

Interakcje *Azospirillum* spp. z mikroorganizmami glebowymi

Maria J. Król

*Zakład Mikrobiologii Rolniczej,
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy*

Słowa kluczowe: ryzosfera, *Azospirillum*, *Rhizobium*, grzyby mikoryzowe

Wstęp

Najważniejszą rolę w systemie korzeniowym roślin odgrywają asocjacyjne bakterie diazotroficzne wiążące N_2 , należące do rodzajów: *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, *Campylobacter*, *Acetobacter*, *Herbaspirillum*, *Azoarcus*, *Gluconoacetobacter* i najpóźniej poznany rodzaj *Burkholderia*.

Ryzobakterie z rodzaju *Azospirillum* Baldani i in. [4] zaliczają do fakultatywnych endofitów zdolnych do kolonizacji zarówno zewnętrznej powierzchni korzenia, jak i wewnętrznej przestrzeni międzykomórkowej, korzystnie oddziałujących na wzrost i rozwój roślin [18, 19, 25]. W ostatnich badaniach ze szczepami bakterii *Azospirillum brasilense* TARRAND I IN. stwierdzono, że szczep Sp245, który kolonizował korzenie wewnętrznie, odgrywał większe znaczenie i wpływał istotnie na wzrost siewek pszenicy niż szczep Sp7, który był znaleziony tylko na powierzchni korzeni [40].

Wiadomo, że wzrost plonów głównie zależy od rozwoju roślin, a więc od rozbudowy systemu korzeniowego, a zatem zwiększenia dopływu wody i mineralnych substancji z gleby do korzenia i od biologicznego wiązania azotu [19].

Synteza fitohormonów u bakterii z rodzaju *Azospirillum* jest niezbędna do wytwarzania trwałych asocjacji z korzeniami roślin [28]. Hormony roślinne powodują podział i różnicowanie komórek w merystematycznej tkance korzenia, wskutek czego następuje wydłużanie się korzenia, produkowanie większej liczby włośników i rozgałęzianie się ich. Muller i in. [29, 30], badając wyizolowane z korzeni kukurydzy bakterie, stwierdził, że najaktywniejsze szczepy *Azospirillum lipoferum* BEIJERINCK wydzielają takie fitohormony, jak: auksyny, cytokininy i kwas abscyzynowy.

Obecnie uważa się, że w wypadku asocjacji *Azospirillum* z roślinami niemotylikowatymi udział wiązania N_2 w zaspokajaniu ich zapotrzebowania azotowego jest nie-

wielki. Większość związanego przez nie azotu może być udostępniona roślinom dopiero po śmierci i lizie komórek bakteryjnych, obserwowane zwyczajki plonu mogą być prawdopodobnie spowodowane wytwarzaniem substancji wzrostowych [46], enzymów pektynolitycznych [22, 24, 45] czy celulolitycznych [14, 26] lub sideroforów [3, 41] produkowanych przez te bakterie.

Wielokrotnie szczepiono nimi nasiona i siewki kukurydzy, sorga, prosa, pszenicy, traw paszowych oraz innych roślin uprawianych w doświadczeniach wazonowych i polowych [9, 43, 44]. Badano wpływ tych szczepień na ukorzenianie roślin, pobieranie przez nie składników odżywczych (azotu, potasu, fosforu), na aktywność nitrogenu, czas kwitnienia, zawartość azotu w roślinach i ziarnach, plony ziarna i suchą masę. Najczęściej wynik szczepienia roślin bakteriami z rodzaju *Azospirillum* był pozytywny. Uzyskiwano wyraźny wzrost suchej masy od 18 do 39%, znaczący wzrost plonów części wegetatywnych i ziarna od 5 do 30%, lepszy rozwój i rozgałęzienie systemu korzeniowego.

Interakcje z *Rhizobium*

Od ponad 100 lat prowadzone są badania z roślinami motylkowatymi. Na świecie w przybliżeniu 31 mln km² stepów jest częściowo pokryte motylkowatymi, a na około 1,3–1,5 mln km² pól są uprawiane motylkowane na ziarno. Na tej powierzchni ziemi przeciętny plon wynosi 1,5 t ziarna · ha⁻¹, a ilość ogólna 200 mln ton [51]. W intensywnym europejskim rolnictwie uprawia się nie mniej niż 10% motylkowatych w gospodarstwach.

Wiele gatunków roślin motylkowatych wysoko plonujących uprawia się nie tylko dlatego, że wiążą N₂, ale również dlatego, że dostarczają cennego białka, oleju roślinnego lub innych surowych materiałów. Rośliny motylkowane opłaca się szczepić *Rhizobium* ze względu na podniesienie ilości związanego N₂ i większe plonowanie.

