

## THE RHIZOSPHERE MICROBIOME AND ITS BENEFICIAL EFFECTS ON PLANTS – CURRENT KNOWLEDGE AND PERSPECTIVES

Małgorzata Woźniak\*, Anna Gałązka

Department of Agricultural Microbiology, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute

Received in September, accepted in November 2018

**Abstract:** The root system of a plant works like a factory that produces a huge amount of chemicals to communicate effectively with the microorganisms around it. At the same time, micro-organisms can use these compounds as an energy source. The variety of microorganisms associated with plant roots is enormous, amounting to tens of thousands of species. This complex microbial community, also called the second plant genome, is essential for plant health and productivity. Over the last few years, there has been significant progress in research into the structure and dynamics of the microbial sphere of the rhizosphere. It has been proven that plants shape the composition of microorganisms by synthesizing root secretions. On the other hand, microorganisms play a key role in the functioning of plants through their positive impact on their growth and development. In general, rhizosphere microorganisms promote plant growth directly by providing plants with minerals such as nitrogen and phosphorus and by synthesizing growth regulators, as well as indirectly, by inhibiting the development of various plant pathogens.

1. Introduction. 2. Functions of rhizosphere microorganisms. 3. Microorganisms increasing the availability of minerals. 4. Microorganisms synthesizing plant growth regulators. 5. Biological plant protection. 6. Summary

### MIKROBIOM RYZOSFERY I JEGO KORZYSTNY WPŁYW NA ROŚLINY – AKTUALNA WIEDZA I PERSPEKTYWY

**Streszczenie:** System korzeniowy roślin działa jak fabryka, która produkuje ogromną ilość związków chemicznych, aby skutecznie komunikować się z otaczającymi go/ją mikroorganizmami. Jednocześnie mikroorganizmy mogą wykorzystywać te związki jako źródło energii. Różnorodność drobnoustrojów związanych z korzeniami roślin jest ogromna, rzędu dziesiątek tysięcy gatunków. Tę złożoną społeczność drobnoustrojów, nazywany również drugim genomem rośliny, który ma zasadnicze znaczenie dla zdrowia i produktywności roślin. W ciągu ostatnich kilku lat nastąpił znaczny postęp w zakresie badań dotyczących struktury mikrobiomów ryzosfery i ich dynamiki. Udowodniono, że rośliny kształtują skład mikroorganizmów poprzez syntezę wydzielin korzeniowych. Natomiast drobnoustroje odgrywają kluczową rolę w funkcjonowaniu roślin poprzez pozytywne oddziaływanie na ich wzrost i rozwój. Ogólnie, mikroorganizmy ryzosferowe promują wzrost roślin bezpośrednio poprzez udostępnianie roślinom składników mineralnych m.in. azotu i fosforu oraz syntetyzowanie regulatorów wzrostu. Natomiast pośrednio poprzez hamowanie rozwoju różnych patogenów roślin.

1. Wstęp. 2. Funkcje mikroorganizmów ryzosferowych. 3. Mikroorganizmy zwiększające dostępność składników mineralnych. 4. Mikroorganizmy syntetyzujące regulatory wzrostu roślin. 5. Biologiczna ochrona roślin. 6. Podsumowanie

**Key words:** microbiome, promoting plant growth, rhizosphere

**Słowa kluczowe:** mikrobiom, promowanie wzrostu roślin, ryzosfera

### 1. Introduction

Plants are multicellular organisms which under the influence of metabolic changes continuously undergo the process of growth and development. Being autotrophic organisms, plants play an important role in sustaining all other life forms. In a developing plant, we can define at least three main parts: (1) the root, growing usually under the soil surface, which plays an important role in the uptake of water and nutrients, (2) the stem, whose basic function is the transport of water and nutrients, and also supporting leaves and other organs, and (3) the shoot, which produces

leaves, flowers and fruit and enables effective nutrition of plants through photosynthesis and is also responsible for the reproduction process [48, 63]. Plants are colonised by an extremely high number of (micro)organisms, which can reach cell density much greater than the number of cells in the plant itself. In addition, the number of the genes of the microorganisms inhabiting the rhizosphere significantly exceeds the number of plant genes. Plants act as a link between communities of microorganisms, insects and other invertebrate and vertebrate animals occurring both above and below the soil surface [10, 54, 64]. In the natural environment, abiotic and biotic factors have an indirect or direct

\* **Corresponding author:** Małgorzata Woźniak, Department of Agricultural Microbiology, Institute of Soil Science and Plant Cultivation – State Research Institute; phone: 81 478 69 60; e-mail: m.wozniak@iung.pulawy.pl

impact on plants. For example, an attack by various organisms, e.g. insects, leads to a reduction of the leaf surface and therefore to the reduction of the photosynthetic potential. Modification of root secretions affecting soil microorganisms may be a consequence of this process. In addition, the use of plant protection agents and pesticides can change the concentration and type of secondary metabolites synthesised in the shoots and roots of plants and negatively affect the interactions of plants with non-pathogenic soil microorganisms [64]. Extensive communication between plants and microorganisms occurs at different stages of plant development in which the signalling molecules of both partners play an important role. Signalling molecules produced by bacteria and fungi are involved in the initiation of plant colonization. In contrast, plants recognise compounds derived from microorganisms and adapt their response depending on the type of microorganism and metabolite encountered. This chemical dialogue defines the final result of the relation between the plant and microorganisms [4]. Virtually all plant tissues can be populated by microorganisms. Research focuses mainly on the rhizosphere, phyllosphere and endosphere. The rhizosphere is an area enriched with nutrients derived from plant mucilage and root secretions and is characterised by the presence of numerous and metabolically active microorganisms [38, 90]. On the other hand, the phyllosphere is relatively poor in nutrients and subject to extreme temperatures, radiation and humidity [90, 95]. The microorganisms present in the rhizosphere and phyllosphere are epiphytes (occurring in the vicinity or on plant tissues), while microorganisms located inside plant tissues, whether in the leaves, roots or stems, are called endophytes [71, 90].

Microorganisms play a key role in the correct conduct of most processes occurring on Earth. Plant microbiome affects the viability of plants and is therefore one of the main indicators of plant productivity [9, 90]. Comprehensive studies targeting plant microbiome may contribute to reducing the incidence of plant diseases, increasing agricultural production and reducing the amount of chemical preparations in use [6, 90, 98]. The vast majority of metabolically active microorganisms are unable to grow on agar substrates. The classic techniques based on culturing microorganisms allow for studying isolated microorganisms in detail, and molecular techniques such as metagenomics/metatranscriptomics enable the identification of microbial populations, also those referred to as non-cultivable [26, 49, 51, 98]. In studies on prokaryotic microorganisms, amplification of the 16S rRNA gene is commonly used. Sequencing variable regions of this gene enables taxonomic identification at the generic or even at the species level. To identify eukaryotic microbes, such as fungi, the 18S rRNA gene as well as the

ITS region are used. Metagenomic sequencing technology has become a widely used molecular biology tool which allows for identifying from thousands to millions of sequences in one environmental sample, revealing the wealth of even rare species of microorganisms [49, 56, 60, 90, 98].

Soil is a highly complex system in terms of the number and diversity of interactions between its physical, chemical and biological components [8, 12]. Soil functions depend to a large extent on the microorganisms which constitute a component for basic metabolic processes occurring in the soil environment [57]. Numerous reports in literature indicate that many soil microorganisms interact with plant roots and soil components at the root-soil boundary [8]. Root exudates and decomposing plant residues are the main source of carbon for heterotrophic microorganisms and the determinant of the rhizosphere function [8, 60]. In turn, active rhizosphere microorganisms and their metabolites influence the structure of the root system by modifying the quality and quantity of root exudates (bioactive substances of plants) [8, 56, 90]. In the rhizosphere, we can distinguish three interacting components: rhizosphere, rhizoplane and root. The rhizosphere is the soil area which is found near the root surface and which is affected by root exudates of plants. The rhizoplane is the outer surface of the root, along with the tightly adhering soil particles. The root, in turn, is the part of the plant which supports it in the substrate and is responsible for the supply of water and mineral salts [8, 56, 60, 90].

## 2. Functions of rhizosphere microorganisms

The microorganisms present in the rhizosphere play an important role in the shaping of the plant host. Some of them have a beneficial effect on the growth and development of plants, e.g. bacteria which bind atmospheric nitrogen, mycorrhizal fungi or PGPR – Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. Microorganisms – these establish symbiosis with plants, based on mutual benefits (mutualism). The next group is microorganisms which are harmful to plants: pathogenic fungi, oomycetes, bacteria and nematodes. Negative interactions between the bacterial flora and plants are the cause of many diseases in economically important crops around the world. The most important root pathogens include *Agrobacterium tumefaciens*, *Ralstonia solanacearum*, *Dickeya dadanthi*, *Dickeya solani*, *Pectobacterium carotovorum* and *Pectobacterium atrosepticum* [36, 54, 71]. Recently, there has appeared a lot of information in the literature, describing the third group of microorganisms found in the rhizosphere, namely human pathogens [30, 54, 91].

The rhizosphere is inhabited by various microorganisms, and the bacteria colonising this habitat are called rhizobacteria [42, 43]. In the late 1970s Kloepper and Schroth introduced the term PGPR to describe bacteria which colonise plant roots and possess the ability to stimulate plant growth [44]. The rhizosphere PGPR bacteria should be characterised by (1) the ability to colonise the root zone of plants, (2) the ability to survive and reproduce in the presence of competitive microorganisms, at least for the time needed to reveal their beneficial activity contributing to the promotion and protection of plants, (3) activity promoting plant growth [8]. Generally, interactions with microorganisms which are beneficial for plants have been divided into three categories. The first category includes microorganisms which are responsible for plant nutrition, i.e. microorganisms that increase the availability of minerals. The second group of microorganisms are those responsible for direct influence on the promotion of plant growth through the production of, for example, phytohormones. In turn, the third group of microorganisms stimulates plant growth indirectly by inhibiting the activity of microorganisms exhibiting pathogenic activity. Such impact is referred to as biological plant protection [60, 97]. The majority of PGPR microorganisms stimulate plant growth based on the combination of two or more mechanisms promoting plant growth [14, 56]. In addition, some PGPRs may influence the growth and development of plants through the synergistic effect of co-inoculation. For example, Tilak *et al.* [88] tested co-inoculation with the bacteria *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus* with bacterial strains of the genus *Rhizobium* on the pigeon pea (*Cajanus cajan* L). Double vaccination resulted in a significant increase of plant growth, nitrogenase activity and the number of nodules formed compared to control plants.

We are currently observing a growing interest in the bacteria capable of stimulating growth and nutrition of plants, which is reflected in the rapidly growing number of scientific publications on the subject. The research is covering an increasingly broad range of plant species, new techniques of microorganism identification and analysis of their mechanisms of action. Various strains of bacteria and fungi have been successfully used to inoculate plants. They include bacteria from the genus *Azospirillum* [13], *Bacillus* [58], *Pseudomonas* [67], *Rhizobium* [28], *Serratia* [20], *Stenotrophomonas* [81], and *Streptomyces* [18]. The fungi endowed with a natural ability to stimulate various plant characteristics linked to their growth (PGPF – Plant Growth-Promoting Fungi) include species of the following genera: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Piriformospora*, *Phoma* and *Rhizoctonia* [32, 33, 80].

### 3. Microorganisms increasing the availability of minerals

Most species of rhizobacteria are organotrophs which obtain energy from assimilation of organic compounds. Limited resources of organic compounds and carbon in most soils are the most common factor inhibiting the growth of soil bacteria. Rhizosphere microorganisms play a fundamental role in the release of nutritional cations from soil minerals, which they use not only for their own nutrition but also for plant nutrition [1, 54].

One of the best-known examples of plant growth promotion is BNF – Biological Nitrogen Fixation. Of all the elements known in the world, plants react most strongly to nitrogen deficit in the soil. It determines the proper development of underground and aboveground parts of plants. The nitrogen pool in the atmosphere is not available to plants. In addition, the intensive use of fertilisers in agricultural crops has led to an increasing accumulation of harmful nitrates in soil and water resources, as well as nitrogen oxides in the atmosphere. Due to the increased efficiency of the application of nitrogen fertilisers, priority should be given to the process of biological nitrogen binding. Symbiotic binding of  $N_2$  is a well-known process in which bacteria possessing an enzymatic complex – nitrogenase, reduce atmospheric  $N_2$  to ammonia in root nodules of bean plants [1, 8, 50, 52, 56, 90]. The bacteria responsible for this process belong, among others, to the genera: *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* and *Azorhizobium*, collectively referred to as rhizobia. These bacteria interact with the roots of the *Fabaceae* plants leading to the establishment of effective symbiosis. Another group of microorganisms are bacteria which bind nitrogen in the asymbiotic (free) state, e.g. *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Azomonas* sp. or *Bacillus* sp. The Actinobacteria of the genus *Frankia* also have the ability to bind atmospheric nitrogen by forming a specific symbiosis called actinorrhizal symbiosis on tree roots, e.g. alder (*Alnus* Mill.) [8, 50]. Another group of microorganisms which exert a positive effect on soil fertility by establishing symbiosis and binding atmospheric nitrogen are cyanobacteria – a group of photosynthetic prokaryotes (Cyanobacteria, Blue-Green Algae – BGA). In addition to making nitrogen available to plants, they also affect the aggregation of soil particles, and thus moisture retention and prevention of erosion [77].

Another type of symbiosis occurring in the rhizosphere is mycorrhiza – mutual symbiosis of fungi with the roots of most plants. The most common type of this symbiosis is arbuscular mycorrhiza (AM). AM fungi were initially included in the division Glomales and *Zygomycota* [70], but currently they are assigned to the division *Glomeromycota* [76]. The presence of

arbuscular mycorrhiza positively affects the condition of plants, among others by increasing the absorbent surface of roots, which allows plants to have better access to water and minerals, especially those whose ionic forms show poor mobility or those present in low concentrations in the soil. The results of numerous studies indicate that plants colonised by the fungi of arbuscular mycorrhiza show greater resistance to environmental stress factors and biotic stress [8].

Phosphorus (P) is the second important factor limiting plant growth [40, 52]. It plays an important role in practically all metabolic processes of plants, including photosynthesis, energy transfer, signal transduction, biosynthesis of macromolecules and respiration [3, 41, 78]. On average, the phosphorus content in the soil is about 0.05% (weight percentage), however only 0.1% of this phosphorus is available to plants [3, 99]. Soil phosphorus deficiency is often supplemented by the use of phosphate fertilisers. However, most of the phosphorus applied in the form of fertilisers is not available to plants, and their application in excessive amounts can lead to environmental problems, such as groundwater contamination, eutrophication of water reservoirs and loss of soil fertility [37]. The effectiveness of the phosphate fertilisers applied in a chemical form rarely exceeds 30% due to their fixation, either in the form of iron/aluminium phosphate in acidic soils [61] or in the form of calcium phosphate in neutral to alkaline soils [47]. In the natural environment, numerous microorganisms present in the soil and rhizosphere effectively release phosphorus from its insoluble forms thanks to solubilisation and mineralization [3, 11, 52, 78]. This group of microorganisms is referred to as phosphate solubilising microorganisms (PSM) (Figure 1).

The metabolic products of these microorganisms are, among others, organic acids such as gluconic, citric, lactic, propionic and succinic ones. They are seen as the main factor responsible for availability of phosphorus. A large number of microorganisms, including bacteria, fungi, actinomycetes and cyanobacteria, exhibit the ability to dissolve and mineralise phosphorus compounds.

