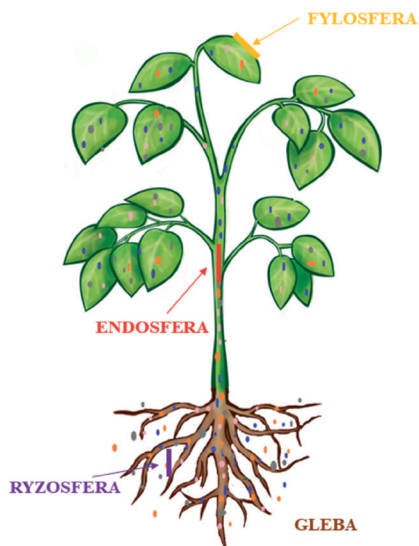


Fig 14. Miejsca występowania PSM (opracowanie własne)

Jednym z pierwszych etapów opracowywania biopreparatów z komponentem mikrobiologicznym jest izolacja wytypowanych mikroorganizmów. W warunkach laboratoryjnych PSM są izolowane przy użyciu standardowych podłoży agarowych. Najbardziej rozpowszechnionym podłożem jest pożywka Pikovskaya zawierająca nierozpuszczalny fosforan triwapijonowy  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Roztwór glebowy rozprowadzany jest na powierzchni podłoża agarowego. Po inkubacji w temperaturze  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , organizmy wykazujące przezroczystą strefę halo wokół kolonii są uznawane za wykazujące aktywność solubilizacji fosforanów. Takie izolaty są następnie zidentyfikowane za pomocą metod genetycznych bazujących na sekwencjonowaniu materiału genetycznego (Fig. 15.).

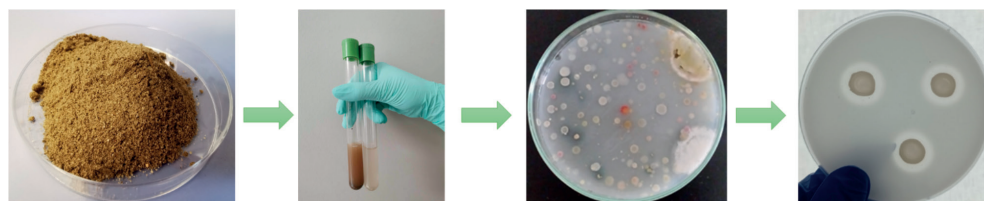


Fig. 15. Schemat przedstawiający etapy izolacji bakterii PSB (opracowanie własne)

Ogólnie, solubilizacja/mineralizacja nieorganicznych/organicznych form fosforu zachodzi poprzez jeden z trzech mechanizmów:

- wytwarzanie kwasów organicznych
- wydalenie jonów  $H^+$
- syntezę enzymów

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. Za najskuteczniejszych solubilizatorów fosforanów, a jednocześnie za najczęściej spotykanych w biopreparatach uważa się bakterie z rodzajów *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* oraz grzyby z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*.

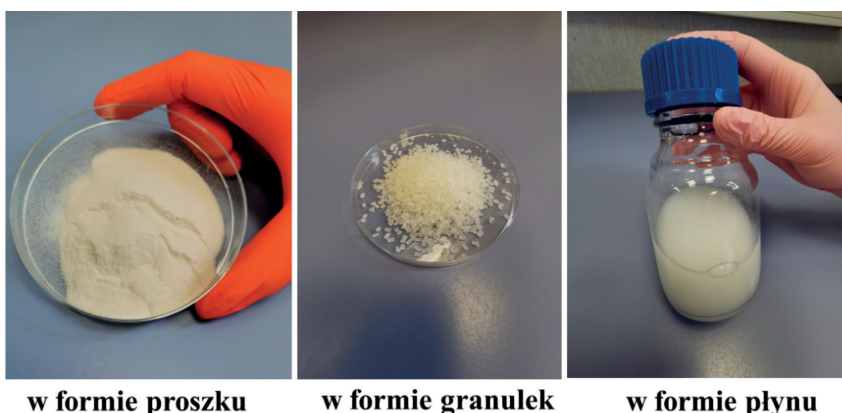
Na rynku polskim występuje wiele biopreparatów zawierających w swoim składzie PSM (Tabela 5).

Tabela 6. Przykłady preparatów zawierających bakterie PSM.

Nazwa preparatu	Rola	Skład	Dedykowany dla:
<b>FosfoPower</b>	Ogranicza ilość stosowanych mineralnych nawozów fosforowych; Zwiększa efektywność nawożenia mineralnego; Poprawia plonowanie roślin uprawnych	Wyselekcjonowane, niepatogenne szczepy bakterii PSB o wysokiej koncentracji	Wszystkie rośliny
<b>bi fosfor</b>	Wzbogaca glebę w łatwo przyswajalny dla roślin fosfor pochodzący z rozkładu jego złożonych i nierozpuszczalnych form; Pobudza wzrost roślin, co wpływa na zwiększenie plonu i podniesienie jego jakości	Wyselekcjonowane bakterie fosforowe <i>Bacillus megaterium</i>	Wszystkie rośliny; produkt certyfikowany do upraw ECO

Nazwa preparatu	Rola	Skład	Dedykowany dla:
<b>BIOFOSFORIN</b>	Zwiększa plony i jakość produktów, kiełkowanie nasion, dobre ukorzenie; Aktywuje pożyteczną mikroflorę i poprawia mikrostrukturę gleby	Wyselekcjonowane bakterie fosforowe <i>Bacillus megaterium</i>	Preparat poprawiający właściwości gleby; dedykowany dla warzyw, krzewów i drzewek owocowych, oraz roślin ozdobnych;
<b>MegaFos</b>	Przyspiesza wzrost korzeni i pobieranie składników odżywczych i wody przez rośliny; Poprawia strukturę gleby zwiększając jej zdolność do utrzymywania wody i składników odżywczych, Stymuluje produkcję fitohormonów (np. auksyn, cytokinin), które pobudzają wzrost systemu korzeniowego; Inicjuje naturalne mechanizmy odporności roślin poprzez syntezę ich białek odpornościowych	Wyselekcjonowane bakterie <i>Priestia megaterium</i> ( <i>Bacillus megaterium</i> )	Kukurydza, Zboża, Rzepak, Słonecznik, Strączkowe (soja, łubiny, fasola, groch) Warzywa
<b>Bakto Pro-FOS</b>	Zwiększa plony; Poprawia ukorzenie roślin; Zwiększa żyzność gleby; Obniża koszty nawożenia	Endospory bakterii glebowych <i>Bacillus megaterium</i>	-

Bionawozy zawierające PSM mogą występować w wielu formach m.in.: w formie proszku, granulek lub w formie płynnej.



