

STUDIA I RAPORTY IUNG-PIB

ZESZYT 56(10): 57-70

2018

Monika Koziel, Anna Gałązka, Stefan Martyniuk*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
w Puławach***WOLNOŻYJĄCE BAKTERIE WIĄŻĄCE AZOT ATMOSFERYCZNY
Z RODZAJU *AZOTOBACTER* – WYSTĘPOWANIE,
LICZEBNOŚĆ I ZNACZENIE*****Słowa kluczowe:** *Azotobacter* sp., występowanie, liczebność, znaczenie**Wstęp**

Spośród ogromnej ilości rodzajów i gatunków mikroorganizmów glebowych, zaledwie niewielka ich część została wyizolowana i zidentyfikowana. Wśród nich są drobnoustroje pożyteczne, których obecność w glebach nie pozostaje bez wpływu na ich właściwości. Przedstawicielem tego typu mikroorganizmów są bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* – zdolne do wiązania azotu atmosferycznego i udostępniania go roślinom wyższym w formie przyswajalnej. Zainteresowanie tymi bakteriami sięga początków XX w., gdy w 1901 roku Beijerinck wyizolował i oznaczył pierwszy gatunek należący do tego rodzaju – *Azotobacter chroococcum* (72). Od tego momentu rozpoczęto badania nad występowaniem, fizjologią oraz genetyką tych ważnych dla rolnictwa mikroorganizmów.

Bakterie tlenowe należące do rodzaju *Azotobacter* reprezentują zróżnicowaną grupę wolno żyjących diazotrofów powszechnie występujących w glebie. W obrębie rodzaju *Azotobacter* znanych jest 7 gatunków, wśród których *Azotobacter chroococcum* najczęściej występuje w różnych glebach na całym świecie (6, 14, 17, 41, 68, 72, 77, 78). Liczebność *Azotobacter* spp. w glebach o odczynie neutralnym lub zasadowym rzadko przekracza kilka tysięcy komórek w 1 g gleby, natomiast w glebach kwaśnych (pH <6,0) bakterie te są na ogół nieobecne lub występują w bardzo małych ilościach (6, 17, 32, 41, 68, 77, 78).

* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.4 w programie wieloletnim IUNG-PIB.

Bakterie z rodzaju *Azotobacter* mają duże znaczenie dla rolnictwa, ze względu na zdolność do wiązania azotu atmosferycznego, a także wytwarzania szeregu związków stymulujących wzrost i rozwój roślin, witamin i sideroforów (1, 2, 4, 20, 31, 39, 58). Ponadto są to mikroorganizmy, które silnie reagują w glebie na czynniki chemiczne i fizyczne, dlatego wahania ich liczebności są dobrym wskaźnikiem zmian zachodzących w środowisku (31, 53).

1. Przynależność systematyczna i charakterystyka gatunków z rodzaju *Azotobacter*

Rodzaj *Azotobacter* został utworzony przez Beijerincka w 1901 roku (19, 36, 38, 50, 67, 74). Bakterie z rodzaju *Azotobacter* należą do rodziny *Azotobacteraceae*, zaliczanej do γ -podklasy *Proteobacteria* (72). Zastosowanie m.in. technik biologii molekularnej, pozwalających na analizę sekwencji genu 16S rRNA, doprowadziło do identyfikacji dwóch rodzajów w obrębie rodziny *Azotobacteraceae*: *Azotobacter* i *Azomonas* (12). Bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* są wolno żyjącymi aerobami, które do życia potrzebują tlenu. Komórki tych bakterii są duże, najczęściej owalne, o średnicy 1,5-2,0 μm ., mogą one występować pojedynczo, w parach, lub tworzyć długie łańcuchy. Pod wpływem niesprzyjających warunków komórki *Azotobacter* sp. zmniejszają się i otaczają mocną błoną, przechodząc w formę cyst. W takiej postaci mogą przetrwać warunki nieodpowiednie dla ich rozwoju wegetatywnego. Bakterie te ze względu na budowę ściany komórkowej zaliczamy do gramujemnych, charakteryzujących się cienką warstwą mureiny. W metodzie Grama komórki *Azotobacter* sp. barwią się na czerwono (72). Aktualnie znanych jest 7 gatunków bakterii z rodzaju *Azotobacter* (3, 12, 22, 72):

- *Azotobacter chroococcum* (Beijerinck, 1901),
- *Azotobacter vinelandii* (Lipman, 1903),
- *Azotobacter beijerinckii* (Lipman, 1904),
- *Azotobacter nigricans* (Krasil'nikov, 1949),
- *Azotobacter armeniacus* (Thompson and Skerman, 1981),
- *Azotobacter paspali* (Döbereiner, 1966),
- *Azotobacter salinestrus* (Page and Shivprasad, 1991); (72).

Spośród wyżej wymienionych gatunków *Azotobacter chroococcum* jest najszerszej rozpowszechniony w glebach całego świata, dominuje on również w glebach Polski (14, 41, 68, 77, 78). Kolonie tych bakterii są małe, o regularnym kształcie, słabo śluzowate, ciemniejące po kilkudniowej hodowli na podłożu, co związane jest z produkcją ciemnobrunatnego pigmentu melaninowego. Komórki bakterii *Azotobacter chroococcum* są ruchliwe dzięki obecności peritrichalnych wici (2, 72).

