

NATALIA BALICKA, JADWIGA GOŁĘBIEWSKA, WANDA MALISZEWSKA

WZAJEMNE STOSUNKI MIĘDZY DROBNOUSTROJAMI I KORZENIAMI ROŚLIN (Międzynarodowe sympozjum)

Organizatorem tego sympozjum, które odbyło się w Pradze w dniach 24—26 września 1963 r. był Instytut Biologii Czechosłowackiej Akademii Nauk. Wzięło w nim udział około 100 osób z 17 krajów. Treść sympozjum stanowiły cztery główne problemy:

1. Wpływ rośliny na mikroflorę ryzosfery ze specjalnym uwzględnieniem wpływu wydzielin korzeniowych na zasiedlenie korzeni roślin przez drbnoustroje.
2. Wpływ mikroflory ryzosfery na roślinę.
3. Stosunki między rośliną a mikroflorą patogeniczną w ryzosferze.
4. Stosunki symbiotyczne między roślinami i drobnoustrojami.

Bardzo czynną rolę w referowaniu badań, a także w dyskusji, odgrywali pracownicy Zakładu Mikrobiologii Gleby Instytutu Biologii CAN. Zakład ten w ostatnich latach prowadził liczne badania nad ryzosferą. Ma już duże osiągnięcia w tej dziedzinie i projektuje dalsze rozwinięcie prac nad stosunkami biologicznymi, panującymi w ryzosferze. Kierownik tego Zakładu dr J. Macura w referacie wprowadzającym starał się wyjaśnić, dlaczego obecnie to zagadnienie zajmuje tak ważną pozycję wśród problemów, którymi zajmuje się mikrobiologia gleby?

Wiadomo, że roślina może doskonale rosnąć i rozwijać się w warunkach sterylnych na czystym piasku, jeśli zapewnimy jej dostateczną ilość składników pokarmowych w formie przyswajalnej oraz odpowiednią ilość wody i dostęp światła. Niestety, trudno jest zapewnić roślinie takie warunki w naturze. Dlatego rozwój jej jest tak zależny od urodzajności gleby, w tworzeniu i utrzymaniu której wybitną rolę odgrywają drobnoustroje. Są one regulatorami przemian biochemicznych organicznej materii glebowej, mają wpływ na zachowanie w glebie stałego poziomu zawartości humusu, regulują przez to stosunki wodne i powietrzne w glebie. Drobnoustroje przez asymilację i rozkład związków azotowych, fosforowych i innych zapewniają równomierny dopływ pokarmów w ciągu całego okresu wegetacji roślin. Jak zaznaczył prof. Kasz w swoim przemówieniu na otwarciu Sympozjum, chemicy często wyrażają niezadowolenie z działalności drobnoustrojów w glebie, gdyż wprowadzają one wiele niewiadomych do ich starannie ułożonych planów stworzenia optymalnych warunków dla wzrostu roślin. Ujęcie procesów biologicznych w glebie w jakiś określony schemat jest tym trudniejsze, że wszystkie te procesy mają charakter dynamiczny. Przy czym jest już rzeczą wiadomą, że w strefie przykorzeniowej, w tak zwanej ryzosferze, procesy te przebiegają znacznie aktywniej niż w glebie poza zasięgiem korzeni. Stwierdzono również, że istnieje współzależność między jakościowym i ilościowym składem mikroflory w ryzosferze a rodzajem, gatunkiem, czy nawet odmianą rośliny. Ważną rolę spełniają więc drobnoustroje w wytworzeniu odpowiedniego środowiska fizyko-chemicznego dla poszczególnych roślin.

Poza tym bada się obecnie mikroflorę ryzosfery również ze względu na jej wpływ na zdrowotność gleby i roślin. Zagadnienie to jest bardzo aktualne, gdyż w wielu krajach słusznie czy niesłusznie słyszy się coraz liczniejsze głosy krytyki nadmiernego stosowania środków chemicznych w ochronie roślin.

