

## Naukowe i praktyczne aspekty symbiozy roślin strączkowych z bakteriami brodawkowymi

Stefan Martyniuk

Zakład Mikrobiologii Rolniczej  
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach  
ul. Czarotoryskich 8, 24-100 Puławy, Polska

**Abstrakt.** W pracy podsumowano wyniki badań prowadzonych w IUNG nad występowaniem w glebach Polski bakterii symbiotycznych (rizobia) roślin strączkowych oraz nad szczepieniem nasion tych roślin preparatami zawierającymi rizobia. W 59 glebach, spośród 80 badanych, stwierdzono dużą liczebność (ponad 1000 komórek·g<sup>-1</sup>) bakterii symbiotycznych grochu i bobiku (*R. l. bv. viciae*). W próbkach 18 gleb liczebność tych bakterii oszacowano jako średnią (> 100 do 1000 komórek·g<sup>-1</sup>) lub małą (do 100 komórek·g<sup>-1</sup>), a w próbkach gleb lekkich i zakwaszonych nie wykryto w ogóle symbiontów grochu i bobiku. Dużą liczebność bakterii symbiotycznych łubinu (*Bradyrhizobium* sp.) stwierdzono w 24 glebach. Najwięcej (37) gleb charakteryzowało się średnimi lub niskimi populacjami symbiontów łubinu i aż w 19 glebach nie stwierdzono obecności tych bakterii. Liczebność bakterii tworzących brodawki na korzeniach fasoli oszacowywano w próbkach 76 gleb i w 25 z nich stwierdzono dużą liczebność symbiontów fasoli. W 15 glebach populacje rizobiów fasoli oceniono jako średnie, w 21 jako małe, a w 15 glebach nie wykryto *R. l. bv. phaseoli*. Zaprawy nasienne zawierające takie substancje aktywne jak karbendazym, tiuram czy karbosulfan mogą być polecane do przedsiewnego zaprawiania nasion roślin strączkowych, ze względu na ich niewielką toksyczność w stosunku do szczepionek rizobiowych tych roślin.

**słowa kluczowe:** rośliny strączkowe, bakterie brodawkowe, występowanie w glebach, szczepionki rizobiowe

### WSTĘP

Z szacunkowej ilości 139–170 mln ton azotu dostającego się corocznie do globalnego cyklu N w wyniku biologicznego wiązania azotu atmosferycznego (BWAA), azot związany przez bakterie symbiotyczne stanowi około 70–80% (Peoples, Craswell, 1992; Cheng, 2008). Proces

BWAA zachodzi w przyrodzie wyłącznie przy udziale bakterii, czyli organizmów prokariotycznych. Proces ten jest konwersją niereaktywnego i w związku z tym nieprzyswajalnego dla roślin i zwierząt azotu cząsteczkowego N<sub>2</sub> do zredukowanej amonowej formy tego pierwiastka, który może być dalej metabolizowany w komórkach żywych organizmów. Wszystkie mikroorganizmy zdolne do redukcji (wiązania) azotu atmosferycznego przeprowadzają ten proces przy udziale złożonego układu enzymatycznego, w którym najważniejszą rolę odgrywa nitrogenaza – enzym katalizujący bezpośrednio redukcję cząsteczki azotu. Nitrogenaza jest aktywna tylko w warunkach beztlenowych lub przy bardzo małym dostępie tlenu, a cały proces redukcji N<sub>2</sub> wymaga dużych nakładów energetycznych (ATP). Jako ciekawostkę warto dodać, że rośliny bobowate wiążą łącznie w przybliżeniu 90 mln ton N<sub>2</sub> rocznie tylko dzięki kilku kilogramom nitrogenazy produkowanej przez ich symbiotycznych partnerów – rizobia (Vance, 1998; Graham, Vance, 2003).

Bakterie charakteryzujące się zdolnością do wiązania N<sub>2</sub> (diazotrofy) są zróżnicowane zarówno pod względem morfologicznym, fizjologicznym, wymagań siedliskowych, jak i złożoności systemu, w którym proces asymilacji N<sub>2</sub> jest przeprowadzany (Kennedy, Tchan, 1992; Król, 1999; Martyniuk, 2002; Willems, 2006). Na przykład takie rodzaje bakterii jak *Azotobacter*, *Azospirillum* czy *Clostridium* samodzielnie wiążą azot w środowisku glebowym lub wodnym i określane są jako wolno żyjące asymilatory N<sub>2</sub>, natomiast bakterie z rodzajów *Rhizobium* czy *Frankia* wiążą ten pierwiastek przy udziale roślin (symbiotyczne wiązanie azotu). Warto dodać, że samożywne (fotosyntetyzujące) bakterie, określane jako cyjanobakterie, także tworzą układy symbiotyczne z innymi organizmami, np. z paprocią wodną (*Azolla*) lub z grzybami (porosty).