**w formie proszku**

**w formie granulek**

**w formie płynu**

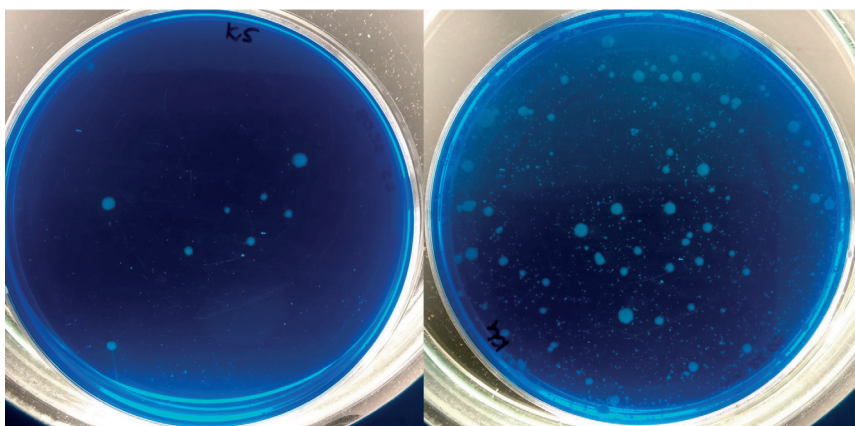
Fig. 16. Formy występowania bionawozów (opracowanie własne)

W literaturze przedmiotu, odnotowano wiele przykładów wykorzystania PSM jako biopreparatów. Badania naukowców 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 (Phosphate solubilizing fungi) wraz z nawozem P wykazało około 20-23 % wyższy plon kukurydzy w porównaniu z kontrolą. Natomiast, w innych badaniach odnotowano, że koinokulacja bakteriami fosforowymi *Pseudomonas moraviensis*, *Bacillus safensis* i *Falsibacillus pallidus*, pszenicy spowodowała znaczny wzrost roślin oraz zwiększenie stabilnej frakcji fosforu w glebie.

Należy podkreślić, że stosowanie bionawozów fosforowych zawierających mikrobiologiczne inokulanty to obiecujące podejście do poprawy produkcji żywności i zwiększenia plonów. Mikroorganizmy solubilizujące fosforany mogą ponadto sprzyjać wzrostowi roślin poprzez zwiększanie wydajności biologicznego wiązania azotu i syntezy fitohormonów oraz zwiększanie dostępności niektórych mikroelementów, takich jak cynk i żelazo.

## 4.5. Charakterystyka bakterii kwasu mlekowego

Bakterie kwasu mlekowego zwane również bakteriami mlekowymi (z ang. *Lactic Acid Bacteria* - LAB) to grupa bakterii zdolnych do fermentacji mlekowej, podczas której wykorzystują węglowodany i wytwarzają kwas mlekowy. Bakterie o tej zdolności należą do rodziny Lactobacteriaceae, a najbardziej znane z tej grupy są bakterie z rodzaju *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*). Jednakże zalicza się do nich również *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium* i *Bifidobacterium*. Bakterie kwasu mlekowego występują naturalnie na roślinach oraz w układzie pokarmowym człowieka i zwierząt. Bakterie te posiadają status GRAS (z ang. *Generally Recognised As Safe*) czyli powszechnie uznawane są za bezpieczne do stosowania przez ludzi.



Zdjęcie 3. Bakterie kwasu mlekowego na podłożu z błękitem chińskim  
(Fot. K. Gawryjolek)

Bakterie kwasu mlekowego mają również zdolność do hamowania wzrostu grzybów pleśniowych i bakterii patogennych (produkują bakteriocyny, substancje przeciwczybiczne), a także do ograniczania występowania mykotoksyn. Dzieje się tak dzięki zdolności tych bakterii do zakwaszania środowiska, nawet do pH poniżej 5,0, co stwarza warunki sterylizujące i konserwujące.

Dzięki swoim właściwościom, bakterie te są wykorzystywane w produkcji spożywczych produktów fermentowanych (kefiry, sery, maślanki, jogurty, masło i in.), niektórych wędlin (np. salami), kiszonek spożywczych (kiszone warzywa i owoce) oraz zakwaszania ciast w piekarnictwie. Ponadto bakterie mlekowe są wykorzystywane do produkcji polimerów na bazie polilaktydu (biodegradowalne tworzywo sztuczne), rozpuszczalników, żywności fermentowanej oraz białek i leków.

Kwas mlekowy będący produktem bakterii kwaszących jest stosowany w przemyśle spożywczym i rolnictwie:

- a) przemysł spożywczy:
- produkcja przetworów owocowych, warzywnych, rybnych, mięsnych;
  - piwowarstwo, winiarstwo;
  - produkcja napojów;
  - piekarnictwo;
  - mleczarstwo;
- b) rolnictwo:
- żywienie drobiu, trzody chlewnej i bydła;
  - kiszenie pasz;
  - pszczelarstwo - przeciwno warrozie.

### Produkcja kiszonek

Bakterie kwasu mlekowego są przede wszystkim stosowane do produkcji kiszonek<sup>3</sup>. Proces ten zachodzi samoistnie i naturalnie dzięki obecności mikroorganizmów na materiale roślinnym, ale może być również wspomagany poprzez dodawanie tzw. kultury starterowej, która może przyspieszyć kiszenie. Ważną rolę w zakiszaniu odgrywa *Lactobacillus plantarum*, który jest zdolny do szybkiego zasiedlania świeżej masy i przeprowadzania szybkiej fermentacji. W kiszonkach najczęściej występują bakterie: *L. plantarum*, *L. graminis*, *L. fermentum*, *Entero-roccoccus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus damnosus*, *Pediococcus pentosaceus* i *Pediococcus acidilactici*. Na rynku są dostępne preparaty mikrobiologiczne tzw. zakiszacze bakteryjne, które są stosowane do zakiszania pasz objętościowych (Tabela 7).