W walce biologicznej z chorobami roślin po pierwsze poszukuje się odmian odpornych na choroby i szkodniki, a po drugie, w świecie drobnoustrojów poszukuje się organizmów antybiotycznych lub przynajmniej antagonistycznych w stosunku do patogenów. W obu wypadkach badania nad ryzosferą stanowią podstawę do ustalenia racjonalnych metod tak pojętej walki.

W pierwszym dniu sympozjum prof. Tesicz z Jugosławii w swym referacie programowym poruszył sprawę ustalenia nomenklatury w badaniach nad ryzosferą. Zdawałoby się, że jest to sprawa małej wagi, jednakże braki w tym zakresie powodują dużo zamieszania w interpretacji wyników badań i uniemożliwiają porównanie wyników prac różnych autorów. Propozycje prof. Tesicza szły w tym kierunku, aby w oparciu o pojęcia przyjęte przez szkołę kanadyjską Lochheada i radziecką reprezentowaną przez Bieriozową w mikroflorze całych roślin wyróżnić mikroflorę nasion, liści i korzeni (spermosfera, phyllosfera i ryzosfera). Mikroflorę korzeni dzieli się na dalsze trzy strefy: 1) powierzchnię korzenia (rhizoplane), 2) warstwę gleby około 0,5 cm przylegającą bezpośrednio do korzenia (właściwa ryzosfera) i 3) glebę osypującą się z korzeni (edaphosphere). Gleba, którą według prof. Tesicza można byłoby uważać za kontrolną, powinna być odległa przynajmniej o 50 cm od miejsca zajętego przez roślinę, tak aby nie sięgał do niej wpływ rozprzestrzeniających się korzeni.

Po tym wstępnym referacie w kolejnych doniesieniach i w dyskusji zobrazowany został w pewnej mierze obecny stan badań nad mikroflorą ryzosfery.

WPLYW ROŚLINY NA MIKROFLORE W RIZOSFERZE

Na wytworzenie się zespołu mikroflory w ryzosferze może wpływać roślina w różny sposób. Swoisty zespół może być wniesiony do gleby na nasieniu. Poza tym w okresie swego wzrostu roślina daje wydzieliny, które selekcjonują powstający zespół drobnoustrojów. Wreszcie obumierające włósniki i inne części korzenia dają pokarm wybranym grupom bakterii i innych organizmów. Wokół korzeni roślin wytwarza się w ten sposób mikrośrodowisko właściwe dla danej uprawy.

Z drugiej strony podstawę do wytworzenia się zespołu mikroflory ryzosferowej mogą stanowić drobnoustroje bytujące w samej glebie.

Drobnoustroje glebowe rozwijając się w strefie przykorzeniowej zmieniają swoje właściwości przystosowując się do nowych warunków życia. Na skutek oddziaływania korzeni następuje naturalny proces selekcji mikroorganizmów glebowych (Sorokina, ZSRR). W zakresie tego zagadnienia ciekawe badania przedstawiła również Wojnowa (Bułgaria). Badała ona ryzosferę 7 roślin na 3 glebach i znalazła następujące zależności w składzie zespołu mikroflory ryzosferowej: nitryfikatory, *Clostridium* oraz bakterie rozkładające błonnik i rozpuszczające fosforany znajdowały się pod wpływem gleby, natomiast amonifikatory, zwłaszcza *Pseudomonas*, oraz bakterie korzystające z azotu mineralnego były wyraźnie zależne od rośliny. Na ogół w tych badaniach stwierdzono, że mikroflora w ryzosferze poszczególnych roślin odznacza się nie różnym składem gatunkowym, ale raczej stosunkiem ilościowym między różnymi fizjologicznymi i morfologicznymi grupami drobnoustrojów.

W wielu doniesieniach omówiono zagadnienie swoistości zespołów mikroflory w ryzosferze różnych roślin. Myszkowicz (Jugosławia) stwierdziła np., że w rizo-

sferze *Chamonilla matricaria* mniej było amonifikatorów tworzących zarodniki niż w samej glebie, przy czym pod koniec wegetacji pojawiło się tych bakterii w rizo-sferze więcej niż było ich w pierwszych fazach rozwoju rośliny.

