Ocena aktywności przeciwpleśniowej wyizolowanych szczepów PGPR

Agnieszka Wita[1], Roman Marecik[1], Wojciech Białas[1], Katarzyna Czaczyk[1], Sabina Łukaszewicz[2]

[1]Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, [2]SMP Agro sp. z o. o, Komorniki 44, 63-004 Tulce

WSTĘP

Choroby powodowane przez grzyby fitopatogeniczne stanowią istotne zagrożenie dla zdrowia i produktywności roślin uprawnych, przyczyniając się do strat w plonach oraz pogorszenia ich jakości. W obliczu rosnącego zapotrzebowania na ograniczenie stosowania chemicznych środków ochrony roślin coraz większe znaczenie zyskują biologiczne metody ochrony roślin, w tym wykorzystanie bakterii promujących wzrost roślin (PGPR, *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*) o właściwościach antagonistycznych wobec patogenów. Bakterie te mogą ograniczać rozwój grzybów fitopatogenicznych m.in. poprzez produkcję związków o działaniu przeciwgrzybiczym, konkurencję o składniki pokarmowe i przestrzeń oraz indukowanie mechanizmów obronnych roślin. Identyfikacja szczepów o wysokiej aktywności antagonistycznej może stanowić podstawę do opracowania nowych, przyjaznych środowisku metod biologicznej ochrony roślin.

Celem pracy była ocena właściwości przeciwpleśniowych wyizolowanych szczepów bakteryjnych, które stanowią punkt wyjścia do opracowania wieloszczepowych preparatów nawozowych o szerokim zakresie promowania wzrostu roślin jak i preparatów jednoszczepowych o działaniu celowanym tj. np. aktywność przeciw pleśniową w stosunku do konkretnego patogenu roślinnego.

MATERIAŁY I METODY

Materiał do badań stanowiły próby pobrane w okresie czerwiec-październik 2025 r. W celu przygotowania prób do badań izolacyjnych wykorzystano tzw. sterylizację powierzchniową. Mikroorganizmy izolowano z próbek środowiskowych takich jak: gleba, korzenie, łodygi i liście roślin uprawnych (m. in. soja, łubin, facelia, bób, burak, kukurydza, fasola), resztek pożniwnych zbóż i rzepaku, a także z gleb pozyskanych z nieużytków rolnych, zadrzewień śródleśnych oraz lasów. Izolację przeprowadzono metodą posiewu powierzchniowego w kierunku pozyskania grup mikroorganizmów tj. bakterie endofityczne, bakterie z rodzaju *Bacillus*, *Pseudomonas, Streptomyces czy Azotobacter* Identyfikację wyizolowanych mikroorganizmów przeprowadzono z wykorzystaniem techniki spektrometrii mas typu MALDI-TOF.

Do oceny zdolności przeciwpleśniowej wyizolowanych bakterii zastosowano tzw. metodę podwójnej hodowli. W teście tym mierzono rozrost kolonii grzybów patogennych w obecności badanych izolatów, a następnie obliczano współczynnik inhibicji:

$$\% \text{ inhibicji} = (C - T) / C \times 100$$

gdzie „C" oznacza średnicę wzrostu wskaźnika pleśniowego w kontroli, a „T" średnicę wzrostu wskaźnika pleśniowego w testowym wariancie.

Doświadczenie powtórzono trzykrotnie. Materiał badawczy stanowiło 450 izolatów pozyskanych z badań izolacyjnych. Oceniano aktywność antagonistyczną wobec 13 patogennych grzybów należących do rodzaju *Fusarium*, *Alternaria*, *Sclerotinia*, *Phoma*, *Cercospora* czy *Botrytis*. Zastosowane w eksperymencie wskaźniki pleśniowe pochodziły z Kolekcji IOR Poznań.



