

ENDOPHYTIC BACTERIA IN THE PHYTODEGRADATION OF PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS

Daria Chlebek, Katarzyna Hupert-Kocurek*

* Department of Biochemistry, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice

Received in September, accepted in November 2018

Abstract: Organic pollutants are released into the environment as a result of various human activities. Traditional physical and chemical methods for the clean-up of contaminated soil and water are often costly and invasive. A good alternative to the above methods is bacteria-assisted phytodegradation. Recently, particular attention has been focused on endophytic bacteria equipped with appropriate metabolic pathways, increasing the efficiency of organic compound degradation, and promoting plant growth. Endophytic bacteria are known to degrade various classes of organic compounds such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), volatile and monocyclic organic compounds, explosives as well as pesticides. They may also assist the bioremediation of greenhouse gases such as methane and carbon dioxide. Additionally, endophytic bacteria can promote the growth and development of plants through a wide range of direct and indirect mechanisms, which also affect the effectiveness of phytoremediation processes.

1. Introduction. 2. Phytodegradation of organic pollutants. 3. Sources of endophytic bacteria enhancing phytodegradation. 4. Organic pollutants degraded by endophytic bacteria. 5. Genetic basis of xenobiotics degradation in endophytic bacteria. 6. Mechanisms enhancing microbe-assisted phytodegradation. 7. Summary

BAKTERIE ENDOFITYCZNE W FITODEGRADACJI TOKSYCZNYCH ZANIECZYSZCZEŃ ORGANICZNYCH

Streszczenie: Fitodegradacja to przyjazna dla środowiska technologia, opierająca się na zdolności roślin do transformacji pobranych przez korzenie zanieczyszczeń organicznych. Istotną rolę we wspomaganiu procesów fitodegradacji mogą pełnić, budzące coraz większe zainteresowanie, bakterie endofityczne, kolonizujące wewnętrzne tkanki roślin bez wywoływania objawów chorobowych. Bakterie endofityczne wyposażone w odpowiednie szlaki metaboliczne, przyczyniają się do degradacji wielu różnych klas związków organicznych, w tym: wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, lotnych i monopierścieniowych związków organicznych, materiałów wybuchowych czy pestycydów. Mogą również wspomagać bioremediację gazów cieplarnianych, takich jak metan i dwutlenek węgla. Ponadto, bakterie endofityczne mogą wspierać wzrost i rozwój roślin poprzez szeroki zakres bezpośrednich i pośrednich mechanizmów, co również wpływa na efektywność procesów fitodegradacji.

1. Wprowadzenie. 2. Fitodegradacja zanieczyszczeń organicznych. 3. Źródła bakterii endofitycznych wspomagających procesy fitodegradacji. 4. Zanieczyszczenia organiczne degradowane przez bakterie endofityczne. 5. Genetyczne uwarunkowania degradacji ksenobiotyków przez endofity. 6. Mechanizmy wpływające na efektywność fitodegradacji wspomaganą przez endofity bakteryjne. 7. Podsumowanie

Key words: endophytic bacteria, phytodegradation, organic pollutants

Słowa kluczowe: bakterie endofityczne, fitodegradacja, zanieczyszczenia organiczne

1. Introduction

Organic pollutants released into the environment as a result of industrial and agricultural activity pose a serious threat to all living organisms [1]. Since traditional, physical and chemical methods for remediation of degraded environments are often costly and invasive, the methods of biological removal of this type of pollutants from the environment are garnering increasing attention. One of them is phytodegradation, based on the ability of plants to transform organic pollutants [5, 11, 75]. In recent years, studies on appli-

cation of degradation potential of bacteria have been carried out to increase the efficiency of this method. Special attention of researchers is focused on endophytic bacteria. These bacteria can promote the growth and development of plants and, consequently, increase their biomass. They may also affect the bioavailability of organic pollutants in the soil. An important advantage resulting from the application of this group of microorganisms to support phytodegradation processes is also the fact that all toxic organic compounds collected by the plant undergo mineralization within its tissues [1, 20, 30].

* Correspondence to: Katarzyna Hupert-Kocurek, Ph.D.; Department of Biochemistry, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia in Katowice, Jagiellońska 28, 40-032 Katowice, Poland; phone: +48 322 009 462; fax: +48 322 009 361; e-mail: katarzyna.hupert-kocurek@us.edu.pl;

2. Phytodegradation of organic pollutants

Plant metabolism of xenobiotics sourced from the environment includes general transformations of these compounds into more water-soluble forms and the process of their sequestration [5, 75]. Photoautotrophic plants do not use organic compounds as a source of carbon and energy, and their role is limited to transformation of these compounds into less toxic forms, in order to protect sensitive enzyme systems and organelles. In the process of detoxification of xenobiotics in plant cells, three phases are distinguished: activation, conjugation and sequestration/compartmentalization. In the first phase of transformation, reactive polar functional groups are introduced into the lipophilic organic compounds. This leads to a reduction in their lipophilicity and increased solubility in the aqueous environment of the cell. The first phase reactions are usually catalysed by enzymes such as cytochrome P450 and carboxyl esterases. The second phase includes reactions catalysed by glutathione S-transferases (GST) and glucosyltransferases (GT), reactions of coupling the transformed compounds with endogenous molecules such as amino acids, sugars or glutathione to reduce their phytotoxicity. In the third phase, removal of inactivated xenobiotics from the cytosol into apoplastic cell compartments or vacuoles occurs [72].

The effectiveness of the phytodegradation process can be limited by plant sensitivity to excessively high concentrations of xenobiotics which can cause phytotoxic effects, inhibit plant growth and development [10]. It can also be limited by the bioavailability of pollutants [55]. The disadvantage of this process is also the – in many cases unknown – pathway of the transformation of compounds absorbed in plant tissues, which may lead to the formation of metabolites with significantly higher toxicity than the parent substance [36].

3. Sources of endophytic bacteria enhancing phytodegradation

In contrast to plants, microorganisms, due to their comprehensive metabolic abilities, enable complete degradation of organic compounds, to CO₂ and H₂O [21]. In comparison with other organisms, they are characterised by a unique ability to adapt to new environmental conditions, including the treatment of compounds which are not products of their own metabolic transformations as an energy and carbon source [14]. Therefore, in recent years, a significant role in the treatment of degraded environments has been attributed to phytoremediation supported by microorganisms. A special role in this process is attributed to endophytic bacteria equipped with appropriate metabolic pathways, which increase the efficiency of organic com-

pounds degradation, help plants to overcome the stress caused by pollution, and promote their growth [5].

Endophytic bacteria are defined mainly as bacteria colonizing internal plant tissues without causing disease symptoms or negative impact on their plant host [60]. In practice, the term defines microorganisms which can be isolated from surface-sterilised plant organs [18]. Many bacterial endophytes have been isolated from both dicotyledonous and monocotyledonous plants, from woody species such as oak and pear, to crop plants such as sugar beet and maize [60].

Population and diversity of endophytes present in plants is variable, mainly dependent on the plant genotype, type of tissue, plant development phase, amount of organic contaminants and physicochemical conditions of soil [28, 54]. A study by Phillips et al. [54] has proven that different plant species growing in hydrocarbon-contaminated soil maintain separate populations of endophytic microorganisms which may affect the ability of plants to promote the degradation of specific hydrocarbon groups.

The presence of endophytic bacteria capable of degrading organic pollutants has been demonstrated in many plant species characterised by high tolerance/resistance to contamination, such as the poplar (*Populus* sp.) or willow (*Salix* sp.) [10, 81]. Bacteria useful in phytodegradation processes have also been isolated from tissues of the common trefoil (*Lotus corniculatus*), Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*), yellow lupine (*Lupinus luteus*), peas (*Pisum sativum*), wheat (*Triticum durum*) and maize (*Zea mays*) [39]. From the pedunculate oak (*Quercus robur*) and common ash (*Fraxinus excelsior*), endophytes with the potential for trichlorethylene (TCE) degradation [1] have been obtained, while in the nodules of legumes such as broad bean (*Vicia faba*) and white lupine (*Lupinus albus*) endophytes capable of decomposing both aliphatic and aromatic hydrocarbons [81] have been found. Plants inhabiting wetlands [20] and salt marshes [45] have also proven to be a good source of endophytic bacteria capable of using organic compounds as a carbon source. The strains isolated from these plants belong mainly to the genus of *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* and *Pantoea* [37].

It is worth noting that bacterial endophytes capable of degrading pollutants colonise specific plant tissues [1]. First of all, they can be found in xylem and/or root cortex [5]. The highest abundance of this group of bacteria has been observed in the roots of most plants [12, 59].

4. Organic pollutants degraded by endophytic bacteria

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) constitute a group of toxic and persistent organic pollutants, which are widespread in the environment [53]. The

presence of this type of compounds may be the result of both natural processes, such as forest fires and volcanic eruptions, as well as industrial and agricultural human activities [3]. Many endophytic bacteria are able to grow in the presence of PAHs, and some can degrade these compounds, using them as a source of carbon and energy. An example may be the endophytic strains *Pseudomonas putida* PD1 and *Pseudomonas* sp. Ph6 degrading phenanthrene [28, 66] or isolated from the Canadian horseweed (*Conyza canadensis*) and red clover (*Trifolium pratense* L.) *Stenotrophomonas* sp. P1 and *Pseudomonas* sp. P3 capable of degrading naphthalene, phenanthrene, fluorene, pyrene and benzo (*a*)pyrene [86].

The presence of phenol and its derivatives in the environment is associated with the widespread use of these compounds, among others, for the production of dyes, paints, varnishes, detergents, herbicides and medicines. These compounds can also be formed as by-products of many industrial processes, such as: petroleum processing, hard coal coking and steel production. They may also arise from the biodegradation of aromatic polymers, such as lignin and tannins [40]. The ability to degrade phenols has been demonstrated, inter alia, in endophytic bacteria isolated from roots and stems of hemp (*Cannabis sativa*), growing in areas contaminated with hydrocarbons [22]. Among the isolated bacteria, the greatest potential for degrading this aromatic substrate was demonstrated by three isolates, identified as: *Pseudomonas* sp. (AIEB-4), *Alcaligenes* sp. (AIEB-6) and *Achromobacter* sp. (AIEB-7). All three strains showed the ability to grow in the presence of 1000 mg/L⁻¹ phenol. During the 96-hour culture, *Achromobacter* sp. (AIEB-7) was able to degrade 81% of the introduced dose of phenol, while *Pseudomonas* sp. (AIEB-4) and *Alcaligenes* sp. (AIEB-6) utilised 72% and 69% of the initial dose of phenol, respectively.

Among all types of pollution, one of the main threats to the environment and human health are pesticides. Chlorpyrifos [O, O-Diethyl O- (3,5,6-trichloro-2-pyridinyl) phosphorothioate] (CP) is an insecticide widely used in agriculture. This compound accumulates in the environment, posing a threat to people and animals. It has been shown that CP can cause liver and kidney damage and negatively affect sperm activity. In addition, it is considered one of the factors responsible for the occurrence of breast cancer in women. The ability to degrade this insecticide has been demonstrated in the *Sphingomonas* sp. strain. HJY, isolated from Chinese chives (*Allium tuberosum* Rottl. ex Spreng) [11].

2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) is one of the most widespread herbicides [37]. 2,4-D salts are easily absorbed by the roots of plants and undergo translocation into meristematic tissues of roots and shoots, where the compound acts as a plant hormone, causing

their uncontrolled growth. The mobility of 2,4-D in soil often leads to the pollution of surface and groundwater. Although the herbicide is biodegradable, it may persist in soil and water [16]. The use of 2,4-D on a large scale poses a threat to both human health and the environment [37]. The ability of endophytic bacteria to degrade 2,4-D has been demonstrated in an experiment carried out by Germaine et al. [16]. In these studies, the endophytic strain *P. putida* VM1450, derived from internal poplar tissues (*Populus deltoids*), was introduced into peas (*Pisum sativum*). The inoculated plants were treated with 2,4-D. It was found that strain VM1450 actively colonised the internal tissues of the plant, and the inoculated plants were characterised by a greater ability to remove 2,4-D from the soil and did not accumulate this herbicide in the tissues [16].

Production and processing of ammunition led to environmental pollution with compounds such as: 2,4,6-trinitrotoluene (TNT), hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) or octa-hydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine (HMX). These toxic and mutagenic compounds are characterised by high durability and resistance to chemical agents, biological oxidation and hydrolysis [52]. A study by Van Aken et al. [73] has demonstrated that the endophytic strain of *Methylobacterium* sp. BJ001, isolated from leaves and roots of poplars (*Populus deltoids x nigra* DN34), exhibits the capability of degrading TNT, RDX and HMX. After 55 days of BJ001 strain culturing in the presence of the above compounds, total degradation of 25 mg/L TNT, 20 mg/L RDX and 2.5 mg/L HMX was found.

Selected bacterial species isolated from roots, shoots and rhizosphere of sycamore maple (*Acer pseudoplatanus*) growing in the soil contaminated with TNT, were used by Thijs et al. [71] to form a bacterial consortium CAP9. The consortium combines the ability to efficiently transform TNT and promote plant growth. It has been proven that the inoculation of the bent grass (*Agrostis capilaris*) with this bacterial consortium stimulated the growth of plants growing in soil contaminated with TNT. For the first time, these studies demonstrated that the endophytic bacterium *Stenotrophomonas chelatiphagus* isolated from the leaves and *Variovorax ginsengisola* strain isolated from the sycamore maple leaf can transform TNT into hydroxylamine and amino dinitrotoluene.

Currently, many studies focus on the possibility of using endophytic methanotrophs in the bioremediation of greenhouse gases, in particular methane and carbon dioxide. These bacteria contribute to the efficient capture of methane produced in peat bogs, thus limiting its emission into the atmosphere [67]. Methanotrophic bacteria are capable of using methane as the sole source of carbon and energy. The key enzyme responsible for oxidation of methane is methane monooxygenase.

This enzyme can exist in two forms, as sMMO and pMMO. The sMMO form is present in the cytosol, whereas pMMO is associated with the cell membrane. Both forms of this enzyme have been shown to oxidise a number of aliphatic and aromatic compounds [64] and may be present in the cell simultaneously, but their activity is directly dependent on the concentration of copper ions (Cu^{2+}) in the biomass [68]. It has been demonstrated that endophyte methanotrophs, *Methylocella palustris* and *Methylocapsa acidophila*, colonizing tissues of the moss of the genus *Sphagnum*, oxidise methane to carbon dioxide, which is then used by plants in the process of photosynthesis. Methanotrophic endophytes colonizing *Sphagnum* spp. can reduce the emission of CH_4 and CO_2 from peat bogs by as much as 50% [67]. Methanotrophic endophytes can also be used to inoculate plants such as: reed (*Phragmites* sp.), reed mace (*Typha* sp.) and willow (*Salix* sp.), inhabiting an artificial wetland system. Moreover, they can also be introduced into arable crops and contribute to the promotion of their growth [67].