Wielu referentów zwróciło specjalną uwagę na wpływ wydzielin korzeniowych na mikroflorę rizo-sfery. Vanczura i Howadik (CSRS) podali, że w składzie wydzielin korzeniowych zaznaczają się duże zmiany ilościowe i jakościowe w miarę wzrostu rośliny. Wyróżnili oni trzy stadia rozwoju rośliny, w których te zmiany występują specjalnie jaskrawo: 1) przejście od żywienia się nasieniem do fotosyntezy, 2) kwitnienie, 3) dojrzewanie nasion.

Czatska (CSRS) znalazła wyraźny związek między zdolnością kiełkowania zarodników i rozwojem niektórych grzybów saprofitycznych i pasożytniczych oraz ich dalszym rozwojem na różnych odcinkach korzeni a charakterem wydzielin korzeniowych. Balicka (Polska) zwróciła uwagę na wymianę aminokwasów między drobnoustrojami a rośliną jako czynnik selekcyjny mikroflorę w rizo-sferze. Aminokwasy wydzielone przez roślinę i produkowane w rizo-sferze w wyniku procesu dezaminacji wydzielin i obumarłych części roślin mogą być pokarmem lub substancją wzrostową dla drobnoustrojów. Nawzajem roślina może korzystać z aminokwasów produkowanych przez mikroflorę bytującą w jej rizo-sferze.

W różnych referatach często przewijało się zagadnienie, czy mikroflora z powierzchni nasion przekształca się w mikroflorę rizo-sfery, czy też mikroflora rizo-sfery selekcjonuje się raczej z gleby. Zagadnienie to w swej obszernej pracy dysku-towała Vagnerowa (CSRS), uważając oba warianty za możliwe. Zaznaczyła jednak, że warunki pokarmowe na powierzchni korzeni są w pierwszym rzędzie czynnikiem selekcyjnym zespołu mikroflory w rizo-sferze.

Dla wyjaśnienia, co głównie decyduje o charakterze mikroflory rizo-sferowej, Samcewicz (ZSRR) zastosował specjalną technikę. Badał on rozwój korzeni z nasion zawieszonych w powietrzu lub kiełkujących na agarze. Przeprowadzono około 100 doświadczeń z nasionami różnych roślin z naturalną mikroflorą ich spermosfery, oraz z nasionami sztucznie zakażonymi czystymi hodowlami lub całymi zespołami drobnoustrojów. W wyniku tych doświadczeń stwierdzono, że około 60% wyrastających z tych nasion korzeni było pozbawionych mikroflory. Po przepuszczeniu tych korzeni przez warstwę gleby tylko 3% zachowało swoją sterylność. Reasumując swoje badania Samcewicz stwierdza, że w czasie wzrostu roślin korzenie odznaczają się dużą toksycznością w stosunku do mikroflory wniesionej z nasieniem. Intensywne zasiedlenie korzeni drobnoustrojami następuje prawdopodobnie na skutek: 1) ścisłego kontaktu korzeni z cząsteczkami gleby, w których obficie rozwijają się różne drobnoustroje; 2) okresowego osłabienia wzrostu korzeni; 3) ciągłego obumierania włókien korzeniowych i powierzchniowych komórek na korzeniach, które stanowią źródło energii i pokarmu dla rozwijających się drobnoustrojów.

O wpływie samej rośliny i warunków jej wzrostu na mikroflorę rizo-sfery może świadczyć praca Vranego (CSRS), który stwierdził, że przy zaaplikowaniu dolistnym różnych substancji, np. mocznika, fosforanów, preparatów ochrony roślin lub anty-biotyków zmienia się charakter mikroflory w rizo-sferze.