The rhizosphere microorganisms may also facilitate the uptake of trace elements, such as iron (Fe) [2, 25, 52]. Iron is an essential nutrient for almost all life forms. Iron is abundantly present in the soil, but in a form, which is inaccessible to microorganisms and plants, namely  $Fe^{3+}$ . Many microorganisms have developed specific systems and carriers of iron ions – siderophores. Siderophores are organic compounds of low molecular weight which enable obtaining iron from sparingly soluble substrates and from environments with low iron concentrations. In the case of both Gram-negative and Gram-positive bacteria, iron ( $Fe^{3+}$ ) is captured by siderophores and in such complex, in the bacterial membrane, there occurs a reduction to  $Fe^{2+}$  ions, which are then released into the cell through active transport mechanism [1, 2]. In recent years, siderophores have been given more and more attention due to their potential role and application in various areas of environmental research. Microbiological siderophores play an important role in bioremediation, biological control, weathering of soil minerals and promotion of plant growth. The research of Qi and Zhao [100] confirms that the siderophores produced by *Trichoderma asperellum* stimulate the growth and resistance of cucumber (*Cucumis sativus*) under salt stress conditions. Siderophores are extremely effective in solubilising and increasing the mobility of a wide range of metals which may pose a threat to the

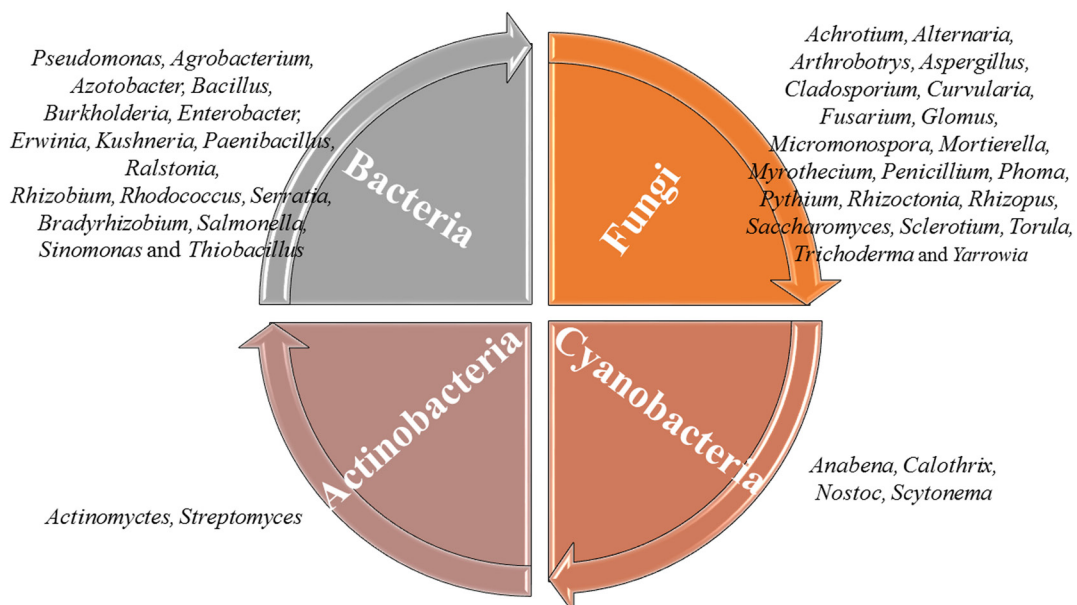


Fig. 1. Biodiversity of PSM [according to 3, 78].



environment, e.g. Al, Cd, Cu, Ga, In, Pb and Zn, as well as radioactive elements, including U (uranium) and Np (neptune) [68, 74]. This process depends mainly on the functionality of the ligand, which means that the siderophores can have a strong affinity to a particular metal other than iron [59]. In recent years, interest in researching the potential of siderophores in bioremediation has also increased. Hong *et al.* [31] report on siderophores produced by *Fusarium solani*, which contributed to *in vitro* solubilisation of Cu and Zn. In addition, it has been demonstrated that the siderophores produced by *Agrobacterium radiobacter* contribute to reducing the content of As in soil by approximately 54% [96]. Microbial siderophores can play an important role in the remediation of petroleum hydrocarbons from marine environments [17]. Petrobactin is the first structurally characterised siderophore produced by a marine bacterium *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*, which degrades petroleum [7]. Hickford and colleagues [29] studied another siderophore named petrobactin sulfonate (isolated from the same marine bacteria), which also breaks down petroleum. The presence of siderophores close to the roots of plants can protect them from many pathogens by binding all available iron forms to chelates and blocking its availability to pathogenic organisms. Some of the siderophores (pyoverdines) produced by fluorescent *Pseudomonas* bacteria can be an extremely effective tool for inhibiting the growth of phytopathogens, because they exhibit a high affinity to iron ions (III). For example, pyoverdine is involved in the biological control of potato wilt disease caused by *Fusarium oxysporum*, as well as in limiting the growth of phytopathogens in peanuts and maize [2]. In addition, pyoverdine is used as a probiotic in fish farming because it inhibits the growth of several fish pathogens: *Vibrio anguillarum*, *Vibrio ordalii*, *Aeromonas salmonicida*, *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus iniae*, *Flavobacterium psychrophilum* [21]. It should be noted that siderophores have also found application in the ecology and taxonomy of microorganisms. Siderotyping is defined as a method of characterization and identification of microorganisms according to the types of siderophores which they produce [2]. Pyoverdine is a group of siderophores typical of bacterial strains belonging to the genus *Pseudomonas*. At present, at least 50 pyoverdine molecules with different peptide chain sequences are known. Variability within the peptide is used to determine the relationship between the bacteria of the genus *Pseudomonas* [55]. In addition, the siderophores can be used as chemotaxonomic markers to identify other types of bacteria, such as *Burkholderia* sp. and *Mycobacterium* sp. [2]. In summary, siderotyping can become a powerful tool in environmental research, facilitating efficient and rapid identification of microorganisms [55].

#### 4. Microorganisms synthesizing plant growth regulators

The rhizosphere is a relatively nutrient-rich environment containing amino acids, sugars, fatty acids and other organic compounds which attract microorganisms [95]. In turn, microbes synthesise biologically active compounds, including phytohormones: auxins, cytokinins, gibberellins, ABA (abscisic acid), vitamins and volatile compounds. These microbiological metabolites play an important role in the growth, nutrition and development of plants [23, 52, 63]. The term “plant hormones” or “phytohormones” was finally introduced by Thimann in 1948. With further research, more and more plant hormones have been identified that were described as trace organic substances synthesised in some parts of the plant. Vegetable hormones play a significant role in agriculture because they participate in the process of fruit ripening, leaf abscission and seed germination [23, 79, 87]. Plant hormones are found not only in higher plants, but they are also synthesised by bacteria and fungi. Initially, plant hormones for agricultural purposes were obtained mainly by extraction from plant tissues. Due to the increased demand, chemical synthesis was gradually introduced. Nevertheless, due to the relatively complex structure of plant hormones, chemical synthesis poses a number of problems, such as high costs, complex production process, low purity, etc. In comparison with the previous two methods, microbiological production is an ecological and balanced process of plant hormone synthesis. In addition, final products are characterised by higher biological activity and purity. Thanks to numerous innovative research tools, microbiological production of plant hormones is more efficient and economical [79]. In general, auxins affect the division and differentiation of cells, stimulate the germination of seeds and tubers, increase the rate of xylem formation, control the processes of vegetative growth, initiate root formation, participate in photosynthesis reactions, synthesis of pigments and biosynthesis of various metabolites [1]. It is reported that 80% of microorganisms isolated from the rhizosphere of different crops have the ability to synthesise and release auxins as secondary metabolites [1, 39, 56]. For example, Sorty *et al.* [84] isolated from the halotolerant weeds (*Psoralea corylifolia* L.) various groups of bacteria which produce IAA (indolyl-3-acetic acid; indole-3-acetic acid; auxin) belonging to the genus *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* and *Sinorhizobium*. Bacteria of the genus *Mycobacterium* producing IAA have been found in the rhizosphere of the tropical orchid (*Dendrobium moschatum* Buch.-Ham.) [89], and *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Cellulomonas*, *Mycoplana* and *Rahnella* have been identified in the rhizosphere of wheat (*Triticum* L.) [23].

In addition to direct impact on the growth and development of plants, the auxins synthesised by microorganisms indirectly affect plants by increasing the activity of atmospheric nitrogen binding and solubilisation of phosphorus, an example of which is the bacterium *Sinorhizobium meliloti* 1021, strain RD64 [34]. Although not as intensively studied as auxins, cytokinins and gibberellins also stimulate plant growth [23, 56]. Ethylene is another important plant hormone. Ethylene influences the growth and development of plants by regulating the size and division of cells, and in terms of development by controlling the process of maturation and aging of plants [75]. In addition, ethylene was defined as a stress hormone [1]. Under stressful conditions, such as high salinity, drought, heavy metals, etc., the endogenous level of ethylene is significantly increased, which negatively affects the entire plant and may lead to a reduction in crop yield [1, 11]. Some plant growth promoting rhizobacteria possess the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylase (ACC-1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase deaminase), which lowers the level of ethylene and thus facilitates the growth and development of plants under stress [1, 27]. Currently, the bacteria which synthesise ACC deaminase include: *Acinetobacter* sp., *Achromobacter* sp., *Agrobacterium* sp., *Alcaligenes* sp., *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Burkholderia* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Ralstonia* sp., *Serratia* sp., *Rhizobium* sp. etc. [1].

Some bacteria and rhizosphere fungi are able to produce vitamins, especially B vitamins, which have a positive effect on plant growth. The water-soluble vitamins act synergistically with other biologically active substances, stimulating the development of not only plants but also microorganisms [35, 53]. The rhizosphere bacterium *P. fluorescens* 267 synthesises, among others, biotin, thiamine, cobalamin, pantothenic acid and niacin [19]. Marek-Kozaczuk and Skorupska [53] have demonstrated that the strains of *P. fluorescens* 267.1 with a mutation in the gene of thiamine and niacin synthesis have lost their ability to promote the growth of clover roots (*Trifolium pratense* L. cv. Ulka). The vitamins of Group B produced by the *P. fluorescens* strain 267 stimulate the activity of nitrogen binding in the bacterium *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, being symbiotic with clover, which increases the amount of fresh and dry plant mass and the number and weight of root nodules [19].

According to recent studies, volatile organic compounds (VOCs) produced by plant growth promoting rhizobacteria have the potential to control plant pathogens, stimulate plant growth and induce systemic disease resistance [69, 85]. PGPR or products synthesised by PGPR usually require physical contact with parts of plants to stimulate plant growth [86]. However, many types of bacteria can regulate plant growth from

a distance without direct contact. Thus, these bacteria secrete invisible volatile compounds which promote or inhibit plant growth. According to Lemfack *et al.* [46] there are approximately 350 species of bacteria and fungi producing more than 846 different VOCs. Microbiological VOCs are signal molecules characterised by:

- low molecular weight (< 300 g/mol),
- low boiling point,
- low polarity,
- lipophilic nature,
- high vapor pressure (0.01 kPa at 20°C),

Volatile organic compounds synthesised by some microorganisms belong to, among others, alkanes, alkenes, alcohols, esters, ketones, terpenoids and sulphur compounds [24, 45].

Ryu *et al.* [73] when studying the strains of *Bacillus subtilis* GB03 and *B. amyloliquefaciens* IN937a, observed that these bacteria produce volatile organic compounds which support the growth of plants: 2,3-butanediol and acetoin. In addition, literature reported that 2-pentylfuran synthesised by *Bacillus megaterium* XTBG34 stimulates the growth of *Arabidopsis thaliana* (101), and *P. fluorescens* SS1 produces 13-tetradecadiene-1-ol and 2-butanone and 2-methyl-n-1-tridecene, which promote the growth of tobacco (*Nicotiana tabacum*) [65]. The research carried out by Orozco-Mosqueda *et al.* showed that alfalfa seedlings (*Medicago truncatula*) under the influence of volatile substances produced by *Arthrobacter agilis* UMCV2 for 5 days increased the fresh mass of aboveground and root parts and chlorophyll concentration by 40%, 35% and 35%, respectively [62].

In addition to plant growth-promoting activity, volatile organic compounds modulate the plant's response to stress inducing factors. It has been demonstrated that 2,3-butanediol significantly induces the resistance of the *Arabidopsis* to the pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* [72], while 3-pentanol and 2-butanone are used as anti-breeding factors for *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, a pathogen of cucumber seedlings [83].

Recent research confirms that VOCs secreted by microorganisms can be used as molecules which significantly stimulate plant growth. However, there is still a need for additional experiments to accurately characterise the VOC structure and mechanism of action on a larger number of plant species under field conditions.

## 5. Biological plant protection

Baker and Cook in 1974 formulated the basis for biological plant protection, defining this term as the use of live microorganisms to reduce the occurrence

of pathogenic organisms [5]. The rhizosphere provides a defence line for plants against the attack by pathogens found in soil. Various elements of the rhizosphere microbiome may antagonise pathogens present in soil both before and during the primary infection, as well as during secondary dissemination in the root tissue. The main mechanisms by means of which rhizosphere microorganisms protect plants from pathogens are divided into direct and indirect ones [8, 54, 60].

Direct biological control mechanisms include, among others:

- competing for an ecological niche, and thus limiting the population of pathogenic organisms,
- limitation of the nutrients required for the growth of pathogens, such as iron,
- production of signal components which interfere with the reproduction of pathogens and reduce their growth, e.g. toxins, antibiotics, lytic enzymes, biosurfactants.

Indirect biocontrol mechanisms include:

- triggering induced systemic resistance (ISR) and systemic acquired resistance (SAR),
- stimulation of additional organisms capable of inhibiting pests or pathogens [8, 11, 15, 54, 56, 60, 66].

Colonization of roots results not only in the high number of PGPR populations in the root system, but also acts as a delivery system for antagonistic metabolites involved in the direct inhibition of plant pathogens [60]. Among the compounds synthesised by PGPR there are, among others: ammonia, butyrolactone, 2,4-diacetylchloroglucine (DAPG), HCN (hydrogen cyanide), phenazine-1-carboxylic acid, viscominamide, kanosamine, oligomycin A, oomycin A, xanthobaccin and pyoverdine and many others [11, 15, 16, 82].

The strains of the bacterium *B. subtilis* synthesise many varieties of potent antifungal metabolites, e.g. Zwittermycin-A, kanosamine and lipopeptides (surfactins, iturins) [60]. Bacteria such as *Burkholderia cepacia* and *Ralstonia solanacearum* hydrolyse fusarium acid, synthesised by fungi of the genus *Fusarium* being a common plant pathogen [15]. Another protection strategy for PGPR is the production of lytic enzymes. In 2000 Dunne *et al.* demonstrated the overproduction of extracellular protease in the mutant strains of *Stenotrophomonas maltophilia* W81, which caused improvement in the biocontrol of *Pythium ultimum* (root pathogen of many crops) [22]. In the present study, transposon mutagenesis Tn 5-764cd in the presence of casein caused isolation of two mutants (W81M3 and

W81M4), producing about three times more extracellular protease than the wild type W81 strain. In addition, the mutant W81M4 also exhibited increased chitinolytic activity compared to W81, which is also useful for the biological control of chitin-sensitive pathogens and plant parasites.

In the rhizosphere, microorganisms compete with each other for nutrients, sources of carbon and energy [54, 60]. The strategies used by rhizobacteria include, among others, the ability to grow rapidly after encountering substrates and the capability of extracellular conversion of glucose to gluconic acid and 2-ketogluconic acid. Some bacteria, including several species of *Pseudomonas*, effectively capture glucose from the environment and then convert it to gluconic acid and 2-ketogluconic acid. Therefore, they ensure an advantage over microorganisms which do not have the ability to use these compounds [60].