Ryc. 1. Izolacja drobnoustrojów PGPR

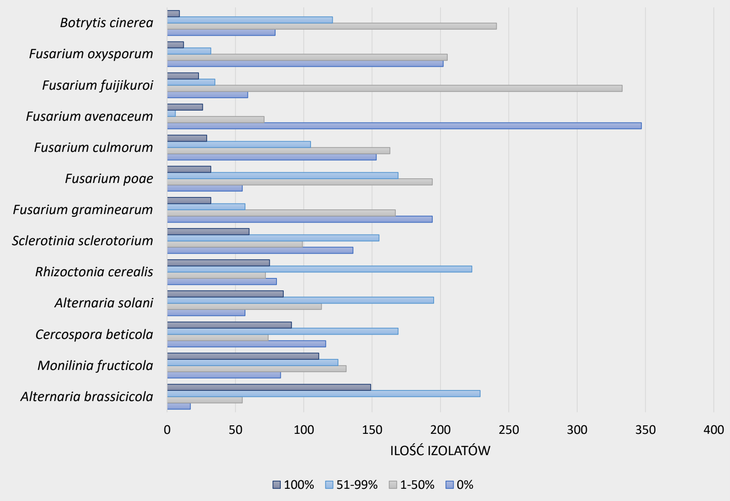


WYNIKI

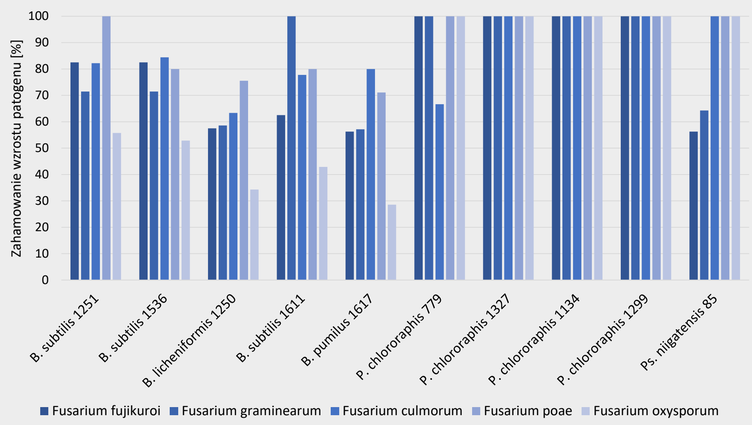
Ryc. 2. Zestawienie liczby izolatów o różnym stopniu aktywności antagonistycznej wobec badanych gatunków pleśni.

Szczep patogenny	Ilość izolatów / % zahamowania wzrostu patogenu			
	0%	1-50%	51-99%	100%
Alternaria brassicicola	17	55	229	149
Monilinia fructicola	83	131	125	111
Cercospora beticola	116	74	169	91
Alternaria solani	57	113	195	85
Rhizoctonia cerealis	80	72	223	75
Sclerotinia sclerotiorum	136	99	155	60
Fusarium graminearum	194	167	57	32
Fusarium poae	55	194	169	32
Fusarium culmorum	153	163	105	29
Fusarium avenaceum	347	71	6	26
Fusarium fujikuroi	59	333	36	22
Fusarium oxysporum	202	205	32	12
Botrytis cinerea	79	241	121	9

Ryc. 3. Aktywność antagonistyczna badanych izolatów wobec poszczególnych gatunków pleśni.



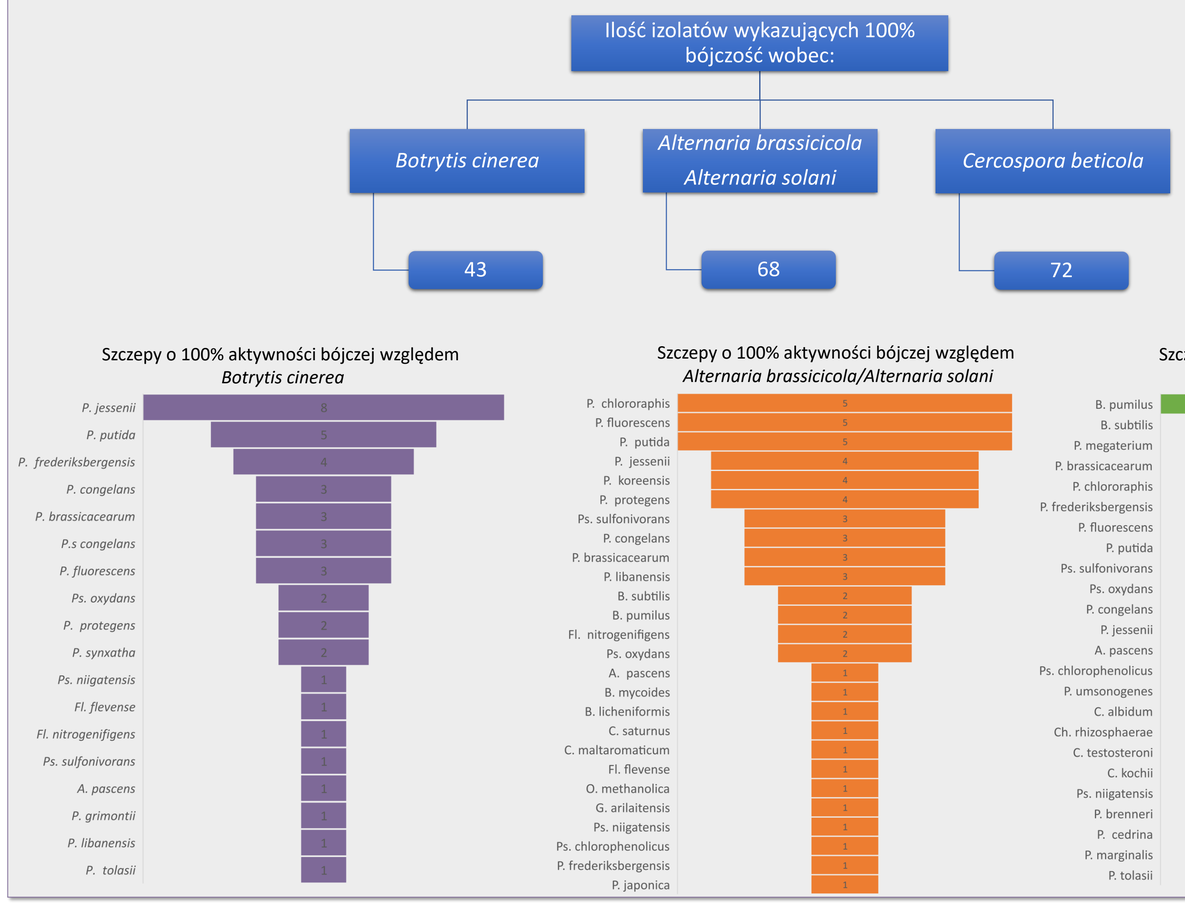
Ryc. 4. Aktywność antagonistyczna badanych 10 najlepszych izolatów wobec patogenów z rodzaju *Fusarium*