Tabela 1. Przykłady zakiszaczy bakteryjnych dostępnych na rynku

Preparat	Skład	Roślina
Zakiszacz premiks dodatków do kisonki, 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
<b>Microsile, Polsil</b>	<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
<b>Microsile Stabilizator, Polsil</b>	<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

W preparatach tego typu mogą znajdować się same bakterie bądź bakterie z dodatkiem enzymów amylolitycznych i celulolitycznych, które wspomagają proces kisenia.

### Wspomaganie upraw

Na liście nawozowych produktów mikrobiologicznych IUNG-PIB znajduje się 16 preparatów zawierających bakterie kwasu mlekowego. 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. *L. plantarum* oprócz silnych właściwości kiszących wykorzystywanych przy produkcji kiszonek, charakteryzuje się również zdolnością do syntezy bakteriocyny (laktoliny) działającej podobnie jak antybiotyki oraz wzrostem w szerokim zakresie warunków środowiskowych (pH 3,4-8,8; temperatura 12-40°C). Dzięki temu bakteria szybko kolonizuje glebę i rośliny ograniczając jednocześnie wzrost mikroorganizmów patogennych (Tabela 8).



Tabela 8. Przykłady preparatów zawierających bakterie mlekowe wspomagających wzrost roślin

Preparat	Skład	Zastosowanie	Działanie (wg producenta)
Fundamental	bakterie kwasu mlekowego <i>Saccharomyces</i> sp. <i>Rhodopseudomonas</i> sp.	polowe, warzywnicze, sadownicze, rośliny ozdobne, trawniki, użytki zielone, ogrodnictwo, uprawy ekologiczne	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>Saccharomyces</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
BaktoTarcza O	<i>Bacillus</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Lactobacillus</i> sp. <i>Streptomyces</i> sp.	warzywnicze, sadownicze, rośliny ozdobne, pod osłonami, uprawy ekologiczne	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, uprawy ekologiczne	probiotyk dla roślin; stymuluje wzrost i rozwój roślin, indukuje naturalną odporność, korzystnie wpływa na wysokość i jakość plonu



Preparat	Skład	Zastosowanie	Działanie (wg producenta)
Gard T	<i>Bacillus</i> sp. <i>Pseudomonas</i> sp. <i>Lactobacillus</i> sp.	polowe, uprawy ekologiczne	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, uprawy ekologiczne	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
Microbiotix Complex	<i>Lactobacillus</i> sp. <i>Lactocaseibacillus</i> sp. <i>Limosilactobacillus</i> sp. <i>Rhodococcus</i> sp. <i>Rodhospseudomonas 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

Preparat	Skład	Zastosowanie	Działanie (wg producenta)
Elbio Terra Ivo	<i>Bifidobacterium animalis</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Limosilactobacillus fermentum</i> <i>Lactocaseibacillus 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 biofilm, 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

Preparaty zawierające bakterie kwasu mlekowego chronią rośliny przed rozwojem mikroorganizmów patogennych i mogą być stosowane jako profilaktyka zakażeń. Ponadto przyspieszają rozkład resztek poźniwnych poprzez prowadzoną przez bakterie fermentację.

Należy mieć na uwadze, że producenci pod hasłem „probiotyki dla roślin” opisują różne preparaty wspomagające wzrost roślin, nie tylko te zawierające bakterie kwasu mlekowego.

## 4.6. Grzyby mykoryzowe oraz grzyby entomopatogeniczne jako składnik preparatów mikrobiologicznych

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. Ze względu na dużą liczebność do grzybów zalicza się jednokomórkowe organizmy jak drożdże czy wielokomórkowe organizmy jak grzyby strzępkowe, w tym grzyby makroskopowe tworzące owocniki. Grzyby zasiedlają większość środowisk chociaż głównie są to ekosystemy lądowe. Biorą udział w obiegu składników odżywczych. Mogą być patogenami, pasożytami lub symbiontami innych organizmów. Badacze coraz częściej podejmują się wykorzystywania grzybów pozytywnie działających na rośliny jako potencjalnych czynników biokontroli.

### Grzyby mykoryzowe – definicja i typy

Mykoryza jest silnym związkiem symbiotycznym między grzybami żyjącymi w glebie a drobnymi korzeniami roślin. Powstające dzięki mykoryzie struktury umożliwiają czerpanie korzyści obu partnerom. Wyróżniamy dwa główne typy mykoryz: mykoryzę zewnętrzną (ektomykoryzę) i mykoryzę wewnętrzną (endomykoryzę). Grzyby mykoryzowe rzadko są specyficzne wyłącznie dla jednego gospodarza, oznacza to, że jeden gatunek grzyba mykoryzowego jest w stanie skolonizować kilka gatunków roślin. Powstająca sieć mykoryzowa pozwala na transport składników odżywczych oraz przekazywanie sygnałów między roślinami, które są od siebie oddalone. Połączenia te zapewniają większą szansę na przetrwanie i wzrost, co daje różnorodnej gatunkowo grupie roślin wspólną stabilność w zmieniających się warunkach środowiska.

Ektomykoryzy przeważają w chłodniejszych regionach i ekosystemach o niskiej różnorodności gatunkowej gospodarzy, np. w lasach strefy umiarkowanej i borealnej. Roślinnymi partnerami ektomykoryzy są głównie drzewa np. dąb, sosna, buk. Grzybami ektomykoryzowymi są głównie pospolite grzyby leśne np. muchomor, mleczał lub maślak. Podczas ektomykoryzy grzyby wytwarzają ze strzępek tzw. płaszcz osłonkowy czyli wielowarstwowy zespół komórek, który transportuje substancje odżywcze do gospodarza roślinnego. Ponadto powstaje sieć Hartiga, transportująca substancje odżywcze pomiędzy dwoma partnerami (Fig. 17.).