Śród wymienionych powyżej systemów symbiotycznych największe znaczenie, zwłaszcza w agrobiologicznych systemach, ma symbioza roślin bobowatych (motylkowatych) z bakteriami brodawkowymi (rizobia). Światowy

Autor do kontaktu:

Stefan Martyniuk  
e-mail: sm@iung.pulawy.pl  
tel. +48 81 8863421 w. 247, faks +48 81 8864547

Praca wpłynęła do redakcji 10 maja 2012 r.

areal roślin bobowatych uprawianych na cele konsumpcyjne i paszowe wynosi około 150–180 mln ha (Werner, 1995; Graham, Vance, 2003). Niemal połowa tego arealu przeznaczana jest pod uprawę soi i około 20% pod uprawę innych roślin strączkowych, takich jak fasola, groch, bobik i inne. Rośliny bobowate, a zwłaszcza strączkowe, są ważnym źródłem wielu produktów żywnościowych dla ludzi i białka paszowego dla zwierząt hodowlanych. Resztki pozbiornowe tych roślin są natomiast źródłem azotu dla innych roślin uprawianych w zmianowaniu oraz ważnym czynnikiem korzystnie oddziałującym na strukturę i inne parametry żyzności gleb, zwłaszcza w integrowanych i ekologicznych systemach produkcji rolniczej (Graham, Vance, 2003; Książak i in., 2009; Martyniuk, 2002). Jednym z ważniejszych czynników wpływających na wzrost i rozwój omawianych roślin, a więc i na ich plony, są bakterie symbiotyczne (rizobia) zaopatrujące te rośliny w azot – najważniejszy pierwiastek plonotwórczy. Popularna nazwa „rizobia” omawianych bakterii wywodzi się od nazwy rodzajowej *Rhizobium*, która jeszcze do początku lat osiemdziesiątych obejmowała wszystkie bakterie brodawkowe (podzielone na 6 gatunków) wiążące N<sub>2</sub> w symbiozie z roślinami motylkowatymi. Nowy, filogenetyczny podział tej grupy bakterii, oparty m.in. na sekwencji nukleotydowej genów 16S rRNA, jest bardziej złożony (Hadri i in., 1998; Małek, Sajnaga, 1999; Willems, 2006), a najważniejsze rodzaje i gatunki wraz z nazwami rodzajowymi roślin motylkowatych, z którymi tworzą one układy symbiotyczne podano w tabeli 1.

Tabela 1. Rodzaje oraz najważniejsze gatunki bakterii symbiotycznych i nazwy rodzajowe roślin, z którymi tworzą symbiozę  
Table 1. Genera and main species of symbiotic bacteria and plant species as hosts of these bacteria.

Rodzaj/gatunek bakterii symbiotycznych Genera and species of symbiotic bacteria	Nazwa rodzajowa rośliny-gospodarza Genera of host-plants
<b><i>Rhizobium</i></b>	
<i>R. leguminosarum</i>	
biovar <i>viciae</i>	<i>Pisum, Vicia, Lathyrus, Lens</i>
<i>trifolii</i>	<i>Trifolium</i>
<i>phaseoli</i>	<i>Phaseolus</i>
<b><i>Mesorhizobium</i></b>	
<i>M. loti</i>	<i>Lotus</i>
<b><i>Sinorhizobium</i></b>	
<i>S. meliloti</i>	<i>Medicago, Melilotus, Trigonella</i>
<b><i>Azorhizobium</i></b>	
<i>A. caulinodans</i>	<i>Sesbania</i>
<b><i>Bradyrhizobium</i></b>	
<i>B. japonicum</i>	<i>Glycine</i>
<i>Bradyrhizobium</i> sp.	<i>Lupinus</i>
<b><i>Allorhizobium</i></b>	
<i>A. undicola</i>	<i>Neptunia</i>

Informacje zawarte w tabeli 1 wskazują również, że większość gatunków roślin motylkowatych tworzy układ symbiotyczny ze specyficznymi tylko dla nich gatunkami rizobiów. Na przykład, bakterie brodawkowe koniczyny nie tworzą symbiozy z korzeniami lucerny, fasoli czy grochu, tak samo jak symbionty lucerny, fasoli lub grochu nie tworzą brodawek na korzeniach koniczyny. Są jednak gatunki rizobiów, które mogą indukować brodawki symbiotyczne na korzeniach różnych roślin strączkowych. Na przykład, bakterie z gatunku *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* są symbiontami roślin z rodzajów *Vicia* (bobik), *Pisum* (groch) i *Lens* (soczewica), a *Sinorhizobium meliloti* jest symbiontem lucerny, nostryku i kozieradki.

