

*Piotr Sobiczewski*

*Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa w Skierniewicach*

# **Bakterie jako czynniki biologicznej ochrony roślin przed chorobami**

## **Wstęp**

---

W ostatnich latach obserwujemy wzrost zainteresowania alternatywnymi metodami ochrony roślin w stosunku do metody chemicznej. Pestycydy, których pozostałości mogą występować zwłaszcza w produktach spożywczych pochodzenia roślinnego, są często uważane za zagrożenie dla zdrowia ludzkiego i środowiska [25, 28]. Aktualnie zasadnicze zmiany w chemicznej ochronie roślin dotyczą ograniczania zużycia pestycydów oraz ich selekcji. Podejmowane są próby zastąpienia lub uzupełnienia metody chemicznej innymi metodami, m.in. metodą biologiczną [1, 8, 57, 71, 79]. Klasyczna definicja biologicznej ochrony roślin przed chorobami, sformułowana przez Bakera [4], to "ograniczenie patogenów za pomocą czynników biologicznych z wyłączeniem hodowli odpornościowej". Takimi czynnikami mogą być pożyteczne bakterie.

Pojęcia: bakterie i ochrona roślin kojarzą się najczęściej z kilkoma groźnymi chorobami roślin. Tymczasem wśród drobnoustrojów zasiedlających naturalne środowisko roślin występują również bakterie, które nie tylko że nie posiadają zdolności chorobotwórczych, ale zapobiegają porażaniu i rozwojowi chorób roślin. Mechanizmy działania takich bakterii można podzielić na bezpośrednie i pośrednie. W pierwszej z wymienionych grup znajdują się bakterie antagonistyczne w stosunku do patogenów roślin, w drugiej zaś — stymulujące wzrost i plonowanie roślin, indukujące odporność roślin na choroby oraz bakterie wykorzystywane do tworzenia roślin transgenicznych. Należy jednak podkreślić, że działanie pożytecznej bakterii nie jest zazwyczaj związane wyłącznie z jedną z wymienionych form. Wiele bakterii reprezentuje niejednokrotnie dwa lub więcej mechanizmów działania, które mogą być użyteczne w ochronie roślin [8, 19, 67, 68, 77].

## Mechanizmy działania antagonistów

### Antybioza

Jednym z najważniejszych i wszechstronnie badanych mechanizmów działania pożytecznych bakterii w aspekcie biologicznej ochrony roślin przed drobnoustrojami chorobotwórczymi jest antybioza. Polega ona na wytwarzaniu do środowiska, zwłaszcza przez bakterie i grzyby, specyficznych i niespecyficznych metabolitów, czynników litycznych, enzymów, związków lotnych i innych substancji toksycznych, zwanych antybiotykami. Już przy małych koncentracjach są one szkodliwe dla wzrostu lub innej metabolicznej aktywności innych mikroorganizmów [14]. Znaczenie antybiotyków bakteryjnych w ograniczaniu chorób roślin wyjaśniono dokładniej dopiero kilka lat temu, kiedy stwierdzono, że związek będący pochodną kwasu fenazykarboksylowego, produkowany przez szczep 2-79 bakterii *Pseudomonas fluorescens*, odegrał zasadniczą rolę w ograniczaniu zgorzeli podstawy źdźbła pszenicy [75]. Antybiotyk ten hamował rozwój sprawcy wymienionej choroby — grzyba *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* w dawce mniejszej niż 1 µg/ml. Także agrocyna 84 (antybiotyk typu nukleotydowego), produkowana przez szczep K84 bakterii *Agrobacterium radiobacter*, okazała się jednym z najważniejszych czynników odpowiedzialnych za biologiczną ochronę roślin przed guzowatością korzeni — chorobą o charakterze nowotworowym [33, 61]. Stopień efektywności tej ochrony był w dużym stopniu skorelowany z wrażliwością bakterii *Agrobacterium tumefaciens* na agrocynę. Geny wrażliwości tych bakterii, zlokalizowane na plazmidzie Ti typu nopalinowego, kodują system przenoszenia antybiotyku, dzięki czemu łączy się on z frakcją proteinową przestrzeni peryplazmatycznych szczepu wrażliwego. Warto podkreślić, że związek podobny do agrocyny został zsyntetyzowany już w 1966 roku, a więc kilka lat wcześniej zanim wykryto szczep K84, jako wynik programu walki z nowotworami u zwierząt za pomocą chemioterapii [33]. Inny przykład antybiozy stanowi oomycyna A produkowana przez szczep Hv37aR2 bakterii *Pseudomonas fluorescens*, która aktywnie uczestniczyła w zwalczaniu *Pythium ultimum* na bawełnie [23]. Synteza oomycyny jest regulowana poziomem glukozy i zależy od współdziałania co najmniej 5 genów [26].

W ochronie jabłek i gruszek przed szarą pleśnią (*Botrytis cinerea*) i mokrą zgnilizną (*Penicillium expansum*) wyróżniły się bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, zwłaszcza *P. cepacia*, wyizolowana z liści jabłoni. Bakteria ta wytwarza silny antybiotyk o nazwie pyrrolnityna [27]. Jego działanie zależało od warunków przechowywania owoców i sposobu ich ranienia. Pyrrolnityna, produkowana przez tę samą bakterię, chroniła także kwiaty róży przed szarą pleśnią [18]. Wyniki najnowszych badań wskazują, że bakteria *Pseudomonas cepacia* produkuje jeszcze 4 inne substancje antybiotyczne [59, 60]. Zdolność do wytwarzania pyrrolnityny, a także pyoluteoryny posiada także szczep Pf5 bakterii *Pseudomonas fluorescens*, antagonistyczny w

stosunku do *Rhizoctonia solani*, *Thielaviopsis basicola*, *Verticillium dahliae*, *Alternaria* spp., a także *Pythium ultimum* i *Erwinia carotovora* [21, 22, 26, 36]. W zrakowaceniach występujących na drzewach wiśni stwierdzono obecność różnych bakterii działających antybiotycznie w stosunku do bakterii *Pseudomonas syringae*, wywołującej raka bakteryjnego drzew pestkowych [70]. Myers i Strobel [50] udowodnili natomiast, że bakteria *Pseudomonas syringae* wykazywała antagonizm w stosunku do sprawcy holenderskiej choroby wiązu, grzyba *Ceratocystis ulmi*, oparty na wytwarzaniu antybiotyku o nazwie syringomycyna. Wprowadzenie izolatów M<sub>27m</sub> oraz M<sub>323m</sub> w formie wodnej zawiesiny do apoplastu siewek wiązu rosnących w szklarni nie wywołało efektu fitotoksycznego, ale istotnie ograniczało przebarwienie tkanki naczyniowej, towarzyszące holenderskiej chorobie wiązu. Inne bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, których zawiesinę wstrzykiwano do drzew wiązu, a następnie drzewa zakażono grzybem *C. ulmi*, istotnie obniżały nasilenie choroby. Jednocześnie potwierdzono antybiotyczny charakter działania tych bakterii [63].