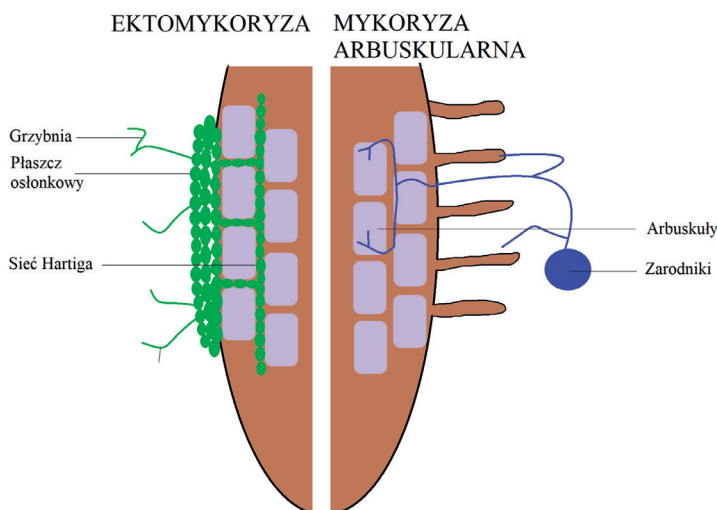


Fig. 17. Charakterystyczne struktury wytwarzane przez grzyby ektomykoryzowe oraz grzyby mykoryzyarbuskularnej (opracowanie własne)

Endomykoryza nazywana jest mykoryzą abuskularną lub mykoryzą pęcherzykowo-albuskularną. Grzyby endomykoryzowe dominują w ciepłym klimacie i ekosystemach bogatych w różne gatunki roślin, takich jak lasy tropikalne. Mykoryza abuskularna często opisywana jest wśród roślin uprawnych. Grzybami tworzącymi mykoryzę arbuskularną najczęściej są: *Acaulospora*, *Glomus*, *Gigaspora*, *Entrophospora* i *Scutellospora*. W skutek mykoryzy arbuskularnej powstają wewnątrzkomórkowe arbuskuły lub zwoje strzępek odpowiedzialne za wymianę substancji odżywczych z gospodarzem roślinnym. Niektóre endomykoryzowe grzyby są zdolne do wytwarzania pęcherzyków nazywanych wezikułami funkcjonującymi jako organy magazynujące lipidy (Fig. 17, Tabela 9).

Tabela 9. Porównanie ektomykoryzy z endomykoryzy.

	<b>Ektomykoryza</b>	<b>Endomykoryza</b>
<b>Sposób kolonizacji gospodarza</b>	Pozakomórkowa kolonizacja	Wewnątrzkomórkowa kolonizacja
<b>Częstość występowania</b>	Mniej powszechna w środowisku	Często występuje w środowisku
<b>Klimat</b>	Przeważa w chłodniejszym klimacie np. w lasach strefy umiarkowanej i borealnej	Dominuje w ciepłym klimacie np. lasy tropikalne
<b>Charakterystyczne struktury</b>	- Płaszcz osłonkowy - Sieć Hartiga	- Arbuskuły - Wesikuły

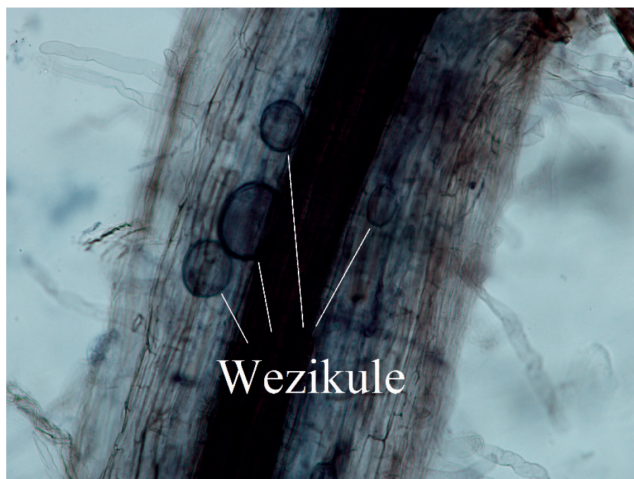


Fig. 18. Preparat mikroskopowy przedstawiający wewnątrz korzeniowe struktury charakterystyczne dla grzybów mykoryzy arbuskularnej - wezikule (powiększenie 40x)

### Znaczenie mykoryzy dla roślin

Niesprzyjające warunki środowiskowe ograniczają prawdopodobieństwo przetrwania roślin. Wpływając na plantacje rolne prowadzą do ograniczonego wzrostu oraz zaburzenia metabolizmu wynikające ze zmniejszonego pobierania makroelementów i mikroelementów. Wpływ niekorzystnych czynników zewnętrznych może zostać ograniczony przez relacje roślin z grzybami mykoryzowymi. Grzyby mykoryzy arbuskularnej regulują tolerancję roślin na zawartość metali ciężkich w glebie. Złagodzenie toksyczności metali ciężkich może wiązać się ze zmniejszonym ich pobieraniem przez rośliny na skutek gromadzenia w grzybni wewnątrzkomórkowej albo zmian w rozpuszczalności metali, w których pośredniczą zmiany w roztworze glebowym w zabiegach mykoryzowych. W innych przypadkach wykazano, że mykoryza arbuskularna zwiększa pobór metali ciężkich przez rośliny, które gromadzą się głównie w korzeniach. Zmniejszenie toksyczności wynika z poprawy odżywiania fosforu, co przekłada się na lepszy wzrost rośliny.

Arbuskularne grzyby mykoryzowe mogą chronić roślinę przed negatywnym działaniem suszy poprzez zwiększoną wymianę gazową, stosunek wody w liściach, przewodnictwo w aparatach szparkowych oraz szybkość transpiracji. Ponadto w natychmiastowych warunkach suszy poprawiają wielkość i wydajność systemu korzeniowego, wskaźnik powierzchni liści oraz biomasę. Badania sugerują korzystny wpływ grzybów mykoryzy arbuskularnej na rośliny w zasolonej glebie poprawiając szybkość fotosyntezy, przewodnictwo aparatów szparkowych i stosunki wody w liściach. Odnotowano również pozytywny wpływ grzybów arbuskularnych na wzrost roślin w warunkach wahania temperatury (Fig. 19).