Bakterie symbiotyczne roślin bobowatych bytują w glebie jako saprofity, a liczebność ich populacji w środowisku glebowym zależy zarówno od czynników glebowo-klimatycznych, jak i od zabiegów agrotechnicznych (Sadowsky, Graham, 1998; Graham, Vance, 2003). Badania zagraniczne i krajowe wykazały ponadto, że poszczególne gatunki bakterii brodawkowych odmiennie reagują zarówno na nawożenie, jak i na wieloletnią przerwę w uprawie rośliny-gospodarza. Na przykład w glebach nawożonych NPK i wapnowanych liczebność symbiontów koniczyny (*Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii*) była stosunkowo wysoka i wynosiła około 170 komórek w 1 g piasku słabo gliniastego oraz 1700 komórek w 1 g gliny lekkiej, pomimo wieloletniej przerwy w uprawie na tych glebach roślin motylkowatych. W tych samych glebach nawożonych NPK bez wapnowania populacje *R.l.* bv. *trifolii* były znacznie niższe (odpowiednio <6 i 58 komórek w 1 g gleby). Podobne zależności stwierdzono w przypadku bakterii symbiotycznych grochu. W omawianych glebach nie wykryto natomiast obecności symbiontów lucerny (*Sinorhizobium meliloti*), co świadczy, że bakterie z tego gatunku są dużo bardziej wrażliwe na wieloletnią przerwę w uprawie rośliny-gospodarza (lucerny) niż dwa pozostałe gatunki rizobiów (Martyniuk i in., 1999b).

Przytoczone powyżej wyniki wskazywały na potrzebę przeprowadzenia szerszych badań nad zasiedleniem gleb uprawnych na obszarze naszego kraju przez bakterie symbiotyczne roślin motylkowatych.

#### WYSTĘPOWANIE BAKTERII SYMBIOTYCZNYCH ROŚLIN STRĄCZKOWYCH W GLEBACH POLSKI

Występowanie i liczebność bakterii symbiotycznych roślin strączkowych w próbkach około 80 gleb pobranych w różnych rejonach naszego kraju oszacowywano metodą biotestu roślinnego (Martyniuk i in., 2000b). Metoda biotestu polega na zaszczerpieniu siewek rośliny testowej, rosnących na sterylnym piasku w torebkach foliowych, wodną zawiesiną analizowanej gleby. Dla każdej badanej gleby przygotowano 6 zawiesin (rozcieńczeń gleby) zawierających od 10<sup>-1</sup> g do 10<sup>-6</sup> g gleby w 1 ml. Po 4–6 tyg. wzrostu analizowano obecność (lub brak) brodawek na korzeniach

siewek zaszczyconych poszczególnymi rozcieńczeniami gleby i na tej podstawie oszacowano liczebność bakterii w glebach posługując się odpowiednimi tablicami matematycznymi (Vincent, 1970). Przeprowadzone analizy obejmowały oznaczenia liczebności następujących gatunków bakterii symbiotycznych roślin strączkowych (Martyniuk i in., 2000a, 2005):

- 1 – *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* – symbiont grochu, bobiku i wyki,
- 2 – *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli* – symbiont fasoli,
- 3 – *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) – symbiont łubinu i seradeli.

Groch i bobik są aktualnie roślinami strączkowymi najczęściej uprawianymi przez rolników w Polsce (Książek i in., 2009). W naszych badaniach 23 próbki gleb pochodziły z pól, na których w ostatnich latach uprawiano groch lub bobik i w tych glebach stwierdzono dużą liczebność (ponad 1000 komórek g<sup>-1</sup>) bakterii symbiotycznych omawianych roślin, ale również w innych glebach (36), na których od dawna nie uprawiano grochu i bobiku, populacje symbiontów tych roślin były wysokie (Martyniuk i in., 2005). W próbkach 18 gleb liczebność symbiontów grochu i bobiku oszacowano jako średnią (> 100 do 1000 komórek g<sup>-1</sup>) lub małą (do 100 komórek g<sup>-1</sup>), a w próbkach 10 gleb lekkich i zakwaszonych nie stwierdzano w ogóle występowania tych bakterii. Wyniki te wykazały więc, że bakterie symbiotyczne grochu i bobiku zasiedlają dość powszechnie gleby Polski, a odczyn (pH) ma bardzo istotny wpływ na liczebność tych bakterii w środowisku glebowym (tab. 2).