Antybiotyki produkowane przez bakterie z rodzaju *Bacillus* hamowały rozwój różnych fitopatogenicznych grzybów. Filtraty kultury *Bacillus* sp. S13 zapobiegały porażeniu gerbery przez *Phytophthora cryptogea* [62], a filtraty *B. subtilis* ograniczały m.in. rozwój rdzy fasoli, powodowanej przez *Uromyces phaseoli* [5], a także zapobiegały porażeniu śladów poliściowych jabłoni przez *Nectria galligena* [72]. W tym ostatnim przypadku udowodniono, że *B. subtilis* produkuje dwa antybiotyki, które powodują najpierw nabrzmiwanie, a następnie rozerwanie strzępki rostkowej patogena. McKean i in. [45] wyizolowali antybiotyk produkowany przez szczep B3 bakterii *B. subtilis*, który wykazał fungistatyczne działanie w stosunku do zarodników *Monilinia fructicola*, jak również chronił owoce brzoskwini przed tym patogenem. Antybiotyk ten został opisany jako ituryna. Interesujące wyniki uzyskano z badań nad izolatem F-29-3 *B. subtilis*, produkującym fengymycynę (kompleks blisko spokrewnionych ze sobą związków lipopeptydowych), wykazującą antybiotyczną aktywność przeciwko różnym chorobom powodowanym przez grzyby. Fengymycyna okazała się mniej fitotoksyczna w stosunku do siewek ryżu i skuteczniej od innych antybiotyków produkowanych przez *B. subtilis* (bacillomycyna, ituryna A, subsporyna, polimyksyna B, EM-49) chroniła je przed ryzoktoniozą [42]. Pietr [55] stwierdził, że szczep B 15 bakterii *B. subtilis*, produkujący antybiotyk w typie fengymycyny, skutecznie chronił rośliny ogórka przed porażeniem przez grzyby z rodzaju *Fusarium*.

## Konkurencja

W ostatnich latach wiele uwagi zwraca się na selekcję bakterii zasiedlających glebę i fylosferę, wykazujących właściwości konkurencyjne w stosunku do mikroorganizmów patogenicznych. Chodzi tu przede wszystkim o wykorzystywanie składników pokarmowych umożliwiających przeżywanie i aktywność patogenów. Współzawodnictwo o wykorzystanie składników pokarmowych, występujące na powierz-

chni roślin, towarzyszy przypuszczalnie większości interakcji między pożytecznymi bakteriami a patogenami i w jakimś stopniu jest prawie zawsze odpowiedzialne za biologiczny efekt ochrony. Na uwagę zasługuje tu szczep A506 bakterii *Pseudomonas fluorescens*, który zastosowany zapobiegawczo na kwiaty gruszy skutecznie eliminował bakterię *Erwinia amylovora* i zmniejszał porażenie roślin przez tego patogena o około 75% [41, 51]. Antagonistyczne zdolności tego szczepu polegały na szybszym wykorzystaniu dostępnych składników pokarmowych, a także wcześniejszej kolonizacji możliwych miejsc infekcji. Niezwykle ważną cechą tego szczepu była duża zdolność zasiedlania nowo rozwijających się kwiatów gruszy oraz zmniejszania o 75 do 85% szkód powodowanych na nich przez przymrozki [40]. W tym przypadku bakterie szczepu A506 konkurowały o miejsce z bakteriami naturalnie zasiedlającymi kwiaty, a posiadającymi zdolność synergistycznego działania z mrozem i przez to zwiększania uszkodzeń na roślinach.

Od ponad 30 lat duże zainteresowanie zarówno badaczy, jak i praktyków wzbudza bakteria *Erwinia herbicola* — powszechnie występujący epifit, zwłaszcza na nadziemnych organach jabłoni i grusz. Towarzyszy ona często objawom zarazy ogniowej powodowanej przez *Erwinia amylovora*. Początkowo sądzono, że antagonizm *E. herbicola* w stosunku do *E. amylovora* jest związany z wytwarzaniem bakteriocyny o nazwie herbikolacyna [58]. Okazało się jednak, że nie jest ona jedynym, chociaż przypuszczalnie najważniejszym czynnikiem antagonizmu [81]. *E. herbicola* rozmnaża się szybciej od *E. amylovora*, powoduje silne zakwaszenie środowiska, a także szybciej wykorzystuje organiczny azot z podłoża [7]. Podobne oddziaływanie *E. herbicola* przejawiała również do bakterii *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* — sprawcy bakteryjnej zarazy ryżu [24].

Elad i Chet [12] udowodnili, że konkurencja o wykorzystanie składników pokarmowych między kiełkującymi oosporami *Pythium aphanidermatum* i bakteriami wyizolowanymi z różnych roślin porażonych przez *Pythium* spp., istotnie korelowała z ograniczeniem szkodliwości zgorzeli ogórka w szklarni. Także kiełkowanie oospor w rizosferze pszenicy, pomidora, ogórka, melona, fasoli i bawełny znacznie obniżało się w obecności tych bakterii.

Przykładem wykorzystania uzdolnień konkurencyjnych bakterii w ochronie biologicznej jest sztuczna kolonizacja korzeni drzew owocowych i krzewów róży przez wspomniany już szczep K84 *A. radiobacter*. Oprócz produkcji agrocyny 84, bakterie tego szczepu, wskutek wcześniejszego zasiedlenia możliwych miejsc infekcji, nie dopuszczają do porażenia roślin przez *A. tumefaciens* [13, 44].

## Pasożytnictwo

Jest to mechanizm antagonistycznego działania głównie grzybów, np. *Trichoderma* sp., *Gliocladium virens*, *Laetisaria arvalis*, *Coniothyrium miniformis*, *Pythium nunn*, *Talaromyces flavus*, *Sporidesmium sclerotivorum* [1]. Doniesień o pasożytnic-

twie bakterii spotykamy stosunkowo niewiele. Levine i in. [39] stwierdzili destrukcyjne pasożytowanie na grzybach rdzawnikowych bakterii z rodzaju *Bacillus*, Hevesi i Mashaal [20] *Erwinia uredovora*, a Pon i in. [56] *Xanthomonas* sp. Jenkins [29] wyizolował bardzo aktywny szczep bakterii *Bacillus subtilis* z uszkodzonych konidiów grzyba *Monilinia fructicola*.