Microorganisms that inhabit the rhizosphere can also exert an influence on herbivorous insects. An example is furnished by the research carried out by van de Mortel *et al.* using *P. fluorescens* SS101, whose presence inhibited the development of *Spodoptera exigua*, which is an insect feeding on tomato (*Solanum lycopersicum*) [92].

The rhizosphere microorganisms activate systemic acquired immunity (SAR) in their relationships with plants and participate in triggering induced systemic immunity (ISR). Both ISR and SAR induce a state of increased resistance of the plant, which is accompanied by the synthesis of signal compounds such as jasmonic acid, ethylene and salicylic acid [60, 66, 93]. The term “induced systemic immunity” defines resistance induced by biotic pathogens, while the term “acquired systemic resistance” refers to the interaction of plants with pathogens [66]. Early recognition of a threat by the plant immediately initiates a cascade of molecular signals and transcription of many genes, which ultimately leads to the production of defence molecules by the host plant [66, 93]. These defensive molecules include phytoalexins, pathogenesis-related proteins (PR), such as chitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases, inhibitors of proteinase and lignin, etc. [60, 93]. Verhagen and others have demonstrated that tomatoes (*Solanum lycopersicum*) inoculated with *P. fluorescens* strain WCS417r (meaning that they are ISR-positive), exhibits a faster and stronger defence induction against the *Pseudomonas syringae*, a leaf pathogen [94].

## 6. Summary

Numerous literature data confirm that microorganisms colonising the root zone of plants perform a variety of functions, primarily affecting the promotion



Table I  
Selected types of bacteria and their properties to promote the growth and development of plants

Microorganisms	Properties for promoting plant growth
<i>Pseudomonas</i> sp.	Production of IAA, HCN, NH <sub>3</sub> , VOC, exopolysaccharides, siderophores, ACC deaminase, cytokinins; solubilization of phosphorus and heavy metals; antifungal activity
<i>Rhizobium</i> sp.	Production of IAA, HCN, NH <sub>3</sub> , exopolysaccharides, siderophores, cytokinins; solubilization of phosphorus; biological nitrogen fixation
<i>Bacillus</i> sp.	Production of IAA, HCN, NH <sub>3</sub> , VOC, gibberellins, cytokinins, siderophores; solubilization of phosphorus; antifungal activity
<i>Azospirillum</i> sp.	Production of IAA, siderophores; solubilization of phosphorus; biological nitrogen fixation; antibiotic resistance
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Production of IAA, ACC deaminase solubilization of phosphorus; biological nitrogen fixation
<i>Klebsiella</i> sp.	Production of IAA, HCN, NH <sub>3</sub> , exopolysaccharides, siderophores; solubilization of phosphorus
<i>Burkholderia</i> sp.	Production of IAA, gibberellins, ACC deaminase, siderophores; solubilization of phosphorus and heavy metals

According to [1, 13, 28, 56, 58, 67, 81].

of plant growth and development. The roots of plants release compounds being a source of energy for microorganisms. The high concentration of root exudates in the rhizosphere attracts metabolically active microorganisms, the number of which is much higher than in other parts of the soil. The species of the plant, stage of development, soil type and climatic conditions are the main factors determining the composition of microbiological communities of the rhizosphere. Concerns over the excessive use of agricultural chemistry cause the increasing popularity of organic farming promoting biopreparations based on rhizosphere microorganisms which stimulate plant growth and development. Large-scale application of PGPR can reduce the global use of agrochemicals and pesticides. What is more, it is a technology easily available to farmers in both developed and developing countries. The rhizosphere microorganisms, apart from the activity in promoting plant growth, also present a bioremediation potential in relation to heavy metals and pesticides, as well as participate in the control of a number of different phytopathogens. Despite numerous studies on the interaction of plants and rhizosphere microorganisms, there still exists a need for a more detailed understanding of the basic principles of the rhizosphere ecology, including the function and diversity of microorganisms. Familiarization with the dynamics and composition of the communities of microorganisms inhabiting the rhizosphere, as well as the communication with the plant will contribute to the effective use of microbial preparations based on PGPR. Further research on the mechanism of phytostimulation by PGPR would allow for developing bacterial, fungal and bacterial-fungal consortia commercially used in agroecological conditions.

Table I presents examples of rhizosphere organisms which can potentially be used in microbiological preparations which promote plant growth.

#### Acknowledgements

The research was financed from Research Grant 1.21 implemented as part of the statutory activities of IUNG-PIB.

The article was translated by EURO-ALPHABET from Polish into English under agreement 659 / P-DUN / 2018 and funded by the Ministry of Science and Higher Education.

#### References

- Ahemad M., Kibret M.: Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *JKSUS*. **26**, 1–20 (2014)
- Ahmed E., Holmström S.J.: Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microb. Biotechnol.* **7**, 196–208 (2014)
- Alori E.T., Glick B.R., Babalola O.O.: Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front. Microbiol.* DOI:10.3389/fmicb.2017.00971 (2017)
- Bais H.P., Park S.W., Weir T.L., Callaway R.M., Vivanco J.M.: How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends Plant Sci.* **9**, 26–32 (2004)
- Baker K.F., Cook R.J.: Biological control of plant pathogens. San W.H. Freeman and Company, Francisco, 1974
- Bakker M.G., Manter D.K., Sheflin A.M., Weir T.L., Vivanco J.M.: Harnessing the rhizosphere microbiome through plant breeding and agricultural management. *Plant Soil*. **360**, 1–13 (2012)
- Barbeau K., Zhang G.P., Live D.H., Butler A.: Petrobactin, a photoreactive siderophore produced by the oil-degrading marine bacterium *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 378–379 (2002)
- Barea J.M., Pozo M.J., Azcon R., Azcon-Aguilar C.: Microbial co-operation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* **56**, 1761–1778 (2005)
- Berendsen R.L., Pieterse C.M., Bakker P.A.: The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.* **17**, 478–486 (2012)
- Bezemer T.M., van Dam N.M.: Linking above-ground and below ground interactions via induced plant defenses. *Trends Ecol. Evol.* **20**, 617–624 (2005)
- Bhattacharyya P.N., Jha D.K.: Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **28**, 1327–1350 (2012)



12. Buscot F.: What are soils? (in) *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*, red. F. Buscot, S. Varma, Springer-Verlag, Heidelberg, 2005, p. 3–18
13. Cecagno R., Fritsch T.E., Schrank I.S.: The Plant Growth-Promoting Bacteria *Azospirillum amazonense*: Genomic Versatility and Phytohormone Pathway. *BioMed Research International*, DOI.10.1155/2015/898592 (2015)
14. Chatterjee S., Sau G.B., Sinha S., Mukherjee S.K.: Effect of co-inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of amaranth plants. *Arch. Agron. Soil Sci.* **57**, 1–11 (2011)
15. Compant S., Duffy B., Nowak J., Clément C., Barka E.A.: Use of plant growth – promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *App. Environ. Microb.* **71**, 4951–4959 (2005)
16. Dąbrowska G., Zdziechowska E.: Rola bakterii ryzosferowych w stymulacji procesów wzrostu i rozwoju oraz ochronie roślin przed czynnikami środowiska. *Prog. Plant Prot.* **55**, 498–506 (2015)
17. Das N., Chandran P.: Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnol. Res. Int.* **11**, 1–13 (2011)
18. de Jesus Sousa J.A., Olivare F. L.: Plant growth promotion by Streptomycetes: ecophysiology, mechanisms and applications. *Chem. Biol. Technol. Agric.* DOI 10.1186/s40538-016-0073-5 (2016)
19. Derylo M., Skorupska A.: Enhancement of symbiotic nitrogen fixation by vitamin-secreting fluorescent *Pseudomonas*. *Plant Soil.* **154**, 211–217 (1993)
20. Devi K.A., Pandey P., Sharma G.D.: Plant Growth-Promoting Endophyte *Serratia marcescens* AL2-16 Enhances the Growth of *Achyranthes aspera* L., a Medicinal Plant. *HAYATI Journal of Biosciences*, **23**, 173–180 (2016)
21. Dimitroglou A., Merrifield D.L., Carnevali O., Picchiatti S., Avella M., Daniels C., Güroy D., Davies S.J.: Microbial manipulations to improve fish health and production – a Mediterranean perspective. *Fish Shellfish Immunol.* **30**, 1–16 (2011)
22. Dunne C., Moenne-Loccoz Y., de Bruijn F.J., O’Gara F.: Overproduction of an inducible extracellular serine protease improves biological control of *Pythium ultimum* by *Stenotrophomonas maltophilia* strain W81. *Microbiology*, **146**, 2069–2078 (2000)
23. Egamberdieva D., Wirth S.J., Alqarawi A.A., Abd-Allah E.F., Hashem A.: Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. *Front. Microbiol.* DOI: 10.3389/fmicb.2017.02104 (2017)
24. Fincheira P., Quiroz A.: Microbial volatiles as plant growth inducers. *Microbiol. Res.* **208**, 63–75 (2018)
25. Gamit D.A., Tank S.K.: Effect of siderophore producing microorganism on plant growth of *Cajanus cajan* (Pigeon pea). *Int. J. Res. Pure. Appl. Microbiol.* **4**, 20–27 (2014)
26. Gilbert J.A., Knight R. i wsp.: The Earth Microbiome Project: meeting report of the “1st EMP meeting on sample selection and acquisition” at Argonne National Laboratory October 6 2010. *Stand Genomic Sci.* **3**, 249–253 (2010)
27. Glick B.R.: Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* **169**, 30–39 (2014)
28. Gopalakrishnan S., Sathya A., Vijayabharathi R., Varshney R.K., Gowda C.L.L., Krishnamurthy L.: Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. *3 Biotech*, **5**, 355–377 (2015)
29. Hickford S.J.H., Küpper F.C., Zhang G., Carrano C.J., Blunt J.W., Butler A.: Petrobactin sulfonate, a new siderophore produced by the marine bacterium *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. *J. Nat. Prod.* **67**, 1897– 1899 (2004)
30. Holden N., Pritchard L., Toth I.: Colonization out with the colon: plants as an alternative environmental reservoir for human pathogenic enterobacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* **33**, 689–703 (2009)
31. Hong J.W., Park J.Y., Gadd G.M.: Pyrene degradation and copper and zinc uptake by *Fusarium solani* and *Hypocrea lixii* isolated from petrol station soil. *J. Appl. Microbiol.* **108**, 2030–2040 (2010)
32. Hossain M.M., Sultana F., Kubota M., Koyama H., Hyakumachi M.: The plant growth-promoting fungus *Penicillium simplicissimum* GP17-2 induces resistance in *Arabidopsis thaliana* by activation of multiple defense signals. *Plant Cell Physiol.* **48**, 1724–1736 (2007)
33. Hossain M.M., Sultana F., Isla S.: Plant Growth-Promoting Fungi (PGPF): Phytostimulation and Induced Systemic Resistance (in) *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives*, eds. D. Singh, H. Singh, R. Prabha, Springer, Singapore, 2017, p. 135–191
34. Imperlini E., Bianco C., Lonardo E., Camerini S., Cermola M., Moschetti G., Defez R., Effects of indole-3-acetic acid on *Sinorhizobium meliloti* survival and symbiotic nitrogen fixation and stem dry weight production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **83**, 727–738 (2009)
35. Ivanova E.G., Fedorov D.N., Doronina N.V., Trotsenko Y.A.: Production of vitamin B12 in aerobic methylotrophic bacteria. *Microbiology*, **75**, 494–496 (2006)
36. Jankowska M., Swędrzyńska D.: Analiza oddziaływań wybranych drobnoustrojów w środowisku glebowym. *Kosmos*, **1**, 49–55 (2016)
37. Kang J., Amoozegar A., Hesterberg D., Osmond D.L.: Phosphorus leaching in a sandy soil as affected by organic and composted cattle manure. *Geoderma*, **161**, 194–201 (2011)
38. Kent A.D., Triplett E.W.: Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems. *Annu. Rev. Microbiol.* **56**, 211–236 (2002)
39. Khalid A., Arshad M., Zahir Z.A.: Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.* **96**, 473–480 (2004)
40. Khan A.A., Jilani G., Akhtar M.S., Naqvi S.M.S., Rasheed M.: Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J. Agric. Biol. Sci.* **1**, 48–58 (2009)
41. Khan M.S., Zaidi A., Ahemad M., Oves M., Wani P.A.: Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi – current perspective. *Arch. Agron. Soil Sci.* **56**, 73–98 (2010)
42. Kloepper J.W., Zablotowick R.M., Tipping E.M., Lifshitz R.: Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers (in) *The rhizosphere and plant growth*, eds. D.L. Keister, P.B. Cregan, Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1991, p. 315–326
43. Kloepper J.W.: Plant growth-promoting rhizobacteria (other systems) (in) *Azospirillum/plant associations*, ed. Y. Okon, CRC Press, Boca Raton, 1994, p. 111–118
44. Kloepper J.W., Schroth M.N.: Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes (in) *Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, vol. 2. Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologie, INRA, Angers, 1978 p. 879–882
45. Korpi A., Järnberg J., Pasanen A.L.: Microbial volatile organic compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* **39**, 139–193 (2009)
46. Lemfack M.C., Nickel J., Dunkel M., Preissner R., Piechulla B.: mVOC: a database of microbial volatiles. *Nucleic Acid Res.* **42**, DOI: 10.1093/nar/gkt1250 (2014)
47. Lindsay W.L., Vlek P.L.G., Chien S.H.: Phosphate minerals (in) *Minerals in soil environment*, 2<sup>nd</sup> edn, eds. J.B. Dixon, S.B. Weed, Soil Science Society of America, Madison, 1989 p. 1089–1130
48. López-Bucio J., Cruz-Ramírez A., Pérez-Torres A., Ramírez-Pimentel J.G., Sánchez-Calderón L., Herrera-Estrella L.: Root