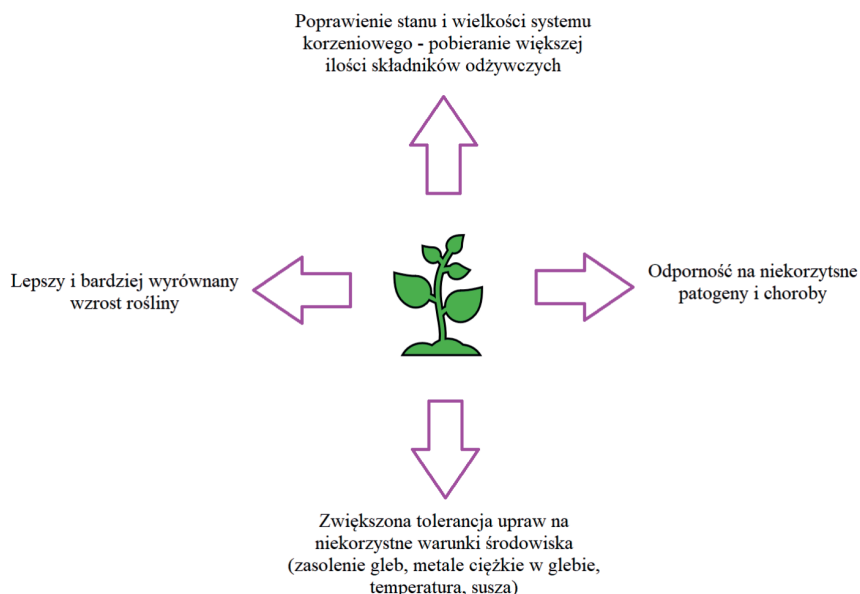


Fig. 19. Korzyści dla roślin wynikające z mykoryzy (opracowanie własne)

Grzyby endomykoryzowe oraz ektomykoryzowe wykształciły różne metody ochrony korzeni roślin przed patogenami. Konkurują z mikroorganizmami chorobotwórczymi o składniki odżywcze produkowane przez rośliny i miejsca kolonizacji w korzeniach. Stymulują roślinę do produkcji i wydzielania związków o charakterze obronnym (Fig. 19). Dzięki obecności płaszcza osłonkowego grzyby ektomykoryzowe pozwalają zabezpieczyć korzeń przed infekcją powodowaną przez patogeny np. *Phytophthora quercina* atakująca korzenie dębu. Wśród drobnoustrojów roślin przed którymi chronią grzyby endomykoryzowe znajdują się *Fusarium oxysporum* atakujące truskawkę, ogórki, ciecierzycę, *Armillaria mellea* atakujące winorośl, *Phytophthora parasitica* atakujące pomidory, *Aphanomyces euteiches* atakujące groch lub *Rhizoctonia solani* atakujące fasolę. Poza korzyściami osiąganymi przez rośliny dzięki grzybom mykoryzowym poprawia się struktura gleby. Ponadto tworzą się agregaty glebowe, co pozytywnie wpływa na jej jakość i zdrowie roślin.

### Zastosowanie grzybów mykoryzowych w rolnictwie

Preparaty mikrobiologiczne na bazie grzybów mogą występować w postaci proszku lub roztworu. Szczepionki mykoryzowe aplikuje się poprzez zanurzenie korzeni roślin w roztworze albo do glebowo poprzez wszczepianie między korzenie roślin. Można zastosować także aplikację posypową do dołków przed sadzeniem, do doniczki albo w do rowków w obrębie systemu korzeniowego. Zabiegi te mają na celu szybkie i skuteczne otoczenie systemu korzeniowego przez grzybnie. Metody aplikacji i minimalna ilość inokulantów mykoryzowych są ważne dla skutecznej kolonizacji systemu korzeniowego roślin. Specyficzność gatunkowa grzybów mykoryzowych

w stosunku do genotypu rośliny jest kluczowym czynnikiem umożliwiającym uzyskanie znaczącej odpowiedzi rośliny.

Grzyby mykoryzowe wspomagają pobieranie P, K, S i Zn przez pszenicę (*Triticum aestivum* L.), która jest jedną z głównych roślin uprawnych. Podczas aplikacji na polu uprawnym potrzebna jest duża ilość inokulum, aby osiągnąć pożądany efekt. Jest to jedno z podstawowych ograniczeń w stosowaniu grzybów mykoryzowych. Aby je pokonać powlecano nasiona pszenicy grzybami *Glomus intraradices*. Okazało się, że taki system dostarczenia grzybów do systemu korzeniowego pozwala na pobieranie makroelementów i mikroelementów jak w przypadku metody konwencjonalnej oraz dodatkowo zwiększa wzrost pędów. Umożliwia to zmniejszenie wymaganej ilości inokulum, redukcję kosztów i ograniczenie stosowania nawozów chemicznych. Poza tym grzyby mykoryzowe potrafią pośrednio wpływać na rośliny wpływając na społeczność bakterii. Udowodniono, że grzyby *Glomus intraradices* zwiększają ilość bakterii gram-ujemnych i gram-dodatnich w uprawach pszenicy odpowiednio o 37% i 56%. Ogranicza to negatywny wpływ niekorzystnych warunków stresowych (temperatura, susza, składniki odżywcze i zanieczyszczenia) na roślinę.

Wpływ niekorzystnych warunków środowiska jest niwelowany przez grzyby mykoryzowe również wśród drzew liściastych. Sól niekorzystnie wpływa na sliwę, a objawy zależą od wieku i wysokości rośliny. Środowisko zasolone związane jest z obniżoną ilością dostępnego fosforu (P) co niekorzystnie wpływa na aktywność enzymów umożliwiających pobieranie składników odżywczych. Niska sucha masa rośliny ogranicza kolonizację grzybów mykoryzowych. Sprawdzono skuteczność grzybów *G. mosseae* i grzybów fosforanolubilizujących (*Mortierella* sp.) w tolerancji zasolenia przez *Prunus maritima* (śliwa plażowa). Potwierdzono korzystny wpływ grzybów mykoryzowych na aktywność enzymów (fosfatazy, ureazy i proteazy) oraz na suchą masę. Oceniono także wpływ *Paraglomus occultum*, *G. etunicatum* i *G. mosseae* na wzrost i pobieranie składników odżywczych przez sliwy w warunkach stresu solnego. Rośliny inokulowane zarodnikami mykoryzowymi wykazywały zwiększone biomasę, kolonizację korzeni oraz pobieranie składników odżywczych (N, Ca, Mg, Cu, Zn i Mn).

