

WSPÓŁŻYCIE ENDOFITÓW BAKTERYJNYCH Z ROŚLINAMI (ARTYKUŁ PRZEGLĄDOWY)

Justyna Klama

Akademia Rolnicza w Poznaniu

Streszczenie. W pracy przeanalizowano wpływ bakterii endofitycznych na różne gatunki roślin uprawnych. Przedstawiono sposoby zasiedlania tkanek gospodarza przez zespoły endofitów oraz mechanizmy, za pomocą których oddziałują na rośliny. Oddziaływanie to może mieć charakter bezpośredni – poprzez wytwarzanie różnorodnych stymulatorów wzrostu oraz udostępnianie związanego azotu – lub pośredni, kiedy bakterie odgrywają rolę czynników kontroli biologicznej.

Słowa kluczowe: endofity, wzrost roślin, wiązanie azotu, kontrola biologiczna

WSTĘP

Zjawisko występowania populacji bakterii towarzyszących roślinom wskazuje na to, że zdrowe rośliny zawierają zespoły tzw. bakterii endofitycznych, dla których stanowią prawie niezbędną niszę. Szereg najnowszych badań wydaje się potwierdzać hipotezę, że w świecie roślin nie występują gatunki, które byłyby pozbawione specyficznej mikroflory endofitycznej [Strzelczyk 2001].

Endofitami nazwano wszystkie organizmy, „które przez dłuższy lub krótszy okres swojego życia kolonizują bezobjawowo żywe tkanki wewnętrzne swojego gospodarza” [Aust 2001]. W roku 1997 Baldani i in. zaproponowali podział tych drobnoustrojów na trzy kategorie:

- 1) organizmy ryzosferowe – kolonizujące część ryzosferową gleby (*Azotobacter paspali*, *Beijerinckia* spp.),
- 2) fakultatywne endofity – obejmujące grupę mikroorganizmów dobrze rozwijających się w glebie, zdolnych do kolonizacji zarówno zewnętrznej powierzchni korzeni, jak i ich wewnętrznych tkanek (*Azospirillum* spp.),

- 3) obligatoryjne endofity – z trudem przeżywające w glebie, natomiast kolonizujące wnętrza korzeni oraz nadziemne części roślin (*Acetobacter diazotrophicus*, *Herbaspirillum* spp., *Azoacrus*).

Sposoby, za pomocą których drobnoustroje wchodzą w asocjacje z roślinami, są różnorodne. Niektóre wynikają z bezpośrednich oddziaływań między mikroorganizmami a tkankami roślin, inne mają charakter pośredni i są spowodowane modyfikacjami środowiska glebowego.

Wiele z obecnie znanych endofitów zostało wyizolowanych z ryzosfery, ryzoplany lub z wewnętrznych tkanek różnych roślin. Przypuszcza się, że gleba jest głównym źródłem pochodzenia bakterii endofitycznych.

Początkowo rolę endofitów bakteryjnych sprowadzano do produkcji przez nie fitohormonów stymulujących rozwój roślin. Podkreślano również ich znaczenie jako czynnika biokontroli (dzięki wytwarzaniu substancji przeciwgrzybowych i przeciwbakteryjnych), wytwarzania sideroforów (produktów metabolizmu drobnoustrojów i roślin wydzielanych do środowiska w warunkach niedoboru żelaza; tworzących z żelazem rozpuszczalne w wodzie kompleksy, które mogą być przyswajane przez organizmy) oraz konkurencji o pokarm, wykluczenia z niszy i bezpośrednio – przez wytwarzanie systemicznej odporności roślin [Conn i in. 1997].

Jednakże największe zainteresowanie w asocjacji roślina – endofity dotyczy możliwości wykorzystania w praktyce rolniczej zdolności wiązania azotu atmosferycznego przez mikroorganizmy asocjacyjne. Inspiracją do prowadzonych na szeroką skalę badań nad tym procesem jest z pewnością nie do końca poznany ich system aktywności nitrogenazy, a także duże zróżnicowanie gatunkowe roślin, z którymi drobnoustroje wchodzą w asocjacje.

ZASIEDLANIE ROŚLIN

Całkowita populacja bakterii endofitycznych stwierdzona w roślinach zależy od: gatunku i genotypu rośliny, rodzaju tkanki, fazy rozwoju i warunków środowiskowych.