- architecture (in) *Plant architecture and its manipulation*, red. C. Turnbull, Wiley-Blackwell Annual Review Series, Oxford, 2005, p. 181–206
49. Łyszcz M., Gałązka A.: Genetyczne metody różnicowania mikroorganizmów w systemie gleba-roślina. *Post. Mikrobiol.* **56**, 341–352 (2017)
  50. Łyszcz M., Gałązka A.: Proces biologicznego wiązania azotu atmosferycznego (in) *Studia i Raporty IUNG-PIB – Siedliskowe i agrotechniczne uwarunkowania produkcji roślinnej w Polsce*, 49(3), ed. J. Podleśny, Dział Upowszechniania i Wydawnictwo IUNG-PIB w Puławach, Puławy, 2016, p. 59–70
  51. Łyszcz M., Gałązka A.: Wybrane metody molekularne wykorzystywane w ocenie bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych. *Post. Mikrobiol.* **55**, 309–319 (2016)
  52. Łyszcz M., Głodowska M.: Bakterie endofityczne i ich wpływ na wzrost i rozwój roślin (in) *Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce – Ochrona środowiska*, eds. J. Nyćkowiak, J. Leśny, Młodzi Naukowcy, Poznań, 2017, p. 65–70
  53. Marek-Kozaczek M., Skorupska A.: Production of B-group vitamins by plant growth-promoting *Pseudomonas fluorescens* strain 267 and the importance of vitamins in the colonization and nodulation of red clover. *Biol. Fertil. Soils* **33**, 146–151 (2001)
  54. Mendes R., Garbeva P., Raaijmakers J.M.: The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.* **37**(5), 634–663 (2013)
  55. Meyer J.M., Gruffaz C., Raharinosy V., Bezverbnaya I., Schäfer M., Budzikiewicz H.: Siderotyping of fluorescent *Pseudomonas*: molecular mass determination by mass spectrometry as a powerful pyoverdine siderotyping method. *Biometals*, **21**(3), 259–271 (2008)
  56. Mitter B., Brader G., Afzal M., Compant S., Naveed M., Trognitz F., Sessitsch A.: Advances in elucidating beneficial interactions between plants, soil, and bacteria (in) *Advances in agronomy* Vol. 121, Academic Press, Cambridge, 2013 p. 381–445
  57. Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G.: Microbial diversity and soil functions. *Eur. J. Soil Sci.* **54**, 655–670 (2003)
  58. Nautiyal C.S., Srivastava S., Chauhan P.S., Seem K., Mishra A., Sopory S.K.: Plant growth-promoting bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* NBRISN13 modulates gene expression profile of leaf and rhizosphere community in rice during salt stress. *Plant Physiol. Bioch.* **66**, 1–9 (2013)
  59. Neubauer U., Nowak B., Furrer G., Schulin R.: Heavy metal sorption on clay minerals affected by the siderophore desferrioxamine B. *Environ. Sci. Technol.* **34**, 2749–2755 (2000)
  60. Nihorimbere V., Ongena M., Smargiassi M., Thonart P.: Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, **15**, 327–337 (2011)
  61. Norrish K., Rosser H.: Mineral phosphate (in) *Soils: an Australian viewpoint*. Academic Press, Melbourne, CSIRO/London, UK, Australia, 1983, p. 335–361
  62. Orozco-Mosqueda M. & Valencia-Cantero E. *et al.*: *Arthrobacter agilis* UMCV2 induces iron acquisition in *Medicago truncatula* (strategy I plant) in vitro via dimethylhexadecylamine emission. *Plant Soil*. **362**, 51–66 (2013)
  63. Ortiz-Castro R., Contreras-Cornejo H.A., Macías-Rodríguez L., López-Bucio J.: The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signal. Behav.* **4**, 701–712 (2009)
  64. Pangesti N., Pineda A., Pieterse C.M., Dicke M., Van Loon J.J.: Two-way plant mediated interactions between root-associated microbes and insects: from ecology to mechanisms. *Front. Plant Sci.* DOI: 10.3389/fpls.2013.00414 (2013)
  65. Park Y.S., Dutta S., Ann M., Raaijmakers J.M., Park K.: Promotion of plant growth by *Pseudomonas fluorescens* strain SS101 via novel volatile organic compounds. *Biochem Biophys Res Commun.* **461**, 361–365 (2015)
  66. Pospieszny H.: Systemiczna odporność nabyta (Systemic Acquired Resistance-SAR) w integrowanej ochronie roślin. *Prog. Plant Protect.* **56**, 436–442 (2016)
  67. Preston G.M.: Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas*. *Philos. T. Roy. Soc. B.* **359**(1446), 907–918 (2004)
  68. Rajkumar M., Ae N., Prasad M.N.V., Freitas H.: Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotechnol.* **28**, 142–149 (2010)
  69. Raza W., Yousaf S., Rajer F.U.: Plant growth promoting activity of volatile organic compounds produced by biocontrol strains. *Sci. Lett.* **4**, 40–43 (2016)
  70. Redecker D., Morton J.B., Bruns T.D.: Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Mol. Phylogenet. Evol.* **14**, 276–284 (2000)
  71. Reinhold-Hurek B., Hurek T.: Living inside plants: bacterial endophytes. *Curr. Opin. Plant Biol.* **14**, 435–443 (2011)
  72. Ryu C., Farag M.A., Hu C., Reddy M.S., Kloepper J.W., Pare P.W.: Bacterial volatiles induce systemic resistance in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **134**, 1017–26 (2004)
  73. Ryu C.-M., Farag M.A., Hu C.-H., Reddy M.S., Wei H.-X., Pare P.W., Kloepper J. W.: Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 4927–4932 (2003)
  74. Schalk I.J., Hannauer M., Braud A.: Minireview new roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance. *Environ. Microbiol.* **13**, 2844–2854 (2011)
  75. Schaller G.: Ethylene and the regulation of plant development. *BMC Biol.* DOI:10.1186/1741-7007-10-9 (2012)
  76. Schußler A., Schwarzott D., Walker C.: A new fungal phylum, the Glomeromycota, phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* **105**, 1413–1421 (2001)
  77. Shariatmadari Z., Riahi H., Seyed Hashtroudi M., Ghassempour A., Aghashariatmadary Z.: Plant growth promoting cyanobacteria and their distribution in terrestrial habitats of Iran. *Soil Sci. Plant Nutr.* **59**, 535–547 (2013)
  78. Sharma S.B., Sayyed R.Z., Trivedi M.H., Gobi T.A.: Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, DOI:10.1186/2193-1801-2-58 (2013)
  79. Shi T.-Q., Peng H., Zeng S.-Y., Ji R.-Y., Shi K., Huang H., Ji X.-J.: Microbial production of plant hormones: Opportunities and challenges. *Bioengineered*, **8**, 124–128 (2017)
  80. Shores M., Harman G.E., Mastouri F.: Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annu. Rev. Phytopathol.* **48**, 21–43 (2010)
  81. Singh R.P., Jha P.N.: The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 Augments Resistance against Biotic and Abiotic Stress in Wheat Plants. *Front. Microbiol.* DOI:10.3389/fmicb.2017.01945 (2017)
  82. Sivasakthi S., Usharani G., Saranraj P.: Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *Afr. J. Agr. Res.* **9**, 1265–1277 (2014)
  83. Song G.C., Ryu C.M.: Two volatile organic compounds trigger plant selfdefense against a bacterial pathogen and a sucking insect in cucumber under open field conditions. *Int J Mol Sci.* **14**, 9803–9019 (2013)
  84. Sorty A.M., Meena K.K., Choudhary K., Bitla U.M., Minhas P.S., Krishnani K.K.: Effect of plant growth promoting bacteria associated with halophytic weed (*Psoralea corylifolia* L.) on germination and seedling growth of wheat under saline conditions. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **180**, 872–882 (2016)

85. Tahir H.A.S., Gu Q., Wu H., Niu Y., Huo R., Gao X.: *Bacillus* volatiles adversely affect the physiology and ultra-structure of *Ralstonia solanacearum* and induce systemic resistance in tobacco against bacterial wilt. *Sci. Rep.* DOI: 10.1038/srep40481 (2017)
86. Tahir H.A., Gu Q., Wu H., Raza W., Hanif A., Wu L., Colman W.M., Gao X.: Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. *Front. Microbiol.* DOI:10.3389/fmicb.2017.00171 (2017)
87. Thimann K.V.: Fifty years of plant hormone research. *Plant Physiol.* **54**, 450–453 (1974)
88. Tilak K.V.B.R., Ranganayaki N., Manoharachari C.: Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Eur. J. Soil Sci.* **57**, 67–71 (2006)
89. Tsavkelova E.A., Cherdyntseva T.A., Klimova S.Y., Shestakov A.I., Botina S.G., Netrusov A.I. Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin. *Arch. Microbiol.* **188**, 655–664 (2007)
90. Turner T.R., James E.K., Poole P.S.: The plant microbiome. *Genome Biol.* DOI:10.1186/gb-2013-14-6-209 (2013)
91. Tyler H.L., Triplett E.W.: Plants as a habitat for beneficial and/or human pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* **46**, 53–73 (2008)
92. van de Mortel J.E., de Vos R.C., Dekkers E., Pineda A., Guillard L., Bouwmeester K., van Loon J. J.A., Dicke M., Raaijmakers J.M.: Metabolic and transcriptomic changes induced in *Arabidopsis* by the rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* SS101. *Plant Physiol.* **160**, 2173–2188 (2012)
93. Van Loon L.C.: Plant responses to plant growth promoting bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* **119**, 243–254 (2007)
94. Verhagen B.W.M., Glazebrook J., Zhu T., Chang H.-S., van Loon L.C., Pieterse C.M.J., The transcriptome of rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Mol. Plant Microbe Interact.* **17**, 895–908 (2004)
95. Vorholt J.A.: Microbial life in the phyllosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* **10**, 828–840 (2012)
96. Wang Q, Xiong D, Zhao P, Yu X, Tu B, Wang G.: Effect of applying an arsenic-resistant and plant growth-promoting rhizobacterium to enhance soil arsenic phytoremediation by *Populus deltoides* LH05-17. *J. Appl. Microbiol.* **111**, 1065–1074 (2011)
97. Welbaum G., Sturz A.V., Dong Z., Nowak J.: Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. *Crit. Rev. Plant Sci.* **23**, 175–193 (2004)
98. Woźniak M., Gałązka A., Grządziel J., Głodowska M.: The identification and genetic diversity of endophytic bacteria isolated from selected crops. *J. Agr. Sci.* 1–10, DOI:10.1017/S0021859618000618 (2018)
99. Zhu F., Qu L., Hong X., Sun X.: Isolation and characterization of a phosphate solubilizing halophilic bacterium *Kushneria* sp. YCWA18 from Daqiao Saltern on the coast of yellow sea of China. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* DOI:10.1155/2011/615032 (2011)
100. Qi W., Zhao L.: Study of the siderophore producing *Trichoderma asperellum* Q1 on cucumber growth promotion under salt stress. *J. Basic. Microbiol.* **53**(4), 355–364 (2013)
101. Zou C., Li Z., Yu D.: *Bacillus megaterium* strain XTBG34 promotes plant growth by producing 2-pentylfuran. *J. Microbiol.* **48**, 460–466 (2010)

## MIKROBIOM RYZOSFERY I JEGO KORZYSTNY WPŁYW NA ROŚLINY – AKTUALNA WIEDZA I PERSPEKTYWY

Małgorzata Woźniak\*, Anna Gałązka

Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy

Wpłynęło we wrześniu, zaakceptowano w listopadzie 2018 r.

**Streszczenie:** System korzeniowy roślin działa jak fabryka, która produkuje ogromną ilość związków chemicznych, aby skutecznie komunikować się z otaczającymi go/ją mikroorganizmami. Jednocześnie mikroorganizmy mogą wykorzystywać te związki jako źródło energii. Różnorodność drobnoustrojów związanych z korzeniami roślin jest ogromna, rzędu dziesiątek tysięcy gatunków. Tę złożoną społeczność drobnoustrojów, nazywany również drugim genomem rośliny, który ma zasadnicze znaczenie dla zdrowia i produktywności roślin. W ciągu ostatnich kilku lat nastąpił znaczny postęp w zakresie badań dotyczących struktury mikrobiomów ryzosfery i ich dynamiki. Udowodniono, że rośliny kształtują skład mikroorganizmów poprzez syntezę wydzielin korzeniowych. Natomiast drobnoustroje odgrywają kluczową rolę w funkcjonowaniu roślin poprzez pozytywne oddziaływanie na ich wzrost i rozwój. Ogólnie, mikroorganizmy ryzosferowe promują wzrost roślin bezpośrednio poprzez udostępnianie roślinom składników mineralnych m.in. azotu i fosforu oraz syntetyzowanie regulatorów wzrostu. Natomiast pośrednio poprzez hamowanie rozwoju różnych patogenów roślin.

1. Wstęp. 2. Funkcje mikroorganizmów ryzosferowych. 3. Mikroorganizmy zwiększające dostępność składników mineralnych. 4. Mikroorganizmy syntetyzujące regulatory wzrostu roślin. 5. Biologiczna ochrona roślin. 6. Podsumowanie

### THE RHIZOSPHERE MICROBIOME AND ITS BENEFICIAL EFFECTS ON PLANTS – CURRENT KNOWLEDGE AND PERSPECTIVES

**Abstract:** The root system of a plant works like a factory that produces a huge amount of chemicals to communicate effectively with the microorganisms around it. At the same time, micro-organisms can use these compounds as an energy source. The variety of microorganisms associated with plant roots is enormous, amounting to tens of thousands of species. This complex microbial community, also called the second plant genome, is essential for plant health and productivity. Over the last few years, there has been significant progress in research into the structure and dynamics of the microbial sphere of the rhizosphere. It has been proven that plants shape the composition of microorganisms by synthesizing root secretions. On the other hand, microorganisms play a key role in the functioning of plants through their positive impact on their growth and development. In general, rhizosphere microorganisms promote plant growth directly by providing plants with minerals such as nitrogen and phosphorus and by synthesizing growth regulators, and indirectly, however, by inhibiting the development of various plant pathogens.

1. Introduction. 2. Functions of rhizosphere microorganisms. 3. Microorganisms increasing the availability of minerals. 4. Microorganisms synthesizing plant growth regulators. 5. Biological plant protection. 6. Summary

**Słowa kluczowe:** mikrobiom, promowanie wzrostu roślin, ryzosfera  
**Key words:** mikrobiom, promoting plant growth, rhizosphere

### 1. Wprowadzenie

Rośliny to organizmy wielokomórkowe, które pod wpływem przemian metabolicznych, stale ulegają procesowi wzrostu i rozwoju. Jako organizmy autotroficzne, rośliny odgrywają ważną rolę w podtrzymywaniu wszystkich innych form życia. W rozwijającej się roślinie możemy zdefiniować co najmniej trzy główne części: (1) korzeń, rosnący zwykle pod powierzchnią gleby, który odgrywa ważną rolę w pobieraniu wody i składników pokarmowych, (2) łodyga, której podstawową funkcją jest transport wody i składników odżywczych, a także podtrzymywanie liści i innych organów, oraz (3) pęd, który wytwarza liście, kwiaty

i owoce, umożliwia efektywne odżywianie rośliny poprzez fotosyntezę jak również odpowiada za proces rozmnażania [48, 63]. Rośliny są skolonizowane przez nadzwyczaj wysoką liczbę (mikro)organizmów, które mogą osiągnąć gęstość komórek znacznie większą niż liczba komórek samej rośliny. Ponadto, liczba genów mikroorganizmów zasiedlających ryzosferę znacznie przewyższa liczbę genów roślinnych. Rośliny funkcjonują jako łącznik pomiędzy społecznościami mikroorganizmów, owadów i innych zwierząt bezkręgowych i kręgowych występujących zarówno nad jak i pod powierzchnią gleby [10, 54, 64]. W środowisku naturalnym czynniki abiotyczne i biotyczne mają pośredni lub bezpośredni wpływ na rośliny. Przykładowo, atak

\* Autor korespondencyjny: Małgorzata Woźniak, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; tel. 81 4786960; e-mail: m.wozniak@iung.pulawy.pl



ze strony różnych organizmów np. owadów prowadzi do zmniejszenia powierzchni liścia, a zatem do ograniczenia potencjału fotosyntezy. Konsekwencją tego procesu może być modyfikacja wydzielin korzeniowych, oddziałujących na mikroorganizmy glebowe. Ponadto, stosowanie środków ochrony roślin i pestycydów może zmienić stężenie i rodzaj metabolitów wtórnych syntetyzowanych w pędach i korzeniach roślin i wpływać negatywnie na interakcje roślin z niepatogennymi mikroorganizmami glebowymi [64]. Rozległa komunikacja pomiędzy roślinami i mikroorganizmami odbywa się na różnych etapach rozwoju roślin, w których ważną rolę odgrywają cząsteczki sygnalizacyjne obu partnerów. Cząsteczki sygnałowe produkowane przez bakterie i grzyby biorą udział w zainicjowaniu kolonizacji rośliny. Natomiast rośliny rozpoznają związki pochodzące od mikroorganizmów i dostosowują swoją odpowiedź w zależności od rodzaju napotkanego drobnoustroju i metabolitu. Ten chemiczny dialog określa ostateczny wynik relacji pomiędzy rośliną i mikroorganizmami [4]. Praktycznie wszystkie tkanki roślin mogą być zasiedlane przez mikroorganizmy. Badania koncentrują się głównie na ryzosferze, fylosferze i endosferze. Ryzosfera jest obszarem wzbogaconym w składniki odżywcze pochodzące ze słuzu roślinnego i wydzielin korzeniowych oraz charakteryzuje się występowaniem licznych i aktywnych metabolicznie drobnoustrojów [38, 90]. Natomiast fylosfera jest stosunkowo uboga w składniki odżywcze i podlega ekstremalnym temperaturom, promieniowaniu i wilgoci [90, 95]. Mikroorganizmy obecne w ryzosferze i fylosferze to epifity (występują w pobliżu lub na tkankach roślin), podczas gdy drobnoustroje znajdujące się wewnątrz tkanek roślin, czy to w liściach, korzeniach czy łodygach, nazywane są endofitami [71, 90].