5. Genetic basis of xenobiotics degradation in endophytic bacteria

In the genomes of the majority of isolated endophytic bacteria capable of degrading hydrocarbons, the gene encoding the alkane monooxygenase (*alkB*) and the gene encoding cytochrome P450 hydroxylase (*CYT153*) have been found [2, 27, 49]. For example, in the studies of Kukla et al. [29] it was proven that the majority of endophytic bacteria obtained from the perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), a plant growing in an environment contaminated with petroleum hydrocarbons, possessed the *CYT153* gene. In the genome of one of the obtained strains, *Rhodococcus fascians* L11, the presence of the gene *alkH* encoding alkane hydroxylase and the gene *pah* encoding the alpha subunit of PAH hydroxylating dioxygenases was found. Endophytic strains of *Microbacterium* sp. and *Rhodococcus* sp. (L7, S12, S23, S25) had the *alkB* gene in their genome. In the genome, none of the isolates obtained showed the presence of the *c23o* gene encoding catechol 2,3-dioxygenase, the key enzyme in the degradation pathway of monocyclic aromatic hydrocarbons. In turn, in studies carried out by Siciliano et al. [63] it was shown that in the soils contaminated with petroleum, two genes encoding enzymes responsible for hydrocarbon degradation, *alkB* gene, encoding alkane monooxygenase and *ndoB*, encoding naphthalene dioxygenase were more common in endophytic bacteria than in the microorganisms living in the rhizosphere. Among the endophytic strains, genes encoding enzymes associated with the decomposition of nitro compounds, such as,

for example, nitrotoluene monooxygenase (*ntnM*) and 2-nitrotoluene reductase (*ntdAa*) were also common [63]. However, the studies conducted by Andria et al. [4] on the expression of the *alkB* gene encoding the alkane monooxygenase in two bacterial strains showed that the endophytic strain *Pseudomonas* sp. ITRI53 isolated from the endosphere of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) exhibited a much higher level of expression of the *alkB* gene than the strain *Rhodococcus* sp. ITRH43, obtained from the rhizosphere of this plant. Moreover, the expression of the *alkB* gene occurred not only in the rhizosphere but also *in planta*.

Differences in the expression of genes encoding degradation enzymes in endophytic bacteria were also demonstrated by Yousaf et al. [82] in the studies on the expression of the *CYP153* bacterial gene encoding cytochrome P450 hydroxylase, an enzyme involved in hydrocarbon degradation. In these studies, three different plant species: Italian rye-grass (*Lolium multiflorum* var. Taurus), the common Bird's-foot trefoil (*Lotus corniculatus* var. Leo) and alfalfa (*Medicago sativa* var. Harpe) were inoculated with three different strains of *Enterobacter ludwigii*. It was found that the bacterial strains introduced into plants differed significantly in the level of expression and the number of genes involved in the degradation of alkanes depending on the plant species of the host, the compartment within plants, as well as at various stages of their growth. The highest level of gene expression was observed in the roots and shoots of the Italian ryegrass. All strains demonstrated the expression of the *CYP153* gene in all plant compartments, which indicates their active role in the degradation of diesel oil in the plant. The highest rate of diesel oil degradation (up to 68%) was displayed by two strains: *E. ludwigii* ISI10-3 and *E. ludwigii* BRI10-9 introduced into the Italian ryegrass or alfalfa.

Genetic information encoding the synthesis of enzymes involved in the degradation of organic compounds is most often located in mobile genetic elements such as plasmids or transposons which enable HTG between bacteria [21]. HTG is the main mechanism by means of which microorganisms acquire new metabolic pathways, thanks to which they adapt quickly to the changes which occur in the environment [74]. It allows for increasing the population and the activity of indigenous endophytic bacteria capable of decomposing organic compounds [1]. Moreover, HTG enables the acquisition of endophytic bacteria with new catabolic pathways and heterologous gene expression, especially when the donor and recipient belong to related species [18, 65]. *Burkholderia cepacia* FX2 is a bacterium showing the capability of toluene degradation, hosting a plasmid carrying a gene encoding catechol 2,3-dioxygenase (C23O), a key enzyme in the pathway of monocyclic aromatic hydrocarbon degradation. Introduction of

the FX2 strain into maize (*Zea mays*) and durum wheat (*Triticum durum*) positively influenced the growth of these plants and also led to the reduction of evapotranspiration of toluene to the atmosphere. Horizontal transfer of the plasmid with the *c23o* gene among endophytic bacteria naturally occurring in these plants allowed for increasing the population of bacteria capable of pollutant degradation and promotion of plant growth [74]. In turn, *Burkholderia phytofirmans* PSJN is an endophyte strain which successfully colonises many plants, stimulating their growth and vitality. The genome of this bacterium consists of two chromosomes and one plasmid equipped, among others, with genes encoding decomposition pathways of many complex organic compounds. This bacterium carries genes encoding enzymes involved in the degradation of aliphatic compounds, such as alkane monooxygenase (*alkB*) and cytochrome P450 hydroxylase. Its genome also contains at least 15 genes encoding dioxygenases, enzymes involved in aromatic- ring fission, such as catechol 1,2-dioxygenase, catechol 2,3-dioxygenase, 2-nitropropane dioxygenase, and protocatechuate 3,4-dioxygenase. Moreover, an impressive number of *GST* genes (24 copies), which are components of the operons responsible for the degradation of aromatic compounds, have been found in the genome of this strain [41]. Examples of endophytic bacteria, in whose genomes the presence of genes involved in the degradation of organic pollutants has been found, are shown in Table I.

6. Mechanisms enhancing microbe-assisted phytodegradation

Due to the presence of organic pollutants, the availability of minerals, including nitrogen, phosphorus and iron in the soil may be limited, which leads to limitation of plant growth [27]. The bioavailability of minerals in contaminated soils is one of the main factors limiting the effectiveness of phytoremediation [1]. Among bacterial endophytes promoting the growth of plants, it is possible to find such that have the ability to fix free atmospheric nitrogen (diazotrophic bacteria). Recent studies have shown that some bacterial endophytes capable of degrading organic compounds also demonstrate the capability of fixing free nitrogen [27]. Dashti et al. [9] report that bacteria capable of degrading organic pollutants and fixing free nitrogen increase the degradation of hydrocarbons in soils contaminated with petroleum and low in nitrogen. Bacterial endophytes are also able to synthesise specific organic compounds, siderophores, which enable the reduction of Fe^{3+} to Fe^{2+} ions, more easily available to plants [27]. Another macro-component, important for the growth and development of organisms is phosphorus [30]. Bacteria associated with plants may increase the solubility of inorganic phosphates through the synthesis of organic acids and phosphatases [27]. In addition to the minerals discussed above, endophytic bacteria supply essential vitamins [60] to plants, including vitamin B1 [39] and B12 [67].

Table I
Examples of endophytic bacteria, in whose genomes the presence of genes involved in the degradation of organic pollutants has been found

Bacterial endophyte	Host plant(s)	Gene	Coded enzyme	References
<i>Pseudomonas</i> sp. ITRI53 <i>Pseudomonas mandelii</i> 6FXS	<i>Lolium multiflorum</i> L. <i>Lotus corniculatus</i>	<i>alkB</i>	alkane monooxygenase	[4] [51]
<i>Rhodococcus fascians</i> L11 <i>Rhodococcus</i> sp. 4WK	<i>Lolium multiflorum</i> L., <i>Oenothera biennis</i>	<i>alkH</i>	alkane hydroxylase	[29] [51]
<i>Enterobacter ludwigii</i> ISI10-3 <i>E. ludwigii</i> ISI10-4 <i>E. ludwigii</i> BRI10-9 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 5XS <i>Pseudomonas umsongensis</i> 8.1WK	<i>Lolium multiflorum</i> var. Taurus, <i>Lotus corniculatus</i> var. Leo, <i>Medicago sativa</i> var. Harpe <i>Lotus corniculatus</i> , <i>Oenothera biennis</i>	CYP153	cytochrome P450 hydroxylase	[82] [51]
<i>Burkholderia cepacia</i> FX2	<i>Zea mays</i> , <i>Triticum durum</i>	<i>c23o</i>	catechol 2,3-dioxygenase	[74]
<i>Pseudomonas putida</i> VM1441 (pNAH7)	<i>Pisum sativum</i>	<i>ndoB</i>	naphthalene dioxygenase	[15]
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 17397	<i>Elymus angustus</i> Trin.	<i>nidA</i>	naphthalene dioxygenase	[54]
<i>Pseudomonas syringae</i> Lz4W <i>Pseudomonas poae</i> DSM	<i>Agropyron elongatum</i>	<i>phnAc</i>	phenanthrene dioxygenase	[54]
<i>Rhodococcus fascians</i> L11	<i>Lolium multiflorum</i> L.	<i>pah</i>	alpha subunit of the PAH-ring hydroxylating dioxygenases	[29]
<i>Pseudomonas</i> sp. BF1-3	<i>Platycodon grandiflorus</i>	<i>ophB</i>	organophosphorus hydrolase	[44]
<i>Burkholderia cepacia</i> VM1468	<i>Populus deltoides</i> <i>x(trichocarpa x deltoides)</i>	<i>tomA</i>	toluene monooxygenase	[70]
<i>Burkholderia phytofirmans</i> PSJN	<i>Zea mays</i>	<i>GST</i>	glutathione-S-transferase	[41]

One of the most important phytohormones produced by bacterial endophytes is indole-3-acetic acid (IAA), belonging to the group of auxins. This phytohormone stimulates root growth, activates cell division, and induces formation of lateral roots [56]. In addition, IAA can serve as a signal molecule in the communication between bacterial cells [18]. Bacterial IAA also indirectly impacts the regulation of ethylene level in the plant. It may increase the transcription and activity of the plant enzyme of ACC synthase, catalysing the formation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC), a direct precursor of ethylene [17]. Research by Sheng et al. [65] conducted on *Enterobacter* sp. 12J1 isolated from garlic (*Allium macrostemon*), growing in areas contaminated with hydrocarbons, showed that this strain is not only capable of degrading pyrene, but also of producing IAA. In addition, it possesses the ability to produce siderophores and solubilise inorganic phosphorus. After inoculation of wheat and maize with the *Enterobacter* sp. 12J1 strain, it was found that it effectively colonises internal tissues of roots and shoots and the rhizosphere of the studied plants. Plants inoculated with this strain were characterised by increased biomass production.

Ethylene (C₂H₄) is an important phytohormone, which modulates the growth and metabolism of plant cells. However, its surplus, produced by plants in response to environmental stress, may inhibit root growth, lateral root formation and root hairs [30]. In the ethylene biosynthesis pathway, S-adenosylmethionine (SAM) is converted by ACC synthase to 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC), which is then converted to ethylene by ACC oxidase. Bacteria exhibit the capability of synthesising ACC deaminase, an enzyme which catalyses the decomposition of ACC into ammonia and α -ketobutyric acid, thus lowering the level of ethylene in the plant [17]. Recent studies have shown that bacterial endophytes, which both produce ACC deaminase and exhibit the capability of hydrocarbon degradation, significantly contribute to the production of plant biomass, as opposed to bacteria that have only one of these features [27]. For example, Yousaf et al. [82] demonstrated a positive correlation between the activity of ACC deaminase present in *E. ludwigii* ISI10-3 and BRI10-9 endophytic strains and the improvement in the efficiency of plant root growth inoculated with these isolates. The examined strains successfully colonised the inside of the roots and the rhizosphere of the plants. In turn, studies by Afzal et al. [2] showed that *Burkholderia phytofirmans* PsJN isolated from surface sterilised onion roots (*Allium cepa*), after introduction into acacia (*Acacia amplicep*) showed a high activity of ACC deaminase, which stimulated plant growth and biomass production in soil contaminated with textile sewage.

Bacterial endophytes may also indirectly stimulate plant growth in soils contaminated with organic compounds by inhibiting the growth and the activity of phytopathogens, induction of the plant resistance mechanisms, synthesis of hydrolytic enzymes, and the distribution of organic pollutants [27].

Many bacterial endophytes exhibit antagonistic effect against numerous fungi and bacteria [56]. They can inhibit the activity of enzymes or degrade toxins produced by pathogens [75]. Some of them are capable of producing lytic enzymes degrading fungal cell walls [39], others produce hydrogen cyanide [7, 29, 50] or many secondary metabolites, including antibiotics [56]. Research by Bisht et al. [7] demonstrated that the endophytic strain of *Bacillus* sp. SBER3 isolated from the poplar (*Populus deltoides*) is able to synthesise IAA, ACC deaminases and siderophores. Moreover, it inhibits under *in vitro* conditions, the growth of phytopathogenic fungi: *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolin*, *Fusarium oxysporum* and *Fusarium solani* with 60%, 61.5%, 64.3% and 12% respectively. In addition to promoting plant growth, this strain is also capable of degrading polycyclic aromatic hydrocarbons. It was found that after re-inoculation of this strain to the plant, it contributed to the growth of the roots and shoots, the growth of the trunk perimeter, both in the control soil and in the soil contaminated with hydrocarbons [7]. Table II presents examples of endophytic bacteria promoting the growth of plants and exhibiting the ability to degrade organic pollutants.