Liczebność bakterii wydaje się być zależna od specyfiki niszy ekologicznej, różnic w drogach kolonizacji oraz mutacji genetycznych w obrębie populacji bakterii. Jednak największą liczebność bakterii endofitycznych stwierdza się w tkankach korzeniowych i wynosi ona przeciętnie \log_5 jtk·g⁻¹ świeżej masy roślin. Wartość ta jest znacznie niższa od liczby bakterii patogenicznych, która waha się od \log_8 do \log_{10} jtk·g⁻¹ świeżej masy roślin. Populacja bakterii w powierzchniowych częściach rośliny wynosi około \log_4 jtk·g⁻¹ świeżej masy łodyg i \log_3 jtk·g⁻¹ w tkankach liści [Hallmann i in. 1997]. Najniższą liczebność endofitów, a czasami nawet ich zupełny brak stwierdza się w generatywnych organach: kwiatach, owocach i nasionach. Źródła endofitycznej kolonizacji są zatem różnorodne i mogą być wynikiem transmisji przez nasiona i wegetatywny materiał rozmnożeniowy, jak też wnikania z otaczającego środowiska, ryzosfery lub filiosfery. Stwierdzono to na podstawie dużego podobieństwa pomiędzy bakteriami zasiedlającymi wnętrza korzeni a tymi, które odkryte zostały w ryzosferze i filiosferze. W eksperymencie szklarniowym z bawełną 82% gatunków endofitycznych wyizolowanych z tkanek korzeniowych występowało również w ryzosferze [Hallmann i in. 1999]. Niewielka liczebność endofitów w nadziemnych partiach roślin może być spowodowana mniej korzystnymi warunkami do ich zasiedlenia, np: zbyt niską lub zbyt wysoką tem-

peraturą, niedostateczną zawartością wody, dostępnością substancji odżywczych oraz promieniowaniem UV. W przeciwieństwie do części nadziemnych, system korzeniowy wydaje się być bardziej zbuforowanym środowiskiem, z mniejszymi wahaniami temperatury i stanu wody. Dodatkowo wydzieliny korzeniowe stanowią bogate i stałe źródła składników pokarmowych dostępnych dla bakterii. Kolejnym czynnikiem dominacji ryzosfery nad filosferą może być sama budowa tkanek. Grube ściany komórkowe epidermy, kutikula i woski na liściach są silną barierą dla wnikania mikroorganizmów w porównaniu z cienką, pozbawioną wosków epidermą z licznymi rozłogami, włosnikami korzeniowymi i skaleczeniami na powierzchni. Rywalizacja pomiędzy mikroorganizmami ryzosfery i filosfery ma prawdopodobnie duży wpływ na spektrum bakterii stających się endofitami [Sturz i Nowak 2000].

MECHANIZM INTERAKCJI ROŚLINA – ENDOFIT

Silne interakcje pomiędzy roślinami wyższymi a bakteriami endofitycznymi są warunkiem zapewnienia prawidłowego zrównoważenia asocjacji roślina – endofit. Z wyjątkiem transmisji bakterii przez nasiona albo inne części wegetatywne kolonizacja endofitami przebiega prawidłowo w dwóch ważnych etapach: pierwszy stanowią oddziaływania prekolonizacyjne, a drugi postkolonizacyjne.

Interakcje prekolonizacyjne obejmują następujące etapy: przemieszczanie się bakterii w kierunku korzeni, przyłączanie się do powierzchni korzenia, procesy rozpoznania roślina – bakteria na powierzchni korzenia, penetracja korzeni przez bakterie.

Główne drogi zasiedlenia rośliny bakteriami endofitycznymi to naturalne otwory (pory i hydatody), rany i uszkodzenia, mikropory, abiotyczne uszkodzenia mechaniczne (np. spowodowane przez grad). Prawdopodobnie najważniejszą drogą penetracji są rany i mikropory, obecne już we wczesnym stadium rozwoju korzenia. Młoda tkanka korzeniowa jest zwykle niezróżnicowana i delikatna, pozwala na przemieszczanie się bakterii endofitycznych do głębokich warstw tkanek korzeniowych. Dodatkowo wnikaniu bakterii pomagają patogeny roślinne, takie jak np. nicienie czy patogeny grzybowe. Dotychczas nie stwierdzono, czy penetracja bakteryjna jest procesem pasywnym czy raczej aktywnym. Typowa penetracja pasywna może dotyczyć naturalnych dróg wnikania bakterii, gdzie wejście jest wspomagane przez nienaruszony nośnik wodny przechodzący od powierzchni liścia do porów i hydatod. Komórki bakteryjne, które do nich docierają, mogą łatwiej kolonizować przestrzeń komórkową liści. Endofity bakteryjne mają zdolność do selektywnego produkowania enzymów hydrolitycznych, pozwalających na ich wnikanie do rośliny, a po pomyślnej kolonizacji zatrzymują ich ekspresję.