Mikroorganizmy odgrywają kluczową rolę w prawidłowym przebiegu większości procesów zachodzących na Ziemi. Mikrobiom roślinny wpływa na żywotność roślin w związku z czym stanowi jeden z głównych wskaźników produktywności roślin [9, 90]. Kompleksowe badania dotyczące mikrobiomu roślinnego mogą przyczynić się do zmniejszenia częstości występowania chorób roślin, zwiększenia produkcji rolnej i zmniejszenia ilości stosowanych preparatów chemicznych [6, 90, 98]. Znaczna większość aktywnych metabolicznie mikroorganizmów jest niezdolna do wzrostu na podłożach agarowych. Klasyczne techniki oparte na hodowli mikroorganizmów pozwalają szczegółowo badać wyizolowane drobnoustroje, a techniki molekularne, takie jak metagenomika/metatranskryptomika umożliwiają identyfikację populacji mikroorganizmów. Również tych określanych jako niehodowalne [26, 49, 51, 98]. W badaniach dotyczących mikroorganizmów prokariotycznych powszechnie stosowana jest amplifikacja genu 16S rRNA. Sekwencjonowanie regionów zmien-

nych tego genu umożliwia identyfikację taksonomiczną na poziomie rodzaju, a nawet na poziomie gatunku. W celu identyfikacji drobnoustrojów eukariotycznych, takich jak grzyby, wykorzystywany jest gen 18S rRNA, a także region ITS. Technologia sekwencjonowania metagenomowego stała się powszechnie stosowanym narzędziem biologii molekularnej, umożliwiającym identyfikację tysięcy do milionów sekwencji w jednej próbce środowiskowej, ujawniając bogactwo nawet rzadkich gatunków drobnoustrojów [49, 56, 60, 90, 98].

Gleba jest układem wysoce złożonym pod względem liczebności i różnorodności interakcji pomiędzy jej składnikami fizycznymi, chemicznymi i biologicznymi [8, 12]. Funkcje gleby w dużej mierze zależą od mikroorganizmów, które stanowią komponent dla podstawowych procesów metabolicznych zachodzących w środowisku glebowym [57]. Liczne dane literaturowe wskazują, że wiele drobnoustrojów glebowych oddziałuje z korzeniami roślin i składnikami gleby na granicy korzeń–gleba [8]. Wydzieliny korzeniowe i rozkładające się resztki roślinne są głównym źródłem węgla dla heterotroficznych mikroorganizmów oraz wyznacznikiem funkcji ryzosfery [8, 60]. Z kolei aktywne mikroorganizmy ryzosferowe i ich metabolity wpływają na strukturę systemu korzeniowego poprzez modyfikację jakości i ilości wydzielin korzeniowych (substancji bioaktywnych roślin) [8, 56, 90]. W ryzosferze możemy wyróżnić trzy oddziałujące ze sobą komponenty: ryzosferę, ryzoplantę i korzeń. Ryzosfera to obszar gleby, który znajduje się w pobliżu powierzchni korzenia i który jest pod wpływem wydzielin korzeniowych roślin. Ryzoplanta to zewnętrzna powierzchnia korzenia wraz ze ściśle przylegającymi do niej cząstkami gleby. Natomiast korzeń jest częścią rośliny, która utrzymuje ją w podłożu i odpowiedzialna jest za dostarczanie wody i soli mineralnych [8, 56, 60, 90].

## 2. Funkcje mikroorganizmów ryzosferowych

Mikroorganizmy obecne w ryzosferze odgrywają ważną rolę w kształtowaniu gospodarza roślinnego. Niektóre z nich wykazują korzystny wpływ na wzrost i rozwój roślin np. bakterie wiążące azot atmosferyczny, grzyby mykoryzowe czy ryzobakterie promujące wzrost roślin (PGPR – Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). Mikroorganizmy, te nawiązują z roślinami symbiozę opartą na obustronnej korzyści (mutualizm). Następna grupa to mikroorganizmy, które są szkodliwe dla roślin: patogenne grzyby, łęgniowce (oomycota), bakterie i nicienie. Negatywne interakcje między florą bakteryjną a roślinami są przyczyną wielu chorób ważnych gospodarczo upraw na całym świecie. Do najważniejszych patogenów korzeni zaliczmy *Agrobacterium tumefaciens*, *Ralstonia solanacearum*, *Dickeya dadanthi*,

*Dickeya solani*, *Pectobacterium carotovorum* i *Pectobacterium atrosepticum* [36, 54, 71]. W ostatnim czasie w literaturze pojawiło się wiele informacji opisujących trzecią grupę mikroorganizmów występujących w ryzosferze, a mianowicie patogenów ludzkich [30, 54, 91].

Ryzosfera jest zamieszkała przez różnorodne mikroorganizmy, a bakterie zasiedlające to siedlisko nazywane są ryzobakteriami [42, 43]. Pod koniec lat 70. XX wieku Kloepper i Schroth wprowadzili termin PGPR aby opisać bakterie, które kolonizują korzenie roślin i posiadają zdolność do stymulacji wzrostu roślin [44]. Ryzosferowe bakterie PGPR powinny charakteryzować się (1) zdolnością kolonizacji strefy korzeniowej roślin, (2) zdolnością do przeżycia i rozmnażania się w obecności mikroorganizmów oddziałujących konkurencyjnie, przynajmniej przez czas potrzebny do ujawnienia swoich korzystnych działań na rzecz promocji i ochrony roślin, (3) aktywnością promowania wzrostu roślin [8]. Ogólnie korzystne dla roślin interakcje z mikroorganizmami podzielone zostały na trzy kategorie. Pierwsza kategoria obejmuje mikroorganizmy, które są odpowiedzialne za odżywienie roślin tj. mikroorganizmy, które zwiększają dostępność składników mineralnych. Druga grupa drobnoustrojów to mikroorganizmy odpowiedzialne za bezpośredni wpływ na promowanie wzrostu roślin poprzez produkcję np. fitohormonów. Natomiast trzecia grupa mikroorganizmów stymuluje wzrost roślin pośrednio poprzez hamowanie aktywności mikroorganizmów wykazujących działanie patogenne. Takie oddziaływanie określane jest jako biologiczna ochrona roślin [60, 97]. Większość mikroorganizmów PGPR stymuluje wzrost roślin opierając się na kombinacji dwóch lub większej liczby mechanizmów promujących wzrost roślin [14, 56]. Ponadto, niektóre PGPR mogą wpływać na wzrost i rozwój roślin poprzez synergistyczny efekt koinokulacji. Przykładowo Tilak i wsp. [88] testowali koinokulacyjne szczepienie bakteriami *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus* ze szczepami bakterii z rodzaju *Rhizobium* na nikli indyjskiej (*Cajanus cajan* L). Podwójne szczepienie spowodowało znaczny wzrost roślin, aktywności nitrogenazy i liczby tworzonych brodawek w porównaniu z roślinami kontrolnymi.

Obecnie obserwujemy rosnące zainteresowanie bakteriami posiadającymi zdolność stymulowania wzrostu i odżywiania roślin, co odzwierciedla się w szybko rosnącej liczbie publikacji naukowych na ten temat. Badania obejmują coraz szerszy zakres gatunków roślin, nowe techniki identyfikacji mikroorganizmów oraz analizy mechanizmów ich działania. Różne szczepy bakterii i grzybów zostały z powodzeniem wykorzystane do inokulacji roślin. Obejmują one m.in. bakterie z rodzaju: *Azospirillum* [13], *Bacillus* [58], *Pseudomonas* [67], *Rhizobium* [28], *Serratia* [20], *Stenotrophomonas* [81], i *Streptomyces* [18]. Grzyby posiadające naturalną

zdolność do stymulowania różnych cech roślin związanych z ich wzrostem (PGPF – Plant Growth-Promoting Fungi) obejmują m.in. gatunki z rodzaju *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Piriformospora*, *Phoma* i *Rhizoctonia* [32, 33, 80].

### 3. Mikroorganizmy zwiększające dostępność składników mineralnych

Większość gatunków ryzobakterii to organotrofy, które uzyskują energię z asymilacji związków organicznych. Ograniczone zasoby związków organicznych i węgla w większości gleb, są najczęstszym czynnikiem hamującym wzrost bakterii glebowych. Mikroorganizmy ryzosferowe odgrywają zasadniczą rolę w uwalnianiu kationów odżywczych z minerałów glebowych, które wykorzystują nie tylko do własnego żywienia ale także do żywienia roślin [1, 54].

Jednym z najbardziej znanych przykładów promowania wzrostu roślin jest proces biologicznego wiązania azotu (BNF – Biological Nitrogen Fixation). Spośród wszystkich znanych na świecie pierwiastków, rośliny najsilniej reagują na deficyt azotu w glebie. Warunkuje on prawidłowy rozwój części podziemnych i nadziemnych roślin. Pula azotu występującego w atmosferze jest niedostępna dla roślin. Ponadto intensywne stosowanie nawozów sztucznych w uprawach rolniczych doprowadziło do rosnącej kumulacji szkodliwych azotanów w glebach i wodach oraz tlenków azotu w atmosferze. W związku ze zwiększeniem efektywności wykorzystania nawozów azotowych, należy priorytetowo potraktować proces biologicznego wiązania azotu. Symbiotyczne wiązanie  $N_2$  jest powszechnie znanym procesem, w którym bakterie posiadające kompleks enzymatyczny – nitrogenazę, redukują atmosferyczny  $N_2$  do amoniaku w brodawkach korzeni roślin bobowatych [1, 8, 50, 52, 56, 90]. Bakterie odpowiedzialne za ten proces należą m.in. do rodzaju *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* i *Azorhizobium*, wspólnie określanych jako ryzobia. Bakterie te oddziałują z korzeniami roślin bobowatych prowadząc do nawiązania efektywnej symbiozy. Inną grupą mikroorganizmów są bakterie wiążące azot w stanie asymbiotycznym (wolnym) np. *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Azomonas* sp. czy *Bacillus* sp. Promieniowce z rodzaju *Frankia* także posiadają zdolność wiązania azotu atmosferycznego poprzez tworzenie na korzeniach roślin drzewiastych m.in. olszy (*Alnus* Mill.) specyficznej symbiozy zwanej aktinoryzą [8, 50]. Inną grupą mikroorganizmów, które pozytywnie wpływają na żyzności gleby poprzez nawiązanie symbiozy i wiązanie azotu atmosferycznego są cyjanobakterie – grupa fotosyntetycznych prokariotów (Cyanobacteria; Blue-Green Algae – BGA). Poza udostępnianiem azotu roślinom, wpływają także

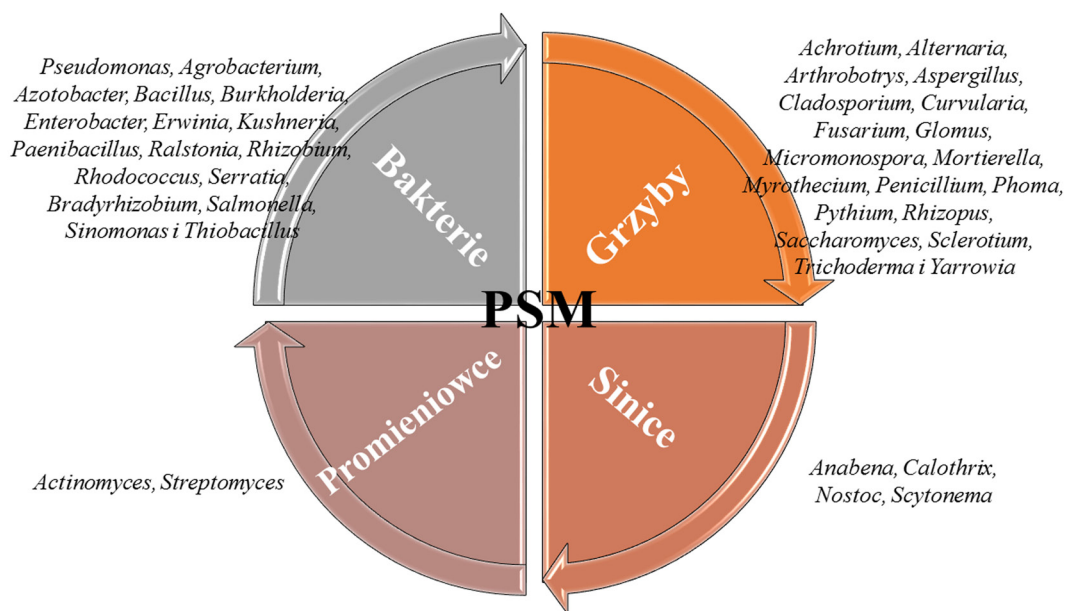
na agregację cząstek gleby, a tym samym na utrzymanie wilgociny i zapobieganie erozji [77].

Kolejny typ symbiozy występujący w ryzosferze to mykoryza – mutualistyczna symbioza grzybów z korzeniami większości roślin. Najbardziej rozpowszechnionym typem tej symbiozy jest mykoryza arbuskularna (AM – Arbuscular Mycorrhiza). Grzyby AM początkowo zaliczane były do gromady *Glomales* i *Zygomycota* [70], ale obecnie przyporządkowane są do gromady *Glomeromycota* [76]. Obecność mykoryzy arbuskularnej wpływa pozytywnie na kondycję roślin m.in. poprzez zwiększenie powierzchni chłonnej korzeni, co umożliwia roślinom lepszy dostęp do wody i substancji mineralnych szczególnie tych, których formy jonowe wykazują słabą mobilność lub tych, które występują w niskich stężeniach w glebie. Wyniki licznych badań wskazują, że rośliny skolonizowane przez grzyby mykoryzy arbuskularnej wykazują większą odporność na czynniki stresu środowiskowego i stresu biotycznego [8].

Fosfor (P) to drugi ważny czynnik ograniczający wzrost roślin [40, 52]. Odgrywa istotną rolę praktycznie we wszystkich procesach metabolicznych roślin, w tym fotosyntezie, transferze energii, transdukcji sygnału, biosyntezie makrocząsteczek i oddychaniu [3, 41, 78]. Średnio, zawartość fosforu w glebie wynosi około 0,05% (w/w), jednak tylko 0,1% tego fosforu jest dostępna dla roślin [3, 99]. Niedobór fosforu glebowego jest często uzupełniany poprzez stosowanie nawozów fosforowych. Jednak większość zastosowanego fosforu w formie nawozów nie jest dostępna dla roślin, a stosowanie ich w nadmiernych ilościach może doprowadzić do problemów środowiskowych, takich jak skażenie wód gruntowych, eutrofizacja zbiorników wodnych i utrata

żyźności gleby [37]. Skuteczność stosowanych nawozów fosforowych w postaci chemicznej rzadko przekracza 30% ze względu na ich utrwalenie, albo w postaci fosforanu żelaza/glinu w glebach kwaśnych [61] albo w postaci fosforanu wapnia w glebach obojętnych do zasadowych [47]. W środowisku naturalnym liczne mikroorganizmy występujące w glebie i ryzosferze skutecznie uwalniają fosfor z jego nierozpuszczalnych form dzięki solubilizacji i mineralizacji [3, 11, 52, 78]. Ta grupa drobnoustrojów określana jest jako mikroorganizmy rozpuszczające fosfor (PSM – Phosphate Solubilizing Microorganisms) (Ryc. 1). Produktami metabolizmu tych mikroorganizmów są między innymi kwasy organiczne takie jak glukonowy, cytrynowy, mlekowy, propionowy i bursztynowy, postrzegane jako główny czynnik odpowiedzialny za udostępnianie fosforu. Duża liczba drobnoustrojów, w tym bakterie, grzyby, promieniowce i sinice, wykazuje zdolność do rozpuszczania i mineralizacji związków fosforu.