Najlepiej zbadana jest symbioza *Rhizobium* z roślinami motylkowatymi. We wczesnych stadiach tej symbiozy wolno żyjące bakterie symbiotyczne atakują włókienki korzeniowe. Wszystkie bakterie z rodziny *Rhizobiaceae* wytwarzają formy bakteroidalne wyłącznie w tkance bakteroidalnej brodawek korzeniowych roślin.

Badania wpływu różnych bakterii z grupy PGPR, np. *Azotobacter*, *Azospirillum* czy innych wolno żyjących asymilatorów wiązania azotu, na rozwój bakterii symbiotycznych i symbiozę z roślinami motylkowatymi prowadzone były w poszukiwaniu możliwości zwiększenia symbiozy, a równocześnie plonów tych roślin. Wyniki badań wpływu szczepienia roślin motylkowatych różnymi szczepami bakterii z rodzaju *Azospirillum* na proces symbiozy z bakteriami brodawkowymi i wiązanie symbiotyczne N₂ oraz na rozwój i plonowanie tych roślin nie są jednoznaczne.

W wielu badaniach pod wpływem łącznego szczepienia roślin motylkowatych różnymi szczepami bakterii z rodzajów *Rhizobium* czy *Bradyrhizobium* i *Azospirillum* stwierdzono zwiększenie liczby i suchej masy brodawek korzeniowych oraz

wzrost aktywności w nich wiązania N_2 , a w związku z tym i wzrost plonowania roślin motylkowatych w stosunku do nieszczepionych *Azospirillum* spp. roślin kontrolnych [1, 11, 12]. Największy efekt szczepienia korzeni roślin bakteriami *Azospirillum* spp. na proces brodawkowania *Rhizobium* spp. był demonstrowany w badaniach Yahalom i in. [48]. Stwierdzono to na przykładzie szczepienia *Medicago polymorpha* L. zawiesiną komórek bakterii *Rhizobium* $10 \text{ cfu} \cdot \text{ml}^{-1}$, co nie dawało brodawkowania, dopiero po doszczepieniu zawiesiną *Azospirillum* spp. ($10^6 \text{ cfu} \cdot \text{ml}^{-1}$) już po 24 godzinach zauważono wczesne objawy formowania brodawek na korzeniach rośliny. Możliwe, że po doszczepieniu bakteriami *Azospirillum* spp. zwiększyła się reakcja podatności rośliny na infekcje *Rhizobium* i stymulacja formowania większej liczby epidermalnych komórek, które różnicowały się w zakażonych włosnikach korzeniowych.

W innej pracy stwierdzono, że formowanie brodawek na korzeniach koniczyny rosnącej na płytkach było hamowane lub stymulowane przez podwójne szczepienie *Azospirillum* spp. (5 szczepów) i *Rhizobium tripholii* DANGEARD (14 szczepów) i zależało od liczebności komórek obu bakterii w szczepionkach oraz terminu ich stosowania. Stymulację brodawkowania stwierdzono, gdy rośliny szczepiono najpierw *Rhizobium*, a *Azospirillum* spp. wprowadzano co najmniej 24 godziny później lub odwrotnie, komórki używano w stosunku 1 : 250 i 1 : 1000 (*Rhizobium* : *Azospirillum*). Szczególnie wyraźny hamujący wpływ *Azospirillum* spp. obserwowano, gdy w użytej do szczepienia mieszance stosunek *Rhizobium* do *Azospirillum* wynosił powyżej 1 : 2000. Autorzy sugerowali, że kolonizacja włosników korzeniowych przez komórki bakterii *Azospirillum* spp. może blokować miejsca infekcji przez *Rhizobium* spp. Komórki bakterii z rodzaju *Azospirillum* stwierdzono we wszystkich badanych brodawkach roślin [35, 36, 37]. Itzigson i in. [17] zaobserwowali na płytkach z pożywką Fahrausa, że *Azospirillum* spp. zwiększa liczbę włosników korzeniowych, ale nie zwiększa ogólnej liczby infekcji. Stymulacja brodawkowania jest wynikiem szczepienia rośliny komórkami bakterii *Azospirillum* spp., co powoduje zwiększenie liczby włosników korzeniowych, lepsze ich rozgałęzianie się i przyrost korzeni bocznych, co może być częściowo spowodowane przez auksyny w odpowiedniej koncentracji [37].