Podczas penetracji tkanek roślinnych bakterie endofityczne zaczynają się namnażać i kolonizować różne tkanki aż do ustanowienia pomyślnej asocjacji roślina – endofit. Od tego momentu mamy do czynienia ze zjawiskiem postkolonizacyjnej interakcji, na którą składają się kolejno: namnożenie bakterii, lokalizacja bakterii w tkankach korzeniowych i kontrola biologiczna. Znaczenie każdego z tych mechanizmów nie jest jeszcze do końca poznane i tylko niektóre z nich mogą jednoznacznie wpływać na powodzenie asocjacji roślina – endofit [Hallmann 2001].

Obecność bakterii endofitycznych kolonizujących różne części roślin stwierdzono zarówno w korzeniach, łodygach i liściach, jak i w owocach, nasionach, a nawet w kwiatach. Obecnie dzięki nowoczesnym metodom detekcji można badać obecność endofitów w konkretnych tkankach roślinnych, a nawet w pojedynczych komórkach.

Pomocne są w tym takie metody, jak znakowanie złotem, mikroskopia transmisyjno-elektronowa czy znakowanie bakterii zielonym fluoryzującym białkiem [Hallmann 2001]. Jednakże kolejne etapy kolonizacji wymagają dalszych badań wyjaśniających, czy bakterie endofityczne najpierw kolonizują ksylem i floem, obie części równolegle, czy przestrzenie międzykomórkowe otaczające tkanki przewodzące. Endofityczna lokalizacja w tkankach roślin wyższych może być podzielona na zewnętrzną i wewnętrzną.

W zewnętrznej lokalizacji bakterie endofityczne znajdowano wokół powierzchni korzenia, pod uszkodzonymi komórkami epidermy albo skoncentrowane w rowkach pomiędzy komórkami epidermy, jak również przytwierdzone do zranień na powierzchni. Wewnętrzna lokalizacja z kolei może być wewnątrzkomórkowa albo międzykomórkowa, charakterystyczna dla większości endofitów bakteryjnych.

Obecność endofitów stwierdzono również wewnątrz komórek kory, w bliskiej asocjacji z elementami przewodzącymi i w komórkach epidermy, obejmującej również włósniki korzeniowe [Hallmann i in. 1997].

Wewnętrzny mechanizm wnikania do komórki polega na wprowadzeniu zaburzeń w plazmie komórek gospodarza, gdzie niepatogeniczne bakterie indukują częściową degenerację ściany komórkowej gospodarza i powodują aktywację zmian wypływu potasu i wpływu wodoru. Potas w przestrzeniach międzykomórkowych powoduje podniesienie pH z 5,5 do 7,0-7,5. Zmiana ta indukuje wypływ sacharozy, aminokwasów oraz niektórych jonów, które są wykorzystywane przez organizmy kolonizujące te przestrzenie. Proces ten wyjaśnia obecność licznych bakterii endofitycznych wewnątrz komórek i między nimi [Hallmann 2001].

ODDZIAŁYWANIE ENDOFITÓW NA ROŚLINY

Endofity mogą oddziaływać na rośliny w trojaki sposób: hamować ich rozwój, stymulować lub pozostawać obojętnymi w stosunku do organizmu gospodarza (to ostatnie jest najmniej interesujące ze względów aplikacyjnych) [Strzelczyk 2001]. Dany gatunek bakterii endofitycznych stymulując rozwój jednego gatunku roślin może hamować rozwój roślin innego gatunku. Jednak zdecydowanie większa ilość doniesień naukowych dotyczy pozytywnego wpływu tej grupy drobnoustrojów na organizmy wyższe, ze szczególnym uwzględnieniem roślin.

Stymulujące oddziaływanie mikroorganizmów przejawia się ich bezpośrednim korzystnym wpływem na wzrost roślin, ze szczególnym uwzględnieniem zdolności niektórych bakterii do wiązania azotu atmosferycznego i udostępniania go zasiedlanym roślinom, jak również sprawowaniem szeroko rozumianej kontroli biologicznej [Alström 1991, Maurhofer i in. 1998].

Stymulacja wzrostu roślin

Powszechnie znanym zjawiskiem, którego znaczenie zostało wielokrotnie potwierdzone licznymi eksperymentami, jest zdolność endofitów do produkcji hormonów wzrostu roślin. Znaczący jest fakt wytwarzania przez bakterie kwasu indoliloctowego (IAA). Liczne badania z udziałem *Azospirillum brasilense* produkującego znaczne ilości IAA potwierdzają wpływ wytwarzanego fitohormonu na wydłużanie korzenia głównego oraz wytwarzanie korzeni bocznych u roślin inokulowanych tym szczepem bakterii. Podobny efekt daje wytwarzanie innych fitohormonów, takich jak gibereliny i cyto-

kininy, produkowanych m.in. przez *Arthrobacter giacomelloi* i *Azospirillum brasilense*. Wykazano, że związki te stymulują wytwarzanie korzeni bocznych i włośników np. u *Pennisetum americanum* [Cacciari i in. 1989].

