

# ZASTOSOWANIE MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH DO AKTYWNEJ OCHRONY ROŚLIN ZIELNYCH

The use of soil microorganisms in active protection of herbaceous plants

Szymon ZUBEK

**Summary.** The paper presents different possibilities to use soil microorganisms in active protection of plant species in *in situ* and *ex situ* conditions. Plant species protection has been carried out since the middle ages to preserve native species, especially the rare, endemic and endangered ones. Presently, not only passive, but also active protection has been used in many cases. Nevertheless, soil microorganisms are not involved in those procedures, although they provide a lot of opportunities to protect plants in an active way. Soil is an environment inhabited by pathogens as well as organisms promoting plant growth. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), nitrogen fixing bacteria and mycorrhizal helper bacteria (MHB) are those soil organisms which may be used to protect endangered plant species. Symbiotic fungi give host plants many benefits, e.g. better mineral nutrition, protection from root pathogens, heavy metals toxicity, droughts, salinity. The presence in the rhizosphere of PGPR (producing substances stimulating plant growth) and nitrogen fixing bacteria (lack of nitrogen limits plant growth) are also important to plants. This is why endangered species should be inoculated with those microorganisms in *in situ* or *ex situ* sites. Unfortunately the above mentioned methods are not common nowadays, but they should be included in natural protection programs.

**Keywords:** endangered plant species, soil microorganisms, active plant protection

Szymon Zubek, Pracownia Mikologii, Instytut Botaniki, Uniwersytet Jagielloński, ul. Lubicz 46, 31–512 Kraków, e-mail: zubek@ib.uj.edu.pl

## WSTĘP

Ochrona gatunkowa roślin to działalność zmierzająca do zachowania rodzimych gatunków roślin, w szczególności rzadkich, endemicznych (ograniczonych do jednego, stosunkowo niewielkiego obszaru występowania) i zagrożonych wyniszczeniem, tzn. gatunków o mniejszym lub większym stopniu ryzyka wyginięcia w wyniku antropopresji, spadku liczebności, straty siedlisk. W Polsce odpowiednie akty prawne określają listę gatunków chronionych ściśle (całkowicie) lub częściowo oraz zakazy i ograniczenia zbioru roślin chronionych. Obecnie ochronie całkowitej podlega dwieście trzynaście gatunków roślin naczyniowych, a częściowej siedemnaście gatunków [38]. Idea ochrony ga-

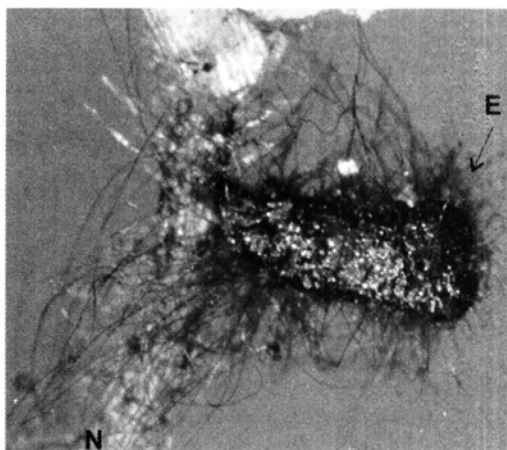
tunkowej roślin ma swoje początki w odległych stuleciach; w Polsce pierwszy akt prawny został wydany w roku 1423, gdy król Władysław Jagiełło zakazał wycinania i niszczenia cisów w lasach [38]. Ochrona gatunkowa w dzisiejszym rozumieniu została zapoczątkowana w Europie pod koniec XIX wieku, a ustanawianie kolejnych aktów prawnych w różnych krajach świadczyło o poszerzaniu się idei ochrony gatunkowej. Obecnie publikowane są ponadto czerwone listy i czerwone księgi gatunków zagrożonych [39, 40]. Pomiędzy gatunkami zagrożonymi, a prawnie chronionymi nie ma znaku równości – tylko część gatunków zagrożonych podlega ochronie prawnej i tylko część roślin chronionych znajduje się na czerwonych listach. Współcześnie prowadzi się nie tylko bierną, ale i czyn-

ną ochronę gatunkową roślin, np. przez tworzenie banków genów, stosowanie metaplantacji i reintrodukcji, wykorzystanie kultur *in vitro* do zachowania *ex situ* wielu zagrożonych taksonów, a także silne jej wspomaganie przez ochronę siedlisk i całych ekosystemów (np. tworzenie rezerwatów przyrody). Niewiele natomiast podejmuje się działań w kierunku ochrony gatunkowej roślin przy użyciu mikroorganizmów glebowych, a stwarza to wiele nowych i skutecznych możliwości wspomaganie gatunków zagrożonych.