## **Grzyby entomopatogeniczne – charakterystyka i znaczenie w rolnictwie**

Szkodniki stanowią ważny czynnik ograniczający produktywność roślin. Szacuje się, że prowadzą do start rocznej produkcji rolnej rzędu 18-26%. Żerując na podziemnych i nadziemnych częściach roślin wyrządzają szkody w ważnych gospodarczo uprawach oraz przenoszą choroby roślin. Do ich zwalczania można wykorzystywać preparaty mikrobiologiczne na bazie grzybów entomopatogenicznych, czyli organizmów wykazujących właściwości chorobotwórcze lub zależności o charakterze pasożytniczym względem żywych stawonogów, głównie owadów i roztoczy. Infekcji mogą ulec wszystkie stadia rozwojowe owada od jaj przez larwy, poczwarki, nimfy i osobniki dorosłe. Grzyby pasożytujące na owadach mogą powodować epizoocje, czyli sponta-



niczne masowe infekcje osobników danej populacji. Wysoka wirulencja w stosunku do konkretnego szkodnika jest cechą pożądaną podczas poszukiwania najlepszych szczepów do opracowania biopreparatów. Jest wiele form w jakich grzyby entomopatogeniczne mogą być stosowane do zwalczania szkodników. Biopestycydy zawierające zarodniki wykorzystuje się w uprawach zagrożonych masowym pojawianiem się szkodników. Z kolei preparaty oparte na toksycznych związkach produkowanych przez grzyby podczas infekcji są nadal opracowywane. W selekcjonowaniu tych toksycznych związków ważne jest, aby nie wykazywały negatywnego wpływu na inne organizmy.

Zarodniki grzybów entomopatogenicznych mogą być przenoszone przez wiatr albo martwe ciała owadów. Do zapoczątkowania infekcji niezbędne są odpowiednia temperatura, wilgotność powietrza oraz bezpośredni kontakt z ciałem żywiciela. Cykl życiowy rozpoczyna się od wykiełkowania zarodników na powierzchni ciała owada. Następnie grzyb wnika do wnętrza owada dzięki naciskowi mechanicznemu oraz enzymom degradującym powłoki ciała. Grzyb namnaża się, przez co wnętrze owada zostaje wypełnione przez strzępki. W tym czasie owad przemieszcza się i jest zdolny do żerowania. Dzięki substancjom wytwarzanym przez grzyby pasożytnicze dochodzi do osłabienia reakcji obronnych i odpornościowych gospodarza. Po śmierci owada i całkowitym wykorzystaniu składników odżywczych strzępki wydostają się na powierzchnię owada w celu wytworzenia i rozprzestrzenienia zarodników. Wytwarzane licznie zarodniki zarażają kolejne osobniki w populacji szkodników.

W Polsce do zwalczania *Otiorhynchus sulcatus* (F.) (opuchlaka truskawkowca) dostępne są preparaty zawierające grzyba entomopatogenicznego *Metarhizium anisopliae* var. *Anisopliae* szczep F52. *O. sulcatus* to szkodnik głównie truskawki, borówki wysokiej i maliny. Lokalnie prowadzi do szkód o znaczeniu gospodarczym. Największe zagrożenie stanowią larwy żerujące na korzeniach. Osłabienie wzrostu, więdnienie oraz zamieranie roślin to objawy charakterystyczne dla zasiedlonej i uszkodzonej plantacji. W drugiej połowie maja i na początku czerwca w skutek aktywności wyrosniętych larw obserwuje się nasilenie objawów. Aby skutecznie zwalczyć zasiedlone i uszkodzone przez *O. sulcatus* plantacje truskawek, należy je zlikwidować. Przedtem należy pozbyć się szkodników, w tym celu trzeba zastosować odpowiednią technikę opryskiwania, która pozwoli na pokrycie przez preparat roślin i gleby pod nimi.

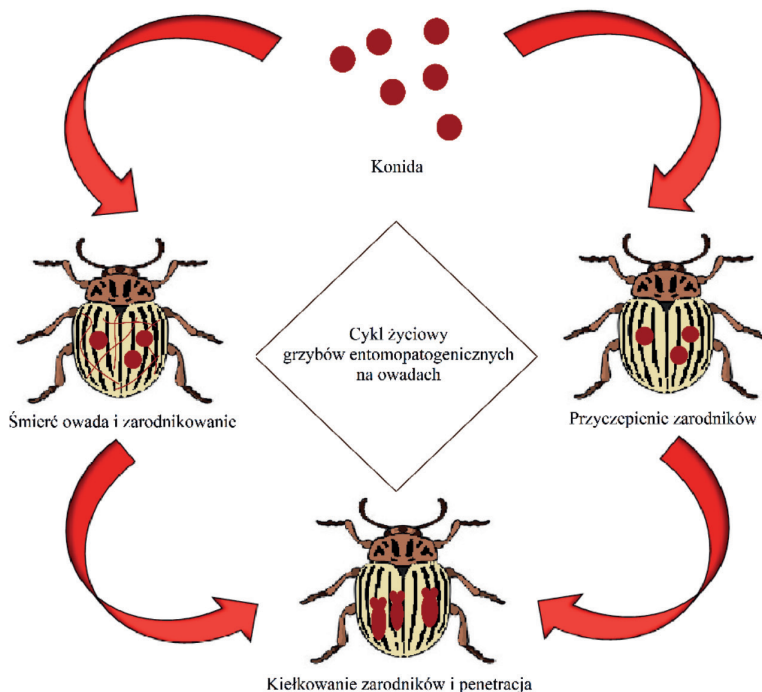


Fig. 20. Schemat infekcji owada (stonka ziemniaczana) przez grzyby entomopatogeniczne

Oprócz zwalczania szkodników upraw grzyby entomopatogeniczne mogą wnikać w tkanki roślin pozytywnie wpływając na ich wzrost i rozwój dlatego pełnią rolę endofitów. Dzięki temu zapewniają ochronę przed stresami biotycznymi (działaniem szkodników i chorób) oraz stresami abiotycznymi (deficyt wody, niedobór składników odżywczych i inne). Stopień kolonizacji tkanek i organów gospodarza oraz trwałość grzyba zależy od gatunku rośliny, szczepu grzyba entomopatogenicznego oraz sposobu kolonizacji tkanek gospodarza (miejscowa lub ogólnoustrojowa). *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. 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.

