

Anna Strzelec

**Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa
w Puławach**

Wpływ drobnoustrojów glebowych na rozwój *Rhizobium* i *Bradyrhizobium* i ich symbiozę z roślinami motylkowatymi

Część II. Wpływ bakterii z rodzaju *Pseudomonas*

1. Kolonizacja korzeni przez *Pseudomonas*

Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* należą do mikroorganizmów powszechnie występujących w strefie korzeniowej, czyli ryzosferze roślin, i wykazują zdolność kolonizacji korzeni różnych rodzajów roślin uprawnych [3, 40, 47].

Mechanizm kolonizacji korzeni przez *Pseudomonas* nie jest dokładnie poznany. Wśród czynników wpływających na efektywność kolonizacji wymienia się skład wydzielin korzeniowych rośliny i ich właściwości chemotaksyczne. Scher i in. [40] uważają, że chemotaksja fluoryzujących szczepów *Pseudomonas* w kierunku wydzielin korzeniowych siewek soi jest pierwszym etapem kolonizacji korzeni przez te bakterie. Potwierdzeniem tych sugestii jest wykazana przez tych badaczy dodatnia chemotaksja *Pseudomonas* w kierunku asparaginy, treoniny i waliny, zastosowanych w stężeniach występujących w wydzielinach korzeniowych soi.

Innym czynnikiem mającym wpływ na efektywność kolonizacji korzeni przez bakterie z rodzaju *Pseudomonas* jest ich ruchliwość. De Weger i in. (cytat za Kurek, Kobus [30]) wykazali, że nieruchliwe mutanty *Pseudomonas fluorescens*, defektywne pod względem funkcjonalnych rzęsek, miały słabszą zdolność kolonizacji korzeni od szczepu dzikiego.

Seong, Höfte i Verstraete [44] w doświadczeniach wazonowych badali wpływ aklimatyzacji szczepu *Pseudomonas aeruginosa* TNSK2, wytwarzającego piowerdyny, i mutantu MPFM1 – nie wytwarzającego piowerdyn, na dynamikę ich populacji w glebie i na wzrost roślin. Szczepy wprowadzano do gleby od 0–4 tygodni przed siewem roślin. Aklimatyzowany szczep TNSK2 wpłynął korzystniej na plon roślin (wzrost plonu od 13 do 32%) niż szczep nie aklimatyzowany, wprowadzony bez-

pośrednio przed wysiewem roślin, dający przyrost plonu od 7 do 19%. Mutant nie wpływał na wzrost roślin. Po 2 lub 4 tygodniach aklimatyzacji szczepu 7NSK2 jego populacja w glebie wyraźnie się zmniejszała. Pozostałe w glebie komórki szczepu 7NSK2 aktywnie kolonizowały korzenie, powodując wyraźny spadek liczebności populacji grzybów na korzeniach (od 25 do 88%) i w endoryzosferze (około 70%). Szczep MPFM1 nie wpływał na populację grzybów. Wyniki te wykazują, że wytwarzanie piowerdyn w środowisku korzeni jest zasadniczym warunkiem stymulacji wzrostu roślin poprzez szczep 7NSK2.

Ważną rolę w kolonizacji korzeni przez *Pseudomonas* przypisuje się reakcji pomiędzy powierzchniowymi polisacharydami bakteryjnymi a glikoproteinami obecnymi na powierzchni korzeni [4, 22]. Anderson i in. [4] wykazali, że szczep *P. putida*, intensywnie kolonizujący korzenie fasoli *Phaseolus vulgaris*, był aglutynowany przez glikoproteinę z korzeni fasoli, natomiast dwa transpozonowe mutanty *P. putida*, nie dające aglutynacji z glikoproteiną, kolonizowały korzenie fasoli około 20–30-krotnie słabiej niż szczep dziki (Agg^+). Do wywołania aglutynacji konieczna jest obecność jonów dwuwartościowych. Wykazano, że jony Ca^{2+} i Mg^{2+} stymulują adhezję komórek *P. putida* do korzeni roślin (Anderson, Jasalavich cyt. za Kurek, Kobus [30]).

Intensywność kolonizacji przez *Pseudomonas* zależy od konkurencji pomiędzy mikroorganizmami występującymi wokół korzeni [34, 44], typu gleby i zdolności przesiąkania wody [23, 24, 37] oraz temperatury gleby [34, 43].