Some endophytic bacteria useful in phytoremediation are able to produce surface-active agents – biosurfactants [12, 29, 48, 83]. These intracellular, extracellular metabolites or ones associated with the cell wall of microorganisms can be divided into two groups. The first group includes compounds of relatively low molecular weight (glycolipids, phospholipids, lipopeptides), the second group is formed by high molecular weight substances, such as emulsan, liposan or polysaccharide-protein complexes. Low molecular weight biosurfactants generally strongly reduce interphase and surface tension. On the other hand, high molecular weight biosurfactants are mostly effective emulsifiers [47, 48]. The biosurfactants, as well as microorganisms that produce them, play a special role in the bioremediation of environments contaminated with petroleum hydrocarbons [32]. The remediation of such environments is limited due to the high hydrophobicity of this type of contaminants and their low solubility in water. These compounds are adsorbed on soil particles or trapped in soil pores and thus become inaccessible to microorganisms and plants [12, 83]. The presence of biosurfactants produced by microorganisms contributes to the increased bioavailability of organic pollutants and facilitates their uptake by plants [12]. By

Table II
Examples of endophytic bacteria promoting the growth of plants and exhibiting the ability to degrade organic pollutants

Bacterial endophyte	Host plant(s)	Plant growth-promoting traits	Degraded organic pollutants	References
<i>Pseudomonas putida</i> L1	<i>Lolium perenne</i> L.	production of IAA, production of siderophores, production of HCN	diesel oil	[29]
<i>Enterobacter asburiae</i> 4FJK	<i>Hieracium piloselloides</i>	production of ACC deaminase, production of IAA, production of HCN, production of NH ₃	diesel oil	[50]
<i>Pseudomonas</i> sp. 1FWK	<i>Oenothera biennis</i>	production of ACC deaminase, production of IAA, production of siderophores	diesel oil	[51]
<i>Enterobacter ludwigii</i> ISI10-3, <i>E. ludwigii</i> ISI10-4, <i>E. ludwigii</i> BRI10-9	<i>Lolium multiflorum</i> var. Taurus, <i>Lotus corniculatus</i> var. Leo, <i>Medicago sativa</i> var. Harpe	production of ACC deaminase	alkanes	[82]
<i>Bacillus</i> sp. SBER3	<i>Populus deltoides</i>	production of ACC deaminase, production of IAA, production of siderophores, production of lytic enzymes	anthracene, naphthalene, benzene, toluene, xylene	[7]
<i>Enterobacter</i> sp. 12J1	<i>Allium macrostemon</i>	production of IAA, production of siderophores, phosphate solubilization	pyrene	[65]
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> F3B	<i>Chrysopogon zizanioides</i>	production of IAA, nitrogen fixation	toluene	[19]
<i>Burkholderia cepacia</i> FX2	<i>Zea mays</i> , <i>Triticum durum</i>	production of siderophores, phosphate solubilization	toluene	[74]
<i>Burkholderia phytofirmans</i> PSJN	<i>Acacia amplicep</i>	production of ACC deaminase	textile wastewaters	[2]
<i>Pseudomonas</i> sp. E46	<i>Spirodela polyrhiza</i>	production of IAA	fenpropathrin	[75]

interacting directly with hydrocarbons, biosurfactants increase their solubility in water, and by interacting with the surface of bacterial cells degrading these substances, they contribute to their hydrophobicity [5, 12]. Moreover, the presence of biosurfactants in the environment may impact both individual cells and entire microbial populations. For example, some cyclic lipopeptides produced by the bacteria of the genus *Bacillus* and *Pseudomonas*, apart from very high surface activity, are characterised by biological activity – inhibiting the growth of phytopathogens, they contribute to activating induced systemic resistance (ISR), participate in the formation of biofilms or in swarming motility [46, 57]. The ability to produce biosurfactants has been demonstrated in such endophytic strains as *Pseudomonas* sp., *Microbacterium* sp. and *Kocuria* sp. isolated from *Lolium perenne* [29], *Bacillus subtilis* K1 strain isolated from the roots of banyan fig (*Ficus benghalensis* L.) [48] and *Microbacterium* sp. M87 derived from the water hyacinth tissues (*Eichhornia crassipes*) [32]. Research by Wu et al. [79] proved that *Pseudomonas aeruginosa* L10 strain, isolated from the roots of the reed (*Phragmites australis*), producing a biosurfactant which effectively reduces surface tension, shows high degradation activity towards various hydrocarbons. Sequencing the

genome of this strain showed the presence of *rhlABRI* genes encoding enzymes involved in the biosynthesis of rhamnolipid, one of the most commonly studied surface-active agents. In turn, in 2014, Zhang et al. [83] demonstrated that inoculation of plants with a bacterial consortium containing an endophytic *B. subtilis* J4AJ strain capable of diesel oil degradation and the endophytic *Pseudomonas* sp. U-3 strain producing a biosurfactant which effectively reduces surface tension, promoted the removal of diesel oil from the environment.

Biosurfactants produced by endophytes can be a good alternative to the increasingly controversial synthetic surface-active agents used to support bioremediation processes [31]. The use of synthetic surfactants raises concerns, especially due to their toxicity and resistance to biodegradation, which may lead to an increase in environmental pollution with this type of compounds [8, 23, 42]. The ability to degrade anionic surfactants has been demonstrated in soil bacteria *B. subtilis* and *Bacillus cereus* [49] and in bacteria of the genus *Pseudomonas* isolated from soil and water [58]. Synthetic surfactants may also adversely impact the chemical and physical structure of soil and accumulate in groundwater [61].

7. Summary

The use of endophytic bacteria in the remediation of organic pollutants is currently one of the most important research directions in environmental biotechnology. Numerous studies confirm that the relationship between plants and their internal symbiotes clearly contributes to the effective course of bioremediation. Therefore, it is worth exploring these interactions in order to develop methods and strategies to make better use of these interactions. Newly isolated endophytic bacteria may become a starting point for further studies on their ability to degrade organic pollutants or support plant growth. Identification and understanding of the genetic basis of interactions between plants and endophytes, using the latest molecular biology techniques, will allow the full potential of this group of microorganisms to be exploited.

Acknowledgments

The article was created as a result of implementing a project with the funds of the National Science Centre in Kraków, granted under the contract No. UMO-2017/27/N/NZ9/02160.

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

1. Afzal M., Khan Q.M., Sessitsch A.: Endophytic bacteria: prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants. *Chemosphere*, **117**, 232–242 (2014)
2. Afzal M., Shabir G., Tahseen R., Ejazul I., Iqbal S., Khan Q.M.: Endophytic *Burkholderia* sp. strain PsJN improves plant growth and phytoremediation of soil irrigated with textile effluent. *Clean Soil Air Water*, **42**, 1304–1310 (2014)
3. Andreolli M., Lampis S., Poli M., Gullner G., Biró B., Vallini G.: Endophytic *Burkholderia fungorum* DBT1 can improve phytoremediation efficiency of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemosphere*, **92**, 688–694 (2013)
4. Andria V., Reichenauer T.G., Sessitsch A.: Expression of alkane monooxygenase (*alkB*) genes by plant-associated bacteria in the rhizosphere and endosphere of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) grown in diesel contaminated soil. *Environ. Pollut.* **157**, 3347–3350 (2009)
5. Arslan M., Imran A., Khan Q.M., Afzal M.: Plant-bacteria partnerships for the remediation of persistent organic pollutants. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 1–15 (2015)
6. Barac T., Taghavi S., Borremans B., Provoost A., Oeyen L., Colpaert J.V., Vangronsveld J., van der Lelie D.: Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. *Nat. Biotechnol.* **22**, 583–588 (2004)
7. Bisht S., Pandey P., Kaur G., Aggarwal H., Sood A., Sharma S., Kumar V., Bisht N.S.: Utilization of endophytic strain *Bacillus* sp. SBER3 for biodegradation of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in soil model system. *Eur. J. Soil. Biol.* **60**, 67–76 (2014)
8. Chen P., Pickard M., Gray M.: Surfactant inhibition of bacterial growth on solid anthracene. *Biodegradation*, **11**, 341–347 (2000)
9. Dashti N., Khanafer M., El-Nemr I., Sorkhoh N., Ali N., Radwan S.: The potential of oil utilizing bacterial consortia associated with legume root nodules for cleaning oily soils. *Chemosphere*, **74**, 1354–1359 (2009)
10. Doty S.L.: Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytol.* **179**, 318–333 (2008)
11. Feng F., Ge J., Li Y., Cheng J., Zhong J., Yu X.: Isolation, colonization, and chlorpyrifos degradation mediation of the endophytic bacterium *Sphingomonas* strain HJY in chinese chives (*Allium tuberosum*). *J. Agric. Food Chem.* **65**, 1131–1138 (2017)
12. Feng N.X., Yu J., Zhao H.M., Cheng Y.T., Mo C.H., Cai Q.Y., Li Y.W., Li H., Wong M.H.: Efficient phytoremediation of organic contaminants in soils using plant-endophyte partnerships. *Sci. Total Environ.* **583**, 352–368 (2017)
13. Ferreira A., Quecine M.C., Lacava P.T., Oda S., Arau W.L.: Diversity of endophytic bacteria from Eucalyptus species seeds and colonization of seedlings by *Pantoea agglomerans*. *FEMS Microbiol. Lett.* **287**, 8–14 (2008).
14. Gałązka A.: Zanieczyszczenia gleb substancjami ropopochodnymi z uwzględnieniem biologicznych metod ich uzdatniania. *Kosmos*, **64**, 146–154 (2015)
15. Germaine K.J., Keogh E., Ryan D., Dowling D.N.: Bacterial endophyte mediated naphthalene phytoprotection and phytoremediation. *FEMS Microbiol. Lett.* **296**, 226–234 (2009)
16. Germaine K.J., Liu X., Cabellos G.G., Hogan J.P., Ryan D., Dowling D.N.: Bacterial endophyte-enhanced phytoremediation of the organochlorine herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *FEMS Microbiol. Ecol.* **57**, 302–310 (2006)
17. Glick B.R.: Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* **169**, 30–39 (2014)
18. Haridoim P.R., van Overbeek L.S., Elsas J.D.: Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol.* **16**, 463–471 (2008)
19. Ho Y.N., Hsieh J.L., Huang C.C.: Construction of a plant-microbe phytoremediation system: combination of vetiver grass with a functional endophytic bacterium, *Achromobacter xylosoxidans* F3B, for aromatic pollutants removal. *Bioresource Technol.* **145**, 43–47 (2013)
20. Ho Y.N., Mathew D.C., Hsiao S.C., Shih C.H., Chien M.F., Chiang H.M., Huang C.C.: Selection and application of endophytic bacterium *Achromobacter xylosoxidans* strain F3B for improving phytoremediation of phenolic pollutants. *J. Hazard. Mater.* **219–220**, 43–49 (2012)
21. Ijaz A., Imran A., Anwar ul Haq M., Khan Q., Afzal M.: Phytoremediation: recent advances in plant-endophytic synergistic interactions. *Plant Soil*, **392**, 1–17 (2015)
22. Iqbal A., Arshad M., Hashmi I., Karthikeyan R., Gentry T.J., Schwab A.P.: Biodegradation of phenol and benzene by endophytic bacterial strains isolated from refinery wastewater-fed *Cannabis sativa*. *Environ. Technol.* **13**, 1–10 (2017)
23. Jin D., Jiang X., Ou Z.: Effects of concentration, head group, and structure of surfactants on the degradation of phenanthrene. *J. Hazard. Mater.* **144**, 215–221 (2007)
24. Johnston-Monje D., Raizada, M. N.: Conservation and diversity of seed associated endophytes in *Zea* across boundaries of evolution, ethnography and ecology. *PLoS One* **6**, e20396 (2011)
25. Kang J.W., Khan Z., Doty S.L.: Biodegradation of trichloroethylene by an endophyte of hybrid poplar. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 3504–3507 (2012)
26. Karnwal.: Use of Bio-Chemical Surfactant Producing Endophytic Bacteria Isolated from Rice Root for Heavy Metal Bioremediation. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* **41**, 699–714 (2018)
27. Khan S., Afzal M., Iqbal S., Khan Q.M.: Plant-bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils. *Chemosphere*, **90**, 1317–1332 (2013)