Stwierdzono, że szczepienie endofitami niektórych roślin powoduje obniżenie ilości energii przeznaczonej na akumulację suchej masy, co ostatecznie przejawia się wzrostem plonów, jak u niektórych warzyw szczepionych *Azospirillum brasilense*.

Roślina może również czerpać korzyści z samego zasiedlenia jej organizmu przez endofity. Obecność komórek bakterii w przestrzeniach międzykomórkowych warstw tkanki korowej powoduje zwiększenie rozmiarów tych przestrzeni, rozluźniając kontakt pomiędzy komórkami, czego efektem jest bardziej intensywne pobieranie składników pokarmowych przez roślinę. Niejednokrotnie podkreślana jest rola szczepu *Azospirillum brasilense*, który przemieszczając się do tkanki korowej kukurydzy i sorgo powoduje nawet 50% wzrost pobierania NPK przez rośliny [Kurek i Kobus 1999].

Nie bez znaczenia pozostaje także mineralizacja siarki i fosforu organicznego przez endofity obecne w ryzosferze i ryzoplane. Podobnie jak pozostałe grupy drobnoustrojów glebowych, również bakterie endofityczne wykazują zdolność do uwalniania podstawowych pierwiastków z połączeń organicznych i uprzystępniania ich roślinom.

Wiązanie azotu atmosferycznego

Spośród wszystkich poznanych dotychczas pierwiastków odżywczych, rośliny najsilniej reagują na niedobory azotu, co objawia się w zależności od gatunku słabszym krzewieniem, żółknięciem liści, wątlnością lub sztywnością tkanek czy też strzelistością. Liście są źle wykształcone, a plonowanie roślin oraz wartość biologiczna otrzymanego produktu obniżone [Chodań i in. 1980].

Ocenia się, że ilość azotu związanego biologicznie przez drobnoustroje na kuli ziemskiej wynosi około 100-265 milionów rocznie, z czego 150 milionów ton przypada na mikroorganizmy glebowe [Sawicka 1985, Subba Rao i in. 1985]. Dlatego też znaczącą rolę przypisuje się biologicznemu wiązaniu azotu w rolnictwie (BNF – Biological Nitrogen Fixation), szczególnie w uprawie zbóż, kukurydzy i ryżu.

Liczne badania wskazują, że zdolność wiązania azotu atmosferycznego charakteryzuje tylko niektóre mikroorganizmy prokariotyczne, takie jak bakterie, sinice i promienowce, zwanym powszechnie diazotrofami. Wszystkie te organizmy zawierają informację genetyczną umożliwiającą syntezę enzymu – nitrogenazy, który katalizuje redukcję N_2 do NH_3 .

Poniższe zestawienie [Krupka 1984] przedstawia najważniejsze rodzaje drobnoustrojów wiążących azot atmosferyczny:

NIESYMBIOTYCZNE		SYMBIOTYCZNE
Bakterie		Bakterie
<i>Amobeobacter</i>	<i>Clostridium</i>	– z motylkowatymi
<i>Azospirillum</i>	<i>Derxia</i>	<i>Azorhizobium</i>
<i>Azotobacter</i>	<i>Desulfovibrio</i>	<i>Bradyrhizobium</i>
<i>Azomonas</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Sinorhizobium</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Methanobacterium</i>	– z niemotylkowatymi
<i>Beijerinckia</i>	<i>Rhodobacter</i>	<i>Frankia</i>
<i>Chlorobium</i>	<i>Rhodospirillum</i>	

Sinice		Sinice
<i>Anabena</i>	<i>Nodularia</i>	<i>Anabena</i>
<i>Anabaenopsis</i>	<i>Nostoc</i>	<i>Calothrix</i>
<i>Aphanothece</i>	<i>Plectonema</i>	<i>Chroococcidiopsis</i>
<i>Gleocapsa</i>	<i>Rivularia</i>	<i>Dermocarpa</i>
<i>Gleotrichia</i>	<i>Scytonema</i>	<i>Myxosarcina</i>
<i>Lyngbya</i>	<i>Tolypothrix</i>	<i>Oscillatoria</i>
<i>Mastigocladus</i>	<i>Trichodesmium</i>	<i>Pseudoanabena</i>
<i>Microcoleus</i>		<i>Scytonema</i>
		<i>Xenococcus</i>