Niektóre bakterie występujące na nadziemnych organach roślin lub na zarodnikach grzybów mogą ujawniać niespecyficzny mechanizm działania w stosunku do patogenów. *Bacillus pumilis* był zdolny do lizy strzępki rostkowej uredospor za pomocą substancji zarówno odpornych, jak i wrażliwych na wysoką temperaturę [49]. Zarodniki *Rhynchosporium secalis* wytworzone na porażonych liściach jęczmienia ulegały lizie przez epifityczne bakterie zasiedlające fyloplanę, głównie zielonofluoryzujące *Pseudomonas*. Także bakterie z rodzaju *Bdellovibrio* pasożytowały na innych bakteriach zarówno patogenicznych, jak i niepatogenicznych. Chociaż ich naturalnym siedliskiem jest gleba i rizosfera, Scherff [65] zademonstrował, że zainokulowanie liści soi przez *Bdellovibrio bacteriovorus* chroniło rośliny przed porażeniem przez *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*. Za pomocą bakterii *Enterobacter cloace* uzyskano istotne ograniczenie zgnilizny owoców brzoskwini powodowanej przez *Rhizopus stolonifer* [80]. Infekcja była całkowicie zahamowana na 70% owoców przez 5 dni po inokulacji. Efektywność działania bakterii zależała od koncentracji inokulum antagonisty i patogena. Autorzy uważają, że brak związków antybiotycznych w filtratach bakteryjnych wskazuje raczej na pasożytniczy charakter antagonizmu. Hadar i in. [17] zademonstrowali, że zgorzel siewek grochu i ogórka, powodowana przez grzyby z rodzaju *Pythium*, była także ograniczana przez bakterię *E. cloace*, która tworzyła otoczki wokół strzępek grzyba, a następnie powodowała ich lizę.

## Stymulacja wzrostu i plonowania roślin

Nowe strategie ochrony roślin przed chorobami uwzględniają użycie tzw. bakterii PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) stymulujących wzrost i plonowanie roślin [38, 67]. Działanie tych bakterii przejawia się w formie różnych mechanizmów, ale wydaje się, że jest ono najbardziej związane z konkurencją o pokarm i miejsce w danej niszy ekologicznej. Termin "stymulacja wzrostu roślin" został użyty przez Kloeppera w celu podkreślenia polepszenia wzrostu i plonowania roślin, które wystąpiły po inokulacji ich nasion lub korzeni pewnymi bakteriami, mającymi naturalną zdolność kolonizacji korzeni [37]. Autor ten zaproponował również nazwę dla tych bakterii jako PGPR, w celu odróżnienia od wielu innych mikroorganizmów występujących w rizosferze, ale nie kolonizujących korzeni roślin i nie stymulujących wzrostu roślin. Stymulacja wzrostu może być wynikiem ograniczania organizmów szkodliwych zasiedlających korzenie. Pewne miejsca na korzeniach, zwłaszcza tam gdzie wyrastają korzenie boczne, są chętnie kolonizowane przez bakterie zarówno szkodli-

we, jak i pożyteczne. Inokulacja korzeni bakteriami PGPR chroni te miejsca i zmniejsza możliwość ich zasiedlenia przez organizmy szkodliwe. W przypadku cynii efekt ten uzyskano dzięki szczepowi E6 bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, który powodował zmiany w składzie mikroorganizmów zasiedlających korzenie i ograniczał szkodliwość ewentualnych patogenów [85]. Zastosowanie fluoryzujących bakterii *Pseudomonas* na sadzeniaki ziemniaka zmniejszyło o około 30% populację bakterii z rodzaju *Erwinia* w przetchlinkach nowo rozwijających się bulw. Z kolei szczep A13 bakterii *Bacillus subtilis*, wyizolowany z grzybni *Sclerotium rolfsii*, powodował polepszanie wzrostu wielu gatunków roślin. Zastosowany na nasiona zwiększał plon marchwi o 48%, a owsa o 33% [48]. Jego działanie polegało głównie na ograniczaniu różnych patogenów roślin, a przypuszczalnie — także na bezpośredniej stymulacji wzrostu roślin. Uważa się, że niektóre bakterie mogą polepszać wzrost roślin dzięki wytwarzaniu w strefie otaczającej nasiona, a także w rizosferze, substancji podobnych do hormonów, np. auksyn, giberelin czy cytokinin [74]. Schroth i Hancock [66] donoszą, że fluoryzujące *Pseudomonas* zwiększały plon ziemniaków o 5–33%, buraka cukrowego o 4–8 ton na hektar, a plon korzeni rzodkiewki nawet o 144%. Bardzo interesujące w tym zakresie są wyniki badań Wellera [77] oraz Wellera i Cooka [78] nad zwalczaniem zgorzeli podstawy źdźbła pszenicy za pomocą bakterii *Pseudomonas fluorescens*. Użycie samego szczepu 2–79 lub w kombinacji ze szczepem 13–79 istotnie ograniczało tę chorobę na pszenicy zarówno jarej, jak i ozimej. Na poletkach doświadczalnych zanotowano przy tym wzrost plonów o 17%, a na polach produkcyjnych o 11%. Kombinacja obu szczepów dała lepszy efekt niż każdego z nich oddzielnie, a dodanie jeszcze trzeciego szczepu R4a-80 — sukcesywnie zwiększało plon pszenicy. Autorzy uważają, że większa liczba szczepów badanej bakterii symuluje naturalną sytuację w glebie, w której następuje naturalne zmniejszenie populacji sprawcy zgorzeli podstawy źdźbła pszenicy. Podobnie jak inne bakterie PGPR, szczep 2–79 posiada dużą aktywność w zasiedlaniu korzeni pszenicy i przeżywaniu na nich przez długi okres.

Kilka doniesień dotyczy stymulacji wzrostu roślin wieloletnich. Podlewanie jabłoni zawieszoną szczepu EBW-4 bakterii *Bacillus subtilis*, nie wykazującego antagonizmu w stosunku do 20 izolatów grzybów pochodzących z gleby z objawami choroby zmęczenia, zwiększało pole poprzecznego przekroju pnia drzew, całkowitą długość pędów oraz plonowanie [82, 84]. Wysokość siewek jabłoni zwiększał także szczep BACT-1 tego samego gatunku bakterii, ale działający antybiotycznie w stosunku do większości tych samych izolatów grzybów. Wynik ten potwierdza obserwacje wielu autorów, że w glebie mamy do czynienia z różnymi formami pożytecznego oddziaływania bakterii na rośliny. Uważa się, że oba izolaty rokują duże nadzieje na zastosowanie w sadach, gdzie istnieje problem zmęczenia gleby wskutek długotrwałego użytkowania sadowniczego [83]. Caesar i Burr [9] traktowali nasiona, siewki i podkładki jabłoni bakteriami izolowanymi z korzeni różnych roślin. Uzyskali zwiększenie ich ciężaru nawet o 65% w przypadku siewek odm. McIntosh i 179% w

przypadku podkładek M26 i M7. Zmiany we wzroście traktowanych roślin były związane z zasiedleniem strefy korzeniowej przez różne grzyby, a zwłaszcza *Cylindrocarpon destructans*. Korzenie podkładek traktowanych bakteriami miały bardziej rozwinięty system korzeniowy, korzeni bocznych stwierdzono u nich nawet o 102% więcej niż u podkładek nietraktowanych. Najbardziej efektywne były bakterie z rodzaju *Pseudomonas*. Istnieją dowody, że odgrywają one rolę w tzw. glebach opornych w stosunku do fuzaryjnego wędnięcia lnu, rzodkiewki i ogórka [64], zgorzeli podstawy źdźbła [10] i czarnej zgnilizny korzeni tytoniu [73].