28. Khan Z., Roman D., Kintz T., delas Alas M., Yap R., Doty S.: Degradation, phytoprotection and phytoremediation of phenanthrene by endophyte *Pseudomonas putida*, PD1. *Environ. Sci. Technol.* **48**, 12221–12228 (2014)
29. Kukla M., Płociniczak T., Piotrowska-Seget Z.: Diversity of endophytic bacteria in *Lolium perenne* and their potential to degrade petroleum hydrocarbons and promote plant growth. *Chemosphere*, **117**, 40–46 (2014)
30. Li H.Y., Wei D.Q., Shen M., Zhou Z.P.: Endophytes and their role in phytoremediation. *Fungal Divers.* **54**, 11–18 (2012)
31. Li J.L., Chen B.H.: Surfactant-mediated biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Materials*, **2**, 76–94 (2009)
32. Lima J.M.S., Pereira J.O., Batista I.H., Pereira Junior R.C., Barroso H. dos S., Costa Neto P. de Q., Jackisch-Matsuura A.B., França S de C., Azevedo J.L.: Biosurfactants produced by *Microbacterium* sp. isolated from aquatic macrophytes in hydrocarbon-contaminated area in the Rio Negro, Manaus, Amazonas. *Acta Sci. Biol. Sci.* **39**, 13–20 (2017)
33. Liu J., Liu S., Sun K., Sheng Y., Gu Y., Gao Y.: Colonization on root surface by a phenanthrene degrading endophytic bacterium and its application for reducing plant phenanthrene contamination. *PLoS ONE*, **9**, e108249 (2014)
34. Liu X., Germaine K.J., Ryan D., Dowling D.N.: Whole-cell fluorescent biosensors for bioavailability and biodegradation of polychlorinated biphenyls. *Sensors*, **10**, 1377–1398 (2010)
35. Łuksa A., Mendrycka M., Stawarz M.: Bioremediacja gleb zalejonych z wykorzystaniem sorbentów. *Nafta-Gaz*, **66**, 810–818 (2010)
36. Marecik R., Króliczak P., Cyplik P.: Fitoremediacja – alternatywa dla tradycyjnych metod oczyszczenia środowiska. *Biotechnologia*, **74**, 88–97 (2006)
37. McGuinness M., Dowling D.: Plant-associated bacterial degradation of toxic organic compounds in soil. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **6**, 2226–2247 (2009)
38. McGuinness M.C., Mazurkiewicz V., Brennan E., Dowling D.N.: Dechlorination of pesticides by a specific bacterial glutathione S-transferase, BphKLB400: Potential for bioremediation. *Eng. Life Sci.* **7**, 611–615 (2007)
39. Mercado-Blanco J., Lugtenberg B.J.J.: Biotechnological Applications of Bacterial Endophytes. *Current Biotechnology*, **3**, 60–75 (2014)
40. Michałowicz J., Duda W.: Phenols-sources and toxicity. *Pol. J. Environ. Stud.* **16**, 347–362 (2007)
41. Mitter B., Petric A., Shin M.W., Chain P.S., Hauberg-Lotte L., Reinhold-Hurek B., Nowak J., Sessitsch A.: Comparative genome analysis of *Burkholderia phytofirmans* PsJN reveals a wide spectrum of endophytic lifestyles based on interaction strategies with host plants. *Front Plant Sci.* **4**, 120 (2013)
42. Mohan P.K., Nakhla G., Yanful E.K.: Biokinetics of biodegradation of surfatants under aerobic, anoxic and anaerobic conditions. *Water Res.* **40**, 533–540 (2006)
43. Moore F.P., Barac T., Borremans B., Oeyen L., Vangronsveld J., van der Lelie D., Campbell C.D., Moore E.R.B.: Endophytic bacterial diversity in poplar trees growing on a BTEX-contaminated site: the characterisation of isolates with potential to enhance phytoremediation. *Syst. Appl. Microbiol.* **29**, 539–556 (2006)
44. Nath, D., Haque, A., Asraful, S., Dae, H., Keun, M.: Ecotoxicology and Environmental Safety Cloning and expression of *ophB* gene encoding organophosphorus hydrolase from endophytic *Pseudomonas* sp. BF1-3 degrades organophosphorus pesticide chlorpyrifos. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **108**, 135–141 (2014)
45. Oliveira V., Gomes N.C., Almeida A., Silva A.M., Silva H., Cunha A.: Microbe-assisted phytoremediation of hydrocarbons in estuarine environments. *Microb. Ecol.* **69**, 1–12 (2015)
46. Ongena M., Jacques P.: *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* **16**, 115–125 (2008)
47. Pacwa-Plociniczak M., Plaza G.A., Piotrowska-Seget Z., Cameotra S.S.: Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *Int. J. Mol. Sci.* **12**, 633–654 (2011)
48. Pathak K.V., Keharia H.: Application of extracellular lipopeptide biosurfactant produced by endophytic *Bacillus subtilis* K1 isolated from aerial roots of banyan (*Ficus benghalensis*) in microbially enhanced oil recovery (MEOR). *Biotech.* **4**, 41–48 (2014)
49. Patrao S., Acharya A., Suvarna N., Sequeira M.: Degradation of anionic surfactants by *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus*. *Pharm Biol Sci.* **3**, 42–45 (2012)
50. Pawlik M., Piotrowska-Seget Z.: Endophytic bacteria associated with *Hieracium piloselloides*: Their potential for hydrocarbon-utilizing and plant growth-promotion. *J. Toxicol. Environ. Heal. Part A.* **78**, 860–870 (2015)
51. Pawlik M., Cania B., Thijs S., Vangronsveld J., Piotrowska-Seget Z.: Hydrocarbon degradation potential and plant growth-promoting activity of culturable endophytic bacteria of *Lotus corniculatus* and *Oenothera biennis* from a long-term polluted site. *Environ. Sci. Pollut. Res.* DOI 10.1007/s11356-017-9496-1 (2017)
52. Panz K, Miksch K.: Phytoremediation of explosives (TNT, RDX, HMX) by wildtype and transgenic plants. *J. Environ. Manage.* **113**, 85–92 (2012)
53. Peng A., Liu J., Gao Y., Chen Z.: Distribution of endophytic bacteria in *Alopecurus aequalis* Sobol and *Oxalis corniculata* L. from soils contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons. *PLoS ONE*, **8**, e83054 (2013)
54. Phillips L.A., Germida J.J., Farrell R.E., Greer Ch.W.: Hydrocarbon degradation potential and activity of endophytic bacteria associated with prairie plants. *Soil Biol. Biochem.* **40**, 3054–3064 (2008)
55. Pilon-Smits E.: Phytoremediation. *Ann. Rev. Plant Biol.* **56**, 15–39 (2005)
56. Pisarska K., Pietr S.J.: Bakterie endofityczne – ich pochodzenie i interakcje z roślinami. *Post. Mikrobiol.* **53**, 141–151 (2014)
57. Raaijmakers J. M., De Bruijn I., Nybroe O., Ongena M.: Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: More than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiol. Rev.* **34**, 1037–1062 (2010)
58. Rebello S., Asok A.K., Mundayoor S., Jisha M.S.: Surfactants: Toxicity, remediation and green surfactants. *Environ. Chem. Lett.* **12**, 275–287 (2014)
59. Rosenblueth M., Martínez-Romero E.: Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **19**, 827–837 (2006)
60. Ryan R., Germaine K., Franks A., Ryan D.J., Dowling D.N.: Bacterial endophyte: recent developments and applications. *FEMS Microbiol. Lett.* **278**, 1–9 (2008)
61. Sachdev D.P., Cameotra S.S.: Biosurfactants in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**, 1005–1016 (2013)
62. Santoyo G., Moreno-Hagelsieb G., Orozco-Mosqueda M.C., Glick B.R.: Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiol. Res.* **183**, 92–99 (2016)
63. Siciliano S.D., Fortin N., Mihoc A., Wisse G., Labelle S., Beaumier D., Ouellette D., Roy R., Whyte L.G., Banks M.K., Schwab P., Lee K., Greer C.W.: Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 2469–2475 (2001)
64. Semrau J.D.: Bioremediation via methanotrophy: overview of recent findings and suggestions for future research. *Front. Microbiol.* **2**, 209 (2011)
65. Sheng X., Chen X., He L.: Characteristics of an endophytic pyrene-degrading bacterium of *Enterobacter* sp. 12J1 from *Allium macrostemon* Bunge. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **62**, 88–95 (2008)

66. Sun K., Liu J., Gao Y., Jin L., Gu Y., Wang W. Isolation, plant colonization potential, and phenanthrene degradation performance of the endophytic bacterium *Pseudomonas* sp. Ph6-*gfp*. *Sci. Rep.* **4**, 5462 (2014)
67. Stepniewska Z., Kuźniar A.: Endophytic microorganisms – promising applications in bioremediation of greenhouse gases. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**, 9589–9596 (2013)
68. Stepniewska Z., Goraj W., Kuźniar A.: Przemiany metanu w środowiskach torfowych. *Forest Research Papers*, **75**, 101–110 (2014)
69. Taghavi S., Barac T., Greenberg B., Borremans B., Vangronsveld J., van der Lelie D.: Horizontal gene transfer to endogenous endophytic bacteria from poplar improves phytoremediation of toluene. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 8500–8505 (2005)
70. Taghavi S., Weyens N., Vangronsveld J., van der Lelie D.: Improved phytoremediation of organic contaminants through engineering of bacterial endophytes of trees (w) Endophytes of forest trees, red. Pirttilä, A.M, Frank A.C, Springer, Dordrecht, 2011, s. 205–216
71. Thijs S., Van Dillewijn P., Sillen W., Truyens S., Holtappels M., D'Haen J., Carleer R., Weyens N., Ameloot M., Ramos J.L., Vangronsveld J.: Exploring the rhizospheric and endophytic bacterial communities of *Acer pseudoplatanus* growing on a TNT-contaminated soil: towards the development of a rhizo-competent TNT-detoxifying plant growth promoting consortium. *Plant Soil.* **385**, 15–36 (2014)
72. Truu J., Truu M., Espenberg M., Nolvak H., Juhanson J.: Phytoremediation and plant-assisted bioremediation in soil and treatment wetlands: a review. *Open Biotechnol. J.* **9**, 85–92 (2015)
73. Van Aken B., Peres C.M., Doty S.L., Yoon J.M., Schnoor J.L.: *Methylobacterium populi* sp. Nov., a novel aerobic, pink-pigmented, facultatively methylotrophic, methane-utilizing bacterium isolated from poplar trees (*Populus deltoids x nigra* DN34). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **54**, 1191–1196 (2004)
74. Wang Y., Li H., Zhao W., He X., Chen J., Geng X., Xiao M.: Induction of toluene degradation and growth promotion in corn and wheat by horizontal gene transfer within endophytic bacteria. *Soil Biol. Biochem.* **42**, 1051–1057 (2010)
75. Weyens N., van der Lelie D., Taghavi S., Vangronsveld J.: Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge. *Curr. Opin. Biotechnol.* **20**, 248–254 (2009)
76. Weyens N., van der Lelie D., Artois T.: Bioaugmentation with engineered endophytic bacteria improves contaminant fate in phytoremediation. *Environ. Sci. Technol.* **43**, 9413–9418 (2009)
77. Weyens N., Truyens S., Dupae J., Newman L., Taghavi S., van der Lelie D., Carleer R., Vangronsveld J.: Potential of the TCE-degrading endophyte *Pseudomonas putida* W619-TCE to improve plant growth and reduce TCE phytotoxicity and evapotranspiration in poplar cuttings. *Environ. Pollut.* **158**, 2915–2919 (2010)
78. Weyens N., Croes S., Dupae J., Newman L., van der Lelie D., Carleer R., Vangronsveld J.: Endophytic bacteria improve phytoremediation of Ni and TCE co-contamination. *Environ. Pollut.* **158**, 2422–2427 (2010)
79. Wu T., Xu J., Xie W., Yao Z., Yang H., Sun C., Li X.: *Pseudomonas aeruginosa* L10: A Hydrocarbon-Degrading, Biosurfactant-Producing, and Plant-Growth-Promoting Endophytic Bacterium Isolated From a Reed (*Phragmites australis*). *Front. Microbiol.* **9**, 1087 (2018)
80. Xu X., Sun J., Nie Y. Wu X.: *Spirodela polyrhiza* stimulates the growth of its endophytes but differentially increases their fenprothrin-degradation capabilities. *Chemosphere*, **125**, 33–40 (2015)
81. Yousaf S., Afzal M., Anees M., Malik R.N., Campisano A.: Ecology and functional potential of endophytes in bioremediation: a molecular perspective (w) Advances in endophytic research, red. Verma V.C, Gange A.C, Springer, New Delhi, 2014, s. 301–320
82. Yousaf S., Afzal M., Reichenauer T.G., Brady C.L., Sessitsch A.: Hydrocarbon degradation, plant colonization and gene expression of alkane degradation genes by endophytic *Enterobacter ludwigii* strains. *Environ. Pollut.* **159**, 2675–2683 (2011)
83. Zhang X., Liu X., Wang Q., Chen X., Li H., Wei J., Xu G.: Diesel degradation potential of endophytic bacteria isolated from *Scirpus triquetus*. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **87**, 99–105 (2014)
84. Zemleduch A., Tomaszewska B.: Mechanizmy, procesy i oddziaływanie w fitooremediacji. *Kosmos*, **56**, 393–407 (2007)
85. Zhong Y., Luan T., Wang X., Lan C., Tam N. F. Y.: Influence of growth medium on cometabolic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas* sp. strain PheB4. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **75**, 175–186 (2007)
86. Zhu X., Ni X., Waigi M.G., Liu J., Sun K., Gao Y.: Biodegradation of mixed PAHs by PAH-degrading endophytic bacteria. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **13**, 805–818 (2016)

BAKTERIE ENDOFITYCZNE W FITODEGRADACJI TOKSYCZNYCH ZANIECZYSZCZEŃ ORGANICZNYCH

Daria Chlebek, Katarzyna Hupert-Kocurek*

Katedra Biochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski

Wpłynęło we wrześniu, zaakceptowano w listopadzie 2018 r.

Streszczenie: Fitodegradacja to przyjazna dla środowiska technologia, opierająca się na zdolności roślin do transformacji pobranych przez korzenie zanieczyszczeń organicznych. Istotną rolę we wspomaganiu procesów fitodegradacji mogą pełnić, budzące coraz większe zainteresowanie, bakterie endofityczne, kolonizujące wewnętrzne tkanki roślin bez wywoływania objawów chorobowych. Bakterie endofityczne wyposażone w odpowiednie szlaki metaboliczne, przyczyniają się do degradacji wielu różnych klas związków organicznych, w tym: wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, lotnych i monopierścieniowych związków organicznych, materiałów wybuchowych czy pestycydów. Mogą również wspomagać bioremediację gazów cieplarnianych, takich jak metan i dwutlenek węgla. Ponadto, bakterie endofityczne mogą wspierać wzrost i rozwój roślin poprzez szeroki zakres bezpośrednich i pośrednich mechanizmów, co również wpływa na efektywność procesów fitodegradacji.

1. Wprowadzenie. 2. Fitodegradacja zanieczyszczeń organicznych. 3. Źródła bakterii endofitycznych wspomagających procesy fitodegradacji. 4. Zanieczyszczenia organiczne degradowane przez bakterie endofityczne. 5. Genetyczne uwarunkowania degradacji ksenobiotyków przez endofity. 6. Mechanizmy wpływające na efektywność fitodegradacji wspomaganą przez endofity bakteryjne. 7. Podsumowanie

ENDOPHYTIC BACTERIA IN PHYTODEGRADATION OF PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS

Abstract: Organic pollutants are released into the environment as a result of various human activities. Traditional physical and chemical methods for the clean-up of soil and water polluted with these pollutants are often costly and invasive. A good alternative to above methods is bacteria assisted phytodegradation. Recently, the particular attention is focused on endophytic bacteria equipped with appropriate metabolic pathways, increasing the efficiency of organic compound degradation, and promoting plant growth. Endophytic bacteria are known to degrade various classes of organic compounds, such as: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs); volatile and monocyclic organic compounds; explosives as well as pesticides. They may also assist bioremediation of greenhouse gases such as methane and carbon dioxide. Additionally, endophytic bacteria can promote the growth and development of plants through a wide range of direct and indirect mechanisms, which also affects the effectiveness of phytoremediation processes.

1. Introduction. 2. Phytodegradation of organic pollutants. 3. Sources of endophytic bacteria enhancing phytodegradation. 4. Organic pollutants degraded by endophytic bacteria. 5. Genetic basis of xenobiotics degradation in endophytic bacteria. 6. Mechanisms enhancing microbe-assisted phytodegradation. 7. Summary

Słowa kluczowe: bakterie endofityczne, fitodegradacja, zanieczyszczenia organiczne

Key words: endophytic bacteria, phytodegradation, organic pollutants

1. Wprowadzenie

Zanieczyszczenia organiczne uwalniane do środowiska w wyniku przemysłowej i rolniczej działalności człowieka stwarzają poważne zagrożenie dla bytujących w nim organizmów [1]. Ponieważ tradycyjne, fizyczne i chemiczne metody oczyszczania środowisk zdegradowanych są często kosztowne i inwazyjne, coraz więcej uwagi poświęca się metodom biologicznego usuwania tego typu zanieczyszczeń ze środowiska. Jedną z nich jest fitodegradacja, opierająca się na zdolności roślin do transformacji zanieczyszczeń organicznych [5, 11, 75]. Aby zwiększyć efektywność tej metody,

w ostatnich latach, coraz częściej prowadzi się badania mające na celu wykorzystanie potencjału degradacyjnego bakterii do wspomaganie procesów fitodegradacji. Szczególna uwaga badaczy skupia się na bakteriach endofitycznych. Bakterie te, mogą promować wzrost i rozwój roślin, a co za tym idzie wpływać na zwiększenie ich biomasy. Mogą również wpływać na biodostępność zanieczyszczeń organicznych w glebie. Ważną zaletą wynikającą z zastosowania tej grupy mikroorganizmów do wspomaganie procesów fitodegradacji jest również to, iż wszelkie toksyczne związki organiczne pobrane przez roślinę ulegają mineralizacji wewnątrz jej tkanek [1, 20, 30].