Istnieje wiele powodów dużego zainteresowania wiązaniem azotu przez bakterie symbiotyczne. Rośliny, z jakimi bakterie te wchodzi w symbiozę, są dokładnie taksonomicznie określone, a procesy brodawkowania roślin i wiązania azotu skorelowane. Badania prowadzone na brodawkach roślin motylkowatych prowadzą do pasjonujących odkryć, a praktyczna rola brodawek doceniana była już w starożytności. Jednak wiele prowadzonych w ostatnich latach doświadczeń wskazuje na możliwości wykorzystania w praktyce rolniczej zdolności wiązania tego pierwiastka również przez liczne drobno-ustroje niesymbiotyczne [Quispel 1991, Triplett 1996]. Stwierdzono, że właściwość ta występuje u licznych gatunków bakterii endofitycznych. Tak więc termin „endofityczne bakterie diazotroficzne” obejmuje wszystkie diazotrofy zdolne do kolonizowania głównie strefy korzeniowej roślin, dość trudno przeżywające w glebie i mające zdolność wiązania azotu w asocjacjach z roślinami.

W zamian za zaopatrywanie rośliny-gospodarza w azot, endofity korzystają ze zmniejszonej konkurencji o pokarm występującej w ryzosferze i ryzoplacie, obfitszego zaopatrzenia w substraty, a także ochrony przed nadmierną koncentracją tlenu jako czynnika mogącego działać destrukcyjnie na nitrogenazę [Strzelczyk 2001].

Przełomem w tej dziedzinie badań stało się odkrycie asocjacyjnego układu *Azotobacter paspali* z trawą *Paspalum notatum*, pod którą bakterie wiązały do 100 kg N·ha⁻¹ na rok [Dart i in. 1975]. Wyniki te zainspirowały wielu badaczy do poszukiwania nowych endofitów o podobnej aktywności nitrogenazy, których właściwości można by wykorzystać w praktyce rolniczej pod uprawami wielu roślin o dużym znaczeniu gospodarczym w poszczególnych krajach i strefach klimatycznych. Poszukiwania doprowadziły do odkrycia kolejnych szczepów, które zasiedlając wybrane gatunki roślin zaopatrywały w azot organizm gospodarza, pokrywając często znaczną część jego zapotrzebowania pokarmowego na ten pierwiastek, a w niektórych przypadkach nawet eliminowały konieczność stosowania dodatkowego nawożenia azotowego.

Szczególnie efektywne okazały się różne gatunki z rodzaju *Azospirillum*. Badania wykazały, że *Azospirillum brasilense* pod uprawą kukurydzy może dać 18% wzrost plonu [Kapulnik i in. 1987]. Zadowalające rezultaty uzyskiwano również przy wprowadzaniu już niewielkich dawek azotu do uprawianej gleby. Hegazi i Saleh [1985] wykazali w uprawie pszenicy szczepionej *A. brasilense* i wzbogaconej dodatkiem 67 kg N·ha⁻¹ nawet 31% wzrost plonu roślin. Niezwykle obiecujące okazało się również odkrycie innej tropikalnej bakterii endofitycznej, *Acetobacter diazotrophicus*, która wchodzi w asocjacje z trzciną cukrową wiąże nawet do 150 kg N·ha⁻¹ na rok [Baldani 2000]. Innym efektywnym diazotrofem okazał się *Herbaspirillum seropedicae*, który pod uprawami ryżu powodował 30% wzrost akumulacji azotu w roślinach [Baldani i in. 1997].

Wykaz najważniejszych endofitycznych bakterii diazotroficznych oraz ich gospodarzy – roślin przedstawia poniższe zestawienie:

<i>Azospirillum brasilense</i>	proso, sorgo, pszenica, kukurydza
<i>Azospirillum lipoferum</i>	proso, kukurydza, pszenica, <i>Pennisetum americanum</i>
<i>Azospirillum amazonense</i>	pszenica
<i>Azospirillum doebereinerae</i>	<i>Miscanthus</i>
<i>Herbaspirillum seropedicae</i>	pszenica, trzcina cukrowa, trawy pastewne, kukurydza, ryż, drzewa palmowe
<i>Herbaspirillum rubrisubalbicans</i>	trzcina cukrowa, ryż
<i>Herbaspirillum frisingense</i>	<i>Pennisetum purpureum</i> , <i>Miscanthus</i>
<i>Acetobacter diazotrophicus</i>	trzcina cukrowa, słodkie ziemniaki, <i>Pennisetum purpureum</i> , pszenica, kukurydza
<i>Azotobacter paspali</i>	<i>Paspalum notatum</i>