Wiele różnych cech bakterii, a zwłaszcza takie jak: intensywność wzrostu, zdolność do wykorzystania różnych substratów, tolerancja na antybiotyki, zdolność do rozmnażania się i przeżywania w różnych warunkach termicznych i wilgotnościowych, decyduje o ich konkurencyjności w danej niszy ekologicznej. Bakterie glebowe mogą również produkować substancje, które ograniczają wzrost innych mikroorganizmów, w tym patogenów. Mogą to być m.in. siderofory, czyli związki chelatowe wychwytyjące jony żelaza ( $Fe^{3+}$ ) ze środowiska. Jest to jeden z najważniejszych mechanizmów ograniczających niektóre szkodliwe mikroorganizmy przez bakterie PGPR. Żelazo jest ważnym składnikiem biogennym wielu patogenów roślin, a jego niedostępność w środowisku zmniejsza ekonomiczne znaczenie chorób powodowanych przez te patogeny. Dodanie do gleby bakterii szczepu B-10 z rodzaju *Pseudomonas* lub jego sideroforu — pseudobaktyny, skutecznie ograniczało wędnięcie lnu powodowane przez *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* oraz zgorzel podstawy źdźbła pszenicy, powodowaną przez *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* [34]. W obu przypadkach dodanie  $Fe^{3+}$  EDTA niwelowało efekt działania bakterii. Pieter [55] stwierdził, że działanie szczepu B6/2 bakterii *Pseudomonas fluorescens*, skutecznie chroniącego rośliny ogórka przed porażeniem przez grzyby z rodzaju *Fusarium*, wynikało z jego zdolności do produkcji sideroforu — pyoverdiny oraz ze zdolności do niespecyficznego blokowania fitoaleksyn i dezaktywacji celulazy.

PGPR są najczęściej aktywnymi kolonizatorami powierzchni korzeni, dzięki czemu efektywnie konkurują z powolniejszymi patogenami o inne składniki pokarmowe dostępne w wydzielinach korzeniowych lub łuszczących się komórkach w rizosferze. Przykładem może tu być konkurencja tych bakterii z kiełkującymi oosporami *Pythium aphanidermatum* [12]. Interesujące jest to, że mutanty nie produkujące antybiotyków lub sideroforów nie traciły zdolności kolonizacji korzeni [6, 35, 43].

## **Stymulacja odporności roślin na choroby**

---

Rośliny bronią się przed porażeniem przez organizmy chorobotwórcze dzięki cechom strukturalnym i chemicznym [2]. Jednym z ważniejszych mechanizmów obronnych jest reakcja nadwrażliwości, polegająca na gwałtownym zamieraniu komórek wokół miejsca zakażonego przez patogena, co uniemożliwia jego dalsze

rozprzestrzenianie się. Większość bakterii chorobotwórczych dla roślin jest zdolna do wywołania reakcji nadwrażliwości [15]. Bakterie wielu gatunków z rodzaju *Pseudomonas*, wywołujące reakcję nadwrażliwości u soi, powodowały w zainokulowanych liściach tej rośliny akumulację fitoaleksyny gliceoliny i pochodnych izoflawonoidów. Przykładem mogą tu być: *Pseudomonas tomato*, *P. lachrymans*, *P. solanacearum*, *P. phaseolicola* oraz niezgodna rasa bakterii *P. glycinea* (czyli niezdolna do zakażenia danego gatunku rośliny). Natomiast zgodna rasa *P. glycinea* i saprofityczne bakterie *P. fluorescens* i *P. aeruginosa* były niezdolne do wywołania reakcji nadwrażliwości i produkcji gliceoliny [15]. Uważa się, że lokalne zamieranie komórek w wyniku reakcji nadwrażliwości oraz produkcja i akumulacja fitoaleksyn są bardzo często ze sobą powiązane [30]. Peer i in. [54] udowodnili, że bakteryzacja korzeni roślin goździka szczepem WCS417r *Pseudomonas* sp. na tydzień przed inokulacją ich łodyg grzybem *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* zmniejszyła liczbę porażonych roślin odm. Pallas o 50–20%, zaś odm. Lena o 69–38%. Sygnał wywołany przez bakterie z systemu korzeniowego indukował reakcję obronną na łodydze m. in. przez wytwarzanie fitoaleksyny będącej fenolowym związkem typu diantharamide. Akumulacja tego związku była odwrotnie skorelowana z liczbą porażonych roślin. Wykazano też, że kolonizacja korzeni fasoli przez bakterie *Pseudomonas putida*, oprócz pewnej, bezpośredniej ochrony przed porażeniem przez *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, powodowała także znaczny wzrost zawartości lignin odpowiedzialnych za zwiększenie odporności roślin na tego patogena [3]. Traktowanie zaś nasion ogórka 6 wyselekcjonowanymi szczepami bakterii PGPR ograniczało rozwój antraknozy powodowanej przez *Colletotrichum orbiculare*. Ponieważ nie stwierdzono obecności tych bakterii w szypułkach ochronionych liści ogórka uważa się, że efekt ochronny pochodził od indukcji systemicznej odporności roślin przez bakterie zastosowane na nasiona [76]. Natomiast inne badania wykazały, że zakażenie jednego liścia ogórka bakteriami *P. syringae* pv. *syringae*, w wyniku którego powstają na nim nekrotyczne plamy (reakcja nadwrażliwości), było przyczyną powstania już po 24 godzinach systemicznej odporności w całej roślinie na zakażenie przez *Colletotrichum lagenarium*. Stwierdzono też, że sygnał rozchodzący się z miejsca zakażenia dochodzi do innych liści już po 6 godzinach od inokulacji [69]. Na ogórku zademonstrowano także indukcję odporności na porażenie przez wirusa mozaiki ogórka za pomocą opryskania roślin filtratami kultur bakterii *Bacillus subtilis*. Filtraty tej bakterii powodowały również zmniejszenie nasilenia choroby spowodowanej przez wirusa mozaiki stokłosy na jęczmieniu oraz skutków tej choroby w plonowaniu roślin [46].

Specyficzną formą indukowanej odporności roślin na choroby jest tzw. ochrona krzyżowa będąca wynikiem interakcji blisko spokrewnionych ze sobą szczepów patogena. Testowanie różnych bakterii jako potencjalnych czynników biologicznej ochrony ziemniaka przed porażeniem przez *Pseudomonas solanacearum* wykazało, że najbardziej efektywne były niepatogeniczne mutanty tej bakterii [32]. Na przykład



szczep B82 zastosowany na sadzeniaki zmniejszał szkodliwość bakteryjnego więdnienia na ziemniakach w warunkach polowych w ponad 50% [47].