* Autor korespondencyjny: Katarzyna Hupert-Kocurek; Katedra Biochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach, ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice; tel. 32 200 94 62; e-mail: katarzyna.hupert-kocurek@us.edu.pl

2. Fitodegradacja zanieczyszczeń organicznych

Roślinny metabolizm ksenobiotyków pobranych ze środowiska, obejmuje ogólne przemiany tych związków do form bardziej rozpuszczalnych w wodzie i procesy ich sekwestracji [5, 75]. Fotoautotroficzne rośliny nie wykorzystują bowiem pobieranych związków organicznych jako źródła węgla i energii, a ich rola ogranicza się do przekształcenia tych związków w formy mniej toksyczne, w celu ochrony wrażliwych układów enzymatycznych i organelli. W procesie detoksykacji ksenobiotyków w komórkach roślin, wyróżnia się trzy fazy: aktywację, koniugację i sekwestrację / kompartmentalizację. W pierwszej fazie przemian, do lipofilnych związków organicznych zostają wprowadzone reaktywne, polarne grupy funkcyjne. Prowadzi to do obniżenia ich lipofilności i zwiększenia rozpuszczalności w środowisku wodnym komórki. Reakcje fazy pierwszej są zazwyczaj katalizowane przez takie enzymy, jak cytochrom P450 czy karboksyloesterazy. Faza druga obejmuje, katalizowane przez S-transferazy glutationowe (GST) oraz glukozylotransferazy (GT), reakcje sprzężania transformowanych związków z endogennymi cząsteczkami, takimi jak aminokwasy, cukry czy glutation w celu zmniejszenia ich fitotoksyczności. W fazie trzeciej zachodzi usunięcie zinktywowanych pochodnych ksenobiotyków z cytozolu do apoplastycznych przedziałów komórki lub wakuoli [72].

Efektywność procesu fitodegradacji może być ograniczona wrażliwością roślin na zbyt wysokie stężenie pobranych ksenobiotyków, które mogą wywoływać efekt fitotoksyczny, hamować wzrost i rozwój roślin [10]. Może być także limitowana poprzez biodostępność zanieczyszczeń [55]. Wadą omawianego procesu jest także nieznan, w wielu przypadkach, kierunek przemian związków absorbowanych w tkankach roślin, co może prowadzić do powstania metabolitów o znacznie większej toksyczności niż substancja macierzysta [36].

3. Źródła bakterii endofitycznych wspomagających procesy fitodegradacji

W przeciwieństwie do roślin, mikroorganizmy, ze względu na ich wszechstronne zdolności metaboliczne, umożliwiają całkowitą degradację związków organicznych, do CO_2 i H_2O [21]. W porównaniu z innymi organizmami, charakteryzują się one wyjątkową zdolnością adaptacji do nowych warunków środowiska, w tym traktowania związków niebędących produktami ich własnych przemian metabolicznych, jako substratów energetycznych i budulcowych [14]. Dlatego też w ostatnich latach, znaczącą rolę w procesie oczyszczania środowisk zdegradowanych przypisuje się fitoremediacji wspomaganą przez mikroorganizmy. Szczególną rolę w tym

procesie przypisuje się, wyposażonym w odpowiednie szlaki metaboliczne, bakteriom endofitycznym, które zwiększają skuteczność degradacji związków organicznych, pomagają roślinom przezwyciężyć stres wywołany zanieczyszczeniami, a także promują ich wzrost [5].

Bakterie endofityczne definiowane są głównie jako bakterie kolonizujące wewnętrzne tkanki roślin bez wywoływania objawów chorobowych, czy negatywnego wpływu na swojego roślinnego gospodarza [60]. W praktyce, termin ten określa mikroorganizmy, które mogą zostać wyizolowane z powierzchniowo wysterylizowanych organów roślinnych [18]. Wiele endofitów bakteryjnych zostało wyizolowanych zarówno z roślin dwuliściennych jak i jednoliściennych, począwszy od drzewiastych gatunków takich jak: dąb i grusza, do roślin uprawnych, takich jak: burak cukrowy i kukurydza [60].

Populacja i różnorodność endofitów obecnych w roślinach jest zmienna, uzależniona głównie od genotypu roślin, rodzaju tkanki, fazy rozwoju rośliny, ilości zanieczyszczeń organicznych i warunków fizykochemicznych gleby [28, 54]. Badania Phillips i wsp. [54] udowodniły, że różne gatunki roślin rosnące w glebie zanieczyszczonej węglowodorami utrzymują odrębne populacje mikroorganizmów endofitycznych, które mogą mieć wpływ na zdolność roślin do promowania degradacji określonych grup węglowodorów.

Obecność bakterii endofitycznych zdolnych do degradacji zanieczyszczeń organicznych wykazano u wielu gatunków roślin charakteryzujących się wysoką tolerancją/odpornością na zanieczyszczenia, takich jak topola (*Populus* sp.) czy wierzba (*Salix* sp.) [10, 81]. Bakterie użyteczne w procesach fitodegradacji wyizolowano także z tkanek komonicy zwyczajnej (*Lotus corniculatus*), życicy wielokwiatowej (*Lolium multiflorum*), łubinu żółtego (*Lupinus luteus*), grochu (*Pisum sativum*), pszenicy (*Triticum durum*) i kukurydzy (*Zea mays*) [39]. Z dębu szypułkowego (*Quercus robur*) oraz jesionu wyniosłego (*Fraxinus excelsior*) pozyskano endofity posiadające potencjał do rozkładu trichloroetyleny (TCE) [1], a w brodawkach roślin strączkowych, takich jak bób (*Vicia faba*) i łubin biały (*Lupinus albus*), znaleziono endofity zdolne do rozkładu zarówno węglowodorów alifatycznych, jak i aromatycznych [81]. Dobrym źródłem bakterii endofitycznych zdolnych do wykorzystania związków organicznych, jako źródła węgla, okazały się także rośliny zasiedlające mokradła [20] i słone bagna [45]. Izolowane z tych roślin szczepy należą głównie do rodzajów *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* i *Pantoea* [37].

Warto podkreślić, iż endofity bakteryjne zdolne do degradacji zanieczyszczeń kolonizują specyficzne tkanki roślinne [1]. Przede wszystkim można je znaleźć w ksylemie i/lub korze korzenia [5]. Najwyższą liczebność tej grupy bakterii obserwowano w korzeniach większości roślin [12, 59].

4. Zanieczyszczenia organiczne degradowane przez bakterie endofityczne

Grupę toksycznych i odpornych na biodegradację zanieczyszczeń organicznych, szeroko rozpowszechnioną w środowisku, stanowią wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) [53]. Obecność tego typu związków, może być wynikiem zarówno procesów naturalnych, takich jak pożary lasów czy wybuchy wulkanów, jak i przemysłowej i rolniczej działalności człowieka [3]. Wiele bakterii endofitycznych zdolnych jest do wzrostu w obecności WWA, a niektóre mogą degradować te związki, wykorzystując je jako źródło węgla i energii. Przykładem mogą być endofityczne szczepy *Pseudomonas putida* PD1 i *Pseudomonas* sp. Ph6 degradujące fenantren [28, 66] czy wyizolowane, odpowiednio, z konyzy kanadyjskiej (*Coryza canadensis*) i koniczyny łąkowej (*Trifolium pratense* L.) szczepy *Stenotrophomonas* sp. P1 i *Pseudomonas* sp. P3 zdolne do degradacji naftalenu, fenantrenu, fluorenu, pirenu i benzo(a)pirenu [86].

Obecność fenolu i jego pochodnych w środowisku wiąże się z powszechnym zastosowaniem tych związków, między innymi, do produkcji barwników, farb, lakierów, detergentów, herbicydów i leków. Związki te mogą powstawać również jako produkty uboczne wielu procesów przemysłowych, takich jak: przetwarzanie ropy naftowej, koksowanie węgla kamiennego oraz produkcja stali. Mogą także powstawać w wyniku biodegradacji polimerów aromatycznych, takich jak ligniny i taniny [40]. Zdolność do degradacji fenoli wykazano między innymi u bakterii endofitycznych izolowanych z korzeni i łodygi konopi siewnej (*Cannabis sativa*), wzrastającej na terenach zanieczyszczonych węglowodorami [22]. Wśród wyizolowanych bakterii największy potencjał do degradacji tego substratu aromatycznego wykazywały trzy izolaty, zidentyfikowane jako: *Pseudomonas* sp. (AIEB-4), *Alcaligenes* sp. (AIEB-6) i *Achromobacter* sp. (AIEB-7). Wszystkie trzy szczepy wykazywały zdolność do wzrostu w obecności 1000 mg/L⁻¹ fenolu. W czasie 96-godzinnej hodowli, *Achromobacter* sp. (AIEB-7) zdolny był do degradacji 81% wprowadzonej dawki fenolu, natomiast *Pseudomonas* sp. (AIEB-4) oraz *Alcaligenes* sp. (AIEB-6) rozkładały odpowiednio 72% i 69% wprowadzonej dawki fenolu.

Wśród wszystkich rodzajów zanieczyszczeń, jedno z głównych zagrożeń dla środowiska i zdrowia człowieka stanowią pestycydy. Chloropiryfos [O, O-dietyl O- (3,5,6-trichloro-2-pirydynylo) -fosforotioian] (CP), to szeroko stosowany w rolnictwie środek owadobójczy. Związek ten, akumuluje się w środowisku stwarzając zagrożenie dla ludzi i zwierząt. Wykazano, że CP może wywoływać uszkodzenia wątroby i nerek oraz wpływać negatywnie na aktywność plemników. Ponadto jest on uważany za jeden z czynników odpo-

wiedzialnych za wystąpienie raka piersi u kobiet. Zdolność degradacji tego insektycydu wykazano u szczepu *Sphingomonas* sp. HJY, wyizolowanego ze szczypioru chińskiego (*Allium tuberosum* Rottl. ex Spreng) [11].

Kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D) jest jednym z najbardziej rozpowszechnionych środków chwastobójczych [37]. Sole 2,4-D są łatwo absorbowane przez korzenie roślin i ulegają translokacji do tkanek merystematycznych korzeni i pędów, gdzie związek ten działa jak hormon roślinny, powodując ich niekontrolowany rozrost. Mobilność 2,4-D w glebie często prowadzi do zanieczyszczeń wód powierzchniowych i gruntowych. Mimo, iż herbicyd ten jest biodegradowalny, może on utrzymywać się w glebie i wodzie [16]. Stosowanie 2,4-D na szeroką skalę stwarza niebezpieczeństwo zarówno dla zdrowia ludzi, jak i środowiska [37]. Zdolność bakterii endofitycznych do degradacji 2,4-D wykazano w doświadczeniu przeprowadzonym przez Germaine i wsp. [16]. W badaniach tych, endofityczny szczep *P. putida* VM1450, pochodzący z wewnętrznych tkanek topoli (*Populus deltoids*), wprowadzono do grochu (*Pisum sativum*). Zaszczepione rośliny poddawano działaniu 2,4-D. Stwierdzono, że szczep VM1450 aktywnie kolonizował wewnętrzne tkanki rośliny, a inokulowane rośliny charakteryzowały się większą zdolnością do usuwania 2,4-D z gleby i nie akumulowały tego herbicydu w tkankach [16].

Produkcja oraz przetwarzanie amunicji doprowadziło do zanieczyszczenia środowiska związkami takimi jak: 2,4,6-trinitrotoluen (TNT), heksahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazyna (RDX) czy octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocyna (HMX). Te toksyczne i mutagenne związki, charakteryzuje wysoka trwałość i odporność na działanie czynników chemicznych, biologiczne utlenienie oraz hydrolizę [52]. Badania Van Aken i wsp. [73] wykazały, że endofityczny szczep *Methylobacterium* sp. BJ001, wyizolowany z liści i korzeni topoli (*Populus deltoids x nigra* DN34), wykazuje zdolność do degradacji TNT, RDX oraz HMX. Po 55 dniach hodowli szczepu BJ001 w obecności powyższych związków, stwierdzono całkowity rozkład 25 mg/l TNT, 20 mg/l RDX oraz 2,5 mg/l HMX.

Wybrane gatunki bakterii wyizolowane z korzeni, pędów oraz ryzosfery klonu jaworowego (*Acer pseudo-platanus*) wzrastającego w glebie zanieczyszczonej TNT, zostały wykorzystane przez Thijs i wsp. [71] do utworzenia konsorcjum bakteryjnego CAP9. Konsorcjum to łączy w sobie zdolność do wydajnej transformacji TNT oraz promocji wzrostu roślin. Udowodniono, że inokulacja mietlicy pospolitej (*Agrostis capilaris*) tym konsorcjum bakteryjnym stymulowała wzrost roślin wzrastających w glebie skażonej TNT. Po raz pierwszy badania te wykazały, że bakteria endofityczna *Stenotrophomonas chelatiphagus* wyizolowana z liści oraz bakteria *Variovorax ginsengisoli* wyizolowana z korzeni klonu

jaworowego, mogą transformować TNT do hydroksyloaminy i amino-dinitrotoluenu.

Obecnie wiele badań koncentruje się nad możliwością wykorzystania endofitycznych metanotrofów w bioremediacji gazów cieplarnianych, w szczególności metanu i dwutlenku węgla. Bakterie te przyczyniają się do efektywnego wychwytywania metanu powstałego na torfowiskach, ograniczając w ten sposób jego emisję do atmosfery [67]. Bakterie metanotroficzne zdolne są do wykorzystywania metanu jako jedyne źródła węgla i energii. Kluczowym enzymem odpowiedzialnym za utlenienie metanu jest monoksygenaza metanowa. Enzym ten może występować w dwóch formach, jako sMMO i pMMO. Forma sMMO jest obecna w cytozolu, natomiast pMMO jest związana z błoną komórkową. Wykazano, że obie formy tego enzymu utleniają szereg związków alifatycznych i aromatycznych [64] i mogą występować w komórce równocześnie, jednak ich aktywność bezpośrednio zależy od stężenia jonów miedzi (Cu^{2+}) w biomacie [68]. Wykazano, że endofityczne metanotrofy, *Methylocella palustris* i *Methylocapsa acidophila*, kolonizujące tkanki mchu z rodzaju *Sphagnum* utleniają metan do dwutlenku węgla, który jest następnie wykorzystywany przez rośliny w procesie fotosyntezy. Endofity metanotroficzne kolonizujące tkanki *Sphagnum* sp. mogą redukować emisję CH_4 i CO_2 z torfowisk nawet o 50% [67]. Endofity metanotroficzne mogą zostać także wykorzystane do inokulacji roślin, takich roślin jak: trzcina (*Phragmites* sp.), pałka (*Typha* sp.) oraz wierzba (*Salix* sp.), zasiedlających sztuczny system mokradeł. Co więcej, mogą być również wprowadzone do roślin uprawnych i przyczynić się do promocji ich wzrostu [67].