2. Wpływ *Pseudomonas* na rozwój i plonowanie roślin motylkowatych

Na podstawie oddziaływania drobnoustrojów ryzosfery na rośliny dzieli się je na ryzobakterie pożyteczne – plant growth-promoting rhizobacteria – (PGPR), ryzobakterie szkodliwe – deleterious rhizosphere microorganisms (DRMO) i ryzobakterie neutralne [18, 28].

Wykazano, że mikroflora ryzosfery roślin motylkowatych, w tym zasiedlające ją lub wprowadzone do niej w formie szczepionki bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, może wpływać stymulująco [11, 17, 22, 28, 29, 32, 39], hamująco [21, 29] lub nie mieć wpływu [11] na zawiązywanie brodawek korzeniowych przez bakterie symbiotyczne, a w efekcie również na wzrost tych roślin.

Wpływ *Pseudomonas* na rozwój i plon roślin może być efektem działania różnych mechanizmów i zależy od reakcji zachodzącej pomiędzy danym szczepem bakterii i gatunkiem, a nawet odmianą rośliny.

Stwierdzono, że ten sam szczep *Pseudomonas* sp. może wpływać na jeden rodzaj rośliny dodatnio lub nie mieć na nią wpływu [11], natomiast hamować wzrost innych [19].

Elliot i Lynch [19] wyizolowali z ryzosfery pszenicy ozimej szczepy *Pseudomonas* sp., które hamowały jej wzrost. Przyczyną hamowania były toksyny wytwarzane przez te szczepy [20]. Dalsze badania wykazały, że częściowo oczyszczone toksyny oraz filtraty z hodowli wytwarzających je szczepów, hamowały wzrost wielu drobnoustrojów glebowych [9, 10]. Bolton i in. [11], chcąc zbadać wpływ szczepu, *Pseudomonas*, wytwarzającego substancje toksyczne dla pszenicy, na wzrost i plonowanie grochu, szczepili korzenie siewek szczepem *Rhizobium leguminosarum biov. viceae* lub/i szczepem *Pseudomonas*. Kontrolą były rośliny nie szczepione. Stwierdzili, że *Pseudomonas* kolonizował korzenie grochu znacznie szybciej i intensywniej niż *Rhizobium*. W obecności *Pseudomonas* populacja *Rhizobium* w ryzosferze była mniejsza niż w serii kontrolnej, lecz liczba brodawek większa, a ich sucha masa i masa części nadziemnych grochu zbliżona do wartości z serii kontrolnej. Uzyskane wyniki wskazują, zdaniem autorów, że wytwarzane przez *Pseudomonas* metabolity nie są toksyczne dla grochu.

Grimes i Mount [22] wykazali, na podstawie wyników doświadczeń szklarniowych i polowych, wzrost brodawkowania fasoli *Phaseolus vulgaris* pod wpływem jej doszczepiania szczepem *Pseudomonas putida*, jednak plon nasion i masa pędów roślin nie uległy zmianie. Podobne wyniki uzyskali Bolton i in. [11] w doświadczeniu z grochem.

Kowalczuk [29] przebadła wpływ 11 szczepów *Pseudomonas* na efektywność symbiozy *R. leguminosarum biov. trifolii* z koniczyną hodowaną na podłożu agarowym dla roślin motylkowatych. Część spośród badanych szczepów wpływała stymulująco na proces symbiozy, zwiększając liczbę brodawek, intensywność wiązania N_2 oraz zieloną masę roślin. Pozostałe szczepy *Pseudomonas* hamowały proces symbiozy lub nie miały na niego wpływu.

Deryło i Skorupska [17], badając w hodowlach na podłożu agarowym, wpływ równoczesnego szczepienia koniczyny *R. leguminosarum biov. trifolii* i fluoryzującym *Pseudomonas* sp. 267, stwierdziły wyraźne zwiększenie masy brodawek i części nadziemnych koniczyny w porównaniu z kontrolą zakażoną jedynie *Rhizobium*. Nie stwierdzono natomiast stymulującego wpływu *Pseudomonas* na rozwój roślin nie brodawkujących (nie zakażonych *Rhizobium*). Ponieważ bakterie z gatunku *R. leguminosarum* są naturalnymi auksotrofami potrzebującymi do wzrostu pantotenu i tiaminy [27], autorki pracy zbadały wpływ *Pseudomonas* na wzrost badanych szczepów *Rhizobium* na podłożu bez witamin. Wyniki badań wykazały, że supernatant z hodowli szczepu *Pseudomonas* 267 stymulował wzrost *Rhizobium*. Zdaniem autorek mogło to być wynikiem wydzielanych przez *Pseudomonas* do pożywki rozpuszczalnych w wodzie witamin z grupy B. Przypuszczenia te potwierdziły dalsze badania, które wykazały, że działanie szczepu *Pseudomonas* 267 było porównywalne do efektu powodowanego przez witaminy.