Od z górá 50 lat wiadomo, że pojedyncze geny odporności roślin na choroby mają swoje odpowiedniki u patogenów. Są one nazwane genami awirulencji, a ich dokładniejsze poznanie stanowiło podstawę tzw. teorii komplementarności gen w stosunku do genu (gen for gen). Funkcjonalne allele awirulencji muszą występować u patogena przed rozpoznaniem genu odporności na chorobę u rośliny zaatakowanej przez patogena i wzbudzeniem aktywnej reakcji odpornościowej [30]. Pierwszym sklonowanym i scharakteryzowanym genem awirulencji u bakterii był *avrA* z rasy 6 *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*. Klonowanie genów awirulencji dostarczyło określonego narzędzia genetycznego co do ich roli w rozpoznaniu patogenów przez rośliny posiadające komplementarne geny odporności. Sklonowany gen *avrD* funkcjonował w komórkach *P. syringae* pv. *glycinea* zdolnych do wywołania reakcji nadwrażliwości tylko u tych odmian soi, które posiadały gen odporności *Rpg4* [31].

Inny mechanizm odporności jest przypuszczalnie związany z wrażliwością oksydazy cytochromowej na cyjanowodór, dobrze znaną trucizną oddechową roślin. Defago i in. [11] wykazali, że odporność tytoniu na porażenie przez *Thielaviopsis basicola* jest m.in. związana z cyjanowodorem, wytwarzanym przez szczep CHA0 bakterii *Pseudomonas fluorescens*. Bakteria ta wywołuje alternatywny sposób oddychania na skolonizowanych korzeniach tytoniu i stymuluje wytwarzanie fitoaleksyn. Zwiększa także produkcję związków fenolowych w korzeniach i wytwarzanie korzeni włóśnikowych, a co najważniejsze ogranicza wrażliwość roślin na czarną zgniliznę korzeni.

Pośrednie mechanizmy odpornościowe roślin na choroby związane są z wpływem na ich procesy fizjologiczne, co może doprowadzić na przykład do polepszenia tolerancji roślin na stres. Mechanizmy te obejmują m.in. produkcję hormonów przyspieszających wzrost części nadziemnej lub korzeni roślin, poprawienie statusu wodnego lub pokarmowego, a także zwiększenie asymilacji azotu [19, 54, 74].

## Wykorzystanie bakterii do transformacji roślin

Najbardziej efektywnym sposobem wprowadzenia genów odporności na choroby do genomu roślin dwuliściennych jest wykorzystanie zmodyfikowanej genetycznie bakterii *Agrobacterium tumefaciens*. Posiada ona w swej komórce plazmid Ti, którego fragment zwany DNA transferowym (T-DNA) przemieszcza się przez uszkodzoną ścianę komórkową do jądra, przyłącza do DNA rośliny i realizuje własny program genetyczny. Podstawą używania T-DNA dla celów inżynierii genetycznej jest fakt, że dla odcięcia i przeniesienia T-DNA potrzebne są jedynie lewa i prawa sekwencja graniczna. Pozostałe geny T-DNA, kodujące syntezę hormonów i opin, nie mają znaczenia dla transferu. Można je więc wyciąć (rozbroić bakterię z onkogenów),

a w ich miejsce wstawić dowolne geny strukturalne oraz promotory inicjujące ich transkrypcję. Stwarza to możliwość konstrukcji wektorów z dowolnym zestawem genów. Chociaż metoda ta ma wiele ograniczeń, są już eksperymentalne sukcesy z transferem obcych genów do roślin w celu uzyskania odporności na choroby. Za pomocą *A. tumefaciens* uzyskano znaczący sukces z transferem genów wirusowego płaszcza białkowego do roślin żywicielskich. Powiodła się m.in. próba wprowadzenia odporności na szarkę u moreli, a w kilku ośrodkach, także i w Polsce, zaawansowane jest wprowadzenie tej cechy do śliw. Podobnie, wprowadzenie genu chitynazy do roślin tytoniu okazało się obiecujące w ograniczaniu rozwoju niektórych patogenów grzybowych. Do truskawki wprowadzono ten gen z intencją ograniczenia rozwoju fytoftorazy [53]. Przewiduje się, że odporność roślin na patogeny można podwyższyć przez wprowadzenia genów odpowiedzialnych za syntezę fitoaleksyn. Wykazano, że geny takie, wyizolowane z jednych roślin, mogą po wprowadzeniu do innych roślin ulegać ekspresji i wytwarzać fitoaleksyny [16].

Jedną z nowszych strategii biotechnologii w celu pozyskania roślin odpornych na choroby dotyczy wprowadzenia genów kodujących syntezę litycznych związków białkowych występujących u owadów *Hyalophora cecropia*, na które są bardzo wrażliwe bakterie chorobotwórcze dla roślin. Stransformowany tym genem tytoń wykazał zmniejszoną wrażliwość na porażenie przez *Pseudomonas solanacearum* [52]. W podobny sposób uzyskano transgeniczne jabłonie z wyraźnie zwiększoną odpornością na zarazę ogniową [52].

Inżynieria genetyczna służy także do modyfikacji tych cech bakteryjnych, które są wykorzystywane w biologicznej ochronie roślin. Na przykład plazmid szczepu K84 bakterii *A. radiobacter*, który w procesie konjugacji może być przenoszony do bakterii patogenicznych, co uodparnia je na ograniczające działanie bakterii K84, został pozbawiony genów odpowiedzialnych za transfer. Tak zmodyfikowany szczep, oznaczony symbolem K1026, jest składnikiem australijskiego preparatu o nazwie NO-GALL, stosowanego do zwalczania guzowatości korzeni [61].

## Wykorzystanie pożytecznych bakterii w praktyce

---

Jednym z ważniejszych czynników decydujących o zastosowaniu metody biologicznej na skalę produkcyjną jest to, czy będzie ona wystarczająco konkurencyjna w stosunku do metody chemicznej. Dotyczy to zarówno efektywności działania ewentualnych biopreparatów, ich stabilności i zakresu zwalczanych chorób, jak i szkodliwości dla środowiska. Większość znanych obecnie preparatów bakteryjnych jest dość wrażliwa na czynniki otoczenia i wymaga specjalnego traktowania podczas przechowywania i transportu. Okres ich trwałości jest niewspółmiernie krótszy od ewentualnych odpowiedników pochodzących z syntezy chemicznej. Istotną różnicą między preparatami biologicznymi a chemicznymi jest także to, że te pierwsze są prawie

zawsze środkami zapobiegawczymi, natomiast nowoczesne fungicydy chemiczne działają systemicznie i mogą być użyte po infekcji.