Azotobacter vinelandii bytuje zarówno w glebie jak i w wodzie, a porusza się za pomocą peritrichalnie ułożonych wici. Jego komórki są okrągłe, słabo śluzowate, mniejsze w porównaniu z komórkami *Azotobacter chroococcum*. Gatunek ten wytwarza żółto-zielony, fluoryzujący pigment dyfundujący do podłoża (2, 72).

Azotobacter vinelandii może wytwarzać aż trzy rodzaje nitrogenazy, w zależności od warunków środowiskowych, które kodowane są przez homologii wyżej wymienionych genów:

- nitrogenaza I (geny *nifH*, *nifD*, *nifK*) zawierająca koenzym Fe-Mo-Co jest wytwarzana, gdy w środowisku występują jony molibdenu;
- nitrogenaza II (geny *vnfD*, *vnfK*, *vnfH*) zawierająca Fe-Va-Co wytwarzana jest w warunkach deficytu molibdenu, gdzie pierwiastek ten zastępowany jest cząsteczką wanadu;
- nitrogenaza III (geny *anfD*, *anfK*, *anfH*) zawierająca w kofaktorze tylko żelazo (5).

Środowiskiem życia *Azotobacter beijerinckii* jest gleba. Komórki bakterii tego gatunku są gładkie, większe od komórek *Azotobacter chroococcum*, pozbawione zdolności poruszania się. *Azotobacter beijerinckii* wytwarza nieprzenikający do podłoża pigment o barwie od żółtej do jasnobrażowej (72).

Azotobacter nigricans występuje w glebie i rośnie w postaci gładkich kolonii. Komórki tego gatunku bakterii są niezdolne do ruchu. *Azotobacter nigricans* wytwarza pigment o barwie od brązowo-czarnej do czerwono-fioletowej (72).

Azotobacter armeniacus bytuje w wodzie, gdzie porusza się za pomocą peritrichalnie ułożonych wici. Rośnie w postaci dużych, gładkich, wypukłych, błyszczących i bardzo śluzowatych kolonii. Gatunek ten wytwarza brązowo-czarny barwnik niedyfundujący do podłoża (2, 72).

Komórki *Azotobacter paspali* poruszają się za pomocą peritrichalnych wici. Kolonie tych bakterii są szorstkie, matowe z pofalowanymi brzegami. Są zdolne do produkcji brązowo-czarnego pigmentu (2, 72). *Azotobacter paspali* występuje jedynie w ryzosferze trawy *Paspalum notatum* (41).

Azotobacter salinestrus wyizolowany został z lekko kwaśnych gleb zachodniej Kanady. Komórki bakterii tego gatunku poruszają się za pomocą peritrichalnie ułożonych wici. Rosną w postaci dużych, owalnych kolonii z nierównymi brzegami. Podczas aktywnego wzrostu mogą występować w parach, czasami tworzą różnej długości łańcuchy. Gatunek ten wytwarza ciemnobrunatny pigment niedyfundujący do podłoża (51).

2. Wolno żyjące asymilatory N_2 – *Azotobacter* spp.

Wolno żyjące asymilatory N_2 , w tym także *Azotobacter* sp., są przedmiotem licznych badań od dziesięcioleci. Stały się one modelowymi mikroorganizmami w badaniach nad biochemizmem, energetyką i regulacją genetyczną procesu BWAA (54). Efektywność wiązania azotu atmosferycznego przez te bakterie i inne niesymbiotyczne diazotrofy nie jest duża (Tab. 1). Bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* mogą wiązać co najmniej 10 mg N na 1 g zużytego cukru (43, 44). Wynika to z faktu, że wolno żyjące asymilatory azotu przeprowadzają ten proces tylko w czasie wzrostu, zużywając energię na procesy metaboliczne związane z aktywnością życiową komórek.

Kennedy i Tchan (25) zaznaczyli, że bakterie z rodzaju *Azotobacter* asymilują N_2 jedynie na potrzeby metabolizmu komórek, a więc nie wydzielają związanego N do środowiska. Azot przedostaje się do środowiska glebowego w momencie obumarcia komórek bakterii. Wolno żyjące diazotrofy wzbogacają glebę tylko w niewielkie ilości azotu przyswajalnego: najczęściej ilości te ocenia się na kilkanaście $kg\ N\cdot ha^{-1}$ w ciągu roku (25, 40, 47). Zarówno z punktu widzenia metabolizmu glebowego jak i żyzności gleby nawet tak niewielkie ilości zasymilowanego azotu są bardzo cenne. Wapnowanie gleb kwaśnych jest bardzo ważnym zabiegiem agrotechnicznym, ponieważ zapewnia prawidłowe funkcjonowanie gleby przez podniesienie jej żyzności, co z kolei wpływa stymulująco na aktywność mikrobiologiczną, w tym także na rozwój bakterii z rodzaju *Azotobacter*. Mała wydajność wiązania N_2 przez omawiane drobnoustroje związana jest również z niewielką dostępnością składników pokarmowych, szczególnie tych łatwo przyswajalnych. Z tego względu dobrym miejscem dla rozwoju *Azotobacter* sp. jest ryzosfera roślin, gdzie ilość i dostępność składników pokarmowych i energetycznych jest znacznie większa (43).