Badania przeprowadzone z fasolą (*Phaseolus vulgaris* L.) i soją (*Glycine max* L.), szczepionymi odpowiednimi szczepami bakterii symbiotycznych oraz ich mieszanką ze szczepem bakterii *Azospirillum brasilense* TARRAND I IN., wykazały stymulujące działanie *Azospirillum* na aktywność nitrogenazy i wiązanie N_2 oraz na ilość i suchą masę brodawek jak również na wzrost fasoli i soi [1]. Praca ta potwierdza wazonowe badania Burdmana i in. [7] przeprowadzone z siewkami fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.), która była łącznie szczepiona mieszanką *Rhizobium* spp. i *Azospirillum* spp. w koncentracji $10^8 \text{ cfu} \cdot \text{ml}^{-1}$. Stwierdzono zwiększenie ogólnej liczby brodawek i wiązania azotu w porównaniu do roślin szczepionych wyłącznie bakteriami *Rhizobium* spp.

Badano również wpływ mieszanego szczepienia bakterii *Azospirillum-Rhizobium* na rośliny niemotylkowe. Stwierdzono, że łączne szczepienie bakteriami *Azospirillum brasilense* TARRAND I IN. i *Sinorhizobium meliloti* DANGEARD wpływało istotnie na

wzrost trzytygodniowych siewek owsa (*Avena sativa* L. – szczep *S. meliloti* DANGEARD CE52G) i ryżu [8, 39].

W niektórych pracach doniesiono również o braku wpływu bakterii *Azospirillum* spp., a nawet ich niekorzystnym oddziaływaniu na przebieg symbiozy i plonowanie roślin motylkowatych. Obserwowane hamowanie brodawkowania przy stosunku *Rhizobium* do *Azospirillum* jak 1 : 2000 było wynikiem nienormalnego skręcania się włóśników korzenia, rozgałęziania i rozdymania [37]. Podobnie stwierdzono, że szczepienie zbóż z bardzo wysokim poziomem komórek *Azospirillum* spp. może powodować inhibicję wzrostu korzeni rośliny. Komórki bakterii *Azospirillum* spp. powodują wykrzywianie się włóśników korzeniowych w różnych miejscach. Te wykrzywienia mogą hamować lub ograniczać infekcję bakterii *Rhizobium* spp. [35]. Yahalom i in. [50] stwierdzili, że redukcja wzrostu korzenia u *Medicago polymorpha* L. przy wysokim poziomie komórek *Azospirillum* spp. (10^9 cfu · ml⁻¹) była wynikiem zmniejszenia się podziału komórki na wierzchołku merystemu korzenia i to ograniczało znacznie zapoczątkowanie rozwoju brodawki.

Ograniczenie brodawkowania w ryzosferze koniczyny można tłumaczyć również przez konkurencję między bakteriami z rodzaju *Rhizobium* i *Azospirillum*. Komórki bakterii *Azospirillum* spp. kolonizują korzenie wcześniej, już w kilka godzin po zaszczeniu [13], przed wniknięciem bakterii *Rhizobium* spp. do włóśników korzeniowych i wstrzymują w ten sposób proces brodawkowania przez *Rhizobium* spp. To założenie jest podtrzymywane przez fakt, że kiedy brodawkowanie jest hamowane, obserwowano skręcone włóśniki korzeniowe [37]. Skojarzone szczepienie wzrostu torebek *Medicago polymorpha* L. bakteriami *Rhizobium* spp. i *Azospirillum* spp. w odpowiedniej liczbie komórek 10^6 cfu · ml⁻¹ powoduje istotne zmiany w ilości brodawek w górnej części korzenia głównego [48]. W tych samych badaniach ekstrakty komórek i dializaty ze sterylnych supernatantów otrzymane z hodowli szczepów *Azospirillum* spp. powodowały podobne efekty jak żywe komórki bakterii *Azospirillum* spp. stosowane w koniugacji z *Rhizobium* spp. [49]. Efekt działania *Azospirillum* spp. może być naśladowany przez dodatek cytokininy czy adeniny benzyłowej (od 10^{-8} do 10^{-9} M), ale nie przez kwas indoliloctowy (IAA). Te obserwacje przeprowadzone przez autorów sugerują, że substancje, prawdopodobnie cytokininy, wydzielane przez *Azospirillum* spp. powodują wcześniejsze brodawkowanie i zmiany w morfologii korzenia lucerny.