Ryc. 5. Przykładowe zdjęcie zahamowania wzrostu pleśni patogennej przez testowany izolat bakteryjny



Fusarium culmorum



WNIOSKI

1. Głównym czynnikiem ograniczającym wzrost badanych fitopatogenów były bakterie glebowe z rodzaju *Pseudomonas*, które dominowały wśród izolatów o pełnej aktywności antagonistycznej, potwierdzając swoją przynależność do grupy PGPR (bakterii wspomagających wzrost roślin) zasiedlających ryzosferę.

2. Wysoki potencjał antagonistyczny w hamowaniu wzrostu grzybni wykazały również bakterie z rodzajów *Bacillus* oraz *Pseudarthrobacter*, co wskazuje na zróżnicowanie gatunkowe skutecznych antagonistów w badanym środowisku glebowym.

3. Wytypowane szczepy glebowe *Pseudomonas chlororaphis* o numerach ID: 1134, 1299, 1327 oraz 1341 charakteryzują się wyjątkowo szerokim spektrum działania. Wykazują one średnią zdolność antagonistyczną na poziomie powyżej 70% wobec wszystkich 13 badanych patogenów.

4. Analizowane szczepy *P. chlororaphis* posiadają maksymalną zdolność do całkowitego zahamowania wzrostu kluczowych fitopatogenów roślin, takich jak: *Cercospora beticola*, *Rhizoctonia cerealis*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria solani*, *Monilinia fructicola* oraz sześciu badanych gatunków z rodzaju *Fusarium*.

5. Poszczególne gatunki z rodzaju *Fusarium* różnią się wrażliwością na działanie badanych antagonistów. Największą podatność odnotowano u *F. graminearum* i *F. poae* (całkowite zahamowanie przez 32 izolaty), natomiast najbardziej odporny na ich działanie okazał się gatunek *F. oxysporum* (całkowite zahamowanie przez jedynie 12 izolatów).

6. Szczepy *Pseudomonas chlororaphis* o numerach ID 1134, 1299 oraz 1327 charakteryzują się najszerszym spektrum działania, wykazując zdolność do całkowitego zahamowania wzrostu wszystkich sześciu analizowanych gatunków *Fusarium*.

7. Powtarzalna obecność tych samych gatunków bakterii (m.in. *P. chlororaphis*, *P. putida*, *P. koreensis*) wśród izolatów hamujących wzrost grzybów potwierdza ich wysoki potencjał aplikacyjny i uzasadnia celowość ich dalszych badań pod kątem wykorzystania w biologicznej ochronie roślin.

Badania realizowane w ramach projektu „Opracowanie i wdrożenie bezpiecznych preparatów mikrobiologicznych dla zrównoważonego rolnictwa ograniczających zużycie pestycydów i nawozów sztucznych" współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Funduszy Europejskich dla Nowoczesnej Gospodarki. Projekt realizowany w ramach działania 1.1. Ścieżka SMART, nr umowy: **FENG.01.01-IP.02-0903/24**. Beneficjent: SMP Agro sp. z o.o z siedzibą w Komornikach, Komorniki 44, 63-004 Tulce

Fundusze Europejskie dla Nowoczesnej Gospodarki
Rzeczpospolita Polska
Dofinansowane przez Unię Europejską
SCIENCE FOR AGRICULTURE
UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W POZNANIU