3. Mechanizmy korzystnego oddziaływania *Pseudomonas* na rośliny

Wśród bakterii z rodzaju *Pseudomonas* występują zarówno szczepy mające korzystny, jak i niekorzystny wpływ na rozwój i plonowanie roślin. To, jak dany szczep wpływa na roślinę, zależy od rodzaju i stężenia wytwarzanych przez ten szczep metabolitów oraz od właściwości rośliny.

3.1. Ochrona roślin przed patogenami

Bakteriom z rodzaju *Pseudomonas* przypisuje się ważną rolę w ochronie roślin przed patogenami. Główne mechanizmy kontroli biologicznej roślin przed patogenami polegają na zdolności wytwarzania przez *Pseudomonas* sideroforów oraz metabolitów wykazujących aktywność antybiotyczną.

3.1.1 Synteza sideroforów

Korzystne oddziaływanie *Pseudomonas* na rozwój i plonowanie roślin może być efektem syntezy przez te bakterie – w warunkach niedoboru żelaza, to jest, gdy poziom jonu Fe^{+3} dostępnego dla roślin i drobnoustrojów spada poniżej 10^{-18}M – związków helatujących jony Fe^{+3} zwanych sideroforami. Drobnoustrojom wytwarzającym siderofory przypisuje się udział w biologicznej ochronie roślin przed patogenami, które wytwarzają znacznie mniej sideroforów i o słabszej sile kompleksowania żelaza [8, 33].

Siderofory wytwarzane przez *Pseudomonas* są sideroforami pośrednimi między katecholowymi i hydroksamowymi i zostały zakwalifikowane do grupy pseudobaktylnych – piowerdyn [17, 26, 31, 33]. Uzyskano przekonujące dowody, że czynnikiem warunkującym działanie *Pseudomonas* jest synteza przez nie sideroforów, przy czym aktywność sideroforu wyraża się jedynie w warunkach ograniczonej ilości łatwo dostępnego żelaza [7, 15, 17, 41].

Przypuszcza się, że kompleksy pseudobaktylnych z żelazem są pobierane przez *Pseudomonas*, natomiast patogenne bakterie i grzyby nie mają tej właściwości, co powoduje ograniczenie ich wzrostu i zapobiega kiełkowaniu spor grzybów. Wykazano, że transpozonowe mutanty *Pseudomonas*, niezdolne do syntezy pseudobaktylnych, straciły zdolność stymulacji wzrostu roślin. Powyższe wyniki sugerują, że konkurencja o żelazo na poziomie pobierania Fe^{+3} z kompleksu Fe^{+3} – siderofor jest podstawą działania szczepów *Pseudomonas* jako środka ochrony biologicznej roślin przed patogenami [15].

Höfte i in. [25] wykazali, że w warunkach stresowych, np. w obecności metali ciężkich lub mikrobiologicznej konkurencji, badany przez nich szczep *Pseudomonas fluorescens* wytwarzał więcej sideroforów (in vitro) niż w warunkach kontrolnych, pozbawionych tych stresów.

Zdolność wytwarzania sideroforów wykazano również u różnych gatunków bakterii symbiotycznych [13, 17, 36, 45]. Wytwarzane przez te bakterie siderofory są sideroforami katecholowymi. Za pośrednictwem tych helatów niektóre rośliny motylkowate mogą wykorzystywać żelazo [16]. Być może syntezie sideroforów rośliny motylkowate zawdzięczają swoje właściwości fitosanitarne.

3.1.2. Synteza antybiotyków

Mechanizm kontroli biologicznej polega nie tylko na wytwarzaniu przez *Pseudomonas* sideroforów. Wykazano, że niektóre z metabolitów tych bakterii wykazują aktywność antybiotyczną [6, 32].

Defago i Haas [6] stwierdzili obecność w podłożu hodowlanym bakterii z rodzaju *Pseudomonas* 16 różnych typów antybiotyków, w tym aż 9 było wytwarzanych przez szczepy *P. fluorescens*. Liczne z tych związków działały silnie przeciwgrzybowo.