Tabela 10. Środki owadobójcze z grzybami dopuszczone do stosowania w Polsce (Źródło: Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi)

Nazwa preparatu	Gatunek grzyba	Szkodnik	Roślina	Uwagi
1020	<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>anisopliae</i> szczep F52 – 20 g	opuchlak truskawkowiec (Otiornynchus sulcatus)	agrest, aktinidia (mini kiwi), aronia, bez czarny, borówka czarna, borówka wysoka, dzika róża, jeżyna, morwa, malina, porzeczka (alpejska, biała, czerwona, czarna, krwista, złota, zwyczajna), rośliny ozdobne, rośliny szkółkarskie ozdobne, truskawka, winorośl, żurawina błotna	Brak
Met52 granular				Brak
Naturalis	<i>Beauveria bassiana</i> szczep ATCC 74040 – 0,185 g	mączlik szklarniowy, mączlik ostroskrzydły, wciornastki, przędziorek chmielowiec	arbuz, bakłażan, cukinia, dynia, melon, ogórek, papryka, pomidor, truskawka	Dozwolony do stosowania tylko pod osłonami
		mszyca sałatowo-porzeczkowa	cykoria, endywia, sałata	
		mączlik szklarniowy, mączlik ostroskrzydły	fasola, fasola szparagowa	
		mączlik szklarniowy, mączlik ostroskrzydły, mączlik warzywny	kwiaty, rośliny ozdobne	
		drutowce	bakłażan, papryka, pomidor	
		mączlik warzywny	brokuł, kalafior	

#### 4.7. Charakterystyka grzybów z rodzaju *Trichoderma*

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* występują powszechnie w środowisku naturalnym. Mogą rozwijać się w różnym zakresie temperatury, pH i wilgotności. Najczęściej zasiedlają glebę ryzosferową, czyli obszar bezpośrednio otaczający korzenie roślin, żyjąc w symbiozie z korzeniami roślin, lub jako saprotrofy na rozkładających się szczątkach roślinnych. Występowanie *Trichoderma* w środowisku rolniczym jest szczególnie ważne, ponieważ grzyby te mogą wpływać na rozwój roślin, stymulować ich wzrost, a także chronić przed patogenami.

Grzyby z rodzaju *Trichoderma* to szybko rosnące saprotrofy naturalnie odporne na wiele związków toksycznych, w tym herbicydy, fungicydy i związki fenolowe. Znane są również ze swoich zdolności antagonistycznych polegających na hamowaniu lub eliminowaniu wzrostu lub rozmnażania innych mikroorganizmów, głównie patogenicznych. W przypadku grzybów *Trichoderma*, antagonizm przejawia się poprzez trzy główne mechanizmy, takie jak:

- 1) konkurencja o niszę ekologiczną,
- 2) antybioza
- 3) nadpasożytnictwo.

Konkurencja o niszę ekologiczną to proces, w którym dwa lub więcej organizmów konkurują o zasoby środowiskowe potrzebne do przetrwania i wzrostu. *Trichoderma* poprzez szybkie kolonizowanie siedlisk roślinnych może konkurować z patogenami roślin o składniki odżywcze, przestrzeń i inne czynniki środowiskowe, które są niezbędne do wzrostu i rozmnażania. Dzięki temu *Trichoderma* ogranicza dostępność zasobów dla patogenów, co hamuje ich wzrost i rozwój. Zwalcza między innymi fitopatogeny z rodzaju *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Verticillium*, *Botrytis* a także bakterie i wirusy, we wszystkich głównych uprawach roślin rolniczych, warzywnych, ozdobnych, sadach oraz w przechowalnictwie.

Z kolei antybioza to zjawisko, w którym jeden organizm wytwarza substancje chemiczne, zwane antybiotykami, które hamują wzrost lub zabijają inne organizmy. Grzyby *Trichoderma* produkują szereg metabolitów o działaniu antybiotycznym, takich jak trichoteceny, gliotoksyny i enzymy lityczne, które mogą zaburzać struktury komórkowe patogenów, powodować uszkodzenia ich błon komórkowych lub hamować ich metabolizm.

Kolejnym antagonistycznym mechanizmem działania grzybów z rodzaju *Trichoderma* jest nadpasożytnictwo. Jest to strategia, w której jeden organizm pasożytuje na innym organizmie pasożytniczym. *Trichoderma* w ten sposób penetruje strzępki czy zarodniki fitopatogenów, prowadząc do ich obumarcia i zahamowania rozwoju infekcji.

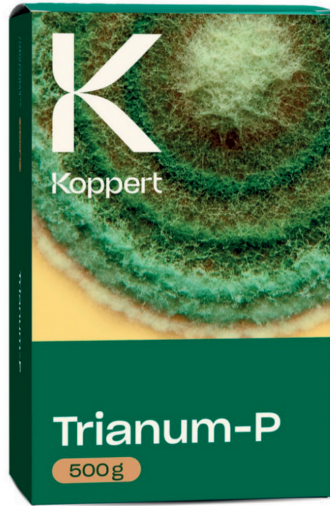
Wykazano również, że niektóre szczepy *Trichoderma* mają bezpośredni wpływ na rośliny. Poprzez kolonizację korzeni roślin promują ich wzrost, zwiększają pobieranie składników odżywczych, efektywność wykorzystania nawozów, procent i tempo kiełkowania nasion oraz stymulację mechanizmów obronnych roślin przed uszkodzeniami biotycznymi i abiotycznymi. Obecność *Trichoderma* indukuje w roślinie mechanizmy odpornościowe poprzez wydzielanie odpowiednich substancji, które powoduje zmianę fizjologii i metabolizmu rośliny w celu wytworzenia przez nią metabolitów odporności.

Ze względu na szeroki wachlarz korzyści oferowanych przez *Trichoderma*, grzyby te stały się niezwykle cennym narzędziem w rolnictwie. Są wykorzystywane jako składnik preparatów mikrobiologicznych, które mają na celu poprawę wzrostu i zdrowia roślin, a także ochronę przed chorobami, dając zdrowe i obfite zbiory. Najbardziej rozpowszechnione są szczepy *T. virens*, *T. viride* i *T. harzianum*. Oto kilka przykładów biopreparatów używanych w Polsce zawierających grzyby *Trichoderma*:

1. TRICHODERMA (GBR dr inż. Robert Cysewski) to preparat mikrobiologiczny zawierający zarodniki grzybów z rodzaju *Trichoderma* np.: *T. atrobrunneum*, *T. koningii*, *T. atroviride* czy *T. harzianum* stosowane w uprawach roślin strączkowych, zbożowych, okopowych, oleistych oraz warzyw, a także w sadownictwie, leśnictwie i pielęgnacji roślin ozdobnych.



2. TRIANUM- P (KOPPERT) to biopreparat do stosowania w uprawach warzyw w ochronie przed chorobami powodowanymi przez grzyby i organizmy grzybobopodobne. TRIANUM-P chroni system korzeniowy rośliny przed patogenami pochodzenia glebowego rodzaju: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*.