Gleba jest środowiskiem, w którym znajdują się różne grupy mikroorganizmów wpływających na rośliny w sposób zarówno pozytywny, jak i negatywny (pasożyty). Do organizmów glebowych wspomagających wzrost roślin należą: grzyby mikoryzowe, szeroko pojęta grupa bakterii PGPR (Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria), organizmy prokariotyczne uczestniczące w cyklu azotu oraz bakterie wspomagające mikoryzę (MHB – mycorrhizal helper bacteria). Te właśnie grupy mikroorganizmów można zastosować do aktywnej ochrony roślin.

### ROLA GRZYBÓW MIKORYZOWYCH

Obecność grzybów mikoryzowych w glebie i ich symbioza z roślinami jest zjawiskiem powszechnym i stanowi przedmiot wielu badań. W literaturze niewiele jest jednak doniesień dotyczących wykorzystania tych organizmów do aktywnej ochrony roślin. Istotą współżycia organizmów tworzących mikoryzę jest przekazywanie związków mineralnych z gleby do roślin za pośrednictwem strzępek mikobionta oraz transport produktów fotosyntezy z rośliny do grzybni [17, 26]. Dostarczanie związków przez grzybnię nie jest jednak jedyną korzyścią dla rośliny, która wynika z tego rodzaju symbiozy. Zwiększenie odporności na pasożyty korzeniowe, ochrona przed toksycznością metali ciężkich, a także zasoleniem są wymieniane jako efekt związku mikoryzowego [9, 16, 22, 25, 26, 30, 31, 32, 36]. Stosując ogólnie przyjęty podział mikoryz wyróżniamy trzy główne jej typy: ektomikoryzę, endomikoryzę oraz typ pośredni – ektendomikoryzę. Ektomikoryza (Ryc. 1) cha-



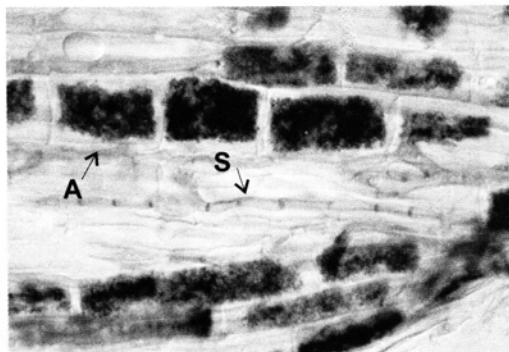
Ryc. 1. Ektomikoryza (E) *Cenococcum geophilum/Pinus sylvestris* (obserwowana za pomocą mikroskopu binokularnego); (N) korzeń niemikoryzowy. (fot. P. Mleczko).

Fig. 1. *Cenococcum geophilum/Pinus sylvestris* ectomycorrhiza (E) (seen with dissecting microscope); (N) nonmycorrhizal root. (phot. P. Mleczko).

rakteryzuje się obecnością mufki – struktury zbudowanej ze strzępek grzyba, otaczającej korzeń mikoryzowy, od której w głąb gleby wnikają strzępki grzybni, stanowiąc połączenie korzeni mikoryzowych z obszarem absorpcji substancji. Strzępki penetrują także przestrzenie międzykomórkowe w obrębie kory korzenia, tworząc tzw. sieć Hartiga. Miejscem wymiany substancji między dwoma symbiontami jest obszar przylegania sieci Hartiga do komórek korzenia. W tym typie mikoryzy nie następuje penetracja wnętrza komórek gospodarza przez mikobionta. Większość ektomikoryzowych grzybów to gatunki z grupy podstawczaków (*Basidiomycotina*); również niektóre workowce (*Ascomycotina*) są zaangażowane w ten typ mikoryzy. Partnerami grzybów mikoryzowych są głównie drzewa, takie jak np. sosna (*Pinus*), brzoza (*Betula*), modrzew (*Larix*), dąb (*Quercus*), rzadziej rośliny zielne. Znacznie bardziej powszechnym typem mikoryzy jest endomikoryza charakteryzująca się penetracją wnętrza komórek korykalnych korzeni. Wyróżniamy kilka jej typów, a mianowicie: mikoryzę erikoidalną, storczykową oraz arbuskularną. Rośliny z rodziny wrzosowatych (*Ericaceae*) wchodzą w związki mikoryzo-