Wpływ środowiska na mikroflorę rizo-sfery zaznacza się bezpośrednio jako czynnik selekcyjny obok korzeni roślin, a także pośrednio poprzez roślinę. Np. jak stwierdziła Sorokina (ZSRR), roślina w złych warunkach uprawowych produkuje znaczne ilości fitoncydów, co odbija się na zespole mikroflory korzeniowej. Przy nawożeniu mineralnym i poprawieniu warunków wzrostu wytwarzanie fitoncydów przez roślinę jest mniejsze i drobnoustroje w rizo-sferze rozwijają się liczniej. Na wzrost liczebności drobnoustrojów w rizo-sferze w okresie bujnego wzrostu rośliny

zwracają również uwagę Hovadik i wsp. (CSRS). Ci sami autorzy stwierdzają, że drobnoustroje bytujące na powierzchni korzeni odznaczają się większą aktywnością enzymatyczną niż drobnoustroje ze strefy ryzosferowej. Wniosek taki opierają oni na podstawie badania u drobnoustrojów zdolności rozkładania glukozy i zmieniania pH środowiska oraz na podstawie zdolności hydrolizy skrobi. Badania nad aktywnością enzymatyczną ryzosfery referował również Kozłowski (ZSRR). W ryzosferze roślin uprawnych na glebach Zabajkału oraz w ryzosferze roślin dziko rosnących na stepie stwierdzał on większą aktywność peroksydazy, polifenoloksydazy i dehydrogenazy niż w glebie poza zasięgiem roślin.

Wśród prac poświęconych zespołom grzybów saprofitycznych w ryzosferze roślin należy wymienić pracę Pugh'a i Dickinsona (Anglia), którzy zaobserwowali zmienność w składzie jakościowym i ilościowym tego zespołu w zależności od rodzaju i wieku rośliny oraz od długości dnia w czasie wzrostu rośliny. Na saprofityczną florę w ryzosferze zwraca się uwagę między innymi dlatego, że w niekorzystnych warunkach dla wzrostu rośliny grzyby saprofityczne często stają się pasożytami, zużywają treść komórek jako pożywienie i prowadzą do całkowitego zniszczenia korzenia.

Jak widać z przedstawionych w wielkim skrócie doniesień, zagadnienie wpływu rośliny na mikroflorę jej ryzosfery jest zagadnieniem bardzo skomplikowanym i wymaga dalszych precyzyjnych badań. Prof. Bieriozowa (ZSRR) podsumowując dyskusję na ten temat zwróciła uwagę na to, że każda roślina posiada swoistą odporność nie tylko w stosunku do patogenów ale także w stosunku do drobnoustrojów saprofitycznych. Czym charakteryzuje się taki immunitet roślinny na razie nie wyjaśniono. Prawdopodobnie roślina jest zdolna do produkowania pewnych substancji chroniących ją przed inwazją nie tylko patogenów, ale i niepożądanych saprofitów. Z punktu widzenia biologicznego porównuje się te substancje do antyciał w organizmach zwierzęcych. Substancje te są swoiste i warunki wytwarzania ich zależą od gatunku rośliny, od gatunków drobnoustrojów oraz od środowiska. Według Samcewicza (ZSRR) substancje te nie są stabilne, pojawiają się tylko w niektórych okresach rozwoju rośliny i tylko w niektórych jej organach. Zaobserwowano, że substancje takie tworzą się najczęściej w okolicach wierzchołka wzrostu. Dlatego jeszcze raz należy podkreślić konieczność większej niż dotychczas precyzji w badaniach nad powstawaniem i rolą mikroflory w ryzosferze roślin.

WPLYW MIKROFLORY RIZOSFERY NA ROŚLINY

Jak już uprzednio zaznaczono, rośliny zdolne są do życia bez współdziałania drobnoustrojów. Przedstawione doświadczenia Trolldeniera ze szczepieniem roślin różnymi bakteriami w kulturach wodnych były jeszcze jednym tego dowodem. Jednakże w warunkach naturalnych współżycie drobnoustrojów z roślinami w glebie nie może pozostawać bez znaczenia. Domsch (NRF) w wyniku swoich badań dzieli substancje produkowane przez drobnoustroje na następujące dwie grupy: 1) substancje o stosunkowo prostym składzie chemicznym szybko rozkładane w glebie i 2) substancje o skomplikowanej budowie, mające bezpośredni wpływ na charakter metabolizmu roślinnego. Będą to przede wszystkim substancje produkowane przez patogeny roślin oraz substancje antybiotyczne, które w naturalny sposób mogą zapobiegać chorobom roślin. Substancje te są produkowane w ilościach bardzo małych, trudno uchwytnych w analizach, ale powstają one w sposób dynamiczny, tak że roślina może stale znajdować się pod ich wpływem. Substancje produkowane przez drobnoustroje mogą mieć charakter stymulatorów lub inhibitorów wzrostu.