Mikroorganizmy ryzosferowe mogą również ułatwiać pobieranie pierwiastków śladowych, takich jak żelazo (Fe) [2, 25, 52]. Żelazo jest niezbędnym składnikiem odżywczym dla prawie wszystkich form życia. Żelazo obficie występuje w glebie, ale w postaci, która jest niedostępna dla drobnoustrojów i roślin, a mianowicie  $Fe^{3+}$ . Wiele mikroorganizmów wykształciło specyficzne systemy i nośniki jonów żelaza – siderofory. Siderofory są związkami organicznymi o niskiej masie cząsteczkowej, które umożliwiają uzyskiwanie żelaza z trudno rozpuszczalnych substratów oraz ze środowisk o niskich stężeniach żelaza. Zarówno w przypadku bakterii Gram-ujemnych, jak i Gram-dodatnich, żelazo ( $Fe^{3+}$ ) jest wychwytywane przez



Ryc. 1. Bioróżnorodność PSM  
Opracowanie własne na podstawie [3, 78].



siderofory i w takim kompleksie w błonie bakteryjnej następuje redukcja do jonów  $Fe^{2+}$ , które są następnie uwalniane do komórki za pomocą mechanizmu transportu aktywnego [1, 2]. W ostatnich latach sideroforum poświęca się coraz więcej uwagi ze względu na ich potencjalną rolę i zastosowanie w różnych obszarach badań środowiskowych. Siderofory mikrobiologiczne pełnią ważną rolę w bioremediacji, kontroli biologicznej, wietrzeniu minerałów glebowych i promowaniu wzrostu roślin. Badania Qi i Zhao [100] potwierdzają, że siderofory wytwarzane przez *Trichoderma asperellum* stymulują wzrost i odporność ogórka (*Cucumis sativus*) w warunkach stresu solnego. Siderofory są niezwykle skuteczne w solubilizacji i zwiększeniu mobilności szerokiego zakresu metali, które mogą stanowić zagrożenie dla środowiska np. Al, Cd, Cu, Ga, In, Pb i Zn, jak również pierwiastków promieniotwórczych w tym U (uran) i Np (neptun) [68, 74]. Proces ten zależy głównie od funkcjonalności ligandu, co oznacza, że siderofory mogą mieć silne powinowactwo do konkretnego metalu innego niż żelazo [59]. W ostatnich latach wzrosło także zainteresowanie badaniami potencjału sideroforów w bioremediacji. Hong i współpracownicy [31] donoszą o sideroforach produkowanych przez *Fusarium solani*, które przyczyniły się do solubilizacji Cu i Zn *in vitro*. Poza tym, wykazano, że siderofory produkowane przez *Agrobacterium radiobacter* przyczyniają się do zmniejszenia zawartości As w glebie w przybliżeniu o 54% [96]. Siderofory mikrobiologiczne mogą odgrywać ważną rolę w remediacji węglowodorów ropopochodnych ze środowisk morskich [17]. Petrobaktyna to pierwszy strukturalnie scharakteryzowany siderofor wytwarzany przez morską bakterię *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*, który degraduje ropę naftową [7]. Hickford i wsp. [29] badali inny siderofor o nazwie sulfonian petrobaktyny (wyizolowany także z tej samej morskiej bakterii), który również rozkłada ropę naftową. Obecność sideroforów w pobliżu korzeni roślin może chronić je przed wieloma patogenami, poprzez wiązanie w chelaty wszystkich dostępnych form żelaza i nieudostępnianie go organizmom patogennym. Niektóre siderofory (piowerdyny) produkowane przez fluoryzujące bakterie z rodzaju *Pseudomonas* mogą być wyjątkowo skutecznym narzędziem hamowania wzrostu fitopatogenów, ponieważ wykazują wysokie powinowactwo do jonów żelaza (III). Przykładowo, piowerdyna zaangażowana jest w kontrolę biologiczną choroby wędnięcia ziemniaka wywołanej przez *Fusarium oxysporum*, a także ograniczenie wzrostu fitopatogenów w orzeszkach ziemnych i kukurydzy [2]. Ponadto, piowerdyna stosowana jest jako probiotyk w hodowli ryb, ponieważ hamuje wzrost kilku patogenów ryb: *Vibrio anguillarum*, *Vibrio ordalii*, *Aeromonas salmonicida*, *Lactococcus garvieae*, *Streptococcus iniae*, *Flavobacterium psychrophilum* [21]. Należy zaznaczyć,

że siderofory znalazły zastosowanie także w ekologii i taksonomii mikroorganizmów. Siderotypowanie definiuje się jako metodę charakterystyki i identyfikacji drobnoustrojów według typów produkowanych przez nie sideroforów [2]. Piowerdyna to typowa dla szczepów bakterii z rodzaju *Pseudomonas* grupa sideroforów. Obecnie znanych jest, co najmniej 50 cząsteczek piowerdyn o różnych sekwencjach łańcucha peptydowego. Zmienność w obrębie peptydu jest wykorzystana do określenia pokrewieństwa pomiędzy bakteriami z rodzaju *Pseudomonas* [55]. Ponadto, siderofory mogą być używane jako znaczniki chemotaksonomiczne do identyfikacji innych rodzajów bakterii, takich jak *Burkholderia* sp. i *Mycobacterium* sp. [2]. Podsumowując, siderotypowanie może stać się potężnym narzędziem w badaniach środowiskowych, ułatwiającym skuteczną i szybką identyfikację drobnoustrojów [55].

#### 4. Mikroorganizmy syntetyzujące regulatory wzrostu roślin

Ryzosfera jest stosunkowo bogatym w składniki odżywcze środowiskiem zawierającym aminokwasy, cukry, kwasy tłuszczowe i inne związki organiczne, które przyciągają mikroorganizmy [95]. Z kolei drobnoustroje syntezują biologicznie aktywne związki, w tym m.in. fitohormony: auksyny, cytokiny, gibbereliny, ABA (kwas abscysynowy, abscisic acid), witaminy i związki lotne. Te mikrobiologiczne metabolity odgrywają istotną rolę we wzroście, odżywianiu i rozwoju roślin [23, 52, 63]. Termin „hormony roślinne” lub „fitohormony” został ostatecznie wprowadzony przez Thimanna w 1948 r. Wraz z dalszymi badaniami identyfikowano coraz więcej hormonów roślinnych, które określano jako śladowe substancje organiczne syntetyzowane w niektórych częściach rośliny. Hormony roślinne odgrywają znaczącą rolę w rolnictwie, ponieważ uczestniczą w procesie dojrzewania owoców, opadania liści oraz kiełkowaniu nasion [87, 79, 23]. Hormony roślinne znajdują się nie tylko w roślinach wyższych, ale także syntetyzowane są przez bakterie i grzyby. Początkowo hormony roślinne do celów rolniczych były uzyskiwane głównie przez ekstrakcję z tkanek roślinnych. W związku ze zwiększonym zapotrzebowaniem stopniowo wprowadzano syntezę chemiczną. Niemniej jednak, ze względu na stosunkowo złożoną strukturę hormonów roślinnych, synteza chemiczna niesie ze sobą szereg problemów, takich jak wysokie koszty, złożony proces produkcji, niska czystość, itp. W porównaniu z dwoma poprzednimi metodami produkcja mikrobiologiczna jest ekologicznym i zrównoważonym procesem syntezy hormonów roślinnych. Ponadto, końcowe produkty charakteryzują się wyższą aktywnością biologiczną i czystością. Dzięki licznym nowatorskim



narzędziom badawczym, mikrobiologiczna produkcja hormonów roślinnych jest bardziej wydajna i ekonomiczna [79]. Ogólnie, auksyny wpływają na podział i różnicowanie komórek, stymulują kiełkowanie nasion i bulw, zwiększają szybkość tworzenia ksylemów, kontrolują procesy wegetatywnego wzrostu, inicjują tworzenie korzeni, pośredniczą w reakcjach fotosyntezy, syntezy pigmentów i biosyntezy różnych metabolitów [1]. Podaje się, że 80% mikroorganizmów izolowanych z ryzosfery różnych upraw posiada zdolność syntezy i uwalniania auksyn jako metabolitów wtórnych [1, 39, 56]. Na przykład Sorty i wsp. [84] wyizolowali z chwastów halotolerujących (*Psoralea corylifolia* L.) różne grupy bakterii wytwarzających IAA (kwas indolilo-3-octowy; indole-3-acetic acid; auksyna) należących do rodzaju *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* i *Sinorhizobium*. Bakterie z rodzaju *Mycobacterium* wytwarzające IAA stwierdzono w ryzosferze tropikalnego storczyka (*Dendrobium moschatum* Buch.-Ham.) [89], a *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Cellulomonas*, *Mycoplana* i *Rahnella* zidentyfikowano w ryzosferze pszenicy (*Triticum* L.) [23]. Oprócz bezpośredniego wpływu na wzrost i rozwój roślin, auksyny syntetyzowane przez mikroorganizmy pośrednio oddziałują na rośliny poprzez zwiększenie aktywności wiązania azotu atmosferycznego i solubilizacji fosforu, czego przykładem jest bakteria *Sinorhizobium meliloti* 1021, szczep RD64 [34]. Chociaż nie tak intensywnie badane jak auksyny, cytokininy i gibbereliny również stymulują wzrost roślin [23, 56]. Kolejnym ważnym hormonem roślinnym jest etylen. Etylen wpływa na wzrost i rozwój roślin poprzez regulację wielkości i podziału komórek, a pod względem rozwoju poprzez kontrolowanie procesu dojrzewania i starzenia się roślin [75]. Ponadto, etylen został określony jako hormon stresu [1]. W warunkach stresowych, takich jak wysokie zasolenie, susza, metale ciężkie itp. endogenne poziomy etylenu jest znacząco zwiększony, co negatywnie wpływa na całą roślinę i może doprowadzić do zmniejszenia wydajności upraw [1, 11]. Niektóre ryzobakterie promujące wzrost roślin posiadają enzym 1-aminocyklopropano-1-karboxylazę (deaminazę ACC – 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase), który obniża poziom etylenu a tym samym ułatwia wzrost i rozwój roślin w warunkach stresu [1, 27]. Obecnie do bakterii syntetyzujących deaminazę ACC zaliczmy: *Acinetobacter* sp., *Achromobacter* sp., *Agrobacterium* sp., *Alcaligenes* sp., *Azospirillum* sp., *Bacillus* sp., *Burkholderia* sp., *Enterobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Ralstonia* sp., *Serratia* sp., *Rhizobium* sp. itp. [1].

Niektóre bakterie i grzyby ryzosferowe są zdolne do produkcji witamin, zwłaszcza witamin z grupy B, które korzystnie wpływają na wzrost roślin. Rozpuszczalne w wodzie witaminy działają synergistycznie z innymi aktywnymi biologicznie substancjami, stymulując roz-

wój nie tylko roślin ale także drobnoustrojów [35, 53]. Ryzosferowa bakteria *P. fluorescens* 267 syntetyzuje m.in. biotynę, tiaminę, kobalaminę, kwas pantotenowy i niacynę [19]. Marek-Kozaczuk i Skorupska [53] wykazały, że szczepy *P. fluorescens* 267.1 z mutacją w genie syntezy tiaminy i niacyny utraciły zdolność do promowania wzrostu korzeni koniczyny (*Trifolium pratense* L. cv. Ulka). Witaminy z grupy B wytwarzane przez szczep *P. fluorescens* 267 stymulują aktywność wiązania azotu przez symbiotyczne dla koniczyny bakterie – *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*, co powoduje zwiększenie ilości świeżej i suchej masy rośliny oraz liczby i wagi brodawek korzeniowych [19].

Według ostatnich badań lotne związki organiczne (VOC – Volatile Organic Compounds) wytwarzane przez promujące wzrost roślin ryzobakterie mają potencjał do kontrolowania patogenów roślinnych, stymulowania wzrostu roślin i wywoływania ogólnoustrojowej oporności na choroby [69, 85]. PGPR lub produkty syntetyzowane przez PGPR zwykle wymagają fizycznego kontaktu z częściami roślin w celu stymulacji wzrostu roślin [86]. Jednak wiele rodzajów bakterii może regulować wzrost roślin z pewnej odległości, bez bezpośredniego kontaktu. Zatem bakterie te wydzielają niewidoczne lotne związki, które promują lub hamują wzrost roślin. Według Lemfack i wsp. [46] istnieje około 350 gatunków bakterii i grzybów wytwarzających ponad 846 różnych VOC. Mikrobiologiczne VOC to cząsteczki sygnałowe charakteryzujące się:

- niską masą cząsteczkową (< 300 g/mol),
- niską temperaturą wrzenia,
- niską polarnością,
- naturą lipofilową,
- wysoką prężnością pary (0,01 kPa w 20°C),

Lotne związki organiczne syntetyzowane przez niektóre mikroorganizmy należą m.in. do alkanów, alkenów, alkoholi, estrów, ketonów, terpenoidów i związków siarkowych [24, 45].

Ryu i in. [73] badając szczepy *Bacillus subtilis* GB03 i *B. amyloliquefaciens* IN937a zaobserwowali, że bakterie te produkują lotne związki organiczne wspomagające wzrost roślin: 2,3-butanodiol i acetoinę. Ponadto w literaturze odnotowano, że 2-pentylofuran syntetyzowany przez *Bacillus megaterium* XTBG34 stymuluje wzrost rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) [101], a *P. fluorescens* SS1 produkuje 13-tetradekadien-1-ol i 2-butanon i 2-metylo-n-1-trideken, które promują wzrost tytoniu szlachetnego (*Nicotiana tabacum*) [65]. Badania przeprowadzone przez Orozco-Mosqueda i wsp. wykazały, że siewki lucerny (*Medicago truncatula*) będące pod wpływem lotnych substancji produkowanych przez *Arthrobacter agilis* UMCV2 przez 5 dni zwiększyły świeżą masę części nadziemnych i korzenia oraz stężenie chlorofilu odpowiednio o 40%, 35% i 35% [62].

Poza aktywnością wspomagającą wzrost roślin, lotne związki organiczne modulują odpowiedź rośliny na czynniki wywołujące stres. Wykazano, że 2,3-butanodiol znacząco indukuje odporność rzodkiewnika na patogen *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* [72], podczas gdy 3-pentanol i 2-butanon wykorzystywane są jako czynniki przeciwdziałające namnażaniu *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, będącego patogenem sadzonek ogórka [83].

Najnowsze badania potwierdzają, że VOC wydzielane przez mikroorganizmy mogą być wykorzystywane jako cząsteczki, które znacznie stymulują wzrost roślin. Jednak wciąż istnieje potrzeba przeprowadzenia dodatkowych eksperymentów mających na celu dokładne scharakteryzowanie struktury VOC i mechanizmu ich działania na większej liczbie gatunków roślin w warunkach polowych.