Interakcje z grzybami mikoryzowymi

W 1887 botanik niemiecki Frank wprowadził termin „mikoryza”, określający współżycie korzeni roślin z grzybami, wyróżniając mikoryzę ektotroficzną i endotroficzną. Mikoryza ektotroficzna, czyli zewnętrzna, jest charakterystyczna dla różnych gatunków drzew i wytwarzana jest przez grzyby zaliczane do klasy *Basidiomycetes*. W mikoryzie endotroficznej, czyli wewnętrznej, korzenie roślin nie różnią się zewnętrznym wyglądem od korzeni bez mikoryzy i istnienie jej można określić dopiero na

podstawie badań mikroskopowych tkanek korzenia. Grzyby wytwarzające tę mikoryzę przenikają z gleby do wnętrza korzenia przez warstwę komórek epidermalnych. Strzępki grzybni przerastają pomiędzy komórkami tkanki korzeniowej, ale nie sięgają one do walca osiowego korzenia i wiązek naczyniowych. Strzępki grzybni wewnątrz komórek korzenia mogą tworzyć rozgałęzienia, krzaczaste lub drzewiaste – czyli arbuskule, albo owalne lub kuliste pęcherzyki, czyli wezikule. Ten typ mikoryzy nazywano mikoryzą wezikularno-arbuskularną lub pęcherzykowato-kłębuszkowatą, w skrócie VAM lub VA-mikoryzą [23].

Korzystny synergistyczny efekt wpływu łącznego szczepienia roślin uprawnych bakteriami z rodzaju *Azospirillum* i grzybami mikoryzowymi VAM przypisywany jest głównie zwiększonej zdolności wykorzystywania trudno rozpuszczalnych form fosforu glebowego przez rośliny [42].

Efekt wzrostu zbóż może być wzmocniony przez kombinację szczepienia *Azospirillum* spp. i grzybami mikoryzowymi VAM. Szczepienie łączne bakteriami z rodzaju *Azospirillum* i grzybami mikoryzowymi VAM – *Glomus fasciculatum* THAXT podnosiło poziom Fe i Zn, rośliny były zdolne do uzupełniania N i P [20]. Pośredni wpływ mikroflory ryzosferowej na stymulacje wzrostu roślin może być rezultatem pobudzenia rozwoju drobnoustrojów symbiotycznych. Wskazuje na to fakt, że po szczepieniu *Azospirillum brasilense* TARRAND I IN. zwiększa się infekcja roślin przez grzyby endomikoryzowe, co powoduje stymulację wzrostu i zwiększoną zawartość fosforu w roślinach zbożowych i trawach rosnących na glebach z niską zawartością fosforu. Rzeczywiście plony ziarna sorga (*Sorghum bicolor*) szczepionego bakteriami z rodzaju *Azospirillum* i grzybami mikoryzowymi VAM – *Glomus fasciculatum* THAXT, rosnących bez nawożenia, były porównywalne do tych nieszczepionych roślin uzupełnianych nawożeniem N i P [31, 34]. W dodatku w szczepionych roślinach zwiększał się poziom Fe i Zn, co wskazywało, że asocjacyjne organizmy zaopatrywały roślinnego gospodarza i w inne minerały glebowe. Podobne efekty uzyskali Barea i in. [5]; stwierdzili oni, że rośliny kukurydzy i rajgrasu szczepione bakteriami *Azospirillum brasilense* TARRAND I IN. i nawożone rozpuszczalnym fosforanem lub szczepione grzybem mikoryzowym *Glomus mosse* MOSSE i nawożone azotem lub nienawożone i zaszczepione tymi mikroorganizmami łącznie (*Azospirillum brasilense* TARRAND I IN. i *Glomus mosse* MOSSE) rosły równie dobrze jak rośliny nieszczepione, lecz nawożone N i P.

Pozytywne efekty łącznego szczepienia bakteriami *Azospirillum* spp. z różnymi szczepami grzybów mikoryzowych VA otrzymano w wypadku roślin *Triticum aestivum* L., *Hordeum vulgare* L., słodkiego ziemniaka, *Zea mays* L., *Lolium perenne* L., *Paspalum notatum* FLUEGGE, *Panicum virgatum* L. i *Pennisetum americanum* L. [5, 27, 42]. We wszystkich wypadkach zwiększał się wzrost roślin i zawartość N i P w plonach. Pozytywne efekty otrzymano również szczepiąc grzybami mikoryzowymi VA i gatunkiem *Glomus fasciculatum*.