5. Genetyczne uwarunkowania degradacji ksenobiotyków przez endofity

W genomach większości wyizolowanych bakterii endofitycznych zdolnych do degradacji węglowodorów stwierdzono obecność genu kodującego monoksygenazę alkanową (*alkB*) oraz genu kodującego hydroksylazę cytochromu P450 (*CYT153*) [2, 27, 49]. Na przykład w badaniach Kukli i wsp. [29] wykazano, iż większość bakterii endofitycznych pozyskanych z życicy trwałej (*Lolium perenne* L.), rośliny wzrastającej w środowisku skażonym węglowodorami ropopochodnymi, posiadało gen *CYT153*. W genomie jednego z pozyskanych szczepów, *Rhodococcus fascians* L11, stwierdzono obecność genu *alkH* kodującego hydroksylazę alkanową i genu *pah* kodującego podjednostkę alfa dioksygenaz hydroksylujących WWA. Endofityczne szczepy *Microbacterium* sp. i *Rhodococcus* sp. (L7, S12, S23, S25) posiadały w swoim genomie gen *alkB*. W genomie żadnego z pozyskanych izolatów

nie wykazano natomiast obecności genu *c23o* kodującego 2,3-dioksygenazę katecholową, kluczowy enzym w szlaku degradacji monocyklicznych węglowodorów aromatycznych. Z kolei, w badaniach przeprowadzonych przez Siciliano i wsp. [63] wykazano, że w glebach zanieczyszczonych ropą naftową, dwa geny kodujące enzymy odpowiedzialne za degradację węglowodorów, gen *alkB*, kodujący monoksygenazę alkanową i *ndoB*, kodujący dioksygenazę naftalenową były bardziej powszechne u bakterii endofitycznych niż u mikroorganizmów żyjących w ryzosferze. Wśród szczepów endofitycznych powszechne były również geny kodujące enzymy związane z rozkładem nitrozwiązków, jak na przykład monoksygenaza nitrotoluenu (*ntnM*) oraz reduktaza 2-nitrotoluenu (*ntdAa*) [63]. Badania przeprowadzone przez Andria i wsp. [4] nad ekspresją genu *alkB* kodującego monoksygenazę alkanową u dwóch bakteryjnych szczepów wykazały natomiast, że endofityczny szczep *Pseudomonas* sp. ITRI53 wyizolowany z endosfery życicy wielokwiatowej (*Lolium multiflorum* L.) wykazywał dużo wyższy poziom ekspresji genu *alkB*, niż szczep *Rhodococcus* sp. ITRH43, pozyskany z ryzosfery tej rośliny. Co więcej, ekspresja genu *alkB* zachodziła nie tylko w ryzosferze, ale również *in planta*.

Różnice w ekspresji genów kodujących enzymy degradacyjne u bakterii endofitycznych wykazali także Yousaf i wsp. [82] w badaniach nad ekspresją bakteryjnego genu *CYP153* kodującego hydroksylazę cytochromu P450, enzym zaangażowany w degradację węglowodorów. W badaniach tych, trzy różne gatunki roślin: życica wielokwiatowa (*Lolium multiflorum* var. Taurus), komonica zwyczajna (*Lotus corniculatus* var. Leo) i lucerna (*Medicago sativa* var. Harpe) zaszczipione zostały trzema różnymi szczepami *Enterobacter ludwigii*. Stwierdzono, że szczepy bakterii, wprowadzone do roślin, różniły się znacząco poziomem ekspresji i liczbą genów zaangażowanych w degradację alkanów w zależności od gatunku roślinnego gospodarza, przedziału w obrębie roślin, a także na różnych etapach ich wzrostu. Najwyższy poziom ekspresji genów zaobserwowano w korzeniach oraz pędach życicy wielokwiatowej. Wszystkie szczepy wykazywały ekspresję genu *CYP153* we wszystkich przedziałach roślinnych, co wskazuje na ich aktywną rolę w degradacji oleju napędowego w roślinie. Najwyższy wskaźnik degradacji oleju napędowego (do 68%) wykazały dwa szczepy: *E. ludwigii* ISI10-3 i *E. ludwigii* BRI10-9 wprowadzone do życicy wielokwiatowej lub lucerny.

Informacja genetyczna kodująca syntezę enzymów zaangażowanych w degradację związków organicznych zlokalizowana jest najczęściej w ruchomych elementach genetycznych takich jak plazmidy czy transpozony, które umożliwiają HTG pomiędzy bakteriami [21]. HTG jest głównym mechanizmem, przez który mikroorganizmy nabywają nowe metaboliczne szlaki,

dzięki czemu szybko przystosowują się do zmian zachodzących w środowisku [74]. Umożliwia on zwiększenie populacji oraz aktywność autochtonicznych endofitycznych bakterii zdolnych do rozkładu związków organicznych [1]. Ponadto, HTG umożliwia pozyskanie bakterii endofitycznych, z nowymi katabolicznymi ścieżkami i heterologiczną ekspresją genów, zwłaszcza gdy dawca i biorca należą do spokrewnionych gatunków [18, 65]. *Burkholderia cepacia* FX2, to bakteria wykazująca zdolność degradacji toluenu, będąca gospodarzem plazmidu niosącego gen kodujący 2,3-dioksygenazę katecholową (C23O), kluczowy enzym w szlaku degradacji monocyklicznych węglowodorów aromatycznych. Wprowadzenie szczepu FX2 do kukurydzy (*Zea mays*) oraz pszenicy twardej (*Triticum durum*) wpłynęło pozytywnie na wzrost tych roślin, doprowadziło także do ograniczenia ewapotranspiracji toluenu do atmosfery. Horyzontalny transfer plazmidu z genem *c23o* wśród endofitycznych bakterii naturalnie występujących w tych roślinach pozwolił na zwiększenie populacji bakterii zdolnych do degradacji zanieczyszczeń oraz promocji wzrostu roślin [74]. Z kolei, *Burkholderia phytofirmans* PSJN jest endofitycznym szczepem, który z powodzeniem kolonizuje wiele roślin, stymulując ich wzrost i witalność. Na genom tej bakterii składają się dwa chromosomy i jeden plazmid, wyposażone między innymi w geny kodujące szlaki rozkładu wielu złożonych związków organicznych. Bakteria ta niesie geny kodujące takie enzymy zaangażowane w degradację

związków alifatycznych, jak: monoksygenazę alkanową (*alkB*) i hydroksylazę cytochromu P450. Jej genom zawiera również, co najmniej 15 genów kodujących dioksygenazy, enzymy zaangażowane w rozszczepienie pierścienia aromatycznego, takie jak: 1,2-dioksygenaza katecholowa, 2,3-dioksygenaza katecholowa, dioksygenaza 2-nitropropanowa oraz 3,4-dioksygenaza protokatechowa. Ponadto, w genomie tego szczepu stwierdzono imponująco dużą liczbę genów *GST* (24 kopie), wchodzących w skład operonów odpowiedzialnych za degradację związków aromatycznych [41]. Przykłady bakterii endofitycznych, w genomach których stwierdzono obecność genów zaangażowanych w degradację zanieczyszczeń organicznych przedstawiono w tabeli I.

6. Mechanizmy wpływające na efektywność fitodegradacji wspomaganą przez endofity bakteryjne

Ze względu na obecność zanieczyszczeń organicznych, dostępność składników mineralnych, w tym azotu, fosforu i żelaza w glebie może być limitowana, co w konsekwencji prowadzi do ograniczenia wzrostu roślin [27]. Biodostępność składników mineralnych w zanieczyszczonych glebach jest jednym z głównych czynników ograniczających efektywność fitoremediacji [1]. Wśród endofitów bakteryjnych promujących wzrost roślin można znaleźć takie, które mają zdolność wiązania wolnego azotu atmosferycznego (bakte-

Tabela I
Bakterie endofityczne, w genomach których wykazano obecność genów warunkujących zdolność do degradacji zanieczyszczeń organicznych

Endofit bakteryjny	Roślinny gospodarz	Gen	Kodowany enzym	Źródło
<i>Pseudomonas</i> sp. ITRI53 <i>Pseudomonas mandelii</i> 6FXS	<i>Lolium multiflorum</i> L. <i>Lotus corniculatus</i>	<i>alkB</i>	monoksygenaza alkanowa	[4] [51]
<i>Rhodococcus fascians</i> L11 <i>Rhodococcus</i> sp. 4WK	<i>Lolium multiflorum</i> L. <i>Oenothera biennis</i>	<i>alkH</i>	hydroksylaza alkanowa	[29] [51]
<i>Enterobacter ludwigii</i> ISI10-3 <i>E. ludwigii</i> ISI10-4 <i>E. ludwigii</i> BRI10-9 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 5XS <i>Pseudomonas umsongensis</i> 8.1WK	<i>Lolium multiflorum</i> var. Taurus, <i>Lotus corniculatus</i> var. Leo, <i>Medicago sativa</i> var. Harpe <i>Lotus corniculatus</i> <i>Oenothera biennis</i>	<i>CYP153</i>	hydroksylaza cytochromu P450	[82] [51]
<i>Burkholderia cepacia</i> FX2	<i>Zea mays</i> , <i>Triticum durum</i>	<i>c23o</i>	2,3-dioksygenaza katecholowa	[74]
<i>Pseudomonas putida</i> VM1441 (pNAH7)	<i>Pisum sativum</i>	<i>ndoB</i>	dioksygenaza naftalenowa	[15]
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 17397	<i>Elymus angustus</i> Trin.	<i>nidA</i>	dioksygenaza naftalenowa	[54]
<i>Pseudomonas syringae</i> Lz4W <i>Pseudomonas poae</i> DSM	<i>Agropyron elongatum</i>	<i>phnAc</i>	dioksygenaza fenantrenowa	[54]
<i>Rhodococcus fascians</i> L11	<i>Lolium multiflorum</i> L.	<i>pah</i>	podjednostka alfa dioksygenaz hydroksylujących WWA	[29]
<i>Pseudomonas</i> sp. BF1-3	<i>Platycodon grandiflorus</i>	<i>ophB</i>	hydrolaza organofosforowa	[44]
<i>Burkholderia cepacia</i> VM1468	<i>Populus deltoides</i> <i>x(trichocarpa x deltoides)</i>	<i>tomA</i>	monoksygenaza toluenowa	[70]
<i>Burkholderia phytofirmans</i> PSJN	<i>Zea mays</i>	<i>GST</i>	glutation-S-transferaza	[41]

rie dizatroficzne). Ostatnie badania wykazały, że zdolność wiązania wolnego azotu wykazują także niektóre endofity bakteryjne zdolne do degradacji związków organicznych [27]. Dashti i wsp. [9] donoszą, że bakterie zdolne do degradacji zanieczyszczeń organicznych i wiązania wolnego azotu zwiększają degradację węglowodorów w glebach zanieczyszczonych ropą naftową oraz ubogich w azot. Endofity bakteryjne zdolne są także do syntezy specyficznych związków organicznych, sideroforów, które umożliwiają redukcję jonów Fe^{3+} do Fe^{2+} , łatwiej dostępnych dla roślin [27]. Kolejnym makroskładnikiem ważnym dla wzrostu i rozwoju organizmów jest fosfor [30]. Bakterie związane z roślinami mogą zwiększać rozpuszczalność nieorganicznych fosforanów poprzez syntezę kwasów organicznych oraz fosfataz [27]. Oprócz omówionych powyżej składników mineralnych, bakterie endofityczne dostarczają roślinom niezbędnych witamin [60], w tym witaminę B1 [39] i B12 [67].

Jednym z najważniejszych fitohormonów produkowanym przez endofity bakteryjne jest kwas indolilo-3-octowy (IAA), należący do grupy auksyn. Fitohormon ten stymuluje wzrost wydłużeniowy korzeni, pobudza podziały komórkowe, a także indukuje tworzenie korzeni bocznych [56]. Ponadto, IAA może służyć jako cząsteczka sygnałowa w komunikacji pomiędzy komórkami bakterii [18]. Bakteryjny IAA wpływa także pośrednio na regulację poziomu etylenu w roślinie. Może on bowiem zwiększać transkrypcję i aktywność roślinnego enzymu-syntazy ACC, katalizującej tworzenie kwasu 1-aminocyklopropano-1-karboksyowego (ACC), bezpośredniego prekursora etylenu [17]. Badania Sheng i wsp. [65] przeprowadzone nad *Enterobacter* sp. 12J1 wyizolowanym z czosnku (*Allium macrostemon*) rosnącego na terenach zanieczyszczonych węglowodorami wykazały, że szczep ten jest zdolny nie tylko do degradacji pirenu, ale również do produkcji IAA. Ponadto posiada on zdolność produkcji sideroforów oraz solubilizacji nieorganicznego fosforu. Po inokulacji szczepem *Enterobacter* sp. 12J1 pszenicy oraz kukurydzy stwierdzono, że skutecznie kolonizował on wewnętrzne tkanki korzeni oraz pędów, a także ryzosferę badanych roślin. Rośliny inokulowane tym szczepem charakteryzowały się zwiększoną produkcją biomasy.

Etylen (C_2H_4) jest ważnym fitohormonem modulującym wzrost i metabolizm komórek roślinnych. Jednakże jego nadmiar, produkowany przez rośliny w odpowiedzi na stresy środowiskowe, może hamować elongację korzeni, formowanie korzeni bocznych oraz włóśników [30]. W szlaku biosyntezy etylenu, S-adenozylometionina (SAM) jest przekształcana przez syntazę ACC w kwas 1-aminocyklopropano-1-karboksyowy (ACC), który następnie, przy udziale oksydazy ACC, ulega konwersji do etylenu. Bakterie wykazują zdolność syntezy deaminazy ACC, enzymu, który katalizuje

rozkład ACC do amoniaku i kwasu α -ketomasłowego obniżając tym samym poziom etylenu w roślinie [17]. Ostatnie badania wykazały, że endofity bakteryjne produkujące deaminazę ACC, jak również wykazujące zdolność degradacji węglowodorów znacząco przyczyniają się do produkcji biomasy roślin, w przeciwieństwie do bakterii posiadających tylko jedną z tych cech [27]. Na przykład Yousaf i wsp. [82] wykazali pozytywną korelację pomiędzy aktywnością deaminazy ACC obecnej w komórkach endofitycznych szczepów *E. ludwigii* ISI10-3 i BRI10-9, a poprawą efektywności wzrostu korzeni roślin inokulowanych tymi izolatami. Badane szczepy skutecznie kolonizowały wnętrza korzeni i ryzosferę roślin. Z kolei, badania Afzal i wsp. [2] wykazały, że *Burkholderia phytofirmans* PsJN, wyizolowana z powierzchniowo wysterylizowanych korzeni cebuli (*Allium cepa*), po wprowadzeniu do akacji (*Acacia amplicep*) wykazywała wysoką aktywność deaminazy ACC, która stymulowała wzrost rośliny oraz produkcję biomasy w glebie zanieczyszczonej ściekami włókienniczymi.

Endofity bakteryjne mogą także pośrednio stymulować wzrost roślin w glebach zanieczyszczonych związkami organicznymi poprzez hamowanie wzrostu i aktywności fitopatogenów, indukcję mechanizmów odporności roślin, syntezę enzymów hydrolitycznych, a także rozkład zanieczyszczeń organicznych [27].