Preparaty biologiczne mają jednak wiele zalet, a najważniejsza z nich to istotne ograniczenie zanieczyszczenia środowiska. Dlatego też w wielu krajach, zwłaszcza o wyższym poziomie rozwoju gospodarczego, przeznaczają się coraz większe nakłady na rozwój badań nad wykorzystaniem bakterii i innych mikroorganizmów w ochronie roślin przed chorobami. W Stanach Zjednoczonych zarejestrowanych jest obecnie kilka preparatów opartych na bakteriach [25]. Są to m.in. Galltrol A, zawierający szczep K84 bakterii *Agrobacterium radiobacter*, stosowany do ochrony roślin przed guzowatością korzeni; Dagger G, oparty na *Pseudomonas fluorescens*, służący do zwalczania chorób siewek bawełny; Quantum 4000 HB, zawierający bakterie szczepu A13/GB03 *Bacillus subtilis*, wykorzystywany do zaprawiania nasion orzeszków ziemnych, fasoli i bawełny przeciwko rizoktoniozie siewek oraz Frostban B, zawierający szczep A506 bakterii *Pseudomonas fluorescens* do walki z zarazą ogniową i przymrozkami. W Polsce Pabianicka Polfa produkuje Polagrocynę przeznaczoną do ochrony podkładek drzew owocowych i róż przed guzowatością korzeni [71].

Zastosowanie metody biologicznej do ochrony roślin stwarza konieczność rozwiązania kilku ważnych problemów. O ile na roślinach nie będących środkami żywności wprowadzenie egzogennych mikroorganizmów nie powoduje większego ryzyka, o tyle w przypadku środków żywności będzie wymagało przeprowadzenia wielokierunkowych badań zarówno o charakterze epidemiologicznym, jak i toksykologicznym. Istotne znaczenie będzie miała społeczna akceptacja metody oraz uwarunkowania prawne [22, 68, 79]. Pomimo dużego zaawansowania prac o charakterze praktycznym wydaje się, że wciąż jesteśmy na początku drogi do szerszej "współpracy" z bakteriami. Dla badacza kłopotliwa jest dość niezwykła zmienność bakterii, która niejednokrotnie prowadzi do niekorzystnej zmiany jakiegoś interesującego organizmu w nowym otoczeniu. W takich sytuacjach pomocne są wnikliwe badania ekologiczne, a także wykorzystanie metod inżynierii genetycznej. Ich owocem jest m.in. uzyskanie i wprowadzenie do praktyki genetycznie zmodyfikowanego szczepu K1026 bakterii *A. radiobacter* oraz zachęcające wyniki badań nad opracowaniem metody pokarmowej stymulacji antagonistów [61, 86].

Aktualnie wydaje się, że pożyteczne bakterie nie będą w najbliższym czasie uniwersalnym panaceum w walce z chorobami roślin i przeciwwagą metody chemicznej. Pewne jest jednak, że w niektórych uprawach i przeciwko niektórym patogenom będą wielką szansą. Bakterie te mają dużą perspektywę zastosowania, zwłaszcza tam gdzie istnieją możliwości kontrolowania i regulacji warunków otoczenia, a więc w uprawach szklarniowych i kontenerowych oraz w przechowalniach. Nie możemy także zapominać o ciągłym wykorzystaniu bakterii jako narzędzia inżynierii genetycznej.

- [1] Adams P.B. 1990. The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Ann. Rev. Phytopath.* **28**: 59–72.
- [2] Agrios G.N. 1988. *Plant Pathology*. Academic Press Inc.: 97–115.
- [3] Anderson A.J., Guerra D. 1985. Responses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in a hydroponic system. *Phytopath.* **75**: 992–995.
- [4] Baker, R. 1985. Biological control of plant pathogens: definitions. W: *Biological control in agricultural IPM systems* ed. M.A. Hoy, D.C. Herzog: 25–39. Orlando: Academic.
- [5] Baker C.J., Stavely J.R., Thomas C.A., Sasser M., MacFall J. 1983. Inhibitory effect of *Bacillus subtilis* on *Uromyces phaseoli* and development of rust pustules on bean leaves. *Phytopath.* **73**: 1148–1152.
- [6] Bakker P.A.H.M., Bakker A.W., Marugg J.D., Weisbeek P.J., Schippers B. 1987. Bioassay for studying the role of siderophores in potato growth stimulation by *Pseudomonas* spp. in short potato rotations. *Soil Biol. Biochem.* **19**: 443–449.
- [7] Beer S.V., Rundle J.R., Wodzinski R.S. 1984. Interaction between *Erwinia amylovora* and *Erwinia herbicola* in vitro, in immature pear fruits and apple blossoms. *Acta Hort.* **151**: 203–204.
- [8] Blakeman J.P., N.J. Fokkema. 1982. Potential for biological control of plant diseases on the phylloplane. *Ann. Rev. Phytopath.* **20**: 167–192.
- [9] Caesar A.J., Burr T.J. 1987. Growth promotion of apple seedlings and rootstocks by specific strains of bacteria. *Phytopath.* **77**: 1583–1588.
- [10] Cook R.J., Weller D.M. 1987. Management of take-all in consecutive crops of wheat or barley. W: *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. New York, Wiley: 41–76.
- [11] Defago G., Berling C.H., Burger U., Haas D., Kahr G., Keel C., Voisard C., Wirthner P., Wurthrich B. 1990. Suppression of black root rot of tobacco and other rot diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. W: *Biological control of soil-borne pathogens*. D. Hornby, ed. CAB International, Wallingford, UK: 93–108.
- [12] Elad Y., Chet I. 1987. Possible role of competition for nutrients in biocontrol of *Pythium* damping-off by bacteria. *Phytopath.* **77**: 190–195.
- [13] Ellis J.G., Kerr A., Van Montagu M., Schell J. 1979. *Agrobacterium*: genetic studies on agrocin 84 production and the biological control of crown gall. *Physiol. Plant Path.* **15**: 311–319.
- [14] Fravel D.R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Ann. Rev. Phytopath.* **26**: 75–91.
- [15] Goodman R.N., Kiraly Z., Wood K.R. 1986. Resistance to infection. W: *The biochemistry and physiology of plant disease*. University of Missouri Press, Columbia, USA: 347–415.
- [16] Hain R., Bieseler B., Kindl H., Schroder G., Stocker R. 1990. Expression of a stilbene synthase gene in *Nicotiana tabacum* results in synthesis of phytoalexin resveratrol. *Plant Mol. Biol.* **15**: 325–335.
- [17] Hadar Y., Harman G.E., Taylor A.G. and Norton J.M. 1983. Effects of pregermination of pea and cucumber seeds and seed treatment with *Enterobacter cloacae* on ruts caused by *Pythium* spp. *Phytopath.* **73**: 1322–1325.
- [18] Hammer P.E., Evensen K.B., Janisiewicz W.J. 1993. Postharvest control of *Botrytis cinerea* on cut rose flowers with pyrrolnitrin. *Plant Dis.* **77**: 283–286.
- [19] Hemming B.C. 1990. Bacteria as antagonists in biological control of plant pathogens. W: *New directions in biological control: alternatives for suppressing agricultural pests and diseases*. Alan R. Liss Inc.: 223–242.
- [20] Hevesi M., Mashaal S.F. 1975. Contributions to the mechanism of infection of *Erwinia uredovora*, a parasite of rust fungi. *Acta Phytopathol. Acad. Sci. Hung.* **10**: 275–280.
- [21] Howell C.R., Stipanovic R.D. 1979. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by bacterium. *Phytopath.* **69**: 480–482.