Tabela 1

Wydajność procesu wiązania azotu w warunkach laboratoryjnych przez niektóre gatunki bakterii niesymbiotycznych

Gatunek bakterii	Ilość wiązanej azotu (w mg N) na 1 g zużytego cukru
<i>Azotobacter chroococcum</i>	15-20
<i>Azotobacter vinelandii</i>	10
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	3-5
<i>Azomonas agile</i>	15-18
<i>Beijerinckia indicum</i>	16
<i>Clostridium pasteurianum</i>	3-8

Źródło: Maliszewska i in., 1974 (38), Tchan i New, 1984 (72)

3. Występowanie i liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter* w środowisku glebowym

Azotobacter sp. zasiedla wiele środowisk takich jak: gleba, woda, osady ściekowe, powierzchnie korzeni i liści. Bakterie te występują w różnych strefach klimatycznych, wiele gatunków pojawia się w rejonach tropikalnych i polarnych (2, 22, 24). Bakterie z rodzaju *Azotobacter* preferują gleby o odczynie neutralnym i lekko zasadowym, natomiast rzadko występują w glebach kwaśnych o pH poniżej 6 (43, 44). Poza tym występowanie i liczebność populacji tej grupy bakterii jest silnie skorelowana z wieloma różnymi czynnikami środowiskowymi, tj. właściwościami gleby (zawartość materii organicznej, wilgotność, żyzność, stosunek C/N, odczyn) lub z warunkami klimatycznymi (71). Liczebność *Azotobacter* sp. w glebach strefy umiarkowanej jest niewielka i waha się w granicach od kilku do kilku tysięcy komórek w 1 gramie gleby.

3a. Badania krajowe

Badania prowadzone w naszym kraju nad bakteriami należącymi do rodzaju *Azotobacter* mają już ponad 100-letnią historię. W polskich publikacjach poruszane są zagadnienia związane z warunkami życia i fizjologią bakterii *Azotobacter* sp., ich rozwojem w różnych typach gleb oraz zastosowaniem tych bakterii jako szczepionki w rolnictwie. Odżywianiem się bakterii z rodzaju *Azotobacter* zajmowała się Krzemieniewska (26, 27). Autorka dowiodła, że potas, wapń, magnez, fosfor i siarka są składnikami pokarmowymi niezbędnymi do prawidłowego wzrostu i rozwoju tych bakterii. Krzemieniewska dokładnie określiła ilość każdego z omawianych składników mineralnych, przy której *Azotobacter* sp. wiąże najwięcej azotu przy jednoczesnym najbardziej ekonomicznym zużyciu glukozy jako źródła węgla. Mianowicie do związania 12-16 mg azotu przy zużyciu 1 g glukozy bakterie te wymagały w pożywce 0,36 mg Ca, 0,38 mg K, 0,35 mg Mg, 2,46 mg P i 0,49 mg S. Krzemieniewska badała również szkodliwe działanie nadmiernie wysokich dawek soli potasowych, sodowych i magnezowych na rozwój i wiązanie azotu przez bakterie z rodzaju *Azotobacter*. Na podstawie przeprowadzonych badań autorka stwierdziła, iż odpowiednio wysokie dawki wapnia w pożywce usuwają szkodliwe działanie nadmiaru tych składników. Zaobserwowała również, że magnez ma odtruwające działanie w przypadku nadmiaru soli potasowych lub sodowych. Z kolei Krzemieniewski (28) zajmował się funkcjami fizjologicznymi tj. oddychanie i przemiana materii u bakterii *Azotobacter* sp. podczas wiązania azotu. Badania prowadzone przez Krzemieniewskiego potwierdziły, że bakterie z rodzaju *Azotobacter* są wybitnymi tlenowcami. Wpływ różnych czynników na zdolność biologicznego wiązania azotu przez te bakterie badali Bassalik i Neugebauer (9). Przeprowadzone doświadczenia wykazały, iż ekstrakty glebowe, drożdżowe, zwierzęce i roślinne, a także czyste preparaty witaminowe wyraźnie zwiększały ilość związanego azotu przez czyste kultury *Azotobacter chroococcum*. Dowiedziono również stymulującego działania molibdenu na wiązanie azotu przez tę grupę bakterii. Dalsze badania tych samych naukowców (10) potwierdziły wyniki uzyskane przez zagranicznych uczonych, a mianowicie wykazano, że żelazo jest bardzo aktywnym katalizatorem procesów fizjologicznych *Azotobacter* sp. Badania nad wpływem molibdenu i żelaza na wiązanie azotu atmosferycznego przez bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* prowadzili również Krzemieniewski i Kovats (29). Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzili współzależność pomiędzy działaniem molibdenu i żelaza na proces asymilacji wolnego azotu. Jednocześnie dodatek do pożywki soli Fe^{3+} i Mo^{2+} wyraźnie zwiększał wiązanie azotu, jednakże wpływ molibdenu widoczny był tylko przy dostatecznej ilości żelaza.