Liczbę komórek bakterii tworzących brodawki na korzeniach fasoli oszacowywano w próbkach 76 gleb, spośród których tylko 3 próbki pochodziły z pól, na których uprawiano ostatnio fasolę. W tych trzech glebach, a także w 22 innych, na których od dawna nie uprawiano tej rośliny, stwierdzono dużą liczebność symbiontów fasoli. W 15 glebach populacje rizobiów fasoli oceniono jako średnie, w 21 jako małe, a w 15 glebach nie wykryto *R. l. bv. phaseoli*. Trudno jest jednak jednoznacznie stwierdzić, jakie czynniki w największym stopniu wpływały na liczebność tych bakterii w badanych glebach. Brak lub niskie populacje symbiontów fasoli stwierdzano bowiem zarówno w glebach lekkich zakwaszonych, jak i w glebach związłych o prawidłowym odczynie. Tylko w przypadku bakterii symbiotycznych fasoli nie stwierdzono istotnego wpływu odczynu gleb na liczebność tych bakterii w środowisku glebowym, natomiast zawartość N ogólnego w glebach ma znacznie większy wpływ na populacje symbiontów fasoli niż na populacje symbiontów pozostałych roślin strączkowych (tab. 2).

W 24 glebach (na 80 badanych) liczebność bakterii symbiotycznych łubinu była duża. Najwięcej (37) gleb charakteryzowało się średnimi lub niskimi populacjami symbiontów łubinu i aż w 19 glebach nie stwierdzono obecności tych bakterii (Martyniuk i in., 2005). Większość gleb, w których nie wykryto rizobiów łubinu, to gleby żyzne, średnio związane lub ciężkie o odczynie powyżej 6,5. Prawdopodobnie były to gleby, na których nigdy nie uprawiano łubinu. Gleby lekkie lub średnio związane o odczynie lekko kwaśnym, czyli takie, które najlepiej nadają się do uprawy łubinu, zawierają stosunkowo dużą liczbę bakterii

Tabela 2. Współczynniki korelacji pomiędzy liczebnością badanych gatunków rizobiów we wszystkich 80 analizowanych glebach (A) oraz w glebach, na których od wielu lat nie uprawiano roślin motylkowatych (B) a niektórymi właściwościami chemicznymi i fizycznymi gleb

Table 2. Correlation coefficients between numbers of rhizobial species in all 80 soils tested (A) and in soil not planted to legumes for many years (B), and some chemical and physical properties of the soils.

Gatunek bakterii Species of bacteria	C org.	N ogól. N total	pH(H <sub>2</sub> O)	pH(KCl)	Fracja Fraction <0,02 mm	Fracja Fraction <0,002 mm
<i>Rhizobium l. bv. viciae</i>						
A	-0,186	-0,077	0,439**	0,542**	-0,115	-0,014
B	-0,248*	-0,206	0,509**	0,558**	0,037	-0,035
<i>Rhizobium l. bv. phaseoli</i>						
A	0,197	0,361**	0,223	0,220	0,335**	0,172
B	0,192	0,343**	0,170	0,185	0,267*	0,061
<i>Bradyrhizobium</i> sp. ( <i>Lupinus</i> )						
A	-0,167	-0,279*	-0,241*	-0,188	-0,529**	-0,521**
B	-0,148	-0,259*	-0,274*	-0,204	-0,526**	-0,512**

A – dla wszystkich 80 gleb; for all soils

B – dla gleb, na których nie uprawiano danej rośliny motylkowatej; for soils not planted to legumes

\* istotne przy  $\alpha = 0,05$ , significant at P = 0.05

\*\* istotne przy  $\alpha = 0,01$ ; significant at P = 0.01

symbiotycznych tego gatunku (tab. 2). Na uwagę zasługuje fakt, że tylko w przypadku *Bradyrhizobium* sp. (*Lupinus*) wszystkie współczynniki korelacji prostej pomiędzy badanymi właściwościami fizyczno-chemicznymi gleb a liczebnością populacji tych bakterii w analizowanych glebach miały znak ujemny (tab. 2).