Li i Alexander [32] badali wpływ szczepienia gleby szczepem *Pseudomonas* sp., wytwarzającym antybiotyki, na kolonizację korzeni lucerny i tworzenie brodawek przez szczep *R. meliloti* odporny na te antybiotyki. Kontrolę stanowiła seria szczepiona tylko *Rhizobium*. Stwierdzono, że liczebność komórek *Rhizobium* w ryzosferze wzrastała wraz ze wzrostem roślin (3, 5, 7, 14, 21 dni), a szczepienie gleby *Pseudomonas* zwiększało liczebność *Rhizobium* we wszystkich terminach analiz. Wzrost liczebności *Rhizobium* zależał od liczebności w szczepionkach komórek obu szczepów. Pod wpływem *Pseudomonas* stwierdzono wzrost liczby brodawek korzeniowych, natomiast plon roślin nie zmieniał się. Korzystny efekt szczepienia *Pseudomonas* na rozwój *Rhizobium* i brodawkowanie lucerny autorzy tłumaczą hamowaniem przez *Pseudomonas* rozwoju bakterii konkurencyjnych dla *Rhizobium* i bakterii wytwarzających toksyny, natomiast brakiem lub niewielkim wpływem na rozwój *Rhizobium* i na roślinę.

Zainteresowania badaczy idą w kierunku poszukiwania bakterii syntetyzujących antybiotyki o specyficznym działaniu na określony patogen, które mogłyby być wykorzystane do jego zwalczania, podczas gdy drobnoustroje wytwarzające antybiotyki o szerokim spektrum działania mogą być niebezpieczne dla środowiska, gdyż mogą eliminować również mikroflorę korzystną dla roślin.

3.2. Inne mechanizmy korzystnego oddziaływania *Pseudomonas*

Wiadomo, że mała zawartość w glebie łatwo dostępnego fosforu wpływa niekorzystnie na rozwój i przeżywalność bakterii symbiotycznych oraz zawiązywanie przez nie brodawek korzeniowych i wiązanie w nich N_2 , a tym samym obniża plon roślin motylkowatych. Niedobory fosforu ograniczają również rozwój roślin motylkowatych nawożonych N mineralnym.

Badania wykazały, że niektóre szczepy *Pseudomonas* z grupy PGPR zdolne są do uruchamiania jonu fosforanowego z nieorganicznych, trudno rozpuszczalnych związków fosforanowych, np. $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ [1, 28].

Kloepper i in. [28] i Azcon-Aguilara i in. [6], stosując znakowany fosfor, wykazali dodatnią korelację pomiędzy przyrostem plonu soi i rzepaku a zawartością ^{32}P w roślinach pod wpływem szczepienia ich nasion szczepem *Pseudomonas putida* lub *Pseudomonas* sp.

Korzystny wpływ *Pseudomonas* na rozwój roślin motylkowatych, poprzez poprawę ich zaopatrzenia w fosfor, potwierdziły również wyniki badań Azcon-Aguilara i Barea [5] z lucerną oraz Meyer i Linderman [35] z koniczyną. Badacze ci uprawiali rośliny na glebie zawierającej rodzime szczepy ich bakteryjnych symbiontów, szczepionej *Pseudomonas putida*, bakterią zaliczoną do PGPR i/lub grzybem endomikoryzowym. Na glebie szczepionej obu drobnoustrojami stwierdzono lepszą kolonizację korzeni przez grzyb mikoryzowy i wyższe plony roślin niż na glebie szczepionej samym *Pseudomonas* lub samym grzybem. *Pseudomonas putida* wyraźnie zwiększa intensywność brodawkowania koniczyny określoną po 6 i 12 tygodniach wzrostu roślin, natomiast grzyb mikoryzowy jedynie po 12 tygodniach. Najwięcej brodawek zawiązywanych było na korzeniach roślin uprawianych na glebie szczepionej obu drobnoustrojami. Brodawki roślin z serii kontrolnej, zakażonej jedynie *Rhizobium*, były wyraźnie mniejsze i słabiej wybarwione od brodawek z pozostałych serii. Ten korzystny wpływ szczepienia gleby *Pseudomonas* i grzybem mikoryzowym na brodawkowanie koniczyny autorzy przypisują lepszemu zaopatrzeniu roślin w fosfor, co potwierdziła analiza zawartości fosforu w badanych roślinach.