Kiedy *Paspalum notatum* FLUEGGE lub *Panicum virgatum* L. były szczepione *Azospirillum brasilense* TARRAND I IN. i *Glomus macrocarpum* TULASNE, przy różnym pozio-

mie pH gleby, łączne szczepienie wspomagające wzrost roślin obserwowano tylko w słabo kwaśnych glebach, w których infekcja mikoryzowa w korzeniach współdziałała z bakteriami *Azospirillum brasilense* TARRAND I IN. [27]. Prawdopodobnie również inne czynniki środowiskowe mogły wpływać pozytywnie na interakcje między tymi mikroorganizmami. Pozytywne interakcje między drobnoustrojami *Azospirillum* i grzybami mikoryzowymi VA w ryzosferze mogą być bezpośrednie, zależne od mikroorganizmów, lub pośrednie, związane z ich wpływem na fizjologię rośliny gospodarza. Stwierdzono, że obecność grzybów mikoryzowych VA powoduje nie tylko wzrost liczebności, ale także różnorodności mikroorganizmów w ryzosferze. Kolonizacja korzeni przez grzyby mikoryzowe VA również stymuluje przepływ cukrów z rosnących pędów do korzeni [15], które mogą być później źródłem dostępnego węgla dla mikroorganizmów ryzosferowych. Kolonizacja korzeni sorga przez *Glomus etunicatum* BECKER I GERDEMANN zwiększa również zasiedlenie *Azospirillum brasilense* TARRAND I IN. w endoryzosferze [32], a szczepienie kukurydzy tymi bakteriami zwiększa również biomasa grzybów mikoryzowych [33]. Hormony roślinne wydzielane przez szczepy bakterii *Azospirillum* spp., takie jak kwas giberelinowy, kinetyna i IAA, poprawiają tworzenie się i rozwój VA-mikoryzy w różnych roślinach-gospodarzach [2].

Bakterie *Azospirillum* spp. były izolowane ze sterylizowanych powierzchni zarodników *Glomus fasciculatum* THAXT, *G. intraradices* SCHENK I SMITH, *G. scientilans* ROSE I TRAPPE, *G. mossae* MOSSE, *Gigaspora gilmorei* TRAPPE I GERD i *Sclerocystis dusii* PAT [47]. Towarzyszące bakterie z rodzaju *Azospirillum* na powierzchni zarodników zostały dotychczas rzadko stwierdzone, chociaż wiele grzybów wykorzystuje duże ilości azotu do produkcji sporokarpy i zarodników. Stymulacja przez bakterie *Azospirillum* spp. tworzenia zarodników przez grzyby VA-mikoryzowe powinna być jeszcze zbadana dokładniej.

Przeprowadzono również badania, w warunkach kontrolowanych, wpływu szczepienia *Azospirillum brasilense* TARRAND I IN., *Rhizobium meliloti* DANGEARD i *Glomus fasciculatum* THAXT na rozwój siewek, wzrost ich suchej masy i liczbę brodawek *Medicago sativa* L. oraz pobieranie składników odżywczych przez roślinę i liczebność wprowadzonych mikrosymbiontów w ryzosferze [6]. Stwierdzono synergistyczne działanie wszystkich mikroorganizmów na zwiększenie testowanych parametrów, zarówno w sterylizowanej, jak i niesterylizowanej glebie, w stosunku do warunków kontrolnych. Mniejszy efekt otrzymano przy szczepieniu lucerny każdym z osobna mikroorganizmem i gdy szczepiono rośliny *Rhizobium meliloti* DANDEARD i *Glomus fasciculatum* THAXT lub *Glomus fasciculatum* THAXT i *Azospirillum brasilense* TARRAND I IN.

Interakcje z innymi mikroorganizmami

Wpływ bakterii *Azospirillum* spp. na wzrost i rozwój roślin jest poniekąd znany, ale ich wpływ na mikroorganizmy glebowe nie jest dokładnie zbadany, chociaż można znaleźć kilka interesujących prac na ten temat.

Zbadano dokładnie interakcje między dwoma asocjacyjnymi wiążącymi N₂ mikroorganizmami *Azospirillum lipoferum* BEIJERINCK i *Azotobacter chroococcum* BEIJERINCK,

które były stosowane razem do szczepienia siewek pszenicy. Ich wpływ na strzelanie w źdźbło i przyswajanie azotu był o wiele większy niż każdego z nich z osobna [38].

Na podstawie tych i podobnych badań została opracowana hiszpańska szczepionka, stosowana dla zbóż i traw, przeznaczona głównie dla siewek jęczmienia, w skład której wchodzi mieszanka dwóch szczepów bakterii w koncentracji 10^8 cfu · ml⁻¹ *Azotobacter vinelandii* LIPMAN i *Azospirillum brasilense* TARRANDI IN. w proporcji 1 : 1, uzupełniona IAA, gibereliną, cytokininami i witaminami [16].

Asocjacyjny wpływ celulolitycznych grzybów, takich jak *Aspergillus awamori* NAKAZAWA i *A. niger* VAN TIEGHEM i *A. lipoferum* BEIJERINCK, był badany w glebie, do której dodano słomę ryżową. Łączne szczepienie celulolitycznymi grzybami i *Azospirillum* spp. zwiększało plon pszenicy, słomy i ziarna, w porównaniu do kontroli szczepionej tylko *Azospirillum* spp. [10].

