

Cynobacteria jako obecująca alternatywa dla nawozów mineralnych w uprawie roślin energetycznych

Cyanobacteria najczęściej kojarzone z problematycznymi zakwitami wodnymi są w rzeczywistości niezwykle różnorodną grupą pionierskich organizmów. Posiadają zdolność do syntezowania i uwalniania z komórek szeregu związków bioaktywnych o korzystnym wpływie na wzrost i rozwój roślin. Wykorzystanie ich, jako bionawóz może przynieść wiele korzyści m.in. zwiększenie plonowania ważnych gospodarczo roślin, w tym roślin energetycznych, ochronę i poprawę stan środowiska przez zmniejszenie użycia chemicznych nawozów oraz zmniejszenie kosztów uprawy.

NAWOZY MINERALNE

Fritz Haber - chemik, wynalazca przemysłowej metody syntezy amoniaku, którego odkrycie stało się podstawą produkcji nawozów sztucznych, powiedział w podsumowaniu swojej mowy odbierając Nagrodę Nobla w 1920 roku, że to rozwiązanie może nie być ostatecznym. Odkrycie to stało się podwaliną całego przemysłu produkcji nawozów sztucznych. Wytwarzanie nawozów azotowych metodą Habera-Boscha było jednym z najważniejszych wynalazków XX wieku i pozwoliło na produkcję żywności dla prawie połowy ludzkości. Dziś wiadomo, że użycie nawozów zawierających azot i fosfor ma znaczący wpływ na pogorszenie jakości wody i powoduje niekorzystne zmiany w środowisku. Lata badań nad obiegiem pierwiastków w przyrodzie, wskazały bardzo istotne zagrożenia płynące ze stosowania nawozów sztucznych. Spływ nutrientów do wód powierzchniowych i ich przenikanie do wód gruntowych to tylko jeden z negatywnych aspektów [Murray et al. 2004].

Podwojenie w skali świata, rolniczej produkcji żywności w ciągu ostatnich 40 lat jest związane z aż siedmiokrotnym zwiększeniem wykorzystania nawozów azotowych [Hirel 2007]. Taka ilość nawozów wprowadzana do środowiska ma znaczący wpływ na pogorszenie jakości wody i powoduje niekorzystne zmiany w środowisku. Ma to udowodniony, szkodliwy wpływ na różnorodność i funkcjonowanie sąsiadujących ekosystemów bakterii, zwierząt i roślin. Eutrofizacja zbiorników wody słodkiej i mórz to najbardziej widoczny ze skutków wycieku ogromnych dawek azotu z nawożonych pól. Nie jest to jednak jedyna droga jaką azot opuszcza, w niekontrolowany sposób, użytki rolne. Reakcje zachodzące w glebie powodują uwalnianie trującego amoniaku do atmosfery oraz emisję tlenków azotu, które po dotarciu do stratosfery reagują z ozonem [Stulen et al. 1998]. Nadmierne użycie nawozów chemicznych generuje bezpośrednio lub pośrednio szereg środowiskowych problemów o zasięgu globalnym, wliczając w to pogłębiający się efekt cieplarniany, zmniejszenie warstwy ozonowej i zakwaszenie wody [Saadatnia i Riahi 2009]. Azotany i inne składniki nawozów chemicznych zostały powiązane

z występowaniem nowotworów i zatruciem azotanami, pogorszeniem struktury gleby oraz hamowaniem wzrostu i ginieniem korzystnych mikroorganizmów glebowych, a także zwiększoną podatnością roślin na choroby. Stosowanie nawozów jednoskładnikowych, zwłaszcza azotowych prowadzi do wyjałowienia gleby z innych niezbędnych makro i mikroelementów [Shanan i Higazy 2009, Karthikeyanb 2007].