- [22] Howell C.R., Stipanovic R.D. 1980. Suppression of *Pythium ultimum* induced damping-off of cotton seedlings by *Pseudomonas fluorescens* and its antibiotic, pyoluteorin. *Phytopath.* **70**: 712–715.
- [23] Howie W.J., Suslow T.V. 1991. Role of antibiotic biosynthesis in the inhibition of *Pythium ultimum* in the cotton spermosphere and rhizosphere. *Mol. Plant Microbe Interaction* **4**: 393–399.
- [24] Hsieh S.P.Y., Buddehagen I.W. 1974. Suppressing effects of *Erwinia herbicola* on infection by *Xanthomonas oryzae* and on symptom development in rice. *Phytopath.* **64**: 1182–1185.
- [25] Jacobsen B.J., Backman P.A. 1993. Biological and cultural plant disease controls: alternatives and supplements to chemicals in IPM systems. *Plant Dis.* **77**: 311–315.
- [26] James D.W.Jr., Gutterson N.I. 1986. Multiple antibiotics produced by *Pseudomonas fluorescens* Hv37a and their differential regulation by glucose. *Appl. Environ. Microbiol.* **52**: 1183–1189.
- [27] Janisiewicz W.J., Roitman J.N. 1988. Biological control of blue-mold and gray-mold on apple and pear with *Pseudomonas cepacia*. *Phytopath.* **78**: 1697–1700.
- [28] Janisiewicz W. 1991. Biological control of postharvest fruit diseases. W: Handbook of Applied Mycology. vol. 1: Soil and Plants. Mercel Dekker Inc., New York, Basel, Hong Kong. **12**: 301–326.
- [29] Jenkins P.T. 1968. A method to determine the frequency of airborne bacteria antagonistic to *Sclerotinia fructicola*. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* **8**: 434–435.
- [30] Keen N.T. 1992. The molecular biology of disease resistance. *Plant Mol. Biol.* **19**: 109–122.
- [31] Keen N.T., Buzzell R.I. 1991. New disease resistance genes in soybean against *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*: evidence that one of them interacts with a bacterial elicitor. *Theor. Appl. Genet.* **81**: 133–138.
- [32] Kempe J., Sequeira L. 1983. Biological control of bacterial wilt of potatoes: attempts to induce resistance by treating tubers with bacteria. *Plant Dis.* **67**: 499–503.
- [33] Kerr A., Tate M.E. 1984. Agrocins and the biological control of crown gall. *Microbiol. Sciences* **1**(1): 1–4.
- [34] Kloepper J.W., Leong J., Teintze M., Schroth M.N. 1980. *Pseudomonas* siderophores: a mechanism explaining disease-suppressive soils. *Current Microbiol.* **4**: 317–320.
- [35] Kloepper J.W., Schroth M.N. 1981. Relationship of in vitro antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopath.* **71**: 1020–1024.
- [36] Kloepper J.W. 1983. Effect of seed piece inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria on populations of *Erwinia carotovora* on potato roots and daughter tubers. *Phytopath.* **73**: 217–219.
- [37] Kloepper J.W., Schroth M.N., Miller T.D. 1980. Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield. *Phytopath.* **70**: 1078–1082.
- [38] Kloepper J.W. 1991. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents of soilborne diseases. W: The biological control of plant disease. Food and Fertilizer Center for the Asian and Pacific Region, Taipei, Taiwan: 142–152.
- [39] Levine M.N., Bamberg R.H., Atkinson R.E. 1936. Microorganisms antibiotic or pathogenic to cereal rusts. *Phytopath.* **26**: 99–100.
- [40] Lindow S. 1993. Integrated control of frost injury, fire blight, and fruit russet of pear with a blossom application of an antagonistic bacterium. *Acta Hort.* **338**: 349.
- [41] Lindow S., Wilson M. 1993. Population dynamics of *Pseudomonas fluorescens* strain A506 in pear flowers following inoculation in relation to strategies of biological control of fire blight and frost injury. *Acta Hort.* **338**: 331–332.
- [42] Loeffler W., Tschen J.S.-M., Vanittanakom N., Kugler M., Knorpp E., Hsieh T-F., Wu T.-G.. 1986. Antifungal effects of bacilysin and fengymycin from *Bacillus subtilis* F-29-3, a comparison with activities of other *Bacillus* antibiotics. *J. Phytopath.* **115**: 204–213.
- [43] Loper J.E. 1988. Role of fluorescent siderophore production in biological control of *Pythium ultimum* by *Pseudomonas fluorescens* strain. *Phytopath.* **78**: 166–172.
- [44] Lopez M.M., Miro M., Gorris M.T., Salcedo C.I., Temprano F., Orive R.J. 1983. Comparative efficiency of inoculation treatments with *Agrobacterium radiobacter* pv. *radiobacter* K84 against sensitive and resistant agrocin 84 strains of *Agrobacterium radiobacter* pv. *tumefaciens*. Proc. Int. Workshop on Crown Gall, *Agrobacterium tumefaciens*, Wadenswil, Switzerland: 43–58.