W 1923 roku prof. Jadwiga Ziemięcka opublikowała wyniki pionierskich badań nad występowaniem bakterii z rodzaju *Azotobacter* w wybranych glebach Polski (78). W badaniach analizowano 28 gleb pobranych w latach 1917 i 1918 z obszaru Królestwa

Polskiego i wykazano, że połowa (50%) analizowanych gleb zasiedlona była przez bakterie *Azotobacter* sp.. Większość tych gleb (23) została scharakteryzowana pod względem właściwości chemicznych, tj.: pH, zawartość próchnicy, N, P₂O₅ i CaO. Spośród wymienionych parametrów to pH okazało się najważniejszym czynnikiem środowiskowym wpływającym na występowanie i liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter*. W późniejszych latach przeprowadzono dość liczne badania nad zasiedleniem gleb przez bakterie *Azotobacter*, ale najczęściej odnosiły się one tylko do wybranych rejonów naszego kraju.

Wiele badań prowadzonych w Polsce nad bakteriami z rodzaju *Azotobacter* dotyczyło ich wpływu na wzrost i plonowanie roślin (7, 18, 19, 37, 50, 66, 67). Tematyką tą na szeroką skalę zajmowała się Maliszewska (37), która sprawdzała działanie szczepionek zawierających bakterie z rodzaju *Azotobacter* na różne rośliny uprawne w warunkach klimatycznych i glebowych Polski. Przeprowadzone badania wykazały, iż szczepienie to okazało się korzystne dla roślin z rodziny krzyżowych (kapusta, rzodkiewka, gorczyca i rzepak) oraz dla traw (rajgras i tymotka). Szczepienie roślin zbożowych (owies i jęczmień) nie dawało istotnych przyrostów plonów pod wpływem bakterii *Azotobacter* sp. Na podstawie wyników przeprowadzonych doświadczeń polowych stwierdzono, że bakterie z rodzaju *Azotobacter* przyspieszają rozwój niektórych roślin. W szczególności wpływały korzystnie na zwiększenie wczesnych zbiorów kapusty, kalafiorów, pomidorów i sałaty. Autorka pracy podjęła próby wyjaśnienia istoty działania *Azotobacter* sp. na rośliny i stwierdziła, że rozwój roślin szczepionych tymi bakteriami jest stymulowany, między innymi przez substancje wzrostowe, wydzielane przez nie w dużych ilościach. Korzystne oddziaływanie bakterii z rodzaju *Azotobacter* na wzrost i rozwój roślin związane jest również z wydzielaniem innych substancji, np. związków azotu, a także przez wpływ tych bakterii na zróżnicowanie zespołów mikroflory i na nasilenie ich czynności na korzeniach roślin.

W badaniach prowadzonych przez Zawislaka (77) oznaczono liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter* w glebach pobranych ze stoków w województwie olsztyńskim (13 wzgórz trwale zadarnionych oraz 22 pod uprawą polową). Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że na 13 zbadanych wzgórz zadarnionych gleby 5 obiektów (38,5%) wykazywały wysoką liczebność *Azotobacter* sp., 3 obiekty (23%) – niską oraz 5 (38,5%) było całkowicie pozbawionych tych bakterii. Z kolei wśród 22 analizowanych wzgórz użytkowanych rolniczo nie zanotowano gleb całkowicie pozbawionych bakterii z rodzaju *Azotobacter*. W 4 glebach (18%) zanotowano wysoką liczebność *Azotobacter* sp., w 10 obiektach (46%) – średnią, zaś w 8 (36%) – niską. Autorka pracy analizując otrzymane wyniki stwierdziła, iż *Azotobacter* sp. występuje częściej i liczniej (kilkaset do tysiąca i więcej komórek w 1 g gleby) w glebach uprawianych rolniczo niż w glebach zadarnionych. Jest to związane z wyższą jakością gleb ornych na stokach wskutek ich intensywniejszego przewietrzania, staranniejszego nawożenia i zmianowania roślin. Sugeruje to, że zabiegi agrotechniczne prowadzone na glebach mogą stwarzać warunki korzystniejsze do rozwoju i przetrwania dla tej

grupy bakterii. Ponadto wykazano, że liczniejsze występowanie bakterii z rodzaju *Azotobacter* w glebach ze stref wyżej usytuowanych na stokach było uwarunkowane wyższym poziomem fosforu i wapnia oraz korzystniejszym dla tego drobnoustroju odczynem gleb. W dolnych partiach stoków gleby były silnie wymyte z części spławialnych, uboższe w fosfor i kwaśniejsze.

Szember (69) donosi, że bakterie z rodzaju *Azotobacter* wymagają odpowiednich warunków bytowania. Poza dobrymi warunkami tlenowymi bakterii te do prawidłowego rozwoju potrzebują odpowiedniego zasobu substancji pokarmowych i energetycznych. Autor zwraca uwagę na odczyn środowiska glebowego, który nie może być kwaśny, a także na dawkowanie mineralnego azotu. Wprowadzanie do gleby zbyt dużych dawek tego pierwiastka może powodować nagromadzenie toksycznych substancji, np. amoniaku, który ogranicza rozwój pewnych grup drobnoustrojów i obniża pH gleby.