Prognozy głoszą, że do roku 2025 populacja ludzi na naszej planecie osiągnie 10 miliardów. To stawia całkowicie nowe wyzwania przed rolnictwem, które poza dostarczeniem tak ogromnych ilości żywności musi również stać się mniej szkodliwe dla środowiska. **Paradoksalnie kroki, które mają przyczynić się do ochrony środowiska, czyli ograniczenie wykorzystania paliw kopalnych na rzecz produkcji biopaliw z biomasy roślinnej, będzie skutkować znaczącemu wzrostowi użycia nawozów sztucznych [Hirel 2007].** Jednym ze sposobów na ograniczenie

wykorzystania nawozów sztucznych, a tym samym zmniejszenie ich szkodliwego wpływu na środowisko jest zastosowania bionawozów. Bardzo obiecującym materiałem na bionawóz są Cyanobacteria.

CYANOBACTERIA

Cyanobacteria (Blue-green Algae; BGA) popularnie nazywane sinicami, są jednymi z najstarszych organizmów na Ziemi [Schopf 1994, 1996]. To prokariotyczne organizmy gram(-)ujemne stanowiące bardzo liczną i zróżnicowaną grupę fotoautotrofów. Około 50% szczepów jest fakultatywnymi fotoheterotrofami, zdolnymi do wykorzystania światła jako źródła energii oraz związków organicznych jako źródła węgla. Prawdopodobnie około 20% z nich jest zdolnych do chemoheterotrofii i wzrostu bez dostępu światła, korzystając ze związków organicznych jako źródła węgla jak i energii [Adams 1999]. Są powszechnie występującymi mikroorganizmami pionierskimi, posiadającymi wiele przydatnych cech, które przyczyniły się do ich sukcesu. Najważniejszą z nich jest zdolność do wiązania azotu atmosferycznego. To właśnie ta właściwość stoi u podstaw wykorzystania Cyanobacteria jako bionawóz.

CYANOBACTERIA JAKO BIONAWÓZ; ZASTOSOWANIE W RÓŻNYCH FORMACH

Znaczenie zdolności wiązania azotu przez Cyanobacteria dla utrzymania żyzności pól ryżowych została po raz pierwszy zauważona przez De (1939). Później Watanabe i Konishi (1951), Venkataraman (1972) oraz Roger i Reynaud (1982) badali tę tematykę. Korzystny wpływ Cyanobacteria został odnotowany dla wielu roślin takich jak: jęczmień, owies, pomidory, rzodkiewka, bawełna, trzcina cukrowa, kukurydza, chilli i sałata [Thajuddin and Subramanian 2005]. Wśród tych roślin znalazł się też przedstawiciel roślin energetycznych, jakim jest proso różgowate oraz słonecznik zwyczajny, będący surowcem do produkcji biopaliw. Tripathi wraz ze swoim zespołem, zastosowali bionawóz przygotowany ze szczepów Cyanobacteria wyizolowanych z terenów narażonych na opad popiołów i pyłów pochodzących ze spalania węgla. *Nostoc* sp., *Anabaena doliolum*, *Calothrix* sp., *Westiellopsis* sp. i *Phormidium papyraceum* zwiększyły zawartość azotu w glebie i zmniejszyły tym samym zapotrzebowanie na nawóz azotowy ze 120 kg ha⁻¹ do 90 kg ha⁻¹ [Tripathi et al. 2008]. Popioły użyte w tym eksperymencie zawierały metale ciężkie. Testowane Cyanobacteria dzięki produkcji substancji kleistych otoczki mogą adsorbować znaczące ilości szkodliwych pierwiastków śladowych takich jak kadm i arsen co zmniejsza ich toksyczny wpływ na rośliny, a tym samym zmniejsza stres i redukuje wytwarzanie związków charakterystycznych dla tego procesu [Tien, 2002, Rai et al., 2004]. Jednocześnie zastosowanie takiego bionawozu zwiększyło dostępność kluczowych składników takich jak żelazo i fosfor. W tym badaniu zastosowanie jednoczesnego nawożenia azotem i Cyanobacteria skutkowało złagodzeniem toksyczności popiołów i przywróciło naturalny wzrost roślin [Tripathi et al. 2008]. Pod uprawy roślin energetycznych wykorzystuje się gleby gorszej klasy bonitacyjnej w tym gleby skażone pierwiastkami śladowymi. Zastosowanie Cyanobacteria w ich uprawie może złagodzić, a tym samym poprawić wzrost roślin. Na lewkonii (*Matthiola Incana*) prowadzono badania z zastosowaniem różnych wariantów nawozu azotowego, bionawozu z bakterii wiążących azot (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* i *Rhizobium* sp.) i filtratu po hodowli Cyanobacteria z rodzaju *Anabaena* i *Nostoc* [Shanan i Higazy 2009]. Filtrat taki zawiera wiele metabolitów wtórnych, między innymi fitohormony, o korzystnym wpływie na wzrost i rozwój roślin. W przypadku traktowania bionawozem z bakterii uzupełnionym filtrem z Cyanobacteria stwierdzono zwiększony wzrost roślin, większą średnicę łodyg, zwiększenie liczby i powierzchni liści. Podobne wyniki uzyskano również w dwóch innych eksperymentach dla nagietka lekarskiego (*Calendula officinalis*) i rośliny z rodziny astrowatych (*Dimorphotheca ecklonis*) [Mostafa 2002] oraz astra chińskiego (*Callistephus chinensis*) [Chaitra i Patil, 2007]. U badanej rośliny ozdobnej stwierdzono również