- [45] MacKeen C.D., Reilly C.C., Pusey P.L. 1986. Production and partial characterization of antifungal substances antagonistic to *Monilinia fructicola* from *Bacillus subtilis*. *Phytopath.* **76**: 136–139.
- [46] Maiss E. 1987. Einsatz einer Resistenzinduktion durch Kulturfiltrate von *Stachybotrys chartarum* (Ehrenb. ex Link) Hughes und *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn gegen Virosen unter praxisüblichen Anbaubedingungen. *Archiv Phytopathol. Pflanzenschutz Berlin* **23**(4): 275–283.
- [47] McLaughlin R., Sequeira L., Wiengartner D.P. 1985. Potato seedpiece treatment with an avirulent variant of *Pseudomonas solanacearum* reduces incidence of bacterial wilt and brown rot. *Phytopath.* **75**: 1178.
- [48] Merriman P.R., Proce R.D., Kollmorgen J.F., Piggott T., Ridge E.H. 1974. Effect of seed inoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseus* on the growth of cereals and carrots. *Aust. J. Agric. Res.* **25**: 219–226.
- [49] Morgan F.L. 1963. Infection inhibition and germ-tube lysis of three cereal rusts by *Bacillus pumilis*. *Phytopath.* **53**: 1346–1348.
- [50] Myers D., Strobel G.A. 1983. *Pseudomonas syringae* as microbial antagonist of *Ceratocystis ulmi* in the apoplast of American elm. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **80**(3): 389–394.
- [51] Norelli J., Aldwinckle H. 1993. Orchard evaluation of chemical and biological spray materials to control fire blight. *Acta Hort.* **338**: 363–368.
- [52] Norelli J., Aldwinckle H., Beltran L.D., Jaynes J. 1993. Increasing the fire blight resistance of apple by transformation with genes encoding antibacterial proteins. *Acta Hort.* **338**: 385–386.
- [53] Orlikowska T. 1994. Transformacja roślin przy pomocy wektorów *Agrobacterium tumefaciens*. *Biotechnologia* **1** (24): 32–43.
- [54] Peer van R., Niemann G.J., Schippers B. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopath.* **81**: 728–734.
- [55] Pietr S.J. 1987. Antagonistyczne działanie saprofitycznych bakterii z rodzajów *Bacillus* i *Pseudomonas* na fitopatogeniczne grzyby z rodzaju *Fusarium*. Rozprawa habilitacyjna, Wyd. Akad. Rol. Wrocław: 1–55.
- [56] Pon D.S., Townsend C.E., Wessman G.E., Schmitt C.G., Kingsolver C.H. 1954. A *Xanthomonas* parasitic on uredia of cereal rusts. *Phytopath.* **44**: 707–710.
- [57] Pusey P.L. 1989. Use of *Bacillus subtilis* and related organisms as biofungicides. *Pestic. Sci.* **27**: 133–140.
- [58] Riggle J.H., Klos E.J. 1972. Relationship of *Erwinia herbicola* to *E. amylovora*. *Can. J. Bot.* **50**: 1077–1083.
- [59] Roitman J.N., Mahoney N.E., Janisiewicz W.J., Benson M. 1990. A new chlorinated phenylpyrrole antibiotic produced by antifungal bacterium *Pseudomonas cepacia*. *J. Agric. Food Chem.*: 538–541.
- [60] Roitman J.N., Mahoney N.E., Janisiewicz W.J. 1990. Production and composition of phenylpyrrole metabolites produced by *Pseudomonas cepacia*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **34**: 381–386.
- [61] Ryder M.H., Jones D.A. 1991. Biological control of crown gall using *Agrobacterium* strains K84 and K1026. *Aust. J. Plant Physiol.* **18**: 571–579.
- [62] Saniewska A., Orlikowski L.B., Sobiczewski P. 1994. Effectiveness of *Bacillus* sp. in the control of *Phytophthora cryptogea* Pethybr. et Lass. 3 Konferencja EFPP, Poznań 5–9.09.1994. Streszczenia referatów 61.
- [63] Scheffer R.J. 1983. Biological control of Dutch elm disease by *Pseudomonas* species. *Ann. Appl. Biol.* **103**: 21–30.
- [64] Scher F.M., Baker R. 1982. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to *Fusarium* wilt pathogens. *Phytopath.* **72**: 1567–1573.
- [65] Scherff R.H. 1973. Control of bacterial blight of soybean by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Phytopath.* **63**: 400–402.
- [66] Schroth M.N., Hancock J.G. 1982. Disease suppressive soil and root colonizing bacteria. *Science* **216**: 1376–1381.

- [67] Schroth M.N., Weinhold A.R. 1986. Root-colonizing bacteria and plant health. *HortScience* 21(6): 1295–1298.
- [68] Sequeira L. 1987. Biological control of plant pathogens: present status and future prospects. Ex.V. Delucchi (ed.) — Protection integree: quo vadis? — "Parasitis 86": 217–235.
- [69] Smith J., Hammerschmidt R., Fulbright D.W. 1991. Rapid induction of systemic resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Physiol. Molec. Plant Pathology* 38: 223–235.
- [70] Sobiczewski P. 1987. Antagonistic bacteria in relation to *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* occurring in necroses and cankers of sour cherry trees. *Fruit Sci. Rep.* 14(4): 179–185.
- [71] Sobiczewski P., Karczewski J., Berczyński S. 1991. Biological control of crown gall (*Agrobacterium tumefaciens*) in Poland. *Fruit Sci. Rep.* 18(3): 125–132.
- [72] Swinburne T.R., Barr J.G., Brown A.E. 1975. Production of antibiotics by *Bacillus subtilis* and their effect on fungal colonists of apple leaf scars. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 65: 211–217.
- [73] Stutz E. W., Defago G., Kern H. 1986. Naturally occurring fluorescent pseudomonads involved in suppression of black root rot of tobacco. *Phytopath.* 76: 181–185.
- [74] Suslow T.V. 1982. Role of root colonizing bacteria in plant growth. W: *Phytopathogenic Prokaryotes*, ed. M.S. Mount, G.H. Lacy: 187–223, London, Academic Press.
- [75] Thomashow L.S., Weller D.M. 1988. Role of phenazine antibiotic from *Pseudomonas fluorescens* in biological control of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *J. Bacteriol.* 170: 3499–3508.
- [76] Wei G., Kloepper J.W., Tuzun S. 1991. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopath.* 81: 1508–1512.
- [77] Weller D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopath.* 26: 379–407.
- [78] Weller D.M., Cook R.J. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. *Phytopath.* 73: 463–469.
- [79] Wilson C.L., Pusey P.L. 1985. Potential for biological control of postharvest plant diseases. *Plant Disease* 69(5): 375–378.
- [80] Wilson C.L., Franklin J.D., Pusey P.L. 1987. Biological control of *Rhizopus* rot of peach with *Enterobacter cloacae*. *Phytopath.* 77: 303–305.
- [81] Wodzinski R.S., Beer S.V., Zumoff C.H., Clardy J.C., Coval S.J. 1990. Antibiotics produced by strains of *Erwinia herbicola* that are highly effective in suppressing fire blight. *Acta Hort.* 273: 411–412.
- [82] Utkhede R.S., Li T.S.C. 1989. Evaluation of *Bacillus subtilis* for potential control of apple replant disease. *J. Phytopath.* 126: 305–312.
- [83] Utkhede R.S., Li T.S.C., Smith E.M. 1992. The effect of *Glomus mosseae* and *Enterobacter aerogenes* on apple seedlings grown in apple replant disease soil. *J. Phytopath.* 135: 281–288.
- [84] Utkhede R.S., Smith E.M. 1992. Promotion of apple tree growth and fruit production by EEW-4 strain of *Bacillus subtilis* in apple replant disease soil. *Can J. Microbiol.* 38: 1270–1273.
- [85] Yuen G.Y., Schroth M.N. 1986. Interactions of *Pseudomonas fluorescens* strain E6 with ornamental plants and its effect on the composition of root-colonizing microflora. *Phytopath.* 76: 176–180.
- [86] Zwet van der T. 1993. Manipulation of the epiphytic microbial community to promote biological control of *Erwinia amylovora* on pear and apple. *Acta Hort.* 338: 351.