wie z grzybami z grupy workowców, a symbioza ta charakteryzuje się wykształcaniem zbitych zwojów w komórkach kory drobnych korzeni tych roślin. Podczas gdy mikoryza dla roślin takich jak wrzos (*Calluna*) czy wrzosiec (*Erica*) nie jest obligatoryjna, choć istotna ze względu na fakt występowania tych roślin na kwaśnych, ubogich glebach, to storczyki (*Orchidaceae*) są w pierwszych stadiach rozwoju całkowicie zależne od grzybów mikoryzowych. Miniaturowe nasiona tych roślin, zawierające zarodki zbudowane z kilku komórek, są zupełnie pozbawione substancji zapasowych, w związku z czym nie są zdolne do samodzielnego kiełkowania. W glebie chłonąc wodę pęcznieją i tworzą kilka epidermalnych włosków. Kontynuacja procesu kiełkowania i późniejszy wzrost siewek jest uwarunkowany infekcją grzyba mikoryzowego – w tym przypadku z grupy podstawczaków [10, 26]. Ten typ mikoryzy charakteryzuje się obecnością zwojów wewnątrz komórek korykalnych korzeni. Przeważająca część roślin naczyniowych, bo aż blisko 4/5, a także liczne gatunki mszaków (*Bryophytina*), wchodzi w związki mikoryzowe z grzybami z grupy kłębiakowców (*Glomales*) z podgromady sprzężniowych (*Zygomycotina*) tworząc mikoryzę arbuskularną [26, 27]. Najbardziej charakterystyczną cechą tego rodzaju symbiozy jest wykształcanie arbuskul – drzewkowatych struktur będących drobnymi rozgałęzieniami strzępek mikobionta wewnątrz komórek korykalnych korzenia, w obrębie których następuje wymiana substancji między partnerami (Ryc. 2, Ryc. 3.). W korzeniu mogą również być obecne pęcherzyki, zwoje oraz spory. Pęcherzyki, podobnie jak spory, tworzone obficie także na zakończeniach strzępek znajdujących się w glebie, stanowią propagule dające początek grzybni kolonizującej sąsiadujące rośliny. Typem pośrednim pomiędzy ekto- i endomikoryzą jest ektendomikoryza charakteryzująca się wewnątrzkomórkową penetracją komórek korzenia i obecnością sieci Hartiga wraz z mufką. Te same gatunki grzybów mogą formować ektomikoryzę z jednymi roślinami i ektendomikoryzę z innymi.

W niniejszym opracowaniu propozycje dotyczące ochrony gatunkowej roślin przy użyciu



Ryc. 2. Mikoryza arbuskularna. Arbuskule (A) oraz strzępki (S) widoczne w korzeniu fiołka trójbarwnego (*Viola tricolor*) za pomocą mikroskopu świetlnego. (fot. S. Zubek).

Fig. 2. Arbuscular mycorrhiza. Arbuscules (A) and hyphae (S) inside *Viola tricolor* root (structures observed using light microscope). (phot. S. Zubek).

grzybów mikoryzowych dotyczą najbardziej powszechnego typu mikoryzy – mikoryzy arbuskularnej. Aktywna ochrona zagrożonych gatunków roślin za pomocą mikoryzy może się odbywać w kilku płaszczyznach. W przypadku tych roślin, które w swoim środowisku naturalnym są narażone na grzyby pasożytnicze, istotne byłoby produkowanie w warunkach laboratoryjnych siewek inokulowanych grzybami mikoryzowymi, przeznaczonych do wysadzania na siedliska naturalne. Badania wskazują, że dla niektórych gatunków roślin główną korzyścią z obecności mikoryzy jest ochrona przed grzybami pasożytniczymi, a w mniejszym stopniu pobieranie fosforu i wody. Jest to istotne w szczególności dla tych gatunków, które posiadają delikatny system korzeniowy i są przez to w dużym stopniu narażone na atak pasożytów [22]. Rośliny posiadające mikoryzę, wprowadzane na miejsca ich występowania, od samego początku byłyby odporne na pasożyty, lepiej zaopatrywane w fosfor, azot i wodę, a przez to znalazłyby się w lepszej kondycji umożliwiającej odpowiedni wzrost i skuteczną reprodukcję. Inokulacja grzybami mikoryzowymi może być także pomocna, z podobnych względów, w przeprowadzaniu szeregu procesów związanych z tzw. ochroną roślin *ex situ* w ogrodach botanicznych. Najczęściej stosowaną metodą ochrony *ex situ*



Ryc. 3. Arbuskula (A) w komórce kory korzenia fiołka trójbarwnego (*Viola tricolor*) (obserwowana za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego). (fot. S. Zubek).