3. TRICHOFIT (BIOFELD) to biopreparat poprawiający właściwości gleby. Może być stosowany w uprawach roślin owocowych, warzywnych, ozdobnych oraz zbóż.



4. VITAL PLUS (ROLMIX) zawiera szczep grzyba *Trichoderma viride* B35, który chroni system korzeniowy rośliny przed patogenami. Wspomaga również naturalne mechanizmy odpornościowe i wzrost rośliny. Stosowany w uprawach truskawek, warzyw, roślin ozdobnych, oraz drzew i krzewów owocowych i ozdobnych, jako dodatek do podłoża i zaprawa sadzonek przed posadzeniem.

Podsumowując, grzyby z rodzaju *Trichoderma* są szeroko rozpowszechnione w środowisku naturalnym, a ich korzystne działanie zostało potwierdzone w wielu badaniach naukowych. Ich zdolności antagonistyczne wobec patogenów, czynią je cennym narzędziem w ochronie roślin i poprawie plonów w rolnictwie. Zastosowanie biopreparatów opartych na *Trichoderma* może przyczynić się do zrównoważonej uprawy oraz redukcji stosowania chemicznych środków ochrony roślin, co ma korzystny wpływ zarówno na środowisko, jak i na jakość i bezpieczeństwo produkowanych plonów.



## Literatura uzupełniająca:

1. Alves A.J., Wisoczynski de Sene D., Ferreira de Paula G., Demétrio G.B., Matsumoto L.S. (2021) 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. doi: 10.29312/remexca.v12i3.2609
2. Benítez T., Rincón A.M., Limón M.C., Codón A.C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7: 249 – 260.
3. Chet I, Inbar J, Hadar I (1997) Fungal antagonists and mycoparasites. In: Wicklow DT, Söderström B (eds) *The Mycota IV: Environmental and microbial relationships*. Springer-Verlag, Berlin, pp 165-184
4. Contreras-Cornejo, H.A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C. & López-Bucio, J. (2014). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 165(4), 1891-1899.
5. Ghosh, S., Penterman, J.N., Little, R.D., Chavez, R. and Glick, B.R. (2003) Three Newly Isolated Plant Growth-Promoting Bacilli Facilitate the Seedling Growth of Canola, *Brassica campestris*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41, 277-281. [https://doi.org/10.1016/S0981-9428\(03\)00019-6](https://doi.org/10.1016/S0981-9428(03)00019-6)
6. Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43-56.
7. Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I. & Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158(1), 17-25.
8. <https://www.iung.pl/informacje/oferta/badania-i-opiniowanie-nawozow/>
9. <https://www.wrp.pl/po-zniwach-wzmocnij-biologiczna-aktywnosc-gleby/>
10. Khan, M. S., Zaidi, A., & Ahmad, E. (2016). Phosphate solubilizing microorganisms. *Principles and Application of Microphos Technology*. Springer International Pu.
11. Kluczyńska K. A. (2013) Antagonistyczne oddziaływanie izolatów bakterii fermentacji mlekowej ze środowiska naturalnego wobec toksynotwórczych grzybów z rodzaju *Fusarium*. *Studia Oeconomica Posnaniensia*, vol. 1, no.12 (261), 41- 49
12. Krupa A. (2010). Mikoryzy i ich wielofunkcyjna rola w środowisku. *CHEMISTRY, ENVIRONMENT, BIOTECHNOLOGY*, XIV:175-182
13. Litwin, A., Nowak, M. & Różalska, S. Entomopathogenicfungi: unconventional applications. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 19, 23–42 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09525-1>
14. Łabanowska B.H, Broniarek-Niemiec, Chałańska A., Cieślińska M., Meszka B., Michalecka M., Piotrowski W., Poniatowska A., Puławska J., Sobieszek B., Tartanus M., Wójcik P. *Poradnik sygnalizatora ochrony truskawki*. Instytut Ogrodnictwa, Skierniewice 2017

15. Malinowski H. Wykorzystanie *Bacillus thuringiensis* w ochronie roślin: perspektywy i ograniczenia. *Biotechnologia*, 2000, 3(50), 81-90.
16. Ortaş, I., Rafique, M., & Ahmed, I. A. M. (2017). Application of Arbuscular Mycorrhizal Fungi into Agriculture. *Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants*, 305–327. doi:10.1007/978-981-10-4115-0\_13
17. Patil, P. M., Kuligod, V. B., Hebsur, N. S., Patil, C. R., & Kulkarni, G. N. (2012). Effect of phosphate solubilizing fungi and phosphorus levels on growth, yield and nutrient content in maize (*Zea mays*). *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 25(1).
18. Sadowska J., Grajek W. (2009) Odpowiedź komórkowa bakterii kwasu mlekowego na stresy środowiskowe. *Biotechnologia*, 4(87), 115-132.
19. Shores, M., Harman, G. E. & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annu Rev Phytopathol* 48, 21–43.
20. Shores, M., Harman, G.E. & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 21-43.
21. Siebielec S., Kozieł M., Woźniak M., Siebielec G., (2021). Mikroorganizmy solubilizujące fosforany znaczenie w rolnictwie i remediacji. *Monografie i Rozprawy Naukowe*, 63, IUNG-PIB, Puławy.
22. Skubis M. *Naturalne środki ochrony roślin*. Wydawca: Małopolski Ośrodek Doradztwa Rolniczego z s. w Karniowicach, Karniowice, 2017,
23. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Woo, S.L., Lorito, M. & Tronsmo, A. (2008). *Trichoderma-plant-pathogen interactions*. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1-10.
24. Wang, Z., Zhang, H., Liu, L., Li, S., Xie, J., Xue, X., & Jiang, Y. (2022). Screening of phosphate-solubilizing bacteria and their abilities of phosphorus solubilization and wheat growth promotion. *BMC microbiology*, 22(1), 296.
25. Wasilewska-Nascimento B.(2021). Niedoceniony potencjał grzybów owadobójczych w uprawie ziemniaka. *Ziemniak Polski* (4):40-48;
26. Woźniak, M., & Gałązka, A. (2019). The rhizosphere microbiome and its beneficial effects on plants—current knowledge and perspectives. *Postępy Mikrobiologii-Advancements of Microbiology*, 58(1), 59-69.