Z nowszych badań warto przytoczyć wyniki publikacji Martyniuk i Martyniuk, (41). Autorzy ci, w nawiązaniu do pracy prof. Ziemięckiej z 1923 r., pobrali w 2000 roku próbki 31 gleb z różnych rejonów naszego kraju i analizowali w nich występowanie bakterii *Azotobacter*, m.in. w celu stwierdzenia czy i jak intensyfikacja rolnictwa, która zaszła w ciągu XX wieku, wpłynęła na zasiedlanie gleb przez omawianą grupę bakterii. Przeprowadzone badania wykazały, że bakterie z rodzaju *Azotobacter* obecne były w 16 glebach, a więc 52% gleb Polski – co wskazywałoby, że unowocześnienie i intensyfikacja rolnictwa (wzrost nawożenia mineralnego, zwłaszcza N, rozwój mechanicznej uprawy i chemicznej ochrony roślin) nie wpłynęła ujemnie na występowanie bakterii *Azotobacter* w glebach. Liczebność tych bakterii wahała się od kilku komórek do prawie 10000 komórek w 1 gramie. Bakterie z rodzaju *Azotobacter* były na ogół nieobecne w glebach kwaśnych, natomiast najwyższe ich liczebności odnotowano w glebach żyznych, o dużej zawartości części spławialnych i odczynie zbliżonym do obojętnego. Analizując otrzymane wyniki autorzy pracy wzięli pod uwagę fakt, iż bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* cechuje duża wrażliwość na kwaśny odczyn środowiska glebowego, także bakterie te nie występują zazwyczaj w glebach o pH poniżej 6. W Polsce ponad 50% gleb charakteryzuje się odczynem kwaśnym i bardzo kwaśnym (34, 60), nic więc dziwnego, że bakterii *Azotobacter* sp. nie stwierdzono w około połowie badanych gleb. Również Krzyśko-Łupicka (30) nie potwierdza występowania bakterii z rodzaju *Azotobacter* w glebach kwaśnych.

Niedawno prowadzone badania nad występowaniem bakterii z rodzaju *Azotobacter* w 100 próbkach gleb pobranych z województw małopolskiego i śląskiego wykazały obecność tych bakterii 43 glebach (32). Liczebność tej grupy bakterii wahała się w przedziale od 1 do 112 komórek w 1 g gleby. Uzyskane wyniki potwierdziły znaną tezę, iż mikroorganizmy te są wrażliwe na kwaśny odczyn gleby i najczęściej spotyka się je w glebach o odczynie obojętnym lub lekko zasadowym. Przeprowadzone badania wykazały istotną zależność pomiędzy występowaniem *Azotobacter* sp. a zawartością azotu ogólnego i węgla organicznego w analizowanych glebach, co dowodzi, że żyzność gleby jest kolejnym ważnym czynnikiem wpływającym na zasiedlanie gleb przez te bakterie.

W 2015 roku Siebielec i in. (61) oznaczyli liczebność bakterii wiążących azot z rodzaju *Azotobacter* w różnych typach gleb pod wieloletnią uprawą roślin zbożowych. Ich największą liczebność stwierdzono w glebie brunatnej eutroficznej ($6,58 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1} \text{ s.m. gleby}$) i rędzinie brunatnej ($4,05 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1} \text{ s.m. gleby}$), a występowały one również w czarnej ziemi ($1,50 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1} \text{ s.m. gleby}$) i madzie brunatnej ($1,48 \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1} \text{ s.m. gleby}$). Bakterii tych nie stwierdzono przy odczynie poniżej wartości pH 5,56 (w H_2O).

Natywa i in. (48), zaobserwowali spadek liczebności bakterii z rodzaju *Azotobacter* przy dawkach azotu przekraczających $80 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Ci sami autorzy ocenili wpływ zabiegu deszczowania na liczebność tej grupy bakterii. Zabieg ten pozytywnie wpływał na populacje *Azotobacter* sp., co wiązało się najprawdopodobniej z poprawą zasobności gleb w przyswajalne formy mikro- i makroelementów. Martyniuk i in. (42) sprawdzali, czy system uprawy gleb ma wpływ na obecność bakterii *Azotobacter* sp.. Wyniki badań wskazały brak tej grupy bakterii w glebie pod roślinami uprawianymi w doświadczalnym systemie konwencjonalnym, natomiast liczebność asymilatorów N_2 z rodzaju *Azotobacter* w glebie pod pszenicą ozimą uprawianą w systemie ekologicznym wynosiła 120 komórek w 1 gramie gleby. Otrzymane wyniki można uzasadnić m.in. korzystniejszym odczynem gleby w systemie ekologicznym (6,6) w porównaniu do systemu konwencjonalnego (5,6). Autorzy pracy zwrócili uwagę na istotność procesu wapnowania gleb kwaśnych, który zapewnia prawidłowe funkcjonowanie gleby i podnosi jej żyzność poprzez stymulowanie aktywności mikrobiologicznej, w tym także rozwój bakterii *Azotobacter* sp.. Korzystne warunki do rozwoju tych bakterii stwarza również nawożenie gleby obornikiem lub gnojowicą. Stwierdzono także, że stosowanie NPK oraz obornika powoduje intensywne rozmnażanie się omawianych bakterii (62). Poza wyżej wymienionymi czynnikami rodzaj uprawianej rośliny również może wpływać na liczebność w glebach bakterii należących do rodzaju *Azotobacter*. Jak donosi Strzelczyk (65) rzodkiewka i rośliny strączkowe stymulują proliferację tych bakterii w ich ryzosferze. W swoich badaniach Martyniuk (41) zaobserwował, że bakterie *Azotobacter* sp. występują w największych ilościach ($9900 \text{ jtk}/1\text{g}$ gleby) w glebie pobranej spod uprawy koniczyny czerwonej.