Fig. 3. SEM micrograph of an arbuscule (A) in cortical cell of *Viola tricolor* root. (phot. S. Zubek).

jest utrzymywanie zasobów gatunków roślin zagrożonych, uprawianych w sztucznie stworzonych siedliskach [20, 23]. W działaniach takich dąży się do zapewnienia określonym populacjom roślin dobrych warunków wzrostu i rozwoju, co w konsekwencji decyduje o ich liczebności. Zapewnienie tym roślinom obecności grzybów mikoryzowych spowoduje poprawienie ich ogólnej kondycji, zapewni lepszy wzrost, zwiększy odporność na różnego rodzaju stresy, takie jak np. susza. Inną metodą używaną w procesach czynnej ochrony roślin są techniki kultur *in vitro*, obecnie coraz częściej stosowane. Polegają one na hodowli w odpowiednich warunkach izolowanych komórek, na pożywkach umożliwiających sterowanie różnicowaniem się tkanek oraz ich regeneracją do całych roślin. Kultury *in vitro* służyc mogą do klonalnego roz-

mnażania wielu gatunków roślin, jak np. czyniono to z lilią złotogłów (*Lilium martagon*) [1, 11], a także do ich długotrwałego przechowywania. Badania potwierdziły zdolność do wchodzenia w symbiozę mikoryzową roślin uzyskanych w warunkach *in vitro* [8, 34]. Fakt ten ma istotne znaczenie dla dalszego losu tych roślin. Rośliny uzyskane z procesów opisanych powyżej, powinny być inokulowane grzybami mikoryzowymi przed wysadzeniem do gleby. Obecność symbiozy może bowiem ułatwić ich aklimatyzację w glebie po przeniesieniu z pożywek, a także skrócić okres hodowli w warunkach laboratoryjnych. Ograniczenie czasu hodowli wynika z faktu, iż wzrost roślin, które zostały zaszczerpione grzybami mikoryzowymi jest bardziej intensywny w porównaniu z roślinami pozbawionymi mikoryzy [9, 26]. Pozwoli to również na

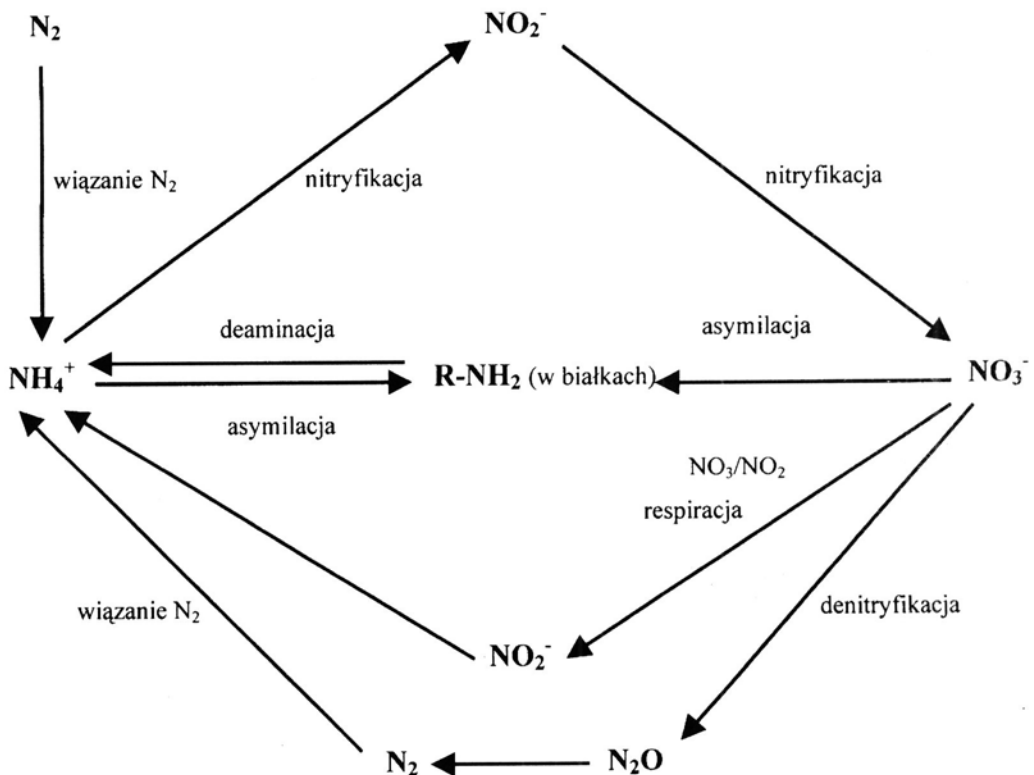
zmniejszenie nakładów finansowych na hodowlę, co związane jest z możliwością ograniczenia stosowania nawozów, gdyż grzyby symbiotyczne wspomagają odżywianie mineralne roślin [10, 17, 26]. Końcowym etapem działań podejmowanych przez ogrody botaniczne w kierunku aktywnej ochrony roślin są procesy reintrodukcji i metaplantacji. Reintrodukcja to ponowne wprowadzenie gatunku na pierwotne stanowisko naturalne, na którym został uznany za wymarły. Ze względu na całkowitą utratę rodzimego siedliska lub jego znaczne skażenie, często nie jest możliwe przeprowadzenie tego zabiegu. W takim przypadku stosuje się procesy metaplantacji polegające na wprowadzeniu danego taksonu na inne miejsca, zbliżone warunkami do tych, które charakteryzowały siedliska pierwotne. Reintrodukcja i metaplantacja mogą być przeprowadzane z wykorzystaniem materiału reprodukcyjnego, w którym mikoryza byłaby już obecna. Proces mikoryzacji roślin przeznaczonych do tych zabiegów byłby istotny ze względu na poprawienie kondycji roślin, których dalsza wegetacja na nowym siedlisku, czy też pierwotnym lecz zanieczyszczonym, mogłaby być utrudniona.