## 5. Biologiczna ochrona roślin

Baker i Cook w 1974 r. sformułowali podstawy biologicznej ochrony roślin określając ten termin jako wykorzystanie mikroorganizmów żywych do ograniczenia występowania organizmów patogennych [5]. Ryzosfera zapewnia linię obrony korzeni roślin przed atakiem patogenów występujących w glebie. Różne elementy mikrobiomu ryzosfery mogą antagonizować patogeny obecne w glebie zarówno przed jak i w trakcie pierwotnej infekcji jak również podczas wtórnego rozprzestrzeniania się w tkance korzenia. Główne mechanizmy, za pomocą których mikroorganizmy ryzosfery chronią rośliny przed patogenami dzieli się na bezpośrednie i pośrednie [8, 54, 60].

Bezpośrednie mechanizmy kontroli biologicznej to m.in.

- konkurencja o niszę ekologiczną, a tym samym ograniczenie liczebności populacji organizmów patogennych,
- ograniczenie składników odżywczych wymaganych do wzrostu patogenów, takich jak np. żelazo,
- wytwarzanie składników sygnałowych zakłócających reprodukcję patogenów i ograniczających ich wzrost np. toksyn, antybiotyków, enzymów litycznych, biosurfaktantów,

Pośrednie mechanizmy biokontroli obejmują:

- wzbudzenie indukowanej odporności systemicznej (ISR – Induced Systemic Resistance) i systemicznej odporności nabytej (SAR – Systemic Acquired Resistance),
- stymulowanie dodatkowych organizmów zdolnych do hamowania szkodników lub patogenów [8, 11, 15, 54, 56, 60, 66].

Kolonizacja korzeni skutkuje nie tylko wysoką liczbą populacji PGPR w systemie korzeniowym, ale

także działa jako system dostarczania antagonistycznych metabolitów biorących udział w bezpośrednim hamowaniu patogenów roślin [60]. Wśród związków syntetyzowanych przez PGPR znajdują się m.in.: amoniak, butyrolakton, 2,4-diacetylochlooroglutyna (DAPG), HCN (hydrogen cyanide, cyjanowodor), kwas fenazylo-1-karboksylowy, wiskozynamid, kanozamina, oligomycyna A, oomycyna A, ksantobakcyna i piowerydyna i wiele innych [11, 15, 16, 82].

Szczepy bakterii *B. subtilis* syntetyzują wiele odmian silnych metabolitów przeciwgrzybiczych, np. zwittermicynę-A, kanosaminę i lipopeptydy (surfaktyny, ituriny) [60]. Bakterie, takie jak *Burkholderia cepacia* i *Ralstonia solanacearum* hydrolizują kwas fuzariowy, syntetyzowany przez grzyby z rodzaju *Fusarium* będące powszechnie spotykanym patogenem roślin [15]. Kolejną strategią ochronną PGPR jest wytwarzanie enzymów litycznych. Dunne i współpracownicy w roku 2000 wykazali nadprodukcję zewnątrzkomórkowej proteazy w zmutowanych szczepach *Stenotrophomonas maltophilia* W81, co spowodowało poprawę biokontroli *Pythium ultimum* (patogen korzeni wielu roślin uprawnych) [22]. W obecnym badaniu mutageneza transpozonowa Tn 5-764cd w obecności kazeiny spowodowała izolację dwóch mutantów (W81M3 i W81M4), wytwarzających około trzykrotnie więcej pozakomórkowej proteazy niż szczep W81 typu dzikiego. Ponadto mutant W81M4 wykazywał również zwiększoną aktywność chitynolityczną w porównaniu z W81, co również jest użyteczne do biologicznego zwalczania wrażliwych na chitynazy patogenów i pasożytów roślin.

W ryzosferze mikroorganizmy konkurują ze sobą o składniki pokarmowe, źródło węgla i energii [60, 54]. Strategie wykorzystywane przez ryzobakterie to m.in. zdolność do szybkiego wzrostu po napotkaniu substratów oraz zdolność do pozakomórkowej konwersji glukozy do kwasu glukonowego i kwasu 2-ketoglukonowego. Niektóre bakterie, w tym kilka gatunków *Pseudomonas* skutecznie wychwytyje ze środowiska glukozę, następnie przekształca ją do kwasu glukonowego i kwasu 2-ketoglukonowego. W związku z czym i zapewnia sobie przewagę nad mikroorganizmami, które nie mają zdolności wykorzystywania wspomnianych związków [60].

Mikroorganizmy zasiedlające ryzosferę mogą także oddziaływać na owady roślinożerne. Przykładem są badania przeprowadzone przez van de Mortel i wsp. z wykorzystaniem *P. fluorescens* SS101, którego obecność hamowała rozwój *Spodoptera exigua*, będącego owadem żerującym na pomidorze (*Solanum lycopersicum*) [92].

Mikroorganizmy ryzosfery w relacjach z roślinami aktywują systemiczną odporność nabytą (SAR) oraz biorą udział we wzbudzeniu indukowanej odporności

systemicznej (ISR). Zarówno ISR, jak i SAR wywołują stan zwiększonej odporności rośliny, której towarzyszy synteza związków sygnałowych, takich jak kwas jasmonowy, etylen i kwas salicylowy [60, 66, 93]. Termin „indukowana odporność systemiczna” określa odporność wywołaną przez biotyczne czynniki niechorobotwórcze, natomiast termin „nabyta odporność systemiczna”, dotyczy interakcji roślin z patogenami [66]. Wczesne rozpoznanie zagrożenia przez roślinę natychmiast inicjuje kaskadę sygnałów molekularnych i transkrypcję wielu genów, które ostatecznie prowadzą do produkcji przez roślinę życielską cząsteczek obronnych [66, 93]. Do wspomnianych molekuł obronnych zaliczamy fitoaleksyny, białka związane z patogenezą (PR – Pathogenesis-Related), takie jak chitynazy,  $\beta$ -1,3-glukanazy, inhibitory proteinaz oraz ligniny itp. [60, 93]. Verhagen i in. wykazali, że pomidory (*Solanum lycopersicum*) zainokulowane szczepem *P. fluorescens* WCS417r (oznacza, że są ISR-dodatnie), wykazują szybszą i silniejszą indukcję obronną przeciw patogenowi liści *Pseudomonas syringae* [94].

## 6. Podsumowanie

Liczne dane literaturowe potwierdzają, że mikroorganizmy kolonizujące strefę korzeniową roślin pełnią różnorodne funkcje, przede wszystkim wpływają na promocję wzrostu i rozwoju roślin. Korzenie roślin uwalniają związki będące źródłem energii dla mikroorganizmów. Wysokie stężenie wydzielin korzeniowych w ryzosferze przyciąga aktywne metabolicznie mikroorganizmy, których liczba jest znacznie większa niż w innych częściach gleby. Gatunek roślinny, stadium rozwoju, rodzaj gleby i warunki klimatyczne to główne

czynniki określające skład zbiorowisk mikrobiologicznych ryzosfery. Obawy związane z nadmiernym stosowaniem chemii rolnej sprawiają, że coraz większą popularnością cieszy się rolnictwo ekologiczne propagujące biopreparaty bazujące na mikroorganizmach ryzosferycznych stymulujących wzrost i rozwój roślin. Stosowanie na szeroką skalę PGPR może zmniejszyć globalne wykorzystanie agrochemikaliów i pestycydów. Co więcej, jest to technologia łatwo dostępna dla rolników zarówno w krajach rozwiniętych, jak i rozwijających się. Mikroorganizmy ryzosferowe poza aktywnością promowania wzrostu roślin, prezentują także potencjał bioremediacyjny w stosunku do metali ciężkich i pestycydów, a także uczestniczą w kontrolowaniu szeregu różnych fitopatogenów. Pomimo licznych badań dotyczących interakcji roślin i mikroorganizmów ryzosferycznych, wciąż istnieje potrzeba dokładniejszego zrozumienia podstawowych zasad ekologii ryzosfery, w tym funkcji i różnorodności mikroorganizmów. Zapoznanie się z dynamiką i składem społeczności mikroorganizmów zasiedlających ryzosferę, a także komunikacji z rośliną przyczyni się do efektywnego wykorzystania preparatów mikrobiologicznych na bazie PGPR. Dalsze badania nad mechanizmem fitostymulacji przez PGPR umożliwiłyby opracowanie konsorcjów bakteryjnych, grzybowych i bakteryjno-grzybowych komercyjnie wykorzystywanych w warunkach agroekologicznych.

Poniżej przedstawiono tabelę podsumowującą, w której zaprezentowano przykłady mikroorganizmów ryzosferycznych, które potencjalnie mogą być wykorzystane w preparatach mikrobiologicznych promujących wzrost roślin.

Badania sfinansowano z Tematu Badawczego 1.21 realizowanego w ramach działalności Statutowej IUNG-PIB.

Tabela I  
Wybrane rodzaje bakterii i ich właściwości promowania wzrostu i rozwoju roślin

Mikroorganizmy	Właściwości promowania wzrostu roślin
<i>Pseudomonas</i> sp.	Produkcja: IAA, HCN, NH <sub>3</sub> , VOC, egzopolisacharydów, sideroforów, deaminazy ACC, cytokinin; solubilizacja fosforu i metali ciężkich; aktywność przeciwgrzybicza
<i>Rhizobium</i> sp.	Produkcja: IAA, HCN, NH <sub>3</sub> , egzopolisacharydów, sideroforów, cytokinin; solubilizacja fosforu; wiązanie azotu atmosferycznego
<i>Bacillus</i> sp.	Produkcja: IAA, HCN, NH <sub>3</sub> , VOC, giberelin, cytokinin, sideroforów; solubilizacja fosforu; aktywność przeciwgrzybicza
<i>Azospirillum</i> sp.	Produkcja: IAA, sideroforów; solubilizacja fosforu; wiązanie azotu atmosferycznego; odporność na antybiotyki
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Produkcja: IAA, deaminazy ACC; solubilizacja fosforu; wiązanie azotu atmosferycznego
<i>Klebsiella</i> sp.	Produkcja: IAA, HCN, NH <sub>3</sub> , egzopolisacharydów, sideroforów; solubilizacja fosforu
<i>Burkholderia</i> sp.	Produkcja: IAA, giberelin, deaminazy ACC, sideroforów; solubilizacja fosforu i metali ciężkich

Na podstawie: [ 1, 13, 28, 56, 58, 67, 81].



## Piśmiennictwo

- Ahemad M., Kibret M.: Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *JKSUS*, **26**, 1–20 (2014)
- Ahmed E., Holmström S.J.: Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microb. Biotechnol.* **7**, 196–208 (2014)
- Alori E.T., Glick B.R., Babalola O.O.: Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Front. Microbiol.* DOI:10.3389/fmicb.2017.00971 (2017)
- Bais H.P., Park S.W., Weir T.L., Callaway R.M., Vivanco J.M.: How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends Plant Sci.* **9**, 26–32 (2004)
- Baker K.F., Cook R.J.: Biological control of plant pathogens. W.H. Freeman and Company, San Francisco, 1974
- Bakker M.G., Manter D.K., Sheflin A.M., Weir T.L., Vivanco J.M.: Harnessing the rhizosphere microbiome through plant breeding and agricultural management. *Plant Soil.* **360**, 1–13 (2012)
- Barbeau K., Zhang G.P., Live D.H., Butler A.: Petrobactin, a photoreactive siderophore produced by the oil-degrading marine bacterium *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 378–379 (2002)
- Barea J.M., Pozo M.J., Azcon R., Azcon-Aguilar C.: Microbial co-operation in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* **56**, 1761–1778 (2005)
- Berendsen R.L., Pieterse C.M., Bakker P.A.: The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends Plant Sci.* **17**, 478–486 (2012)
- Bezemer T.M., van Dam N.M.: Linking above-ground and below ground interactions via induced plant defenses. *Trends Ecol. Evol.* **20**, 617–624 (2005)
- Bhattacharyya P.N., Jha D.K.: Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): emergence in agriculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **28**, 1327–1350 (2012)
- Buscot F.: What are soils? (w) Microorganisms in soils: roles in genesis and functions, red. F. Buscot, S. Varma, Springer-Verlag, Heidelberg, 2005, s. 3–18
- Cecagno R., Fritsch T.E., Schrank I.S.: The Plant Growth-Promoting Bacteria *Azospirillum amazonense*: Genomic Versatility and Phytohormone Pathway. *BioMed Research International*, DOI:10.1155/2015/898592 (2015)
- Chatterjee S., Sau G.B., Sinha S., Mukherjee S.K.: Effect of co-inoculation of plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of amaranth plants. *Arch. Agron. Soil Sci.* **57**, 1–11 (2011)
- Compant S., Duffy B., Nowak J., Clément C., Barka E.A.: Use of plant growth – promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *App. Environ. Microb.* **71**, 4951–4959 (2005)
- Dąbrowska G., Zdziechowska E.: Rola bakterii ryzosferowych w stymulacji procesów wzrostu i rozwoju oraz ochronie roślin przed czynnikami środowiska. *Prog. Plant Prot.* **55**, 498–506 (2015)
- Das N., Chandran P.: Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview. *Biotechnol. Res. Int.* **11**, 1–13 (2011)
- de Jesus Sousa J.A., Olivare F. L.: Plant growth promotion by Streptomycetes: ecophysiology, mechanisms and applications. *Chem. Biol. Technol. Agric.* DOI 10.1186/s40538-016-0073-5 (2016)
- Derylo M., Skorupska A.: Enhancement of symbiotic nitrogen fixation by vitamin-secreting fluorescent *Pseudomonas*. *Plant Soil.* **154**, 211–217 (1993)
- Devi K.A., Pandey P., Sharma G.D.: Plant Growth-Promoting Endophyte *Serratia marcescens* AL2-16 Enhances the Growth of *Achyranthes aspera* L., a Medicinal Plant. *HAYATI Journal of Biosciences*, **23**, 173–180 (2016)
- Dimitroglou A., Merrifield D.L., Carnevali O., Picchiatti S., Avella M., Daniels C. Güroy D., Davies S.J.: Microbial manipulations to improve fish health and production – a Mediterranean perspective. *Fish Shellfish Immunol.* **30**, 1–16 (2011)
- Dunne C., Moenne-Loccoz Y., de Bruijn F.J., O’Gara F.: Overproduction of an inducible extracellular serine protease improves biological control of *Pythium ultimum* by *Stenotrophomonas maltophilia* strain W81. *Microbiology*, **146**, 2069–2078 (2000)
- Egamberdieva D., Wirth S.J., Alqarawi A.A., Abd-Allah E.F., Hashem A.: Phytohormones and Beneficial Microbes: Essential Components for Plants to Balance Stress and Fitness. *Front. Microbiol.* DOI: 10.3389/fmicb.2017.02104 (2017)
- Fincheira P., Quiroz A.: Microbial volatiles as plant growth inducers. *Microbiol. Res.* **208**, 63–75 (2018)
- Gamit D.A., Tank S.K.: Effect of siderophore producing microorganism on plant growth of *Cajanus cajan* (Pigeon pea). *Int. J. Res. Pure. Appl. Microbiol.* **4**, 20–27 (2014)
- Gilbert J.A., Knight R. i wsp.: The Earth Microbiome Project: meeting report of the “1st EMP meeting on sample selection and acquisition” at Argonne National Laboratory October 6 2010. *Stand Genomic Sci.* **3**, 249–253 (2010)
- Glick B.R.: Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* **169**, 30–39 (2014)
- Gopalakrishnan S., Sathya A., Vijayabharathi R., Varshney R.K., Gowda C.L.L., Krishnamurthy L.: Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. *3 Biotech*, **5**, 355–377 (2015)
- Hickford S.J.H., Küpper F.C., Zhang G., Carrano C.J., Blunt J.W., Butler A.: Petrobactin sulfonate, a new siderophore produced by the marine bacterium *Marinobacter hydrocarbonoclasticus*. *J. Nat. Prod.* **67**, 1897–1899 (2004)
- Holden N., Pritchard L. Toth I.: Colonization out with the colon: plants as an alternative environmental reservoir for human pathogenic enterobacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* **33**, 689–703 (2009)
- Hong J.W., Park J.Y., Gadd G.M.: Pyrene degradation and copper and zinc uptake by *Fusarium solani* and *Hypocrea lixii* isolated from petrol station soil. *J. Appl. Microbiol.* **108**, 2030–2040 (2010)
- Hossain M.M., Sultana F., Kubota M., Koyama H., Hyakumachi M.: The plant growth-promoting fungus *Penicillium simplicissimum* GP17-2 induces resistance in *Arabidopsis thaliana* by activation of multiple defense signals. *Plant Cell Physiol.* **48**, 1724–1736 (2007)
- Hossain M.M., Sultana F., Isla S.: Plant Growth-Promoting Fungi (PGPF): Phytostimulation and Induced Systemic Resistance (w) Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives, red. D. Singh, H. Singh, R. Prabha, Springer, Singapore, 2017, s. 135–191
- Imperlini E., Bianco C., Lonardo E., Camerini S., Cermola M., Moschetti G., Defez R., Effects of indole-3-acetic acid on *Sinorhizobium meliloti* survival and symbiotic nitrogen fixation and stem dry weight production. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **83**, 727–738 (2009)
- Ivanova E.G., Fedorov D.N., Doronina N.V., Trotsenko Y.A.: Production of vitamin B12 in aerobic methylotrophic bacteria. *Microbiology*, **75**, 494–496 (2006)
- Jankowska M., Swędrzyńska D.: Analiza oddziaływań wybranych drobnoustrojów w środowisku glebowym. *Kosmos*, **1**, 49–55 (2016)
- Kang J., Amoozegar A., Hesterberg D., Osmond D.L.: Phosphorus leaching in a sandy soil as affected by organic and composted cattle manure. *Geoderma*, **161**, 194–201 (2011)