Wiele endofitów bakteryjnych wykazuje antagonistyczne działanie przeciwko licznym grzybom oraz bakteriom [56]. Mogą one hamować działanie enzymów lub degradować toksyny produkowane przez patogeny [75]. Niektóre z nich zdolne są do wytwarzania enzymów litycznych degradujących ściany komórkowe grzybów [39], inne z kolei produkują cyjanowodór [7, 29, 50] czy wiele metabolitów wtórnych, w tym antybiotyki [56]. Badania Bisht i wsp. [7] wykazały, że endofityczny szczep *Bacillus* sp. SBER3 wyizolowany z topoli (*Populus deltoides*) jest zdolny do syntezy IAA, deaminazy ACC oraz sideroforów. Ponadto, w warunkach *in vitro*, hamuje wzrost fitopatogennych grzybów: *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum* i *Fusarium solani* o, odpowiednio, 60%, 61,5%, 64,3% i 12%. Szczep ten, oprócz promowania wzrostu roślin, zdolny jest także do degradacji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Stwierdzono, że po reinokulacji tego szczepu do rośliny, przyczyniał się on do wzrostu długości korzeni oraz pędów, przyrostu obwodu pnia, zarówno w glebie kontrolnej, jak i w glebie zanieczyszczonej węglowodorami [7]. W tabeli II przedstawiono przykłady bakterii endofitycznych promujących wzrost roślin oraz wykazujących zdolność do degradacji zanieczyszczeń organicznych.

Niektóre bakterie endofityczne użyteczne w fitoremediacji zdolne są do produkcji związków powierzchniowo czynnych – biosurfaktantów [12, 29, 48, 83]. Te

Tabela II

Przykłady bakterii endofitycznych promujących wzrost roślin oraz wykazujących zdolność do degradacji zanieczyszczeń organicznych

Endofit bakteryjny	Roślinny gospodarz	Mechanizm promujący wzrost roślin	Degradowane zanieczyszczenia	Źródło
<i>Pseudomonas putida</i> L1	<i>Lolium perenne</i> L.	produkcja IAA produkcja sideroforów produkcja HCN	olej napędowy	[29]
<i>Enterobacter asburiae</i> 4FJK	<i>Hieracium piloselloides</i>	synteza deaminazy ACC produkcja IAA produkcja HCN produkcja NH ₃	olej napędowy	[50]
<i>Pseudomonas</i> sp. 1FWK	<i>Oenothera biennis</i>	synteza deaminazy ACC produkcja IAA produkcja sideroforów	olej napędowy	[51]
<i>Enterobacter ludwigii</i> ISI10-3, <i>E. ludwigii</i> ISI10-4, <i>E. ludwigii</i> BRI10-9	<i>Lolium multiflorum</i> var. Taurus, <i>Lotus corniculatus</i> var. Leo, <i>Medicago sativa</i> var. Harpe	synteza deaminazy ACC	alkany	[82]
<i>Bacillus</i> sp. SBER3	<i>Populus deltoides</i>	synteza deaminazy ACC, produkcja IAA produkcja sideroforów synteza enzymów litycznych	antracen, naftalen, benzen, toluen, ksylen	[7]
<i>Enterobacter</i> sp. 12J1	<i>Allium macrostemon</i>	produkcja IAA, mobilizacja fosforanów produkcja sideroforów	piren	[65]
<i>Achromobacter xylosoxidans</i> F3B	<i>Chrysopogon zizanioides</i>	produkcja IAA wiązanie wolnego azotu	toluen	[19]
<i>Burkholderia cepacia</i> FX2	<i>Zea mays</i> , <i>Triticum durum</i>	produkcja sideroforów, mobilizacja fosforanów	toluen	[74]
<i>Burkholderia phytofirmans</i> PSJN	<i>Acacia amplicep</i>	synteza deaminazy ACC	ścieki włókiennicze	[2]
<i>Pseudomonas</i> sp. E46	<i>Spirodela polyrhiza</i>	produkcja IAA	fenpropatyna	[75]

wewnątrzkomórkowe, zewnątrzkomórkowe lub związane ze ścianą komórkową mikroorganizmów metabolity można podzielić na dwie grupy. Do pierwszej zaliczane są związki o stosunkowo małej masie cząsteczkowej (glikolipidy, fosfolipidy, lipopeptydy), drugą grupę stanowią substancje wysokocząsteczkowe, takie jak: emulsan, liposan czy kompleksy polisacharydowo-białkowe. Biosurfaktanty o małej masie cząsteczkowej zazwyczaj silnie obniżają napięcie międzyfazowe i powierzchniowe. Z kolei, biosurfaktanty wysokocząsteczkowe, to w większości efektywne emulgatory [47,48]. Szczególną rolę, biosurfaktanty, jak i mikroorganizmy je produkujące, odgrywają w bioremediacji środowisk zanieczyszczonych węglowodorami ropopochodnymi [32]. Oczyszczanie takich środowisk jest ograniczone ze względu na wysoką hydrofobowość tego typu zanieczyszczeń oraz ich niską rozpuszczalność w wodzie. Związki te zostają zaadsorbowane na cząstkach gleby bądź uwięzione w porach gruntu i tym samym stają się niedostępne dla mikroorganizmów oraz roślin [12, 83]. Obecność biosurfaktantów produkowanych przez mikroorganizmy przyczynia się do zwiększenia biodostępności zanieczyszczeń organicznych oraz ułatwia ich pobieranie przez rośliny [12]. Biosurfaktanty oddziałując bezpośrednio z węglowodorami zwiększają ich rozpuszczalność w wodzie, a oddziałując z powierzchnią komórek bakteryjnych degradujących te

substancje, przyczyniają się do zwiększenia ich hydrofobowości [5, 12]. Ponadto, obecność biosurfaktantów w środowisku może wpływać zarówno na poszczególne komórki, jak i całe populacje drobnoustrojów. Na przykład, niektóre cykliczne lipopeptydy wytwarzane przez bakterie z rodzaju *Bacillus* i *Pseudomonas*, poza bardzo wysoką aktywnością powierzchniową, charakteryzują się aktywnością biologiczną – hamując wzrost fitopatogenów, przyczyniają się do wzbudzania indukowanej odporności systemicznej roślin (ISR), biorą udział w formowaniu biofilmów czy w ruchu rozpełzliwym (ang. swarming motility) [46,57]. Zdolność do produkcji biosurfaktantów wykazano u takich endofitycznych szczepów, jak: *Pseudomonas* sp., *Microbacterium* sp. i *Kocuria* sp. wyizolowanych z *Lolium perenne* [29], szczepu *Bacillus subtilis* K1 wyizolowanego z korzeni figowca bengalskiego (*Ficus benghalensis* L.) [48] czy *Microbacterium* sp. M87 pochodzącego z tkanek hiacynta wodnego (*Eichhornia crassipes*) [32]. Badania Wu i wsp. [79] dowiodły, iż wyizolowany z korzeni trzciny (*Phragmites australis*) szczep *Pseudomonas aeruginosa* L10, produkujący biosurfaktant efektywnie obniżający napięcie powierzchniowe, wykazuje wysoką aktywność degradacyjną wobec różnych węglowodorów. Zsekwencjonowanie genomu tego szczepu wykazało obecność genów *rhlABRI* kodujących enzymy zaangażowane w biosyntezę ramnolipidu, jednego z najczęściej bada-

nych związków powierzchniowo czynnych. Z kolei, w 2014 roku, Zhang i wsp. [83] wykazali, iż inokulacja roślin bakteryjnym konsorcjum zawierającym endofityczny szczep *B. subtilis* J4AJ zdolny do degradacji oleju napędowego i endofityczny szczep *Pseudomonas* sp. U-3 produkujący biosurfaktant efektywnie obniżający napięcie powierzchniowe, sprzyjała usuwaniu oleju napędowego ze środowiska.

Produkowane przez endofity biosurfaktanty, mogą stanowić dobrą alternatywę dla budzących coraz więcej kontrowersji syntetycznych środków powierzchniowo czynnych stosowanych dla wspomaganie procesów bioremediacji [31]. Zastosowanie syntetycznych surfaktantów budzi coraz większe obawy szczególnie ze względu na ich toksyczność i odporność na biodegradację, która może prowadzić do wzrostu zanieczyszczenia środowiska tego typu związkami [8, 23, 42]. Zdolność do degradacji anionowych surfaktantów wykazano u bakterii glebowych *B. subtilis* i *Bacillus cereus* [49] oraz u wyizolowanych z gleby i wody bakterie z rodzaju *Pseudomonas* [58]. Syntetyczne surfaktanty mogą także wpływać niekorzystnie na chemiczną i fizyczną strukturę gleby oraz gromadzić się w wodach gruntowych [61].

7. Podsumowanie

Wykorzystanie bakterii endofitycznych w remediacji zanieczyszczeń organicznych jest obecnie jednym z ważniejszych nurtów badawczych w biotechnologii środowiskowej. Liczne badania potwierdzają, że relacje między roślinami a ich wewnętrznymi symbiontami, w oczywisty sposób przyczyniają się do efektywnego przebiegu bioremediacji. Dlatego też warto badać te interakcje w celu opracowywania metod i strategii, pozwalających na lepsze wykorzystanie tych oddziaływań. Nowo izolowane bakterie endofityczne mogą stać się bowiem punktem wyjścia do dalszych badań nad ich zdolnością do degradacji zanieczyszczeń organicznych czy wspomaganie wzrostu roślin. Poznanie i zrozumienie genetycznych podstaw oddziaływań między roślinami a endofitami, przy użyciu najnowszych technik biologii molekularnej, umożliwi pełne wykorzystanie potencjału tej grupy mikroorganizmów.

Piśmiennictwo

1. Afzal M., Khan Q.M., Sessitsch A.: Endophytic bacteria: prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants. *Chemosphere*, **117**, 232–242 (2014)
2. Afzal M., Shabir G., Tahseen R., Ejazul I., Iqbal S., Khan Q.M.: Endophytic *Burkholderia* sp. strain PsJN improves plant growth and phytoremediation of soil irrigated with textile effluent. *Clean Soil Air Water*, **42**, 1304–1310 (2014)
3. Andreolli M., Lampis S., Poli M., Gullner G., Biró B., Vallini G.: Endophytic *Burkholderia fungorum* DBT1 can improve phytoremediation efficiency of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Chemosphere*, **92**, 688–694 (2013)
4. Andria V., Reichenauer T.G., Sessitsch A.: Expression of alkane monooxygenase (*alkB*) genes by plant – associated bacteria in the rhizosphere and endosphere of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.) grown in diesel contaminated soil. *Environ. Pollut.* **157**, 3347–3350 (2009)
5. Arslan M., Imran A., Khan Q.M., Afzal M.: Plant –bacteria partnerships for the remediation of persistent organic pollutants. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **1–15** (2015)
6. Barac T., Taghavi S., Borremans B., Provoost A., Oeyen L., Colpaert J.V., Vangronsveld J., van der Lelie D.: Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. *Nat. Biotechnol.* **22**, 583–588 (2004)
7. Bisht S., Pandey P., Kaur G., Aggarwal H., Sood A., Sharma S., Kumar V., Bisht N.S.: Utilization of endophytic strain *Bacillus* sp. SBER3 for biodegradation of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in soil model system. *Eur. J. Soil. Biol.* **60**, 67–76 (2014)
8. Chen P., Pickard M., Gray M.: Surfactant inhibition of bacterial growth on solid anthracene. *Biodegradation*, **11**, 341–347 (2000)
9. Dashti N., Khanafer M., El-Nemr I., Sorkhoh N., Ali N., Radwan S.: The potential of oil utilizing bacterial consortia associated with legume root nodules for cleaning oily soils. *Chemosphere*, **74**, 1354–1359 (2009)
10. Doty S.L.: Enhancing phytoremediation through the use of transgenics and endophytes. *New Phytol.* **179**, 318–333 (2008)
11. Feng F., Ge J., Li Y., Cheng J., Zhong J., Yu X.: Isolation, colonization, and chlorpyrifos degradation mediation of the endophytic bacterium *Sphingomonas* strain HJY in chinese chives (*Allium tuberosum*). *J. Agric. Food Chem.* **65**, 1131–1138 (2017)
12. Feng N.X., Yu J., Zhao H.M., Cheng Y.T., Mo C.H., Cai Q.Y., Li Y.W., Li H., Wong M.H.: Efficient phytoremediation of organic contaminants in soils using plant-endophyte partnerships. *Sci. Total Environ.* **583**, 352–368 (2017)
13. Ferreira A., Quecine M.C., Lacava P.T., Oda S., Arau W.L.: Diversity of endophytic bacteria from Eucalyptus species seeds and colonization of seedlings by *Pantoea agglomerans*. *FEMS Microbiol. Lett.* **287**, 8–14 (2008).
14. Gałązka A.: Zanieczyszczenia gleb substancjami ropopochodnymi z uwzględnieniem biologicznych metod ich uzdatniania. *Kosmos*, **64**, 146–154 (2015)
15. Germaine K.J., Keogh E., Ryan D., Dowling D.N.: Bacterial endophyte mediated naphthalene phytoprotection and phytoremediation. *FEMS Microbiol. Lett.* **296**, 226–234 (2009)
16. Germaine K.J., Liu X., Cabellos G.G., Hogan J.P., Ryan D., Dowling D.N.: Bacterial endophyte-enhanced phytoremediation of the organochlorine herbicide 2,4 - dichlorophenoxyacetic acid. *FEMS Microbiol. Ecol.* **57**, 302–310 (2006)
17. Glick B.R.: Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* **169**, 30–39 (2014)
18. Hardoim P.R., van Overbeek L.S., Elsas J.D.: Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol.* **16**, 463–471 (2008)
19. Ho Y.N., Hsieh J.L., Huang C.C.: Construction of a plant-microbe phytoremediation system: combination of vetiver grass with a functional endophytic bacterium, *Achromobacter xylosoxidans* F3B, for aromatic pollutants removal. *Bioresour. Technol.* **145**, 43–47 (2013)
20. Ho Y.N., Mathew D.C., Hsiao S.C., Shih C.H., Chien M.F., Chiang H.M., Huang C.C.: Selection and application of endophytic bacterium *Achromobacter xylosoxidans* strain F3B for improving phytoremediation of phenolic pollutants. *J. Hazard. Mater.* **219–220**, 43–49 (2012)