Podsumowanie

Powyższe prace badawcze dotyczące interakcji *Azospirillum* spp. z mikroorganizmami glebowymi mogą przyczynić się – z jednej strony – do zwiększenia plonów roślin uprawnych, a z drugiej – do zmniejszenia stosowania mineralnych nawozów azotowych i pestycydów we współczesnym rolnictwie światowym, co może mieć duży wpływ na stan zanieczyszczenia środowiska.

Powodem słabszego zainteresowania bakteriami z rodzaju *Azospirillum* jest z pewnością ich mniejsza zdolność wiązania azotu w porównaniu z bakteriami z rodzaju *Rhizobium*, a także, niezbadane do końca – jak dotąd – ich możliwości zasiedlania różnych środowisk, zdolności przystosowawcze do zmieniających się warunków oraz asocjacje z innymi gatunkami drobnoustrojów i roślin w ryzosferze.

Literatura

- [1] Andreeva I.N., Redkina T.V., Mandkhan K., Kozlova G.I., Izmailov S.F. 1990. Stimulating effect of *Azospirillum brasilense* on rhizobium legume symbiosis and plant productivity. *Dokłady Botan.*: 313–315.
- [2] Azcon R., Azcon-G. De Aguilar C., Barea J.M. 1978. Effects of plant hormones present in bacterial cultures on the formation and responses to VA endomycorrhiza. *New Phytologist* 80: 359–364.
- [3] Bachhawat A.K., Ghosh S. 1987. Iron transport in *Azospirillum brasilense*: role of the siderophore spirillobactin. *J. Gen. Microb.* 133: 1759–1765.
- [4] Baldani J.I., Caruso L., Baldani V.L.D., Goi S.R., Döbereiner J. 1997. Recent advances in BNF with non-legume plants. *Soil Biol. Biochem.* 29: 911–922.
- [5] Barea J.M., Bonis A.F., Olivares J. 1983. Interactions between *Azospirillum* and VA mycorrhiza and their effects on growth and nutrition of maize and ryegrass. *Soil Biol. Biochem.* 15: 705–709.

- [6] Biro B., Koves-Pechy K., Takacs I., Eggenberger P., Strasser R.J. 2000. Interrelations between *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixers and arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of alfalfa in sterile, AMF-free or normal soil conditions. *Appl Soil Ecol.* 15(2): 159–168.
- [7] Burdman S., Kigel J., Okon Y. 1997. Effects of *Azospirillum brasilense* on nodulation and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Soil Biol. Biochem.* 29(5/6): 923–929.
- [8] Castro-Sowinski S., Martinez-Drets G., Okon Y. 2002. Laccase activity in melanin-producing strains of *Sinorhizobium meliloti*. *FEMS Microbiol. Lett.* 209(1): 115–121.
- [9] Döbereiner J. 1997. Biological nitrogen fixation in the tropics: social and economic contributions. *Soil Biol. Biochem.* 29(5/6): 771–774.
- [10] Darmwal N.S., Gaur A.C. 1988. Associative effect of cellulolytic fungi and *Azospirillum lipoferum* on yield and nitrogen uptake by wheat. *Plant Soil* 107: 211–218.
- [11] El-Mokadem M.T., Helemish F.A., Bakr Z.Y.M., Sheteawi S.A. 1989. Associative effect of *Azospirillum lipoferum* and *Azotobacter chroococcum* with *Rhizobium* spp. on mineral composition and growth chickpea (*Cicer arietinum*) on sandy soils. *Zbl. Mikrobiol.* 144: 255–265.
- [12] Fayez M., Emam N.F., Makboul H.E. 1988. Interaction between *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium leguminosarum* biovar viceae and their influence on nodulation and growth of broad bean (*Vicia faba*). W: Proceedings of the sec. Conf. of the agricultural research. Cairo 17–19 Dec. Vol. II. Food Science and Microbiol. Cairo. Egipt: 253–261.
- [13] Gafny R., Okon Y., Fischer M. 1986. Adsorption of *Azospirillum brasilense* to corn roots. *Soil Biol. Biochem.* 18: 69–75.
- [14] Halsall D.M., Turner G.L., Gibson A.H. 1985. Straw and xylan utilisation by pure cultures of nitrogen-fixing *Azospirillum* spp. *App. Environ. Microbiol.* 49: 423–428.
- [15] Harris D., Pacovsky R.S., Paul E.A. 1985. Carbon economy of soybean-Rhizobium-Glomus associations. *New Phytologist* 101: 427–440.
- [16] Hernandez T., Garcia C., Pascual J.A., Hernandez M.M. 2002. Effect of Azobac on barley seedling growth. 9th International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-Legumes. September 1–5, 2002, Leuven, Belgium: 151.
- [17] Itzigson R., Kapulnik Y., Okon Y., Dovrat A. 1993. Physiological and morphological aspects of interactions between *Rhizobium meliloti* and alfalfa (*Medicago sativa* L.) in association with *Azospirillum brasilense*. *Can. J. Microbiol.* 39: 610–615.
- [18] Jaśkowska H. 1989. *Azospirillum* – asocjacyjne bakterie wiążące azot cząsteczkowy. *Post. Mikrobiol.* 28: 77.
- [19] Jaśkowska H. 1994. Occurrence of bacteria of the genus *Azospirillum* in rhizosphere of different cereal varieties. *Ann. Warsaw Agricultural University – SGGW. Agriculture* 27: 61.
- [20] Kandasamy D., Palanisamy D., Oblisami G. 1981. Screening of gerplasm of sweet potato for VA-mycorrhizal fungal occurrence and response of the crop to inoculation of VAM fungi and *Azospirillum*. *Am. Nurseryman* 155: 79.
- [21] Kapulnik Y., Feldman M., Okon Y., Henis Y. 1985. Contribution of nitrogen fixed *Azospirillum* to the N nutrition of spring wheat in Israel. *Soil Biol. Biochem.* 17: 509–515.
- [22] Khammas K.M., Kaiser P. 1991. Characterization of a pectinolytic activity in *Azospirillum irakense*. *Plant Soil* 137: 75–79.
- [23] Kobus J., Książniak A. 1997. Mikoryza wezikularno-arbuskularna roślin zielnych. *Post. Nauk Rol.* 5: 73–90.