38. Kent A.D., Triplett E.W.: Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems. *Annu. Rev. Microbiol.* **56**, 211–236 (2002)
39. Khalid A., Arshad M., Zahir Z.A.: Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat. *J. Appl. Microbiol.* **96**, 473–480 (2004)
40. Khan A.A., Jilani G., Akhtar M.S., Naqvi S.M.S., Rasheed M.: Phosphorus solubilizing bacteria: occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J. Agric. Biol. Sci.* **1**, 48–58 (2009)
41. Khan M.S., Zaidi A., Ahemad M., Oves M., Wani P.A.: Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi-current perspective. *Arch. Agron. Soil Sci.* **56**, 73–98 (2010)
42. Kloepper J.W., Zablotowick R.M., Tipping E.M., Lifshitz R.: Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers (w). The rhizosphere and plant growth, red. D.L. Keister, P.B. Cregan, Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1991, s. 315–326
43. Kloepper J.W.: Plant growth-promoting rhizobacteria (other systems) (w) Azospirillum/plant associations, red. Y. Okon, CRC Press, Boca Raton, 1994 s. 111–118
44. Kloepper J.W., Schroth M.N.: Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes (w) Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, vol. 2. Station de Pathologie Vegetale et Phytobacteriologie, INRA, Angers, 1978 s. 879–882
45. Korpi A., Järnberg J., Pasanen A.L.: Microbial volatile organic compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* **39**, 139–193 (2009)
46. Lemfack M.C., Nickel J., Dunkel M., Preissner R., Piechulla B.: mVOC: a database of microbial volatiles. *Nucleic Acid Res.* **42**, DOI: 10.1093/nar/gkt1250 (2014)
47. Lindsay W.L., Vlek P.L.G., Chien S.H.: Phosphate minerals (w) Minerals in soil environment, 2<sup>nd</sup> edn, red. J.B. Dixon, S.B. Weed, Soil Science Society of America, Madison, 1989 s. 1089–1130
48. López-Bucio J., Cruz-Ramírez A., Pérez-Torres A., Ramírez-Pimentel J.G., Sánchez-Calderón L., Herrera-Estrella L.: Root architecture (w) Plant architecture and its manipulation, red. C. Turnbull, Wiley-Blackwell Annual Review Series, Oxford, 2005, s. 181–206
49. Łyszcz M., Gałązka A.: Genetyczne metody różnicowania mikroorganizmów w systemie gleba-roślina. *Post. Mikrobiol.* **56**, 341–352 (2017)
50. Łyszcz M., Gałązka A.: Proces biologicznego wiązania azotu atmosferycznego (w) Studia i Raporty IUNG-PIB – Siedliskowe i agrotechniczne uwarunkowania produkcji roślinnej w Polsce, 49(3), red. J. Podleśny, Dział Upowszechniania i Wydawnictw IUNG – PIB w Puławach, Puławy, 2016, s. 59–70
51. Łyszcz M., Gałązka A.: Wybrane metody molekularne wykorzystywane w ocenie bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych. *Post. Mikrobiol.* **55**, 309–319 (2016)
52. Łyszcz M., Głodowska M.: Bakterie endofityczne i ich wpływ na wzrost i rozwój roślin (w) Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce – Ochrona środowiska, red. J. Nyckowiak, J. Leśny, Młodzi Naukowcy, Poznań, 2017, s. 65–70
53. Marek-Kozaczuk M., Skorupska A.: Production of B-group vitamins by plant growth-promoting *Pseudomonas fluorescens* strain 267 and the importance of vitamins in the colonization and nodulation of red clover. *Biol. Fertil. Soils* **33**, 146–151 (2001)
54. Mendes R., Garbeva P., Raaijmakers J.M.: The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.* **37**(5), 634–663 (2013)
55. Meyer J.M., Gruffaz C., Raharinosy V., Bezverbnaya I., Schäfer M., Budzikiewicz H.: Siderotyping of fluorescent *Pseudomonas*: molecular mass determination by mass spectrometry as a powerful poverdine siderotyping method. *Biometals*, **21**, 259–271 (2008)
56. Mitter B., Brader G., Afzal M., Compant S., Naveed M., Trognitz F., Sessitsch A.: Advances in elucidating beneficial interactions between plants, soil, and bacteria (w) Advances in agronomy Vol. 121, Academic Press, Cambridge, 2013 s. 381–445
57. Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G.: Microbial diversity and soil functions. *Eur. J. Soil Sci.* **54**, 655–670 (2003)
58. Nautiyal C.S., Srivastava S., Chauhan P.S., Seem K., Mishra A., Sopory S.K.: Plant growth-promoting bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* NBRISN13 modulates gene expression profile of leaf and rhizosphere community in rice during salt stress. *Plant Physiol. Bioch.* **66**, 1–9 (2013)
59. Neubauer U., Nowak B., Furrer G., Schulin R.: Heavy metal sorption on clay minerals affected by the siderophore desferrioxamine B. *Environ. Sci. Technol.* **34**, 2749–2755 (2000)
60. Nihorimbere V., Ongena M., Smargiassi M., Thonart P.: Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, **15**, 327–337 (2011)
61. Norrish K., Rosser H.: Mineral phosphate (w) Soils: an Australian viewpoint. Academic Press, Melbourne, CSIRO/London, UK, Australia, 1983, s. 335–361
62. Orozco-Mosqueda M., Velázquez-Becerra C., Macías-Rodríguez L., Santoyo G., Flores-Cortez L., Alfaro-Cuevas R., et al.: *Arthrobacter agilis* UMCV2 induces iron acquisition in *Medicago truncatula* (strategy I plant) in vitro via dimethylhexadecylamine emission. *Plant Soil*. **362**, 51–66 (2013)
63. Ortíz-Castro R., Contreras-Cornejo H.A., Macías-Rodríguez L., López-Bucio J.: The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signal. Behav.* **4**, 701–712 (2009)
64. Pangesti N., Pineda A., Pieterse C.M., Dicke M., Van Loon J.J.: Two-way plant mediated interactions between root-associated microbes and insects: from ecology to mechanisms. *Front. Plant Sci.* DOI: 10.3389/fpls.2013.00414 (2013)
65. Park Y.S., Dutta S., Ann M., Raaijmakers J.M., Park K.: Promotion of plant growth by *Pseudomonas fluorescens* strain SS101 via novel volatile organic compounds. *Biochem Biophys Res Commun.* **461**, 361–365 (2015)
66. Pospieszny H.: Systemiczna odporność nabyta (Systemic Acquired Resistance-SAR) w integrowanej ochronie roślin. *Progress in Plant Protection*, **56**, 436–442 (2016)
67. Preston G.M.: Plant perceptions of plant growth-promoting *Pseudomonas*. *Philos. T. Roy. Soc. B.* **359**, 907–918 (2004)
68. Rajkumar M., Ae N., Prasad M.N.V., Freitas H.: Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotechnol.* **28**, 142–149 (2010)
69. Raza W., Yousaf S., Rajer F.U.: Plant growth promoting activity of volatile organic compounds produced by biocontrol strains. *Sci. Lett.* **4**, 40–43 (2016)
70. Redecker D., Morton J.B., Bruns T.D.: Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Mol. Phylogenet. Evol.* **14**, 276–284 (2000)
71. Reinhold-Hurek B., Hurek T.: Living inside plants: bacterial endophytes. *Curr. Opin. Plant Biol.* **14**, 435–443 (2011)
72. Ryu C., Farag M.A., Hu C., Reddy M.S., Kloepper J.W., Pare P.W.: Bacterial volatiles induce systemic resistance in Arabidopsis. *Plant Physiol.* **134**, 1017–1026 (2004)
73. Ryu C.-M., Farag M.A., Hu C.-H., Reddy M.S., Wei H.-X., Pare P.W., Kloepper J. W.: Bacterial volatiles promote growth in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 4927–4932 (2003)
74. Schalk I.J., Hannauer M., Braud A.: Minireview new roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance. *Environ. Microbiol.* **13**, 2844–2854 (2011)
75. Schaller G.: Ethylene and the regulation of plant development. *BMC Biol.* DOI:10.1186/1741-7007-10-9 (2012)

76. Schußler A., Schwarzott D., Walker C.: A new fungal phylum, the Glomeromycota, phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* **105**, 1413–1421 (2001)
77. Shariatmadari Z., Riahi H., Seyed Hashtroudi M., Ghassempour A., Aghashariatmadary Z.: Plant growth promoting cyanobacteria and their distribution in terrestrial habitats of Iran. *Soil Sci. Plant Nutr.* **59**, 535–547 (2013)
78. Sharma S.B., Sayyed R.Z., Trivedi M.H., Gobi T.A.: Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, DOI:10.1186/2193-1801-2-58 (2013)
79. Shi T.-Q., Peng H., Zeng S.-Y., Ji R.-Y., Shi K., Huang H., Ji X.-J.: Microbial production of plant hormones: Opportunities and challenges. *Bioengineered*, **8**, 124–128 (2017)
80. Shores M., Harman G.E., Mastouri F.: Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annu. Rev. Phytopathol.* **48**, 21–43 (2010)
81. Singh R.P., Jha P.N.: The PGPR *Stenotrophomonas maltophilia* SBP-9 Augments Resistance against Biotic and Abiotic Stress in Wheat Plants. *Front. Microbiol.* DOI:10.3389/fmicb.2017.01945 (2017)
82. Sivasakthi S., Usharani G., Saranraj P.: Biocontrol potentiality of plant growth promoting bacteria (PGPR)-*Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*: A review. *Afr. J. Agr. Res.* **9**, 1265–1277 (2014)
83. Song G.C., Ryu C.M.: Two volatile organic compounds trigger plant selfdefense against a bacterial pathogen and a sucking insect in cucumber under open field conditions. *Int J Mol Sci.* **14**, 9803–9019 (2013)
84. Sorty A.M., Meena K.K., Choudhary K., Bitla U.M., Minhas P.S., Krishnani K.K.: Effect of plant growth promoting bacteria associated with halophytic weed (*Psoralea corylifolia* L.) on germination and seedling growth of wheat under saline conditions. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **180**, 872–882 (2016)
85. Tahir H.A.S., Gu Q., Wu H., Niu Y., Huo R., Gao X.: *Bacillus* volatiles adversely affect the physiology and ultra-structure of *Ralstonia solanacearum* and induce systemic resistance in tobacco against bacterial wilt. *Sci. Rep.* DOI: 10.1038/srep40481 (2017)
86. Tahir H.A., Gu Q., Wu H., Raza W., Hanif A., Wu L., Colman W.M., Gao X.: Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. *Front. Microbiol.* DOI:10.3389/fmicb.2017.00171 (2017)
87. Thimann K.V.: Fifty years of plant hormone research. *Plant Physiol.* **54**, 450–453 (1974)
88. Tilak K.V.B.R., Ranganayaki N., Manoharachari C.: Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and *Rhizobium* on nodulation and nitrogen fixation by pigeon pea (*Cajanus cajan*). *Eur. J. Soil Sci.* **57**, 67–71 (2006)
89. Tsavkelova E.A., Cherdyntseva T.A., Klimova S.Y., Shestakov A.I., Botina S.G., Netrusov A.I. Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin. *Arch. Microbiol.* **188**, 655–664 (2007)
90. Turner T.R., James E.K., Poole P.S.: The plant microbiome. *Genome Biol.* DOI:10.1186/gb-2013-14-6-209 (2013)
91. Tyler H.L. Triplett E.W.: Plants as a habitat for beneficial and/or human pathogenic bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* **46**, 53–73 (2008)
92. van de Mortel J.E., de Vos R.C., Dekkers E., Pineda A., Guillard L., Bouwmeester K., van Loon J. J.A., Dicke M., Raaijmakers J.M.: Metabolic and transcriptomic changes induced in *Arabidopsis* by the rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* SS101. *Plant Physiol.* **160**, 2173–2188 (2012)
93. Van Loon L.C.: Plant responses to plant growth promoting bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* **119**, 243–254 (2007)
94. Verhagen B.W.M., Glazebrook J., Zhu T., Chang H.-S., van Loon L.C., Pieterse C.M.J., The transcriptome of rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis*. *Mol. Plant Microbe Interact.* **17**, 895–908 (2004)
95. Vorholt J.A.: Microbial life in the phyllosphere. *Nat. Rev. Microbiol.* **10**, 828–840 (2012)
96. Wang Q, Xiong D, Zhao P, Yu X, Tu B, Wang G.: Effect of applying an arsenic-resistant and plant growth-promoting rhizobacterium to enhance soil arsenic phytoremediation by *Populus deltoides* LH05-17. *J. Appl. Microbiol.* **111**, 1065–1074 (2011)
97. Welbaum G., Sturz A.V., Dong Z. Nowak J.: Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. *Crit. Rev. Plant Sci.* **23**, 175–193 (2004)
98. Woźniak M., Gałazka A., Grządziel J., Głodowska M.: The identification and genetic diversity of endophytic bacteria isolated from selected crops. *The Journal of Agricultural Science*, 1–10, DOI:10.1017/S0021859618000618 (2018)
99. Zhu F, Qu L, Hong X, Sun X.: Isolation and characterization of a phosphate solubilizing halophilic bacterium *Kushneria* sp. YCWA18 from Daqiao Saltern on the coast of yellow sea of China. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* DOI:10.1155/2011/615032 (2011)
100. Qi W, Zhao L.: Study of the siderophore producing *Trichoderma asperellum* Q1 on cucumber growth promotion under salt stress. *J. Basic. Microbiol.* **53**, 355–364 (2013)
101. Zou C., Li Z., Yu D.: *Bacillus megaterium* strain XTBG34 promotes plant growth by producing 2-pentylfuran. *J. Microbiol.* **48**, 460–466 (2010)