21. Ijaz A., Imran A., Anwar ul Haq M., Khan Q., Afzal M.: Phyto-remediation: recent advances in plant-endophytic synergistic interactions. *Plant Soil*, **392**, 1–17 (2015)
22. Iqbal A., Arshad M., Hashmi I., Karthikevan R., Gentry T.J., Schwab A.P.: Biodegradation of phenol and benzene by endophytic bacterial strains isolated from refinery wastewater-fed *Cannabis sativa*. *Environ. Technol.* **13**, 1–10 (2017)
23. Jin D., Jiang X., Ou Z.: Effects of concentration, head group, and structure of surfactants on the degradation of phenanthrene. *J. Hazard. Mater.* **144**, 215–221 (2007)
24. Johnston-Monje D., Raizada, M. N.: Conservation and diversity of seed associated endophytes in *Zea* across boundaries of evolution, ethnography and ecology. *PLoS One* **6**, e20396 (2011)
25. Kang J.W., Khan Z., Doty S.L.: Biodegradation of trichloroethylene by an endophyte of hybrid poplar. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 3504–3507 (2012)
26. Karnwal.: Use of Bio-Chemical Surfactant Producing Endophytic Bacteria Isolated from Rice Root for Heavy Metal Bioremediation. *Pertanika J. Trop. Agric. Sci.* **41**, 699–714 (2018)
27. Khan S., Afzal M., Iqbal S., Khan Q.M.: Plant-bacteria partnerships for the remediation of hydrocarbon contaminated soils. *Chemosphere*, **90**, 1317–1332 (2013)
28. Khan Z., Roman D., Kintz T., delas Alas M., Yap R., Doty S.: Degradation, phytoprotection and phytoremediation of phenanthrene by endophyte *Pseudomonas putida*, PD1. *Environ. Sci. Technol.* **48**, 12221–12228 (2014)
29. Kukla M., Płociniczak T., Piotrowska-Seget Z.: Diversity of endophytic bacteria in *Lolium perenne* and their potential to degrade petroleum hydrocarbons and promote plant growth. *Chemosphere*, **117**, 40–46 (2014)
30. Li H.Y., Wei D.Q., Shen M., Zhou Z.P.: Endophytes and their role in phytoremediation. *Fungal Divers.* **54**, 11–18 (2012)
31. Li J.L., Chen B.H.: Surfactant-mediated biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Materials*, **2**, 76–94 (2009)
32. Lima J. M. S., Pereira J. O., Batista I. H., Pereira Junior R. C., Barroso H. dos S., Costa Neto P. de Q., Jackisch-Matsuura A.B., França S de C, Azevedo J.L.: Biosurfactants produced by *Microbacterium* sp. isolated from aquatic macrophytes in hydrocarbon-contaminated area in the Rio Negro, Manaus, Amazonas. *Acta Sci. Biol. Sci.* **39**, 13–20 (2017)
33. Liu J., Liu S., Sun K., Sheng Y., Gu Y., Gao Y.: Colonization on root surface by a phenanthrene degrading endophytic bacterium and its application for reducing plant phenanthrene contamination. *PLoS ONE*, **9**, e108249 (2014)
34. Liu X., Germaine K. J., Ryan, D., Dowling, D. N.: Whole-cell fluorescent biosensors for bioavailability and biodegradation of polychlorinated biphenyls. *Sensors*, **10**, 1377–1398 (2010)
35. Łuksa A., Mendrycka M., Stawarz M.: Bioremediacja gleb zaolejonych z wykorzystaniem sorbentów. *Nafta-Gaz*, **66**, 810–818 (2010)
36. Marecik R., Króliczak P., Cyplik P.: Fitoremediacja – alternatywa dla tradycyjnych metod oczyszczania środowiska. *Biotechnologia*, **74**, 88–97 (2006)
37. McGuinness M., Dowling D.: Plant-associated bacterial degradation of toxic organic compounds in soil. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **6**, 2226–2247 (2009)
38. McGuinness M.C., Mazurkiewicz V., Brennan E., Dowling D.N., Dechlorination of pesticides by a specific bacterial glutathione S-transferase, BphKLB400: Potential for bioremediation. *Eng. Life Sci.* **7**, 611–615 (2007)
39. Mercado-Blanco J., Lugtenberg B.J.J.: Biotechnological Applications of Bacterial Endophytes. *Current Biotechnology*, **3**, 60–75 (2014)
40. Michałowicz J., Duda W.: Phenols-sources and toxicity. *Pol. J. Environ. Stud.* **16**, 347–362 (2007)
41. Mitter B., Petric A., Shin M.W., Chain P.S., Hauberg-Lotte L., Reinhold-Hurek B., Nowak J., Sessitsch A.: Comparative genome analysis of *Burkholderia phytofirmans* PsJN reveals a wide spectrum of endophytic lifestyles based on interaction strategies with host plants. *Front Plant Sci.* **4**, 120 (2013)
42. Mohan P.K., Nakhla G., Yanful E.K.: Biokinetics of biodegradation of surfatants under aerobic, anoxic and anaerobic conditions. *Water Res.* **40**, 533–540 (2006)
43. Moore F.P., Barac T., Borremans B., Oeyen L., Vangronsveld J., van der Lelie D., Campbell C.D., Moore E.R.B.: Endophytic bacterial diversity in poplar trees growing on a BTEX-contaminated site: the characterisation of isolates with potential to enhance phytoremediation. *Syst. Appl. Microbiol.* **29**, 539–556 (2006)
44. Nath, D., Haque, A., Asraful, S., Dae, H., Keun, M.: Ecotoxicology and Environmental Safety Cloning and expression of *ophB* gene encoding organophosphorus hydrolase from endophytic *Pseudomonas* sp. BF1-3 degrades organophosphorus pesticide chlorpyrifos. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **108**, 135–141 (2014)
45. Oliveira V., Gomes N.C., Almeida A., Silva A.M., Silva H., Cunha A.: Microbe-assisted phytoremediation of hydrocarbons in estuarine environments. *Microb. Ecol.* **69**, 1–12 (2015)
46. Ongena M., Jacques P.: *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* **16**, 115–125 (2008)
47. Pacwa-Płociniczak M., Plaza G.A., Piotrowska-Seget Z., Cameotra S.S.: Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *Int. J. Mol. Sci.* **12**, 633–654 (2011)
48. Pathak K.V., Keharia H.: Application of extracellular lipopeptide biosurfactant produced by endophytic *Bacillus subtilis* K1 isolated from aerial roots of banyan (*Ficus benghalensis*) in microbially enhanced oil recovery (MEOR). *Biotech.* **4**, 41–48 (2014)
49. Patrao S., Acharya A., Suvarna N., Sequeira M.: Degradation of anionic surfactants by *Bacillus subtilis* and *Bacillus cereus*. *Pharm Biol Sci.* **3**, 42–45 (2012)
50. Pawlik M., Piotrowska-Seget Z.: Endophytic bacteria associated with *Hieracium piloselloides*: Their potential for hydrocarbon-utilizing and plant growth-promotion. *J. Toxicol. Environ. Heal. Part A.* **78**, 860–870 (2015)
51. Pawlik M., Cania B., Thijs S., Vangronsveld J., Piotrowska-Seget Z.: Hydrocarbon degradation potential and plant growth-promoting activity of culturable endophytic bacteria of *Lotus corniculatus* and *Oenothera biennis* from a long-term polluted site. *Environ. Sci. Pollut. Res.* DOI 10.1007/s11356-017-9496-1 (2017)
52. Panz K., Miksch K.: Phytoremediation of explosives (TNT, RDX, HMX) by wildtype and transgenic plants. *J. Environ. Manage.* **113**, 85–92 (2012)
53. Peng A., Liu J., Gao Y., Chen Z.: Distribution of endophytic bacteria in *Alopecurus aequalis* Sobol and *Oxalis corniculata* L. from soils contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons. *PLoS ONE*, **8**, e83054 (2013)
54. Phillips L.A., Germida J.J., Farrell R.E., Greer Ch.W.: Hydrocarbon degradation potential and activity of endophytic bacteria associated with prairie plants. *Soil Biol. Biochem.* **40**, 3054–3064 (2008)
55. Pilon-Smits E.: Phytoremediation. *Ann. Rev. Plant Biol.* **56**, 15–39 (2005)
56. Pisarska K., Pietr S.J.: Bakterie endofityczne – ich pochodzenie i interakcje z roślinami. *Post. Mikrobiol.* **53**, 141–151 (2014)
57. Raaijmakers J. M., De Bruijn I., Nybroe O., Ongena M.: Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: More than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiol. Rev.* **34**, 1037–1062 (2010)
58. Rebello S., Asok A.K., Mundayoor S., Jisha M.S.: Surfactants: Toxicity, remediation and green surfactants. *Environ. Chem. Lett.* **12**, 275–287 (2014)

59. Rosenblueth M., Martínez-Romero E.: Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **19**, 827–837 (2006)
60. Ryan R., Germaine K., Franks A., Ryan D.J., Dowling D.N.: Bacterial endophyte: recent developments and applications. *FEMS Microbiol. Lett.* **278**, 1–9 (2008)
61. Sachdev D.P., Cameotra S.S.: Biosurfactants in agriculture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**, 1005–1016 (2013)
62. Santoyo G., Moreno-Hagelsieb G., Orozco-Mosqueda M.C., Glick B.R.: Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiol. Res.* **183**, 92–99 (2016)
63. Siciliano S.D., Fortin N., Mihoc A., Wisse G., Labelle S., Beaumier D., Ouellette D., Roy R., Whyte L.G., Banks M.K., Schwab P., Lee K., Greer C.W.: Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 2469–2475 (2001)
64. Semrau J.D.: Bioremediation via methanotrophy: overview of recent findings and suggestions for future research. *Front. Microbiol.* **2**, 209 (2011)
65. Sheng X., Chen X., He L.: Characteristics of an endophytic pyrene-degrading bacterium of *Enterobacter* sp. 12J1 from *Allium macrostemon* Bunge. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **62**, 88–95 (2008)
66. Sun K., Liu J., Gao Y., Jin L., Gu Y., Wang W. Isolation, plant colonization potential, and phenanthrene degradation performance of the endophytic bacterium *Pseudomonas* sp. Ph6-*gfp*. *Sci. Rep.* **4**, 5462 (2014)
67. Stepniewska Z., Kuźniar A.: Endophytic microorganisms – promising applications in bioremediation of greenhouse gases. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**, 9589–9596 (2013)
68. Stepniewska Z., Goraj W., Kuźniar A.: Przemiany metanu w środowiskach torfowych. *Forest Research Papers*, **75**, 101–110 (2014)
69. Taghavi S., Barac T., Greenberg B., Borremans B., Vangronsveld J., van der Lelie D.: Horizontal gene transfer to endogenous endophytic bacteria from poplar improves phytoremediation of toluene. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 8500–8505 (2005)
70. Taghavi S., Weyens N., Vangronsveld J., van der Lelie D.: Improved phytoremediation of organic contaminants through engineering of bacterial endophytes of trees (w) Endophytes of forest trees, red. Pirttilä, A. M, Frank A. C, Springer, Dordrecht, 2011, s. 205–216
71. Thijs S., Van Dillewijn P., Sillen W., Truyens S., Holtappels M., D’Haen J., Carleer R., Weyens N., Ameloot M., Ramos J.L., Vangronsveld J.: Exploring the rhizospheric and endophytic bacterial communities of *Acer pseudoplatanus* growing on a TNT-contaminated soil: towards the development of a rhizo-competent TNT-detoxifying plant growth promoting consortium. *Plant Soil.* **385**, 15–36 (2014)
72. Truu J., Truu M., Espenberg M., Nolvak H., Juhanson J.: Phytoremediation and plant-assisted bioremediation in soil and treatment wetlands: a review. *Open Biotechnol. J.* **9**, 85–92 (2015)
73. Van Aken B., Peres C.M., Doty S.L., Yoon J.M., Schnoor J.L.: *Methylobacterium populi* sp. Nov., a novel aerobic, pink-pigmented, facultatively methylotrophic, methane-utilizing bacterium isolated from poplar trees (*Populus deltoids x nigra* DN34). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **54**, 1191–1196 (2004)
74. Wang Y., Li H., Zhao W., He X., Chen J., Geng X., Xiao M.: Induction of toluene degradation and growth promotion in corn and wheat by horizontal gene transfer within endophytic bacteria. *Soil Biol. Biochem.* **42**, 1051–1057 (2010)
75. Weyens N., van der Lelie D., Taghavi S., Vangronsveld J.: Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge. *Curr. Opin. Biotechnol.* **20**, 248–254 (2009)
76. Weyens N., van der Lelie D., Artois T.: Bioaugmentation with engineered endophytic bacteria improves contaminant fate in phytoremediation. *Environ. Sci. Technol.* **43**, 9413–9418 (2009)
77. Weyens N., Truyens S., Dupae J., Newman L., Taghavi S., van der Lelie D., Carleer R., Vangronsveld J.: Potential of the TCE-degrading endophyte *Pseudomonas putida* W619-TCE to improve plant growth and reduce TCE phytotoxicity and evapotranspiration in poplar cuttings. *Environ. Pollut.* **158**, 2915–2919 (2010)
78. Weyens N., Croes S., Dupae J., Newman L., van der Lelie D., Carleer R., Vangronsveld J.: Endophytic bacteria improve phytoremediation of Ni and TCE co-contamination. *Environ. Pollut.* **158**, 2422–2427 (2010)
79. Wu T., Xu J., Xie W., Yao Z., Yang H., Sun C., Li X.: *Pseudomonas aeruginosa* L10: A Hydrocarbon-Degrading, Biosurfactant-Producing, and Plant-Growth-Promoting Endophytic Bacterium Isolated From a Reed (*Phragmites australis*). *Front. Microbiol.* **9**, 1087 (2018)
80. Xu X., Sun J., Nie Y. Wu X.: *Spirodela polyrhiza* stimulates the growth of its endophytes but differentially increases their fenpropathrin-degradation capabilities. *Chemosphere*, **125**, 33–40 (2015)
81. Yousaf S., Afzal M., Anees M., Malik R.N., Campisano A.: Ecology and functional potential of endophytes in bioremediation: a molecular perspective (w) Advances in endophytic research, red. Verma V.C, Gange A.C, Springer, New Delhi, 2014, s. 301–320
82. Yousaf S., Afzal M., Reichenauer T.G., Brady C.L., Sessitsch A.: Hydrocarbon degradation, plant colonization and gene expression of alkane degradation genes by endophytic *Enterobacter ludwigii* strains. *Environ. Pollut.* **159**, 2675–2683 (2011)
83. Zhang X., Liu X., Wang Q., Chen X., Li H., Wei J., Xu G.: Diesel degradation potential of endophytic bacteria isolated from *Scirpus triquetar*. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **87**, 99–105 (2014)
84. Zemleduch A., Tomaszewska B.: Mechanizmy, procesy i oddziaływanie w fitooremediacji. *Kosmos*, **56**, 393–407 (2007)
85. Zhong Y., Luan T., Wang X., Lan C., Tam N.F.Y.: Influence of growth medium on cometabolic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas* sp. strain PheB4. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **75**, 175–186 (2007)
86. Zhu X., Ni X., Waigi M.G., Liu J., Sun K., Gao Y.: Biodegradation of mixed PAHs by PAH-degrading endophytic bacteria. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **13**, 805–818 (2016)