Aktywna ochrona przy użyciu grzybów mikoryzowych może odbywać się również *in situ* – czyli w warunkach naturalnych dla danego gatunku. Dla zagrożonych taksonów roślin mikoryzowych występujących na siedliskach, które charakteryzują się niską dostępnością inokulum grzybowego, czynna ochrona powinna polegać na wprowadzeniu do tych siedlisk odpowiednich gatunków grzybów. Grzyby te pochodziłyby z wcześniej namnożonych kultur laboratoryjnych. Zwiększenie dostępności inokulum w tych miejscach spowodowałoby wzrost stopnia mikoryzacji roślin, a przez to poprawienie ich kondycji (większa dostępność fosforu, azotu i wody, odporność na różnego rodzaju stresy, np. suszę, obecność metali ciężkich, zasolenie – jako wynik mikoryzy). Obecność grzybów mikoryzowych jest również istotna dla formowania prawidłowej struktury gleby [12, 25, 29]. Grzybnia jest zaangażowana w agregację cząstek glebowych, jako że strzępki wpływają na procesy zmiany mikroagregatów w makroagre-

gaty dzięki wydzielaniu substancji, głównie takich jak glikoproteiny [37]. Udział grzybów mikoryzowych w procesach związanych z uzyskiwaniem właściwej struktury gleby jest porównywany do roli systemu korzeniowego roślin [28]. Większe agregaty z większymi porami są w stanie zatrzymać wystarczającą ilość wody, zachowując odpowiednią wilgotność wokół korzeni, podczas okresów suchych, pozwalając jednocześnie na skuteczne odwodnienie w okresach deszczowych [19]. Jest to istotne szczególnie dla tych gatunków roślin, które rosną na siedliskach, gdzie gleba nie jest dobrze wykształcona, np. gleby górskie, wydmy.

### BAKTERIE PGPR

Obok grzybów mikoryzowych istotne dla funkcjonowania organizmu roślinnego są liczne grupy mikroorganizmów prokariotycznych występujących w glebie. W ryzosferze występować może grupa bakterii PGPR (Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria). Termin ten stosowany jest na określenie grup bakterii, które wywołują pozytywny wpływ na wegetację roślin, zarówno w sposób bezpośredni (produkcja substancji stymulujących wzrost), jak i pośredni, np. spadek liczebności pasożytów na skutek produkcji antybiotyków [5, 6, 7, 13, 14, 15]. Szereg bakterii glebowych (np. gatunki z rodzajów: *Azotobacter*, *Azospirillum*) produkuje egzogenicznie związki określane terminem fitohormonów lub regulatorów wzrostu roślin. Regulatory te dzielone są na pięć grup: auksyny, gibereliny, cytokiny, etylen i kwas abscysynowy. Nie rozpatrując szczegółów działania poszczególnych związków, ogólnie stwierdzić można, że substancje te wpływają korzystnie na wzrost roślin. Aby podjąć aktywną ochronę przy użyciu tych mikroorganizmów należałoby sprawdzić czy występują one w środowisku życia chronionej rośliny, a w przypadku ich absencji istotne byłoby wszczepianie PGPR w ryzosferę. Zapewnienie roślinom chronionym obecności tej grupy mikroorganizmów, zarówno w środowisku naturalnym, jak i podczas hodowli w warunkach sztucznych, byłoby istotne dla stymulacji ich wzrostu. Również grzyby mikoryzowe są zaan-



Ryc. 4. Obieg azotu w przyrodzie (wg [35], zmienione).