- [24] Król M., Perzyński A., Kobus J. 1998. Hydroliza pektyn przez bakterie z rodzaju *Azospirillum*. Ogólnopolskie Sympozjum. „Ekologiczne aspekty mikrobiologii gleby”. Zesz. AR w Poznaniu: 155–167.
- [25] Kulińska D. 1983. Occurrence of *Azospirillum* in Polish soils. *Acta Microbiol. Pol.* 32: 265.
- [26] Ladha J.K., Padre A.T., Nayak D.N., Garcia M., Watanabe I. 1986. Nitrogen fixation by single and mixed heterotrophic bacteria in flooded paddy soils amended with hydrogen peroxide treated straw (hemicellulose). W: Proceedings of the IV International Symposium on Microbial Ecology. Ljubljana, Yugoslavia: 603.
- [27] Menze H. 1985. Wechselwirkungen zwischen *Azospirillum* und VA-Mykorrhiza mit Gramineen bei verschiedenen Boden – pH – Werten. *J. Agron. Crop Sci.* 155: 232–237.
- [28] Michiels K., Vanderleyden J., Van Gool A. 1989. *Azospirillum* – plant root associations. A review. *Biol. Fertil. Soils* 8: 356–368.
- [29] Muller M., Deigle C., Ziegler H. 1989. Hormonal interactions in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) and their effects on plant development. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk.* 152: 247–254.
- [30] Nieto K.F., Frankenberger W.T.J. 1990. Microbial production of cytokinins. *Soil Biol. Biochem.* 6: 191–246.
- [31] Pacovsky R.S. 1986. Micronutrient uptake and distribution in mycorrhizal or phosphorus fertilised soybeans. *Plant Soil* 95: 379–388.
- [32] Pacovsky R.S. 1989. Diazotroph establishment and maintenance in the *Sorghum-Glomus-Azospirillum* association. *Can. J. Microbiol.* 35: 977–981.
- [33] Pacovsky R.S. 1989. Metabolic differences in *Zea-Glomus-Azospirillum* symbioses. *Soil Biol. Biochem.* 21: 953–960.
- [34] Pacovsky R.S. 1989. Influence of inoculation with *Azospirillum brasilense* and *Glomus fasciculatum* on sorghum nutrition. Nitrogen Fixation with Non-Legumes. Skinner F.A., Boddey R.M., Fendrik I. (red.) Dordrecht: Kluwer Academic Publishers: 235–239.
- [35] Plaziński J., Rolf B.G. 1985. Analysis of pectolytic activity of *Rhizobium* and *Azospirillum* strains isolated from *Tripholium repens*. *J. Plant Physiol.* 120: 181–187.
- [36] Plaziński J., Rolf B.G. 1985. *Azospirillum*–*Rhizobium* interaction leading to a plant growth stimulation without nodule formation. *Can. J. Microbiol.* 31: 1026–1030.
- [37] Plaziński J., Rolf B.G. 1985. Influence of *Azospirillum* strains on nodulation of clovers by *Rhizobium* strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 49: 984–989.
- [38] Rai S.N., Gaur A.C. 1988. Characterisation of *Azotobacter* spp. and effect of *Azotobacter* and *Azospirillum* as inoculant on the yield and N-uptake of wheat crop. *Plant Soil* 109: 131–134.
- [39] Rosconi F., Carbo A., Castro-Sowinski S., Martinez-Drets G. 2002. Growth promotion of *Avena sativa* by *Azospirillum* and *Sinorhizobium*. 9th International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-Legumes. September 1–5, 2002, Leuven, Belgium: 125.
- [40] Rothballer M., Schmid M., Hartmann A. 2002. Quantification and in situ detection of *Azospirillum brasilense* strains colonising roots of different wheat varieties. 9th International Symposium on Nitrogen Fixation with Non-Legumes. September 1–5, 2002, Leuven, Belgium: 37.
- [41] Saxena B., Vithlani L., Modi V.V. 1989. Siderophore-mediated transport of molybdenum in *Azospirillum lipoferum* strain D-2. *Curr. Microbiol.* 19: 291–295.