Alagawadi i Gaur [1] szczepili ciecierzycę *Rhizobium* i rozpuszczającymi fosforany szczepami z gatunku *Pseudomonas stratia* i *Bacillus polymyxa*. W wyniku skojarzonego szczepienia uzyskano znacznie wyższe plony roślin niż przy szczepieniu samym *Rhizobium*. Badacze ci sugerują, że bakterie z rodzaju *Pseudomonas* i *Bacillus*, oprócz rozpuszczania fosforanów, wytwarzają gibereliny i cytokininy stymulujące rozwój roślin. Zdolność szczepów *Pseudomonas*, w tym również szczepów rozpuszczających fosforany, do wytwarzania i wydzielania do ryzosfery regulatorów wzrostu roślin wykazali także inni badacze [6, 46, 48].

Innym mechanizmem korzystnego oddziaływania bakterii z rodzaju *Pseudomonas* na rozwój i plon roślin jest zdolność indukowania w roślinie odporności na patogeny. Indukowana przez te bakterie odporność objawia się zwiększoną akumulacją fungistatycznych fitoalexyn. Mechanizm tej indukcji nie jest poznany. Czynnikiem indukującym odporność mogą być: HCN, lipopolisacharydy ściany komórkowej bakterii lub martwe komórki [49].

Stymulacja wzrostu roślin motylkowatych przez bakterie z rodzaju *Pseudomonas* może być również wynikiem korzystnego wpływu wydzielanych przez te bakterie witamin na rozwój bakterii symbiotycznych [17].

4. Niekorzystne oddziaływanie *Pseudomonas* na rośliny

Wśród bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, stanowiących dominującą grupę w ryzo-sferze roślin, występuje wiele szczepów fitopatogennych, np. *P. syringe*, jak też szczepów wpływających niekorzystnie na wzrost roślin bez wywoływania objawów chorobowych. Niekorzystny wpływ tych ostatnich może być efektem zakłócenia przez nie zaopatrywania roślin w substancje odżywcze i wzrostowe. Przyczyną tego może być ich niekorzystne oddziaływanie na drobnoustroje z grupy PGPR, np. na wolno żyjące lub symbiotyczne asymilatory N₂ lub stymulacja przez nie innych rodzajów drobnoustrojów z grupy DRMO, oddziałujących niekorzystnie na rośliny.

Wśród metabolitów bakterii z rodzaju *Pseudomonas* znajdują się antybiotyki, auksyny, cytokininy, witaminy, etylen, HCN i inne substancje mogące wpływać na wzrost roślin. Wpływ tych metabolitów na rozwój roślin zależy od całkowitego lub względnego ich stężenia.

Do lotnych metabolitów licznych szczepów *Pseudomonas* należy cyjanowodór (HCN) [2, 12, 38, 42]. HCN jest silną trucizną, będącą inhibitorem cytochromowego szlaku oddechowego. Prekursorem HCN mogą być aminokwasy: alanina, prolina, glicyna i metionina lub inne cyjanogenne glikozydy spotykane w wydzielinach korzeniowych [50].

Piotrowska-Seget [38] stwierdziła, w wyniku wprowadzenia do gleby dwu szczepów *Pseudomonas* wytwarzających HCN, zahamowanie wzrostu fasoli i obniżkę jej plonu o 21 i 28%. Szczep wytwarzający więcej cyjanku silniej obniżał plon fasoli. Wzrost koncentracji w glebie miedzi lub żelaza powodował zwiększone wydzielanie HCN.

Hamujący wpływ HCN na rośliny wykazała także Alström [2], która stwierdziła, że bakterie hamujące wzrost roślin w doświadczeniach *in vitro* miały zdolność biosyntezy cyjanku, w przeciwieństwie do drobnoustrojów stymulujących wzrost roślin, które nie wykazywały tej właściwości.

Wyniki omawianych w pracy badań wskazują na możliwość zwiększenia plonów roślin motylkowatych żyjących w symbiozie z odpowiednim dla danej rośliny szczepem *Rhizobium* lub *Bradyrhizobium*. Jednym ze sposobów jest utrzymanie równowagi pomiędzy drobnoustrojami działającymi na rośliny korzystnie (PGPR) i niekorzystnie (DRMO) poprzez stosowanie odpowiedniego płodozmianu (unikanie zbyt częstej uprawy danej rośliny na tym samym polu). Innym sposobem zwiększania plonów roślin motylkowatych może być stosowanie szczepionek zawierających drobnoustroje z grupy PGPR, np. szczepów chroniących rośliny przed patogenami korzeniowymi lub zwiększających dostępność związków trudno rozpuszczalnych, np. fosforu, żelaza.