poprawę parametrów związanych z kwitnieniem takich jak wielkość i masa kwiatostanów czy liczba i średnica kwiatów. Materiał odpadowy po hodowli Cyanobacteria, jakim jest płyn pohodowlany, zawiera poza pozostałościami składników odżywczych również cały szereg związków wyprodukowanych przez te drobnoustroje. Taki stosunkowo tani materiał odpadowy również może zostać wykorzystany w uprawie roślin energetycznych w formie oprysku razem z bionawozem.

Zbadano wpływ *Scytonema hofmanni* na ryż rosnący w warunkach stresu solnego. Zasolenie może wpływać negatywnie na wiele parametrów roślin między innymi na kiełkowanie nasion, metabolizm, wielkość i rozkrzewienie, rozmiar liści i pokrój rośliny. Wpływa również na aktywność enzymów, zawartość chlorofilu i karotenoidów. Zastosowane Cyanobacteria częściowo przeciwdziałały inhibicji wzrostu korzeni oraz zwiększyły ich suchą masę o 18%. Korzystnie wpłynęły również na długość pędów i zwiększyły aktywność enzymu ALA-D będącego elementem szlaku biosyntezy porfiryn, którego końcowym produktem są chlorofil i związki zawierające grupę hemową. Zwiększyły również zawartość chlorofilu a [Rodríguez 2006]. Badania te wskazały na kolejny rodzaj stresu, którego efekty mogą być łagodzone przez Cyanobacteria. Takie działanie umożliwi wydajniejszą uprawę roślin energetycznych. Badania na ryżu wykazały, że Cyanobacteria mają pozytywny wpływ na kiełkowanie nasion i rozwój siewek. Zastosowanie inokulum

z Cyanobacteria przyspieszyło kiełkowanie o 3 dni i znacząco zwiększyło wielkość liści i korzeni zarodkowych. W uprawie doniczkowej wykazano również że rośliny traktowane Cyanobacteria były o 53% wyższe, miały o 66% dłuższe korzenie, o 69% większą świeżą masę, a suchą aż o 137,5%. Takie traktowanie odniosło również korzystny wpływ na parametry gleby zwiększając jej wilgotność o 20% i porowatość o 28% [Saadatnia i Riahi 2009]. Niektóre gatunki roślin energetycznych pozwalają na założenie plantacji przez wysiew nasion. Poprawienie parametrów kiełkowania i przyspieszenie wzrostu siewek przy zastosowaniu zaprawy z Cyanobacteria zwiększy biomasa.