3b. Badania światowe

W literaturze światowej możemy znaleźć wiele prac dotyczących występowania (2, 17, 35, 44), wiązania azotu atmosferycznego (51), wpływu na rośliny (8, 45, 63), identyfikacji i zróżnicowania genetycznego (2, 3, 44) bakterii *Azotobacter* sp.. Wiele różnych czynników środowiskowych determinuje obecność lub brak tego rodzaju bakterii w określonych glebach (71). Na występowanie wolnożyjących asymilatorów N_2 atmosferycznego w glebie w znacznym stopniu wpływa wartość pH (14). Najliczniejsze populacje bakterii z rodzaju *Azotobacter* obserwuje się w glebach o pH powyżej 6, natomiast rzadko występują one, gdy odczyn gleby jest mniejszy od 6 (17, 23). Aquilanti i in. (2) izolowali szczep *Azotobacter* sp. z próbek glebowych

pobrane z terenów centralnych Włoch. Optymalne pH dla rozwoju wyizolowanych bakterii wahało się w granicach od 6,5 do 9,0, co zgodne jest z wynikami badań uzyskanych przez innych naukowców (33, 44, 75). Liczne badania potwierdziły, że właściwości gleby i warunki klimatyczne, a w szczególności zawartość materii organicznej, wilgotność, stosunek C/N oraz pH, w znaczny sposób wpływają na zasiedlanie gleb przez bakterie z rodzaju *Azotobacter* (13, 21, 49, 57, 71).

4. Rolnicze i przemysłowe znaczenie bakterii z rodzaju *Azotobacter*

Zdolność do biologicznego wiązania azotu atmosferycznego nie jest jedyną właściwością sprawiającą, że bakterie z rodzaju *Azotobacter* są niezwykle pożyteczne dla rolnictwa. Bakterie te wytwarzają szereg związków stymulujących wzrost i rozwój roślin, tj.: auksyny, gibereliny i cytokiny (2, 4, 20, 31, 39, 58). Wydzielając fitohormony do podłoża zwiększają ich wyprodukowaną przez rośliny ilość w środowisku, a to wpływa korzystnie na plonowanie wielu roślin uprawnych (70, 76). Przyspieszenie wzrostu i plonowania roślin przez fitohormony ma związek z ich pobudzającym wpływem na rozwój korzeni, przez co rośliny są w stanie pobrać więcej związków odżywczych. Przeprowadzono wiele doświadczeń mających na celu sprawdzenie wpływu *Azotobacter* sp. na plonowanie takich roślin jak: jęczmień, kukurydzę, owies, ogórek i pomidor (46). Bakterie z rodzaju *Azotobacter* oprócz zdolności do syntezy fitohormonów wytwarzają również związki hamujące rozwój patogenów, w szczególności grzybów (31). *Azotobacter vinelandii* wytwarza poliofosforantetraaminy sacharozy wykazujący działanie grzybobójcze (11). W 1982 roku stwierdzono, że wyżej wymieniony metabolit produkowany przez *Azotobacter chroococcum* hamuje wzrost takich grzybów jak: *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*, *Pythiumdebarianum*, *Verticilliumdahliae* i *Fusarium* sp. (56). Wyżej wymienione właściwości bakterii z rodzaju *Azotobacter* wykorzystał Zakład Przetwórczo-Usługowo-Handlowy Biofood S.C. z Wałcza do produkcji szczepionki Azotobakteryny. Szczepionka przeznaczona jest dla roślin niemotylikowatych i zawiera aktywne, wyselekcjonowane szczepy bakterii z rodzaju *Azotobacter*. Bakterie te oprócz wykorzystania w rolnictwie mogłyby znaleźć zastosowanie w wielu gałęziach przemysłu i medycyny ze względu na zdolność do produkcji związków tj.: alginiany i poli- β -hydroksymaślan (PHB); (15, 52, 59, 64).