Warto również odnotować brak na ogół istotnych związków pomiędzy zawartością próchnicy (C organicznego) w badanych glebach a populacjami bytujących w nich rizo-biów (tab. 2). We wcześniejszych badaniach stwierdzano dodatnie korelacje pomiędzy zawartością C organicznego w glebach a liczebnością innych grup bakterii glebowych

lub ogólną liczebnością i biomasa mikroorganizmów glebowych – substancja organiczna gleby jest bowiem ważnym źródłem energii i składników odżywczych dla mikroorganizmów glebowych (Anderson, Domsch, 1989; Gajda, Martyniuk, 2005; Myśków i in., 1996). Być może, większa aktywność drobnoustrojów saprofitycznych w glebach bogatych w próchnicę ogranicza rozwój bakterii symbiotycznych, prawdopodobnie gorzej przystosowanych do konkurowania o składniki pokarmowe w glebie.

W glebach naszego kraju nie stwierdza się na ogół obecności bakterii symbiotycznych soi, ze względu na to, że soja nie występuje u nas jako roślina dzika i jest rzadko

Tabela 3. Przeżywalność bakterii brodawkowych na zaprawianych chemicznie nasionach grochu, łubinu i soi po 1–2 godz. i 23–24 godz. od zaszczepienia nasion bakteriami

Table 3. Survival of root-nodule bacteria on chemically treated seeds of pea, lupine and soybean after 1–2 h and 23–24 h after inoculation with the bacteria.

Zaprawy chemiczne Chemical dressings	Liczebność bakterii brodawkowych na 1 g nasion Numbers of root-nodule bacteria on 1 g of seeds					
	po 1–2 godz.; after 1–2 h			po 23–24 godz.; after 23–24 h		
	bobik faba bean	łubin lupine	soja soybean	bobik faba bean	łubin lupine	soja soybean
Kontrola (bez zapraw) Control (no dressings)	6,8 x 10 <sup>6</sup> a*	1,2 x 10 <sup>7</sup> a	2,1 x 10 <sup>7</sup> a	3,3 x 10 <sup>5</sup> a	1,9 x 10 <sup>6</sup> a	3,3 x 10 <sup>6</sup> a
Karbosulfan Carbosulfan	6,5 x 10 <sup>6</sup> a	1,5 x 10 <sup>7</sup> a	1,9 x 10 <sup>7</sup> a	5,0 x 10 <sup>6</sup> a	2,9 x 10 <sup>5</sup> b	1,8 x 10 <sup>6</sup> a
Karbendazym + tiuram Carbendazim + thiram	6,2 x 10 <sup>6</sup> a	1,3 x 10 <sup>7</sup> a	1,2 x 10 <sup>7</sup> a	3,3 x 10 <sup>5</sup> a	4,3 x 10 <sup>5</sup> b	8,6 x 10 <sup>5</sup> b
Mankozeb Mancozeb	4,9 x 10 <sup>6</sup> a	1,7 x 10 <sup>6</sup> b	2,1 x 10 <sup>7</sup> a	4,6 x 10 <sup>2</sup> b	<10 c	<10 c

\* liczby w kolumnach z takimi samymi literami nie różnią się istotnie przy  $\alpha = 0,05$ ; numbers in columns followed by the same letters are not significantly different at  $\alpha = 0.05$

Tabela 4. Wpływ zapraw chemicznych na brodawkowanie roślin bobiku, łubinu i soi wyrosłych z nasion wysianych po 1–2 godz. i po 23–24 godz. od zastosowania nitraginy

Table 4. Effect of chemical seed dressings on nodulation of faba bean, lupine and soybean plants sown at 1–2 h and 23–24 h after seed inoculation with the bacteria.

Zaprawy chemiczne Chemical dressings	Liczba brodawek na korzeniach w przeliczeniu na jedną roślinę Numbers of nodules on roots per plant					
	po 1–2 godz.; after 1–2 h			po 23–24 godz.; after 23–24 h		
	bobik faba bean	łubin lupine	soja soybean	bobik faba bean	łubin lupine	soja soybean
Kontrola (bez zapraw) Control (no dressings)	45 a	88 a	70 a	30 a	41 a	65 a
Karbosulfan Carbosulfan	39 a	56 b	61 a	20 b	24 b	57 b
Karbendazym + tiuram Carbendazim + thiram	40 a	34 c	64 a	20 b	14 c	55 b
Mankozeb Mancozeb	16 b	1 d	25 b	2,2 c	0 d	0,4 c

\* liczby w kolumnach z takimi samymi literami nie różnią się istotnie przy  $\alpha = 0,05$ ; numbers in columns followed by the same letters are not significantly different at  $\alpha = 0.05$

uprawiana przez rolników. W naszych warunkach bakterie te występują tylko w glebach, na których uprawiano soję z nasion sztucznie inokulowanych bakteriami symbiotycznymi pochodzącymi z innych krajów (Martyniuk i in., 2005).