Fig. 4. Nitrogen cycle (after [35], modified).

gazowane w produkcję fitohormonów. Wydzielają głównie auksyny i są to w większości grzyby ektomikoryzowe, choć także gatunki endomikoryzowe, jak np. *Glomus mosseae* [4].

#### BAKTERIE UCZESTNICZĄCE W OBIEGU AZOTU W PRZYRODZIE

Istotną grupą mikroorganizmów glebowych są bakterie uczestniczące w obiegu azotu w przyrodzie (Ryc. 4). Do tej grupy zaliczamy bakterie przeprowadzające następujące procesy: nitryfikację, denitryfikację, amonifikację, deaminację, proces wiązania azotu. Podczas rozkładu materii organicznej azot zostaje uwolniony w postaci jonów amonowych (amonifikacja). Są one następnie utleniane do azotanów (nitryfikacja) przez bakterie chemoautotroficzne. Azot

w tej formie pobierany jest przez rośliny jako substrat do budowy białka w toku asymilacyjnej redukcji azotanów. W warunkach beztlenowych liczne mikroorganizmy dokonują denitryfikacji uwalniając tlenki azotu i wolny azot. Wiązanie azotu cząsteczkowego odbywa się abiotycznie (głównie podczas wyładowań atmosferycznych) oraz biotycznie – dzięki działalności bakterii azotowych, wolno żyjących i symbiotycznych – biologiczna redukcja azotu cząsteczkowego [35]. Azot jest istotnym pierwiastkiem dla rozwoju roślin i w przypadku jego niedoboru lub niskiej dostępności wzrost roślin jest ograniczony. Zapewnienie obecności w ryzosferze całych konsorcjów mikroorganizmów przeprowadzających obieg azotu, zarówno w siedliskach naturalnych, gdzie występuje ich deficyt, a także w przypadku hodowli roślin zagrożonych, np.

w ogrodach botanicznych, w znacznym stopniu wpłynie na poprawienie wzrostu, ogólnej kondycji, a poprzez to zdolności reprodukcyjnych roślin.

### BAKTERIE A GRZYBY MIKORYZOWE

Bakterie obecne w glebie wspomagają jednak nie tylko rośliny. Szereg autorów wskazuje na pozytywny wpływ mikroorganizmów prokariotycznych na grzyby mikoryzowe i ich zdolność do kolonizacji roślin [3, 33]. Efekt ten objawia się zwiększeniem liczby punktów infekcyjnych dla grzyba mikoryzowego w korzeniu, a substancje produkowane przez bakterie powodują stymulację kiełkowania spor i wzrost grzybni [2, 3, 18, 21]. Badania potwierdziły również, że obecność bakterii wraz z grzybami mikoryzowymi powoduje intensywniejszy wzrost roślin, w porównaniu z roślinami posiadającymi tylko mikoryzę lub inokulowanymi wyłącznie bakteriami [24].

### PODSUMOWANIE

Aby czynnie chronić rośliny za pomocą mikroorganizmów glebowych konieczne jest przestrzeganie ogólnego schematu postępowania. W pierwszej kolejności należy dokładnie przeanalizować biologię taksonu, który ma podlegać ochronie. Polegać to powinno na określeniu statusu mikoryzowego rośliny, zbadaniu składu gatunkowego mikroorganizmów (grzyby, bakterie) występujących w ryzosferze, obserwacji siedliska, w którym żyje (warunki glebowe, klimatyczne, zagrożenia). Konieczne jest zaplanowanie sposobu ochrony – miejsca naturalne (*in situ*), stanowiska zastępcze (*ex situ*), należy przeprowadzić szereg badań kontrolujących skuteczność użycia mikroorganizmów. Po wykonaniu tych czynności można przystąpić do produkcji odpowiednich inokulów i ich stosowania do właściwej ochrony.

Powyższe metody aktywnej ochrony gatunkowej roślin nie są obecnie powszechne i często stosowane. Jedną z przyczyn jest niewystarczający stan wiedzy na ten temat, inną są prawdopodobnie dosyć wysokie koszty produkcji odpo-

wiednich inokulów grzybowych i bakteryjnych. Coraz częściej stosuje się jednak grzyby mikoryzowe do wspomagania wzrostu roślin uprawnych i ozdobnych, w Europie Zachodniej powstają firmy zajmujące się produkcją odpowiednich inokulów. Przy postępującym zagrożeniu wielu gatunków roślin oraz ze względu na potrzebę wprowadzania naturalnych sposobów protekcji, metody czynnej ochrony gatunków przy użyciu mikroorganizmów glebowych staną się, w niedługim czasie, bardziej popularne.