Stymulacja rozwoju drobnoustrojów symbiotycznych w roślinach

Dowiedziano, że obecność endofitów w tkankach roślin wpływa na zwiększenie infekcji roślin grzybami mikoryzowymi, a więc jest bardziej korzystne dla rośliny. Wykazano, że *Azospirillum brasilense* zastosowane do szczepienia zbóż spowodowało zwiększoną infekcję grzybami endomikoryzowymi, co przyczyniało się do wzrostu zawartości fosforu, a tym samym wpływało na stymulację wzrostu roślin [Kurek i Kobus 1999]. Również *Acetobacter diazotrophicus* użyty do inokulacji słodkich ziemniaków powodował wzrost liczby zarodników mikoryzowego grzyba *Glomus clarum* w glebie i wewnątrz korzeni rośliny. Zjawisko to przyczyniało się bezpośrednio do zwiększonej kumulacji lipidów i cukrów, ostatecznie stanowiąc czynnik stymulujący wzrost roślin [Paula i in. 1991].

Najnowsze badania wykazały, że bakterie endofityczne stymulują rozwój szczepów symbiotycznych u roślin motylkowatych. Wykazano, że inokulacja koniczyny czerwonej mieszaniną *Rhizobium leguminosarum*, *Bacillus insolitus* i *Bacillus brevis* lub *Agrobacterium* powoduje wzmożone brodawkowanie roślin.

Podobny efekt osiągnięto podczas koinokulacji soi *Bradyrhizobium japonicum* i *Pseudomonas fluorescens*.

Kontrola biologiczna

Szereg badań ostatnich lat skupia się na poznawaniu roli endofitów jako czynników kontroli biologicznej roślin. Stwierdzono, że bakterie endofityczne sprawują kontrolę biologiczną w dwojaki sposób: poprzez oddziaływanie o charakterze antagonistycznym lub przez indukcję systemicznej oporności (ISR – Induction of Systemic Resistance).

Analiza obu sposobów oddziaływania drobnoustrojów wykazuje znaczne różnice. Mechanizmy oparte na zjawisku antagonizmu polegają na bezpośrednim wykorzystaniu funkcji czynników kontroli biologicznej, np.: produkcja antybiotyków i sideroforów. Zjawisko ISR opiera się natomiast na wykorzystaniu mechanizmów obronnych rośliny, które są jedynie uaktywniane przez endofity. Po drugie, antagonizm polega na ekspresji wywołującej jednorazowy skutek, natomiast indukcja oporności to ekspresja aktywująca kolejne mechanizmy obronne. Kolejną różnicą obu procesów dotyczy zakresu dzia-

lania: reakcje antagonistyczne oddziałują na pojedyncze gatunki patogenów, podczas gdy ISR charakteryzuje się znacznie szerszym spektrum działania na patogeny. Reakcje antagonistyczne nie wykazują specyficzności miejscowego działania, natomiast indukcja systemicznej oporności polega na działaniu na wybraną część rośliny [Wei i in. 1996].

Sprawowanie kontroli biologicznej u roślin poprzez antagonizm polega na uruchamianiu różnorodnych mechanizmów, które najczęściej związane są z wytwarzaniem przez bakterie specyficznych związków. Jednym z nich są siderofory, które charakteryzują się wyższym powinowactwem z żelazem niż mikroorganizmy szkodliwie oddziałujące na rośliny (DRMO – Deleterious Rhizosphere Microorganisms). Ograniczenie dostępności żelaza dla DRMO powoduje zahamowanie ich rozwoju, a tym samym wpływa na stymulację wzrostu roślin [Schroth i Hancock 1982].

Skrajnie odmiennym zjawiskiem jest zdolność niektórych endofitów do znacznego podnoszenia stężenia żelaza w środowisku do poziomu toksycznego dla patogennych grzybów i bakterii, np. fluoryzujący *Pseudomonas* hamuje w ten sposób rozwój patogenów *Fusarium oxysporum* i *Erwinia carotovora*. Wykazano, że endofity bakteryjne mające zdolność intensywnego namnażania się w miejscach zaatakowanych przez patogena zaczynają stanowić poważne zagrożenie dla drobnoustrojów chorobotwórczych konkurując o wodę i składniki pokarmowe, co ostatecznie prowadzi do wyparcia patogena z zajętej przez niego niszy. Zjawisko to stwierdzono m.in. w przypadku intensywnego namnażania się endofitycznej bakterii *Bacillus macerans* w liściach wyki w miejscach występowania chorobotwórczych grzybów *Botrytis cinerea* i *Botrytis fabae*, wywołujących brązową plamistość liści [Sharga 1997].