Informacje dotyczące występowania i liczebności bakterii symbiotycznych w glebach uprawnych są ważne także z praktycznego punktu widzenia, bowiem dają one podstawę do racjonalnego stosowania preparatów szczepionkowych zawierających omawiane bakterie. Preparaty takie są dostępne w handlu w wielu krajach, także w Polsce. Stosowanie tych szczepionek do przedsięwzięcia otoczkowania nasion roślin bobowatych uprawianych na glebach charakteryzujących się niskimi populacjami bakterii symbiotycznych, a zwłaszcza ich brakiem, daje pozytywne wyniki w postaci istotnych przyrostów plonów tych roślin (Wróbel, Marszewska-Zięmięcka, 1960).

W nowoczesnej agrotechnice wielu roślin uprawnych, w tym także motylkowatych, przedsięwzięte traktowanie nasion zaprawami chemicznymi jest jednym z podstawowych zabiegów. Zaprawy nasienne (fungicydy i insektycydy) ograniczają bowiem rozwój patogenów i szkodników nie tylko w czasie kiełkowania nasion, ale także w początkowych fazach rozwoju młodych siewek roślin. Zaprawy chemiczne jako substancje biologicznie aktywne mogą jednak wpływać niekorzystnie na przeżywalność bakterii brodawkowych wprowadzonych na nasiona, a tym samym na skuteczność zabiegu otoczkowania nasion szczepionkami. Interakcje pomiędzy zaprawami chemicznymi a skutecznością szczepienia nasion roślin bobowatych, a zwłaszcza strączkowych, były również przedmiotem licznych badań przeprowadzonych w ostatnim dwudziestoleciu w Zakładzie Mikrobiologii IUNG (Martyniuk i in., 1999a, 2000b, 2002; Strzelec, Martyniuk, 1994)

#### WPLYW ZAPRAW NASIENNYCH NA BAKTERIE SYMBIOTYCZNE ROŚLIN STRĄCZKOWYCH

Do chemicznego zaprawiania nasion roślin strączkowych użyto następujących preparatów: mankozeb (85% w preparacie handlowym), karbosulfan (85% w preparacie handlowym) i karbendazym+tiuram (odpowiednio 20% i 45% w preparacie handlowym). Zaprawy te stosowano „na sucho” zgodnie z zaleceniami producentów. Po chemicznym zaprawieniu nasion następnego dnia zaszczepiono je wodną zawiesiną szczepionek (na nośniku torfowym) zawierających bakterie brodawkowe specyficzne dla poszczególnych roślin strączkowych, tj. *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* dla bobiku i grochu, *Bradyrhizobium japonicum* dla soi i *Bradyrhizobium* sp. (Lupinus) dla łubinu. W ciągu pierwszych 1–2 godzin po zastosowaniu nitraginy oraz po 23–24 godzinach od zastosowania tych szczepionek pobierano próbki nasion i oznaczano liczebność przeżywających na nich bakterii brodawkowych.

W tych samych terminach część nasion wysadzano do wazonów z piaskiem w celu stwierdzenia wpływu zapraw chemicznych na brodawkowanie roślin strączkowych.

Wyniki tych doświadczeń, zebrane w tabelach 3 i 4, wskazują wyraźnie, że związki chemiczne używane w zaprawach nasiennych oddziałują na ogół niekorzystnie na przeżywalność bakterii brodawkowych na nasionach oraz na proces symbiozy tych bakterii z korzeniami roślin strączkowych. Zakres tego oddziaływania uzależniony jest w największym stopniu od rodzaju związku chemicznego, ale także od czasu przechowywania zaszczepionych nasion, a nawet od gatunku rośliny. Takie związki jak karbosulfan i mieszanina karbendazym+tiuram nie wpływają na ogół istotnie na liczebność bakterii brodawkowych na nasionach, a zatem i na liczbę zawiązywanych brodawek na korzeniach, ale tylko wtedy gdy nasiona wysiewane są w ciągu kilku godzin po zaszczepieniu ich preparatem zawierającym rizobia. Przeżywalność bakterii brodawkowych na nasionach roślin strączkowych zmniejsza się w miarę upływu czasu od zastosowania szczepionki, nawet na nasionach nie zaprawionych chemicznie (kontrola, tab. 3), ponieważ bakterie te są bardzo wrażliwe na wysuszenie (Martyniuk i in., 1999a; 2000b; 2002).