Alginiany zbudowane są z dwóch kwasów: kwasu β -D-mannuronowego i kwasu α -L-guluronowego. Wytwarzane są one przez brunatnice: *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* i *Macrocystispyrifera* i bakterie: *Azotobacter chroococcum*, *Azotobacter vinelandii* a także kilka gatunków należących do rodzaju *Pseudomonas*. Znajdują one zastosowanie w przemyśle tekstylnym, papierniczym, spożywczym jako substancje żelujące, zagęstniki i stabilizatory, a nawet farmaceutycznym, między innymi w opatrunkach do ran (5, 59). Alginiany produkowane przez *Azotobacter* sp. mogłyby być wykorzystywane komercyjnie, a pierwszym argumentem przemawiającym za wprowadzeniem ich do obiegu jest fakt, że produkcja obecnie

stosowanych alginianów pozyskiwanych z brunatnic, pomimo niskich nakładów finansowych, uzależniona jest od warunków środowiskowych. Natomiast stosowanie alginianów wyprodukowanych przez bakterie z rodzaju *Pseudomonas* uniemożliwia fakt, iż są to mikroorganizmy patologiczne w przeciwieństwie do bakterii z rodzaju *Azotobacter* (15, 16).

PHB jest jednym z kwasów polihydroksykarboksylowych (PHA), który wykorzystywany jest w produkcji biodegradowalnych i biokompatybilnych plastików a także w niekontrolowanym uwalnianiu leków (16, 73). Oba wyżej wymienione związki wytwarzane są w komórkach bakterii z rodzaju *Azotobacter* w czasie niekorzystnych warunków środowiskowych tj.: niedobór składników odżywczych, czy stres środowiskowy (55). *Azotobacter* sp. gromadzi PHB i alginiany w czasie tworzenia cyst (64).

Podsumowanie

Bakterie z rodzaju *Azotobacter* są przedmiotem wielu badań prowadzonych zarówno w Polsce jak i za granicą. Zainteresowanie tymi bakteriami w dużej mierze związane jest z ich właściwościami, które mogą być wykorzystywane w rolnictwie. Dzięki swoim zdolnościom do wiązania wolnego azotu atmosferycznego i udostępniania go roślinom wyższym w formie przyswajalnej, oraz produkcji substancji stymulujących wzrost i rozwój roślin, a także zdolności do produkcji związków hamujących rozwój patogenów, są one wykorzystywane w produkcji doglebowych szczepionek bakteriacyjnych. Ponadto bakterie te są doskonałym wskaźnikiem żyzności gleby, dlatego często wykorzystuje się je jako mikroorganizmy testowe w wielu badaniach.

Literatura

1. Ahemad M., Kibret M.: Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. J. King Saud. Univ. Sci., 2014, **26**: 1-20.
2. Aquilanti L., Favilli F., Clementi F.: Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples. Soil Biol. Biochem., 2004, **36**: 1475-1483.
3. Aquilanti L., Mannazzu I., Papa R., Cavalca L., Clementi F.: Amplified ribosomal DNA restriction analysis for the characterization of *Azotobacteraceae*: a contribution to the study of these free-living nitrogen-fixing bacteria. J. Microbiol. Methods., 2004, **57**: 197-206.
4. Azcon R., Barea J.M.: Synthesis of auxin, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii* and *Azotobacter beijerinckii* related to effects produced on tomato plants. Plant Soil, 1975, **43**: 609-619.
5. Baj J., Markiewicz Z.: Biologia molekularna bakterii. Wydawnictwo naukowe PWN, Warszawa, 2007: 141.
6. Balandreau J.: Ecological factors and adaptive processes in N_2 -fixing bacterial populations of the plant environment. Plant Soil, 1986, **90**: 73.
7. Balicka N.: Wpływ szczepienia azotobakterem na plony roślin niemotylnych. Acta Microbiol. Pol., 1953, **2(4)**: 307-318.
8. Barik A.K., Goswami A.: Efficacy of biofertilizers with nitrogen levels on growth, productivity and economics in wheat (*Triticum aestivum*). Indian J. Agron., 2003, **48(2)**: 100-102.