Bakaliwanow (Bułgaria) w swych badaniach obserwował skrócenie okresu wschodów roślin pod wpływem przesączy z hodowli różnych grzybów. Podobnie Podopliczko i wsp. (ZSRR) wyodrębnili z ryzosfery kukurydzy pochodzącej z różnych stron Związku Radzieckiego szereg gatunków grzybów i rozróżnili wśród nich takie, które wywierały na korzenie tej rośliny działanie stymulujące, hamujące lub organotropiczne. W referacie Müllera i Winklera (NRD) przedstawione zostały badania z zastosowaniem grzyba *Monilia sitophila* jako szczepionki doglebowej. Spowodowało to zwiększenie plonu owsa z równoczesnym obniżeniem w plonie zawartości składników mineralnych. Autorzy zjawisko to tłumaczą zdolnością produkowania przez ten grzyb substancji wzrostowych, które pozwalają na ekonomiczniejsze wykorzystanie składników pokarmowych dla produkcji masy roślinnej.

W pracy przedstawionej przez Panosjana i wsp. (ZSRR) zwrócono uwagę na rolę promieniowców jako organizmów stymulujących wzrost roślin. Substancje produkowane przez promieniowce autorzy porównują do giberelin, znajdując w wyniku doświadczeń, że są one niejednokrotnie silniejsze niż same gibereliny.

Niestety tylko bardzo nieliczne doniesienia naświetlały tak ważne zagadnienie, jak udział drobnoustrojów w normalnym żywieniu roślin. A przecież rola drobnoustrojów w żywieniu roślin, zwłaszcza przy regulowaniu systematycznego dopływu pokarmów, jest niewątpliwa. W referacie Saricz (Jugosławia) poruszona została sprawa mobilizacji fosforu przez drobnoustroje w ryzosferze. Rowira (Australia) zwrócił uwagę na znaczenie warunków fizyko-chemicznych w glebie, dzięki którym drobnoustroje mogą należycie spełniać swoje zadanie, polegające na regulowaniu procesu odżywiania roślin. W swoich doświadczeniach stwierdził on to przy szczepieniu gleby azotobakterem. Rempe i Kaltagowa (ZSRR) w wyniku swoich doświadczeń stwierdzili jeszcze raz, że rośliny mogą rosnąć i rozwijać się bez udziału drobnoustrojów w środowisku pozbawionym mikroflory, jednakże wprowadzenie drobnoustrojów do gleby może podnieść plon o 30—50%. W doświadczeniach tych autorów najkorzystniej wpływał na rozwój roślin cały zespół mikroflory korzeniowej właściwy dla danej rośliny. Stwierdzono przy tym, że mikroflora korzeniowa pobudza w roślinie aktywność enzymów oddechowych i hydrolitycznych oraz działa jako stymulator wzrostu, o czym była już mowa w poprzednich doniesieniach.