Szczepy użyte w szczepionkach powinny się charakteryzować łatwością kolonizacji korzeni i zdolnością intensywnego rozwoju w ryzosferze. Stosowanie takich szczepionek w praktyce rolniczej powinno być poprzedzone wnikliwymi badaniami, zmierzającymi do poznania czy wprowadzony szczep nie zachwieje równowagi biologicznej w glebie.

- [1] Alagawadi A.R., Gaur A.C. 1988. Associative effect of Rhizobium and phosphate-solubilizing bacteria on the yield and nutrient uptake of chick-pea. *Plant and Soil* 105: 241–246.
- [2] Alström S. 1987. Influence of root-zone inhibiting bacteria on growth of plants and soil-borne fungal pathogens. Praca doktorska, Szwecja, University of Agricultural Sciences, Upsala.
- [3] Anderson A.J., Guerra D. 1985. Responses of bean to root colonization with *Pseudomonas putida* in hydroponic system. *Phytopathology* 75: 992–995.
- [4] Anderson A.J., Tari P.H., Tepper C.S. 1988. Molecular studies on the role of a root surface agglutinin in adherence and colonization by *Pseudomonas putida*. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 375–380.
- [5] Azcon-Aguilar C., Barea J.M. 1978. Effect of interactions between different culture fractions of „phospho-bacteria” and Rhizobium on mycorrhizal infection growth and nodulation of *Medicago sativa*. *Can. J. Microbiol.* 24: 520–524.
- [6] Azcon-Aguilar C., Gianinazzi-Pearson V., Fardean J.C., Giannazzi S. 1986. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria on growth and nutrition of soybean in a natural-calcareous soil amended with ^{32}P – ^{45}Ca – tricalcium phosphate. *Plant and Soil* 96: 3–15
- [7] Bakker P.A.H.M., Van Peer R., Schippers B. 1991. Suppression of soil-borne plant pathogens by fluorescent *Pseudomonas*: mechanism and prospects. W: Biotic Interaction and Soil-borne Diseases. Eds. Beemster A.B.R., Bollen G.J., Gerlach M., Ruissen M.A., Schippers B., Tempel A. Elsevier, Amsterdam: 221–230.
- [8] Barash I. 1990. Iron, siderophores and plant-pathogen interaction. *Phytoparasitica* 18: 183–188.
- [9] Bolton H. Jr., Elliott L.F. 1989. Toxin production by a rhizobacterial *Pseudomonas* sp. that inhibit wheat root growth. *Plant and Soil* 114: 269–278.
- [10] Bolton H. Jr., Elliott L.F., Gurusiddaiah S., Fredrickson J.K. 1989. Characterization of a toxin produced by a rhizobacterial *Pseudomonas* sp. that inhibits wheat growth. *Plant and Soil* 114: 279–287.
- [11] Bolton H. Jr., Elliott L.F., Turco R.F., Kennedy A.C. 1990. Rhizoplane colonization of pea seedlings by *Rhizobium leguminosarum* and a deleterious root colonizing *Pseudomonas* sp. and effect on plant growth. *Plant and Soil* 123: 121–124.
- [12] Burns R.G., Alström S., Burton C.C., Dartnall A.M. 1989. Cyanogenetic microbes and phosphatase enzymes in the rhizosphere: properties and prospects for manipulation. W: Interrelationships between microorganisms and plants in soil. Proc. of Internat. Symp., Liblice, Czechosłowacja, 1977. Ed. Vancura V., Kunc F.
- [13] Carson K.C., Holliday S., Glenn A.R., Dilworth M.J. 1992. Siderophore and organic acid production in root nodule bacteria. *Archiv. Microbiolog.* 157: 264–271.
- [14] Defago G., Haas D. 1990. Pseudomonads as antagonists of soilborne plant pathogens: Mode of action genetic analysis. Soil Biochemistry, Eds. Bollac J.M., Stotzky G., Marcel Dekker, New York, Basel: 249–291.
- [15] Deryło M. 1994. Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* jako czynnik ochrony biologicznej. Ogólnopolskie Sympozjum: Oddziaływanie między mikroorganizmami i roślinami. Kazimierz Dolny, 1994: 18–19.
- [16] Deryło M., Skorupska A. 1992. Rhizobial siderophores as an iron source for clover. *Physiol. Plant.* 85: 549–553.
- [17] Deryło M., Skorupska A. 1993. Enhancement of symbiotic nitrogen fixation by vitamin-secreting fluorescent *Pseudomonas*. *Plant and Soil* 154: 211–217.