#### PODSUMOWANIE

W glebach Polski występowanie bakterii symbiotycznych roślin strączkowych jest bardzo zróżnicowane, zarówno w odniesieniu do poszczególnych gatunków rizobiów, jak i oddziaływania właściwości gleb na populacje tych bakterii. Bakterie symbiotyczne grochu i bobiku występują dość powszechnie w glebach Polski. Bakterii tych nie stwierdzono tylko w 3 glebach (na 80 badanych), a w 7 innych liczebność symbiontów grochu była niska i były to na ogół gleby lekkie, zwykle nadmiernie zakwaszone. Bakterii symbiotycznych łubinu nie wykryto w 19, a symbiontów fasoli w 15 glebach. Większość gleb, w których nie stwierdzano rizobiów łubinu, to żyzne gleby, średnio związłe lub ciężkie o odczynie powyżej 6,5. Gleby lekkie lub średnio związłe o odczynie lekko kwaśnym, czyli takie, które najlepiej nadają się do uprawy łubinu, zawierają stosunkowo wysoką liczebność bakterii symbiotycznych tego gatunku. Brak lub niskie populacje symbiontów fasoli stwierdzano zarówno w glebach lekkich zakwaszonych, jak i w glebach związlejszych o prawidłowym odczynie.

Zaprawy nasienne zawierające takie substancje aktywne jak karbendazym, tiuram czy karbosulfan mogą być polecane do przedsięwzięcia zaprawiania nasion roślin strączkowych, które będą następnie zaszczepione nitraginą zawierającą bakterie brodawkowe. Aby zmniejszyć niekorzystne oddziaływanie wymienionych zapraw nasiona roślin bobowatych zaszczepione nitraginą należy wysiewać możliwie jak najszybciej po dokonaniu tego zabiegu.