STOSUNKI MIĘDZY ROŚLINĄ A PATOGENEM W RIZOSFERZE

Może najciekawszą część sympozjum stanowiły referaty, w których omawiano zależność między charakterem mikroflory w ryzosferze a zdrowotnością roślin. Interesujące było doniesienie Buxtona (Anglia), który pracuje nad poznaniem mechanizmu zjawiska odporności roślin na choroby grzybowe. W doświadczeniach swych użył on 3 odmian grochu i 3 ras *Fusarium oxysporium* o różnej wrażliwości i wirulencji. W pracy swej starał się odpowiedzieć na pytania: 1) dlaczego poszczególne odmiany grochu odznaczają się różną wrażliwością na zakażenie różnymi rasami *Fusarium*; 2) co wywołuje u *Fusarium* zdolność porażania tylko niektórych odmian grochu. Stwierdził on, że: 1) skład chemiczny wydzielin korzeniowych u badanych 3 odmian grochu był różny, co powodowało powstawanie różnych zespołów mikroflory w ryzosferze: 2) wydzieliny korzeniowe grochów stymulowały rozwój jednych ras *Rhizobium*, a hamowały innych; 3) wydzieliny korzeniowe grochu mogły stymulować zmiany genetyczne w populacji *Fusarium* poprzez adaptację w wyniku mutacji i dalszej selekcji oraz przez zmiany sięgające głębiej w strukturę genomu *Fusarium*, tj. przez rekombinację bezpłciową i tworzenie heterozygot o wzmożonej wirulencji.

Wyniki Buxtona potwierdzają badania przedstawione przez Bochowa (NRD), który przetrzymywał zarodniki *Plasmodiophora brassicae* w wyciągach korzeniowych roślin z rodziny *Cruciferae*, wrażliwych na zakażenie, i w wyciągach roślin z rodziny *Gramineae* nie podlegających tej chorobie. Przy zaszczepieniu następnie tak potraktowanymi zarodnikami gorczycy stwierdził on, że zarodniki *Plasmodiophora* wobec wyciągów z *Gramineae* traciły zdolność infekcyjną, podczas gdy korzenie wszystkich roślin z rodziny *Cruciferae* stymulowały ich wirulentność. Stanek i Lasik z Czechosłowackiej Akademii Nauk zwrócili uwagę że efekt rizosfery na drobnoustroje patogeniczne jest nieznan. Dla wnikięcia w biologię tego ważnego zjawiska trzeba poznać pozycję, jaką zajmują patogeny w zespołach mikroflory rizosferowej. Pracownia dr Stanka całkowicie ma się poświęcić temu zagadnieniu. Ze względu na duży wpływ środowiska, badania takie powinny być prowadzone nie tylko w naturalnych siedliskach, ale i w warunkach ściśle kontrolowanych, dla możliwości ustalenia wpływu samej rośliny na rozwój patogenów. Specjalną uwagę zwrócił na to w swoim referacie Parkinson (Anglia) próbując określić dynamikę powstawania mikroflory rizosferowej w kolejnych stadiach rozwoju rośliny.

STOSUNKI SYMBIOTYCZNE MIĘDZY ROŚLINAMI I DROBNOUSTROJAMI

To zagadnienie zostało na Sympozjum potraktowane ubocznie, nie dając żadnego wyobrażenia o obecnym stanie badań w tej dziedzinie. Zgłoszono dwa referaty dotyczące mykotrofii: 1. Znaczenie mykotrofizmu dla roślin uprawnych (Helcer, ZSRR) i 2. Rozwój mykorizy u *Cladietum Marisci* (Mejstrzyk, CSRS). Pracownia Mikrobiologii Gleby Instytutu w Ruzynie (CSRS) przedstawiła dwa referaty. Dr Hamatowa mówiła o warunkach aktywności symbiozy *Rhizobium meliloti* z lucerną w zależności od odmiany tej rośliny. Podkreśliła podatność francuskiej odmiany Du Puits na inokulację. W drugim referacie dr Vintikowa ze współpracownikami przedstawiła wyniki badań na temat wpływu różnych pestycydów na bakterie brodawkowe. Badania te wykazały, że wrażliwość *Rhizobium* na poszczególne preparaty jest cechą rasową różnych szczepów.

W czasie trwania Sympozjum mieliśmy możliwość zwiedzić i zapoznać się z pracami Działu Mikrobiologii Gleby w Instytucie Biologii Czechosłowackiej Akademii Nauk (Praha 6, na Cvitisti 2) oraz Działu Mikrobiologii w Centralnym Instytucie Rolniczym w Pradze-Ruzynie. Oprócz tego kilka osób specjalnie zainteresowanych produkcją Nitraginy zwiedziło wytwórnię tego preparatu w Strancicach.