W Indiach prowadzono badania nad wpływem Cyanobacteria glebowych na wzrost pszenicy. Wyselekcjonowano trzy szczepy o najbardziej obiecujących właściwościach (*Calothrix ghosei*, *Hapalosiphon intricatus* i *Nostoc* sp.) i testowano je w różnych konfiguracjach porównując wyniki do efektów użycia zróżnicowanych dawek nawozu NPK. Zarówno badania w fitotronie (warunki sterylne) jak i uprawie doniczkowej w szklarni, wykazały pozytywny wpływ Cyanobacteria. W eksperymencie tym najlepsze wyniki uzyskano dla pełnej dawki nawozu NPK, ale tuż za nią uplasowały się traktowania zawierające 1/3 dawki NPK z różnymi kombinacjami szczepów Cyanobacteria. Wykazano korzystny wpływ Cyanobacteria na wzrost roślin i suchą masę, a także na plon ziarna. W przypadku zastosowania mieszanki 1/3 NPK + *Hapalosiphon intricatus* i *Nostoc* sp. w eksperymencie w fitotronie plon nasion był większy aż o 87,9% od kontroli (1/3 dawki NPK). Dodatkowo Cyanobacteria spowodowały kilkukrotny wzrost ilości innych mikroorganizmów glebowych [Karthikeyanb 2007]. Inne doświadczenie prowadzone na pszenicy wykazało znaczący wzrost zawartości azotu, długości korzeni i pędów u roślin traktowanych mieszaniną dwóch gatunków: *Anabaena* sp. i *Nostoc* sp. [Obreht 1993]. Areał upraw roślin energetycznych systematycznie się zwiększa co wymaga stosowania większej ilości nawozów, a to z kolei wpływa niekorzystnie na środowisko. Wyniki wskazują, że optymalny dobór szczepów przeznaczonych na bionawóz może znacząco zmniejszyć zastosowanie nawozów mineralnych lub nawet całkowicie wyeliminować ich użycie.

Moje własne badania oraz prace prowadzone w katedrze Ekofizjologii i Rozwoju Roślin Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska oraz w Instytucie Ogrodnictwa w Skierniewicach wykazały, że Cyanobacteria mają korzystny wpływ na wiele parametrów morfologicznych, fizjologicznych i biochemicznych roślin takich jak proso różgowate (*Panicum virgatum*), słonecznik zwyczajny (*Helianthus annuus*) czy winorośl (*Vitis vinifera*). W przypadku proso różgowatego wykazano poprawę kiełkowania i zintensyfikowanie wzrostu siewek po zastosowaniu wybranych szczepów

Cyanobacteria. Rośliny poddane takiemu traktowaniu były wyższe, miały większą zawartość chlorofilu i wyższe parametry wymiany gazowej oraz fotosyntezy. Podobne wyniki uzyskano dla słonecznika zwyczajnego i winorośli. W przypadku *Vitis vinifera* zmieniła się morfologia rośliny, o ponad 100% wzrosła liczba międzywęźli [Chojnacka 2010, Pszczółkowski 2010, Romanowska-Duda 2010].

PODSUMOWANIE

Zastosowanie Cyanobacteria niesie ze sobą wiele korzyści. Zaczynając od materialnych wynikających ze zmniejszenia zużycia nawozów sztucznych i zwiększenia plonu oraz suchej masy, przez uzyskanie roślin o korzystniejszych parametrach konsumpcyjnych i handlowych, a kończąc na korzyściach dla środowiska naturalnego. Cyanobacteria doskonale nadają się do wykorzystania jako bionawóz ponieważ:

1. Wiążą azot atmosferyczny i wzbogacają glebę w ten pierwiastek.
2. Zwiększają ilości fosforanów w glebie przez wydzielanie kwasów organicznych zwiększając ilość fitodostępnych form fosforu [Irisarri 2001, Wilson 2006].
3. Poprawiają właściwości gleby. Zwiększają jej porowatości, wilgotność i produkują substancje kleiste o korzystnym wpływie na jej strukturę.
4. Wydzielają substancje promujących wzrost i rozwój roślin. Są wśród nich hormony (auksyny, gibbereliny, cytokininy, kwas abscysynowy i kwas jasmonowy), witaminy i aminokwasy.
5. Zwiększają pojemność wodną gleby, co w istotny sposób zmniejsza stres suszy.
6. Zwiększają biomasę gleby po ich śmierci i rozkładzie, wzbogacają glebę w organiczne formy węgla.
7. Zmniejszają zasolenie gleby i łagodzą stres solny.
8. Redukują wzrost niektórych chwastów i patogennych mikroorganizmów.
9. Zwiększają dostępność niezbędnych pierwiastków śladowych i ograniczają dostępność tych szkodliwych, głównie metali ciężkich.

Z czego najbardziej pożądane dla upraw energetycznych jest:

1. Poprawa wzrostu roślin, a tym samym wzrost suchej masy.
2. Łagodzenie stresu suszy oraz stresu związanego z zanieczyszczeniem środowiska.
3. Poprawa parametrów glebowych, wliczając w to rozwój korzystnej mikroflory. Ma to szczególne znaczenie na glebach niższej klasy, na których całkowicie nieopłacalna lub wręcz niemożliwa jest uprawa większości gatunków roślin.

Dobór odpowiednich rodzajów i szczepów Cyanobacteria, a w przyszłości także ich udoskonalanie pozwoli stworzyć całą gamę bionawozów dostosowanych do konkretnych gatunków roślin, stref klimatycznych i warunków uprawy. Dzięki bogactwu mechanizmów pozytywnego oddziaływania, można je wykorzystać zarówno przy produkcji roślin energetycznych, żywności jak również roślin specjalistycznych (np. bawełna) czy ozdobnych. Takie podejście może uczynić energetykę opartą o biomasę, bardziej proekologiczną.

Literatura:

- Adams DG, Duggan PS, 1999 Heterocyst and akinete differentiation in cyanobacteria, *New Phytologist*, Tansley Review 144, (107) 3-33.
- Chaitra R, Patil VS, 2007, Integrated nutrient management studies in China aster (*Callistephus chinensis* (L.) Nees), *Karnataka J. Agric. Sci.*, 20, (3) 689-690.
- Chojnacka A, Romanowska-Duda Z, Grzesik M, Pszczółkowski W, Sakowicz T, 2010, Cyanobacteria as a source of bioactive compounds for crop cultivation, XXIX International Conference of Polish Phycological Society, Taxonomy The Queen of Science-The Beauty of Algae, ISBN 978-83-89648-83-9, 81-82.
- De PK, 1939, The role of blue-green algae in nitrogen fixation in rice fields, *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 127, 121-139.
- Hart MR, Quin BF and Nguyen ML, 2004, Phosphorus Runoff from Agricultural Land and Direct Fertilizer Effects: A Review, *J. Environ. Qual.*, 33, 1954-1972.
- Hirel B, Gouis J, Ney B, Gallais A, 2007, The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches, *Journal of Experimental Botany*, 58, (9) 2369-2387.
- Irisarri P, Gonnet S, Monza J, 2001, Cyanobacteria in Uruguayan rice fields: diversity, nitrogen fixing ability and tolerance to herbicides and combined nitrogen, *Bacteriol.*, 91, 95-103.