## LITERATURA

- Anderson T.H., Domsch K.H., 1989.** Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biol. Biochem.*, 21:471-479.
- Cheng Q., 2008.** Perspectives in biological nitrogen fixation research. *J. Integr. Pl. Biol.*, 50(7): 784-796.
- Gajda A., Martyniuk S., 2005.** Particulate organic matter and microbial biomass C contents in soils with different mechanical structure. *Pam. Puł.*, 140: 49-58.
- Graham P.H., Vance C.P., 2003.** Legumes: importance and constraints to greater use. *Pl. Physiol.*, 131: 872-877.
- Hadri A-E., Spaink H.P., Bisseling T., Brewin N.J., 1998.** Diversity of root nodulation and rhizobial infection processes. W: *The Rhizobiaceae*, Eds: H.P. Spaink, A. Kondorosi, P.J.J. Hooykaas, Kluwer Acad. Pub., ss. 347-360.
- Kennedy I.R., Tchan Y-T., 1992.** Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: recent advances. *Plant Soil*, 141(1-2): 93-118.
- Król M., 1999.** *Azospirillum* - bakterie asocjacyjne w zrównoważonym rolnictwie. *Fol. Univ. Agric. Stetin.*, 201, Agricultura (78): 93-102.
- Księżak J., Staniak M., Bojarszczuk J., 2009.** The regional differentiation of legumes cropping area in Poland between 2001 and 2007. *Polish J. Agron.*, 1: 25-31.
- Malek W., Sajnaga E., 1999.** Current taxonomy of the rhizobia. *Acta Microbiol. Polon.*, 48(2): 109-122.
- Martyniuk S., Oroń J., Martyniuk M., 1999a.** Interaction between chemical seed dressings and *Bradyrhizobium* inoculant on lupine seeds. *Botanica Lithuanica, Suppl.* 3: 95-98.
- Martyniuk S., Woźniakowska A., Martyniuk M., 1999b.** Effect of agricultural practices on populations of *Rhizobium* in some field experiments. *Botanica Lithuanica, Suppl.* 3: 99-102.
- Martyniuk S., Woźniakowska A., Martyniuk M., 2000a.** A new sand pouch-plant infection technique for enumeration of rhizobia in soil. *Acta. Soc. Bot. Pol.*, 69: 257-261.
- Martyniuk M., Oroń J., Woźniakowska A., Martyniuk S., 2000b.** Oddziaływanie zapraw chemicznych na przeżywalność bakterii brodawkowych na nasionach bobiku oraz na proces symbiozy. *Pam. Puł.*, 121: 41-47.
- Martyniuk S., 2002.** Systemy biologicznego wiązania azotu. *Naw. Nawoż./Fert. Fertil.*, 1(10): 264-277.
- Martyniuk S., Oroń J., Martyniuk M., Woźniakowska A., 2002.** Effects of interactions between chemical seed dressings and *Bradyrhizobium japonicum* on soybean seeds. *Arch. Acker- Pfl. Boden.*, 48: 305-310.
- Martyniuk S., Oroń J., Martyniuk M., 2005.** Diversity and numbers of root-nodule bacteria (rhizobia) in Polish soils. *Acta. Soc. Bot. Pol.*, 74: 83-86.
- Myśków W., Stachyra A., Zięba S., Masiak D., 1996.** Microbial activity as an indicator of soil fertility and productivity. *Rocz. Glebozn.*, 47: 89-95.
- Peoples M.B., Craswell E.T., 1992.** Biological nitrogen fixation: investments, expectations, and actual contributions to agriculture. *Plant Soil*, 141(1-2): 13-40.
- Sadowsky M.J., Graham P.H., 1998.** Soil biology of the *Rhizobiaceae*. W: *The Rhizobiaceae*; eds: Spaink H.P, Kondorosi A., Hooykaas P.J.J., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 155-172.
- Strzelec A., Martyniuk M., 1994.** Uboczne działanie fungicydów tiuramowych na rozwój szczepów *Rhizobium*, ich przeżywalność na nasionach i aktywność symbiozy z koniczyną i lucerną. *Pam. Puł.*, 104: 101-115.
- Vance C.P., 1998.** Legume symbiotic nitrogen fixation: agronomic aspects. W: *The Rhizobiaceae*; eds: Spaink H.P., Kondorosi A., Hooykaas P.J.J., Kluwer Acad. Pub., ss. 509-530.
- Vincent J.M., 1970.** A manual for practical study of root-nodule bacteria. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Willems K.J., 2006.** The taxonomy of rhizobia: an overview. *Plant Soil*, 283: 3-14.
- Werner D., 1995.** Ecology and agricultural applications of nitrogen-fixing systems: crops and sciences involved. W: *Nitrogen fixation: fundamentals and applications*; eds: Tikhonovich I.A. i in., Kluwer Acad. Pub., s. 621-622.
- Wróbel T., Marszewska-Zięmiczka J., 1960.** Wyniki doświadczeń polowych nad wpływem szczepienia roślin motylkowatych na ich plony w latach 1954-58. *Rocz. Nauk. Rol.*, 82(A1): 201-209.

S. Martyniuk

## SCIENTIFIC AND PRACTICAL ASPECTS OF LEGUMES SYMBIOSIS WITH ROOT-NODULE BACTERIA

## Summary

The occurrence of symbiotic bacteria nodulating pulse crops in about 80 soil samples collected in Poland was assessed. High numbers ( $> 1000$  bacterial cells  $g^{-1}$ ) of rhizobia nodulating peas and faba (*R. l. bv. viciae*) bean were detected in 59 soil, out of 80 examined. In 18 soils numbers of these bacteria were assessed as moderate ( $>100$  to  $1000$  cells  $g^{-1}$ ) or low (up to  $100$  cells  $g^{-1}$ ), and in 3 light and acidic soils no symbionts of these pulse crops were found. In 24 soils high numbers of rhizobia nodulating lupine (*Bradyrhizobium* sp.) were detected, 37 soils contained moderate or low numbers of these bacteria and in 19 soils lupine symbionts were not detected. Symbiotic bacteria of beans were counted in 76 soil samples and 25 of these soils were colonized by high numbers of these bacteria. Numbers of *R. l. bv. phasoli* in 15 soils were assessed as moderate, in 21 soils as low and in 15 soil samples no cells of beans rhizobia were found. Preparation containing the following active substances: carbendazim, thiuram or carbosulphan can be recommended as chemical seed dressing showing low toxicity to rhizobia inoculated onto pulse crops seeds.

**key words:** legumes root-nodule bacteria occurrence in soils, rhizobium inoculants