Powszechnie znanym zjawiskiem jest produkcja antybiotyków przez endofity roślinne. Na szczególną uwagę zasługuje rola licznych gatunków *Pseudomonas*, których substancje antybiotyczne efektywnie zwalczają patogeny roślinne [Sturz i in. 1999]; np. *Pseudomonas putida* wytwarza fenazynę chroniącą ziemniaki przed miękką zgnilizną korzenia, wywołaną przez *Erwinia carotovora*, a *Pseudomonas fluorescens* produkuje pyrolnitrinę zwalczającą patogena *Rhizoctonia solani* w siewkach bawełny [Howell i Stipanovic 1979].

Częstym zjawiskiem jest również zdolność endofitów do wytwarzania kwasu cyjanowodorowego wewnątrz zasiedlanej tkanki korzeniowej roślin, zdecydowanie ograniczającego rozwój patogennych grzybów.

Endofity indukujące systemiczną oporność wytwarzają często ochronne biopolimery, co prowadzi do lignifikacji ścian komórkowych, a tym samym zwiększenia bariery ochronnej przed patogenami, np. jako mechanizm oporności na *Colletotrichum* w przypadku ścian komórkowych tkanki ogórka [Hammerschmidt i in. 1976]. Podobny efekt daje wytwarzanie przez niektóre gatunki endofitycznych bakterii specyficznych pozakomórkowych glikoprotein bogatych w hydroksyprolinę (HRGPs), które łącząc się ze ścianą komórkową roślin powodują wzrost jej gęstości.

Działanie niektórych patogenów grzybowych opiera się na wytwarzaniu enzymu poligalakturonazy, który jest przyczyną zmian nekrotycznych roślin w wyniku degradacji ścian komórkowych. Rola endofitów polega na wytwarzaniu specyficznych, do tej pory nie do końca zidentyfikowanych białek, które mają zdolność hamowania ekspresji poligalakturonazy. Podkreśla się również znaczenie wytwarzanych przez endofity związków fenolowych, np. fitoaleksyn, co wywoływane jest zmianą szlaków metabolicznych. Związki te również mają zdolność bezpośredniego zwalczania patogennych drobnoustrojów [Talarczyk i Hennig 2001].

PODSUMOWANIE

Ścisłe asocjacje endofitów z roślinami są zjawiskiem powszechnym, przynoszącym obustronne korzyści. Powodzenie tego specyficznego rodzaju symbiozy uzależnione jest od wielu czynników biotycznych i abiotycznych. Efektywna kolonizacja roślin bakteriami endofitycznymi wpływa na wzrost i rozwój roślin dzięki wytwarzaniu przez mikroorganizmy substancji promujących ich rozwój. Obecnie na coraz większą skalę podejmowane są próby zastosowania w rolnictwie szczepionek z endofitów mających zdolność wiązania azotu atmosferycznego, co przynajmniej częściowo eliminuje konieczność stosowania nawozów sztucznych. Natomiast w zakresie współczesnej biotechnologii leży wykorzystanie właściwości tej grupy drobnoustrojów jako czynników kontroli biologicznej w walce z patogenami roślin.

PIŚMIENNICTWO

- Alström S., 1991. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 37, 495-501.
- Aust H.J., 2001. Comparison of the colonization of Monocotyledonous and Dicotyledonous Plants by endophytic fungi. *Proc. 4th Int. Neotyphodium/Grass Interactions Symp.*, eds. Pau and Dapprich, 9-16.
- Baldani J.I., 2000. The sugarcane story – reasons for succes in Brazil. *Proc. Int. Symp. on Nitrogen Fixation with non-legumes, Australia*, 171.
- Baldani J.I., Caruso L., Baldani V.L.D., Goi S.R., Döbereiner J. 1997. Recent advances in BNF with non-legume plants. *Soil Biol. Biochem.* 29, 911-922.
- Chodań J., Grzesiuk W., Mirowski Z., 1980. *Zarys gleboznawstwa i chemii rolnej*. PWN Warszawa.
- Ciacchiari I., Lippi D., Pietrosanti T., Pietrosanti W., 1989. Phytohormone-like substances produced by single and mixed diazotrophic cultures of *Azospirillum* and *Arthrobacter*. *Plant and Soil* 115, 151-153.
- Conn K.L., Nowak J., Lazarovits G., 1997. A gnotobiotic bioassay for studying interactions between potatoes and plant growth-promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 43, 801-808.
- Dart P.J., Day J.M., 1975. Non-symbiotic nitrogen fixation in soil. [In:] *Soil microbiology*, eds. Walker N., Butterworths Ltd., 225-252.
- Hallmann J., 2001. Plant interactions with endophytic bacteria. *Biotic interactions in plant-pathogen associations*. CABI, 87-119.
- Hallmann J., Quadt-Hallmann A., Mahaffee W.F., Kloeppe J.W., 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43, 895-914.
- Hallmann J., Rodriguez-Kabana R., Kloeppe J.W., 1999. Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control. *Soil Biol. Biochem.* 30, 925-937.
- Hammerschmidt R., Acres S., Kuć J., 1976. Protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium* and *Cladosporium cucumericum*. *Phytopathology* 66, 790-793.
- Hegazi N.A., Saleh H., 1985. Possible contribution of *Azospirillum* spp. to the nutritional status of wheat plants grown in sandy soil of Gassim-Saudi Arabia. *Azospirillum III: genetics, physiology, ecology*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 189-202.
- Howell C.R., Stipanovic R.D., 1979. Control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology* 69, 480-482.
- Kapulnik Y., Okon Y., Henis Y., 1987. Yield response of spring wheat cultivars (*Triticum aestivum* and *T. turgidum*) to inoculation of *Azospirillum brasilense* under field conditions. *Biol. Fertil. Solis* 4, 27-35.