- [42] Subba Rao N.S., Tilak K.V.B.R., Singh C.S. 1985. Synergistic effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas and *Azospirillum brasilense* on the growth of barley in pots. *Soil Biol. Biochem.* 17: 119–121.
- [43] Sturz A.V., Nowak J. 2000. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. *Appl. Soil Ecol.* 15(2): 183–190.
- [44] Thomas J., Palaniappan S.P., Hopper W., Nirmala C.B. 1995. Development of *Rhizobium* and *Azospirillum* inoculants with enhanced potential for field application. Nitrogen fixation: fundamentals and application: proceeding of the 10th International Congress on Nitrogen Fixation. St. Petersburg, Russia, May 28–June, Vol. 27: 659–664.
- [45] Tien T.M., Diem H.G., Gaskins M.H., Hubbell D.H. 1981. Polygalacturonic acid ranselminase production by *Azospirillum* species. *Can. J. Microbiol.* 27: 426–431.
- [46] Tien T.U., Gaskins U.H., Hubbell D.H.: 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on growth of pearl millet. *Appl. Environ. Microbiol.* 37(5): 1016–1024.
- [47] Tilak K.V.B.R. 1989. Occurrence of nitrogen-fixing *Azospirillum* in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 116: 286–288.
- [48] Yahalom E., Okon Y., Dovrat A. 1987. *Azospirillum* effects on susceptibility to *Rhizobium* nodulation and on nitrogen fixation of several forage legumes. *Can. J. Microbiol.* 33: 510–514.
- [49] Yahalom E., Okon Y., Dovrat A. 1990. Possible mode of action of *Azospirillum brasilense* strain Cd on the root morphology and nodule formation in burr medic (*Medicago polymorpha*). *Can. J. Microbiol.* 36: 10–14.
- [50] Yahalom E., Dovrat A., Okon Y., Czosnek H. 1991. Effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* strain Cd and *Rhizobium* on the root morphology of burr medic (*Medicago polymorpha* L.). *Israel J. of Botany* 40(2): 155–164.
- [51] Werner D. 1992. *Symbioses of Plants and Microbes*. London: Chapman & Hall: 300.

The interaction of *Azospirillum* spp. with soil microorganisms

Key words: *Azospirillum*, *Rhizobium*, VA-mycorrhizal fungi, symbiotic microorganisms

Summary

Inoculation of various plants with *Azospirillum* spp. caused remarkable changes in the morphology of their root systems and a positive increase in plant growth when applied in combination with microsymbionts, such as VA-mycorrhizal fungi or *Rhizobium*. At concentration of 10⁸ cfu per plant the *Azospirillum* spp. stimulated the appearance of lateral roots and enhanced the appearance and number of adventitious roots as compared to non treated controls. Positive influence of *Azospirillum* spp. on the VA-mycorrhiza-plant symbiosis seemed to be less sensitive to circumstantial factors than the legume–*Rhizobium* symbiosis. The literature review mentioned that the two

bacteria, *Azospirillum* and *Rhizobium*, may be competing with one another in the legume rhizosphere, thereby inhibiting nodule formation. VA mycorrhizal fungi-plant symbiosis and legume-*Rhizobium* symbiosis are two systems in which *Azospirillum* can improve the symbiotic performance of each of the microorganisms and potentially increase crop yields.