- Karthikeyan N, Prasanna R, Nainb L, Kaushik BD, 2007, Evaluating the potential of plant growth promoting cyanobacteria as inoculants for wheat, *European Journal of Soil Biology*, 43, (1) 23-30.
- Mostafa MM, 2002, Effect of biofertilizer, salinity and magnetic technique on the growth of some annual plants, *Alex. J. Agric. Res.*, 47, (2) 151-162.
- Obreht Z, Kerby NW, Gantar M, Rowell P, 1993, Effects of root-associated N₂-fixing cyanobacteria on the growth and nitrogen content of wheat (*Triticum vulgare* L.) seedlings, *Biology and Fertility of Soils* 15 (1) 68-72
- Pszczółkowski W, Romanowska-Duda Z, Grzesik M, Chojnacka A, Sakowicz T, 2010, Usefulness secondary metabolites of Cyanobacteria in plant biotechnology, XXIX International Conference of Polish Phycological Society, Taxonomy The Queen of Science-The Beauty of Algae, ISBN 978-83-89648-83-9, 146-147.
- Rai UN, Pandey K, Sinha S, Singh A, Saxena R, Gupta DK, 2004, Revegetating fly ash landfills with *Prosopis juliflora* L.: impact of different amendments and *Rhizobium* inoculation, *Environ. Int.*, 30, 293-300.
- Rodriguez AA, Stella AM, Storni MM, Zulpa G and Zaccaro MC, 2006, Effects of cyanobacterial extracellular products and gibberellic acid on salinity tolerance in *Oryza sativa* L., *Saline Systems*, 2:7
- Roger PA, Reynaud PA, 1982, *Free-living Blue-green Algae in Tropical Soils*, Martinus Nijhoff Publisher, La Hague.
- Romanowska-Duda Z, Grzesik M, Owczarczyk A, Mazur-Marzec H, 2010, Impact of intra and extracellular substances from Cyanobacteria on the growth and physiological parameters of grapevine (*Vitis vinifera*), 20th International Conference on Plant Growth Substance (IPGSA), Tarragona, Hiszpania, 118.
- Saadatnia H, Riahi H, 2009, Cyanobacteria from paddy fields in Iran as biofertilizer in rice plants *Plant soil environ*, 55, (5) 207-212.
- Schopf JW, 1994, Disparate rates, differing fates : tempo and mode of evolution changed from the Precambrian to the Phanerozoic. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 91, 6735-6742.
- Schopf JW, 1996, Are the oldest fossils cyanobacteria? In: Roberts DM, Sharp P, Alderson G, Collins M, ed. *Evolution of Microbial Life*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 23-61.
- Shanan NT, Higazy AM, 2009, Integrated Biofertilization Management and Cyanobacteria Application to Improve Growth and Flower Quality of *Matthiola incana*, *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 5, (6) 1162-1168.
- Stulen I, Perez-Soba M, De Kok LJ, Van Der Eerden L, 1998, Impact of gaseous nitrogen deposition on plant functioning, *New Phytologist*, 139, 61-70.
- Thajuddin N, Subramanian G, 2005, Cyanobacterial biodiversity and potential applications in biotechnology, *Current Science*, 89, 47-57.
- Tien CJ, 2002, Biosorption of metal ions by fresh water algae with different surface characteristics, *Process Biochem*, 38, 605-613.
- Tripathi RD, Dwivedi S, Shukla MK, Mishra S, Srivastava S, Singh R, Rai UN, Gupta DK, 2008, Role of blue green algae biofertilizer in ameliorating the nitrogen demand and fly-ash stress to the growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.), *Plants Chemosphere*, 70, 1919-1929.
- Venkataraman GS, 1972, *Algal Biofertilizer and Rice Cultivation*, Today and Tomorrow's Printer and Publishers, New Delhi.
- Watanabe A, Ito R, Konishi C, 1951, Effect of nitrogen-fixing blue-green algae on the growth of rice plants, *Nature*, 168, 748-749.
- Wilson LT, 2006, Cyanobacteria: A Potential Nitrogen Source in Rice Fields, *Texas Rice*, 6, 9-10.