- [18] Dommergues Y.R. 1978. The plant-microorganisms system. W: Interactions Between Nonpathogenic Soil Microorganisms and Plants. Eds. Dommergues Y.R., Krupa S.V., Elsevier Scientific Publishing, New York: 1–37.
- [19] Elliot L.F., Lynch J.M. 1985. Plant growth-inhibitory pseudomonads colonizing winter wheat *Triticum aestivum* L. *Plant and Soil* 84: 57–65.
- [20] Fredrickson J.K., Elliott L.F. 1985. Colonization of winter wheat roots by inhibitory rhizobacteria. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 49: 1171–1177.
- [21] Fuhrmann J., Wollum A.G. 1989. Nodulation competition among Bradyrhizobium japonicum strains as influenced by rhizosphere bacteria and iron availability. *Biol. Fertil. Soils* 7: 108–112.
- [22] Grimes H.D., Mount M.S. 1984. Influence of *Pseudomonas putida* on nodulation of *Phaseolus vulgaris*. *Soil Biol. Biochem.* 16: 27–30.
- [23] Howie W.J., Cook R.J., Weller D.M. 1987. Effect of soil matric potential and cell motility on wheat root colonization of fluorescent *Pseudomonas* suppressive to take-all. *Phytopathology*. 77: 286–292.
- [24] Howie W.J., Echandi E. 1983. Influence of cultivar and soil type on plant growth and yield of potato. *Soil Biol. Biochem.* 15: 127–132.
- [25] Höfte M., Mergeay M., Diels L., Verstraete W. 1989. Influence of stress on siderophore production by fluorescent *Pseudomonas*. *Arch. Intern. de Physiol. et de Biochemie.* 97: B96.
- [26] Höfte M., Seong K.Y., Jurkevitch E., Verstraete W. 1991. Proverdin production by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strains TNSK2: ecological significance in soil. *Plant and Soil*. 130: 249–257.
- [27] Jordan D.C. 1989. Family Rhizobacteriaceae. W: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Eds. Krieg R.N., Holt J.G. 4: 230–256.
- [28] Kloepper J.W., Lifshitz R., Schroth M.N. 1988. *Pseudomonas* inoculants to benefit plant production. *ISI Atlas of Science: Animal and Plant Science* 1: 60–64.
- [29] Kowalczyk E. 1990. Symbiotyczne aspekty współzakazania koniczyny przez *Rhizobium* i *Pseudomonas*. Ogólnopolskie Sympozjum: Wpływ drobnoustrojów na wzrost i rozwój roślin. Puławy-Kazimierz Dolny, 1990: 12.
- [30] Kurek E., Kobus J. 1990. Korzystne i szkodliwe oddziaływanie mikroflory ryzosferowej na wzrost i rozwój roślin. *Post. Mikrobiol.* 29(2): 103–123.
- [31] Lemanceau P., Alabouvette C. 1993. Suppression of Fusarium Wilts by fluorescent *Pseudomonas*: mechanisms and applications. *Biocontrol Science and Technol.* 3: 219–234.
- [32] Li D.M., Alexander M. 1988. Co-inoculation with antibiotic-producing bacteria to increase colonization and nodulation by Rhizobia. *Plant and Soil*. 108: 211–219.
- [33] Loper J.E., Buyer J.S. 1991. Siderophores in microbial interactions on plant surface. *Molec. Plant-Microbe Interact.* 4: 5–13.
- [34] Loper J.E., Haack C., Schroth M.N. 1985. Population dynamics of soil *Pseudomonas* in the rhizosphere of potato *Solanum tuberosum* L. *App. Environment. Microbiol.* 49: 416–422.
- [35] Meyer J.R., Linderman R.G. 1986. Response of subterranean clover to dual inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and a plant growth-promoting bacterium, *Pseudomonas putida*. *Soil Biol. Biochem.* 18: 185–190.
- [36] Modi M., Shah K.S., Modi V.V. 1985. Isolation and characterization of catechol-like siderophores from cowpea *Rhizobium*. *Arch. Microbiol.* 141: 156–158.
- [37] Parke J.L., Moen R., Rovira A.D., Boven G.D. 1986. Soil water flow affects the rhizosphere distribution of a seed-born biological control agent *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol. Biochem.* 18: 583–588.
- [38] Piotrowska-Seget Z. 1994. Produkcja cyjanków przez ryzosferowe szczepy *Pseudomonas fluorescens* w ryzosferze. Ogólnopolskie Sympozjum: Oddziaływania między mikroorganizmami i roślinami. Kazimierz Dolny, maj 1994: 29.