- Krupka H.M., 1984. Wybrane problemy biologicznego wiązania azotu atmosferycznego. *Wiad. Ekol.* 30 (3), 249-270.
- Kurek E., Kobus J., 1999. Korzystne i szkodliwe oddziaływania mikroflory ryzosferowej na wzrost i rozwój roślin. *Post. Mikrobiol.* XXIX, 103-123.
- Maurhofer M., Reimann C., Schmidli-Sacherer P., Heeb S., Haas D., Defago G., 1998. Salicylic acid biosynthetic genes expressed in *Pseudomonas fluorescens* strain P3 improve the induction of systemic resistance in tobacco against necrosis virus. *Phytopathology* 88 (7), 678-684.
- Paula M.A., Reis V.M., Döbereiner J., 1991. Interactions of *Glomus clarum* with *Acetobacter diazotrophicus* in infection of sweet potato (*Ipomoea batatas*), sugarcane (*Saccharum* spp.) and sweet sorghum (*Sorghum vulgare*). *Biol. Fert. Soils* 11, 111-115.
- Quispel A., 1991. A critical evaluation of the prospects for nitrogen fixation with non-legumes. *Plant and Soil* 137, 1-11.
- Sawicka A., 1985. Dinitrogen fixation in the rhizosphere of meadow grasses. [In:] *Fight against hunger through improved plant nutrition*, eds. Welte E., Szaboes I., Goettingen, 2, 145-150.
- Schroth M.N., Hancock J.G., 1982. Disease-suppressive soil and root-colonizing bacteria. *Science* 216, 1376-1381.
- Sharga B.M., 1997. *Bacillus* isolates as potential biocontrol/agents against chocolate spot on Faba beans. *Can. J. Microbiol.* 43, 915-924.
- Strzelczyk E., 2001. Endofity. Drobnoustroje środowiska glebowego, aspekty fizjologiczne, biochemiczne, genetyczne. UMK Toruń, 97-107.
- Sturz A.V., Christie B.R., Matheson B.G., Arsenaut W.J., Buchanan N.A., 1999. Endophytic bacterial communities in the periderm of potato tubers and their potential to improve resistance to soil-borne plant pathogens. *Plant Pathology* 48, 360-369.
- Sturz A.V., Nowak J., 2000. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *App. Soil Ecology* 15, 183-190.
- Subba Rao N.S., Tilak K.V.B.R., Singh C.S., 1985. Effect of combined inoculation of *Azospirillum brasilense* and vesicular-arbuscular mycorrhiza on pearl millet (*Pennisetum americanum*). *Plant Soil* 84, 283-286.
- Talarczyk A., Hennig J., 2001. Early defence responses in plants infected with pathogenic organisms. *Cellular & Molecul. Biol. Letters* 6, 955-970.
- Triplett E.W., 1996. Diazotrophic endophytes: progress and prospects for nitrogen fixation in monocots. *Plant and Soil* 186, 29-38.
- Wei G., Klopper J.W., Tuzun S., 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86 (2), 221-224.

COEXISTENCE OF BACTERIAL ENDOPHYTES AND PLANTS (REVIEW)

Abstract. The study analyses the effect of bacterial endophytes on different crop species. It describes how endophytes live in the host tissues of different plants and how endophytic bacteria affect the plant health status. The effect can be both direct, by producing different plant growth stimulators and making the fixed nitrogen available, or indirect when the bacteria act as biological control agents.

Key words: endophytes, plant growth, nitrogen fixation, biological control

Otrzymano – Received: 02.11.2003
Zaakceptowano – Accepted: 05.03.2004