PODZIĘKOWANIA. Autor dziękuje Pani Profesor Katarzynie Turnau i Pani Doktor Annie Stengl za pomoc w trakcie przygotowywania niniejszego artykułu.

### LITERATURA

- [1] BACH A., KĘDRA M. 1997. Somatic embryogenesis of *Lilium martagon* L. seedling culture. 22 ND Conference of Embryology. Plants, Animals, Humans. Osieczany. *Acta Biol. Cracov.* **39** (Suppl. 1): 47.
- [2] BAREA J. M., AZCON-AGUILAR C. 1982. Interactions between mycorrhizal fungi and soil microorganisms. W: S. GIANINAZZI, V. GIANINAZZI-PEARSON, A. TROUVELOT (red.), *Les Mycorrhizes: Biologie et Utilisation*. INRA, Service des Publications. Paris, s. 181–193.
- [3] BAREA J. M., TOBAR R. M., AZCON-AGUILAR C. 1996. Effect of genetically modified *Rhizobium meliloti* inoculant on the development of arbuscular mycorrhizas, root morphology, nutrient uptake and biomass accumulation in *Medicago sativa*. *New Phytol.* **134**: 361–369.
- [4] BAREA J. M., AZCON-AGUILAR C., AZCON R. 1997. Interactions between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms within the context of sustainable soil-plant systems. W: A. C. GANGE, V. K. BROWN (red.), *Multitrophic Interactions in Terrestrial Systems. 36th Symposium of the British Ecological Society*. Blackwell Science, Cambridge, s. 65–77.
- [5] BUCHENAUER H. 1998. Biological control of soil-borne diseases by rhizobacteria. *J. of Plant Diseases and Protection* **105**(4): 329–348.
- [6] DAVISON J. 1988. Plant beneficial bacteria. *BioTechnology* **6**: 282–286.
- [7] GLICK B. R., JACOBSON C. B., SCHWARZE M. M. K., PASTERNAK J. J. 1994. Does the enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase play a role in plant growth-promotion by *Pseudomonas putida* GR12-2? W: M. H. RYDER, P. M. STEPHENS, G. D. BOWEN (red.), *Improving Plant Productivity with Rhizosphere Bacteria*. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, Adelaide, Australia.
- [8] GRIBAUDO I., ZANETTI R., MORTE M. A., SCHUBERT A. 1996. Development of mycorrhizal infection in *in vitro* and *in vivo*-formed roots of woody fruit plants. *Agronomie* **16**: 621–624.