- [39] Polonenko D., Scher F.M., Klopper J.W., Singleton C.A., Laliberle M., Zaleska I. 1987. Effect of root colonizing bacteria on nodulation of soybean roots by *Bradyrhizobium japonicum*. *Can. J. Microbiol.* 33: 498–503.
- [40] Scher F.M., Klopper J.W., Singleton C., Zaleska I., Laliberle M. 1988. Colonization of soybean roots by *Pseudomonas* and *Serratia* species: Relationship to bacterial motility, chemotaxis, and generation time. *Phytopathology* 78: 1055–1059.
- [41] Schipper B., Bakker A.W., Bakker P.A.M. 1987. Interaction of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25: 339–358.
- [42] Schippers B., Bakker A.W., Bakker P.A.H.M., VanPeer R. 1991. Beneficial and deleterious effect of HCN-producing *Pseudomonas* on rhizosphere interactions. W: *The Rhizosphere and Plant Growth*. Eds. Keister D.L., Gregan P.B., Kluwer Acad. Publ. the Netherlands: 211–219.
- [43] Seong K.Y., Höfte M., Boelens J., Verstraete W. 1991. Growth, survival, and root colonization of plant growth beneficial *Pseudomonas fluorescens* ANP15 and *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 at different temperatures. *Soil Biol. Biochem.* 23: 423–428.
- [44] Seong K.Y., Höfte M., Verstraete W. 1992. Acclimatization of plant growth promoting *Pseudomonas* strain 7NSK2 in soil: effect on population dynamics and plant growth. *Soil Biol. Biochem.* 24: 751–759.
- [45] Skorupska A., Deryło M., Lorkiewicz Z. 1989. Siderophore production and utilization by *Rhizobium trifoli*. *Biol. Metals.* 2: 45–49.
- [46] Sobieszczanski J., Stempniewicz R., Krzyśko T. 1989. *Pseudomonas* sp. as producer of plant growth regulators. W: *Interrelationships between microorganisms and plants in soil*. Proc. of an Internat Symp. Liblice, Czechoslovakia, 1987: 201–206.
- [47] Vancura V. 1980. *Pseudomonas* in the rhizosphere of plants and their relation to root exudates. *Folia Microbiol.* 25: 168–173.
- [48] Vancura V. 1989. Inoculation of plants with *Pseudomonas putida*. W: *Interrelationships between microorganisms and plants in soil*. Proc. of an Intern. Symp. Liblice, Czechoslovakia, 22–27 VI. 1989. Eds. Vancura V., Kunc F.
- [49] Van Peer R., Niemann G.J., Schippers B. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of fusarium wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology* 81: 728–734.
- [50] Voisard C., Keel C., Haas D., Defago G. 1989. Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO Journal* 8: 351–358.

The effect of soil microorganisms on *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* development and on their symbiosis with legume plants

Part II. The effect of bacteria of the genus *Pseudomonas*

The data presented in this article were obtained from studies on the effect of pseudomonads on the growth and development of legume plants and on their symbiosis with *Rhizobium* and *Bradyrhizobium*.

The conducted investigations have proven that pseudomonads are typical microorganisms in the rhizosphere of cultivated plants and show root colonization ability. The effectiveness of the root colonization depends on: the chemical composition of root exudates and their chemotaxic properties; the mobility of the *Pseudomonas* bacteria cells; the reaction between polysaccharides on the bacterial cell surface and glycoproteins in the surface of the roots; competition abilities of the bacterial strains; soil properties and many other factors.

It has been proved that pseudomonads can stimulate, inhibit or show no effect on the development and yield of the host plant. The means by which the bacterial strains can influence plant development depends on the kind and concentration of metabolites produced by the tested strain and the properties of the plant.

The mechanism of positive effect of pseudomonads on the plant is the protection of the host plant against its pathogens, due to the ability of bacteria to produce siderophores (especially of the pseudobactin-pioverdin group) and antibiotics. Some representatives of *Pseudomonas* can mobilize phosphate ions from poorly soluble inorganic compounds and can release growth stimulators and vitamins.

Among the pseudomonads are many phytopathogenic strains as well as many strain negatively influencing plant growth without visible symptoms of disease. This negative influence could be the result of disturbances in the supply to the plant of nutrients and growth stimulators caused by pseudomonads negatively affecting the soil microorganisms from the PGPR group and stimulating microorganisms from the DRMO group.