- [9] HOOKER J., GIANINANZI S., VESTBERG M., BAREA J. M., ATKINSON D. 1994. The application of AM fungi to micropropagation systems: an opportunity to reduce chemical inputs. *Agric. Sci. (Finland)* **3**: 227–233.
- [10] INGOLD C. T., HUDSON H. J. 1993. *The biology of fungi*. Chapman and Hall, London.
- [11] KĘDRA M. 2000. Kultury *in vitro* lili złotogłów jako sposób aktywnej ochrony roślin i wykorzystanie tego gatunku w ogrodnictwie. Praca doktorska. Akademia Rolnicza, Kraków.
- [12] KLING M., JAKOBSEN I. 1998. Arbuscular mycorrhiza in soil quality assessment. *Ambio* **27**: 29–35.
- [13] KLOEPPER J. W., SCHER F. M., LALIBERTE M., TIPPING B. 1986. Emergence-promoting rhizobacteria: Descriptions and implications for agriculture. W: T. R. SWINBURNE (red.), *Iron, siderophores, and plant disease*. Plenum New York, s. 155–167.
- [14] KLOEPPER J. W., LIFSHITZ R., ZABLOTOWICZ R. M. 1989. Free-living bacteria inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* **7**: 39–43.
- [15] LAMBERT B., JOOS H. 1989. Fundamental aspects of rhizobacterial plant growth promotion research. *Trends Biotechnol.* **7**: 215–219.
- [16] LEYVAL C., TURNAU K., HASELWANDTER K. 1997. Effect of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza* **7**: 139–153.
- [17] MARSCHNER H., DELL B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Pl. & Soil* **159**: 89–102.
- [18] MAYO K., DAVIS R. E., MOTTA J. 1986. Stimulation of germination of spores of *Glomus versiforme* by spore associated bacteria. *Mycologia* **78**: 426–43
- [19] MILLER R. 1987. VAM in grasslands. W: G. R. SAFIR (red.), *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants*. CRC Press Boca Raton, s. 250–275.
- [20] MIREK Z., PIĘKOŚ-MIRKOWA H. 2000. Operat ochrony gatunkowej roślin jako narzędzie ochrony flory na obszarze parku narodowego. W: B. WOŁOSZYN, T. POSTAWA (red.), *Drugie forum dyskusyjne: Parki Narodowe i ich funkcja w czasie i przestrzeni*. Komitet Ochrony Przyrody PAN, Kraków, s. 33–55.
- [21] MOSSE B. 1959. The regular germination of resisting spores and some observations on the growth requirements of an *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **42**: 273–286.
- [22] NEWSHAM K. K., FITTER A., WATKINSON A. R. 1995. Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field. *J. Ecol.* **83**: 991–1000.
- [23] PUCHALSKI J. 1995. Zasady ochrony i uprawy w ogrodach botanicznych gatunków roślin zagrożonych wyginięciem w warunkach naturalnych. Ministerstwo Ochrony Środowiska i Zasobów Naturalnych. Departament Ochrony Przyrody, Warszawa.
- [24] REQUENA N., JIMENEZ I., TORO M., BAREA J. M. 1997. Interaction between PGPR, AM fungi and *Rhizobium* ssp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in mediterranean semi-arid ecosystem. *New. Phytol.* **136**: 667–677.
- [25] SCHREINER R. P., MIHARA K. L., MCDANIEL H., BETHLENFALVAY G. J. 1997. Mycorrhizal fungi influence plant and soil functions and interactions. *Pl. & Soil* **188**: 199–209.
- [26] SMITH S. E., READ D. J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London.
- [27] ŚLUSARCZYK E. 1996. Ewolucja strategii życiowych *Glomales*. *Wiad. Bot.* **40**(1): 29–35.
- [28] THOMAS R. S., FRANCOIS R. L., BETHLENFALVAY G. J. 1993. Separation of vesicular-arbuscular fungus and root effects on soil aggregation. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **57**: 77–81.
- [29] TISDALL J. M., OADES J. M. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil Sci.* **33**: 141–163.
- [30] TURNAU K. 1993. Mikoryza w siedliskach skażonych metalami toksycznymi. *Wiad. Bot.* **37**(1/2): 43–58.
- [31] TURNAU K., DEXHEIMER J., BOTTON B. 1995. Heavy metal sequestration and filtering effect in selected mycorrhizas from calamine dumps – EDAX microanalysis. Proc. of 10 th International Conference on heavy metals in the environment, vol. 2. Hamburg.
- [32] TURNAU K., KOTTKE I., DEXHEIMER J. 1996. Toxic element filtering in *Rhizopogon roseolus/Pinus sylvestris* mycorrhizas collected from calamine dumps. *Mycol. Res.* **100**: 16–22.
- [33] VOSATKA M. 1994. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and of *Agrobacterium agrobacter* on maize growth. *Folia Microbiol.* **39**(4): 304–306.
- [34] VOSATKA M., GRYNDLER M., JANSKA J., VOHNIK M. 2000. Post vitro mycorrhization and bacterization of micropropagated strawberry, potato and azalea. Proc. Int. Symp. on Meth. and Marks. for Qual Assur in Micropropagation. *Acta Hort.* **530**: 313–324.
- [35] WEINER J. 1999. *Życie i ewolucja biosfery*. PWN, Warszawa.
- [36] WEISSENHORN I., LEYVAL C., BERTHELIN J. 1993. Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy-metal polluted soils. *Pl. & Soil* **157**: 247–256.
- [37] WRIGHT S. F., FRANKE-SNYDER M., MORTON J. B., UPADHYAYA A. 1996. Time-course study and partial characterization of a protein of hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Pl. & Soil* **181**: 193–203.
- [38] ZAJĄC A., ZAJĄC M. 1997. Atlas rozmieszczenia roślin naczyniowych w Polsce. Pracownia Chorologii Komputerowej. Instytut Botaniki, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
- [39] ZARZYCKI K., WOJEWODA W., HEINRICH Z. 1992. Lista roślin zagrożonych w Polsce. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Polska Akademia Nauk, Kraków.
- [40] ZARZYCKI K., KAŻMIERCZAKOWA R. 1993. Polska czerwona księga roślin. Instytut Botaniki im. W. Szafera, Instytut Ochrony Przyrody, Polska Akademia Nauk, Kraków.