9. Bassalik K., Neugebauer J.: Bios, auksymony, witaminy i koloidy w świetle badań nad wiązaniem azotu przez *Azotobacter chroococcum*. Ac. Soc. Bot. Pol. 1931, **8**: 213-252.
10. Bassalik K., Neugebauer J.: Über die Stimulation von *Azotobacter* durch Eisen. Ac. Soc. Bot. Pol. 1933, **10**: 481-493.
11. Chetverikov S.P., Loginov O.N.: New metabolites of *Azotobacter vinelandii* exhibiting antifungal activity. Microbiology, 2008, **78(4)**: 428-432.
12. De Smedth J., Bauwens M., Tytgat R., De Ley J.: Intra- and intergeneric similarities of ribosomal ribonucleic acid cistrons of free-living, nitrogen-fixing bacteria. Int. J. Syst. Bacteriol., 1980, **30**: 106-122.
13. Döbereiner, J. and Pedrosa, F.O.: Nitrogen-fixing bacteria in non-leguminous crop plants. Science Tech. Publishers. Springer Verlag Inc., Berlin, Germany, 1987: 155.
14. Döbereiner J.: Isolation and identification of aerobic nitrogen-fixing bacteria from soil and plants. In: Alef K., Nannipieri P. (eds) Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry, Academic Press, London, 1995, 134-141.
15. Gacesa P.: Bacterial algininate biosynthesis – recent progress and future prospects. Microbiology, 1998, **144**: 1133-1143.
16. Galindo E., Pena C., Nunez C., Segura D., Espin G.: Molecular and bioengineering strategies to improve alginate and polyhydroxyalkanoate production by *Azotobacter vinelandii*. Microb. Cell. Fact., 2007, **6(7)**: 1-16.
17. Geinley P.L.: Influence of the absolute reaction of a soil upon *Azotobacter* flora and nitrogen fixing ability. J. Agric. Res., 1923, **24**: 907.
18. Golińska J.: Wpływ szczepienia azotobakterem pomidorów i kapusty na ich plony. Roczn. Nauk Roln., 1949, **53**: 133-136.
19. Golińska J.: Wyniki prób zaprawiania nie motylkowych roślin warzywnych szczepionką azotobacteria. Roczn. Nauk Roln., 1954, **68**: 613-626.
20. Gonzales-Lopez J., Martinez Toledo M.V., Reina S., Salmeron V.: Root exudates of maize on production of auxins, gibberellins, cytokinins, amino acid and vitamins by *Azotobacter chroococcum* chemically defined media and dialysed soil media. Toxicol. Environ. Chem., 1991, **33**: 69-78.
21. González-López J.: Microorganismos diazotrofos asociados a raíces de plantas no leguminosas (w) Interacción Planta-Microorganismo: Biología del Nitrógeno, red. J. González-López, C. Lluch, Rueda, Madrid, Spain, 1992: 1-96.
22. Gothandapani S., Sekar S., Padaria J. C.: *Azotobacter chroococcum*: Utilization and potential use for agricultural crop production: An overview. In. J. Adv. Res. Biol. Sci., 2017, **4(3)**: 35-42.
23. Jensen L.: Non-symbiotic nitrogen fixation. In: Bartholomew W.V., Clark F.E. (Eds.), Soil Nitrogen, American Society of Agronomy Inc., Madison, 1965: 436-480.
24. Jensen V., Petersen E.J.: Taxonomic studies on *Azotobacter chroococcum* Beijerinck and *Azotobacter beijerinckii* Lipman. J. R. Vet. Agric. Coll., 1995, **84**: 107-126.
25. Kennedy I.R., Tchan Y.T.: Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: recent advances. Plant Soil, 1992, **141(1-2)**: 93-118.
26. Krzemieniewska H.: Zur Ernährung des Azotobacters. W sprawie żywienia się Azotobaktera. Bull de l'Acad. Pol. Sc. Cracovie, 1908: 445-448.
27. Krzemieniewska H.: Der Einfluss der Mineralbestandteile der Nährlösung auf die Entwicklung des Azotobacters. Bull. de l'Acad. Pol. Sc. Cracovie, 1910: 375-413.
28. Krzemieniewski S.: Studia nad azotobakterem. Roczn. Nauk Rol. Leś. 1909, **4**: 127-242.
29. Krzemieniewski S., Kovats J.: Über den Einfluss von Eisen und Molybdän auf die Stickstoffbindung durch *Azotobacter chroococcum* Beij. Bull. de l'Acad. Pol. Sc. Cracovie. Seria B, 1936: 169-195.
30. Krzyśko-Łupicka T.: Ecological effects of phosphoorganic herbicide on soil diazotrophs in spring. Part II. Ecol. Chem. Eng., 2008, **15**: 595-609.
31. Lenart A., Chmiel M.J.: Wpływ wybranych jonów metali ciężkich na bakterie glebowe z rodzaju *Azotobacter* asymilujące azot atmosferyczny (w) Przemiany środowiska naturalnego

- a rozwój zrównoważony, red. Kotarba M.J., Wydawnictwo TBPŚ GEOSFERA, Kraków, 2008: 199-205
32. Lenart A.: Occurrence, characteristics, and genetic diversity of *Azotobacter chroococcum* in various soils of southern Poland. Pol. J. Environ. Stud., 2012, **21(2)**: 415-424.
 33. Limmer C., Drake H.L.: Non-symbiotic N₂-fixation in acidic and pH-neutral forest soils: aerobic and anaerobic differentials. Soil Biol. Biochem., 1996, **28(2)**: 177-183.
 34. Lipiński W.: Odczyn i zasobność gleb w świetle badań stacji chemiczno-rolniczych. Naw. Nawoż., 2000, **3(4)**: 89-99.
 35. Mahmoud S.A.Z., El-Sawy M., Ishac Y.Z., El-Safty M. M.: The effect of salinity and alkalinity on the distribution and capacity of N₂-fixation by *Azotobacter* in Egyptian soils (w) Environmental Role of Nitrogen-fixing Blue-green Algae and Asymbiotic Bacteria, red. Granhall U., Uppsala, Sweden, 1978: 99-109.
 36. Maliszewska W.: Szczepienie roślin azotobakterem. Roczn. Nauk Rol., 1953, **68**: 33-51.
 37. Maliszewska W.: Szczepienie roślin azotobakterem. Roczn. Nauk Rol., 1961, **91**: 103-235.
 38. Maliszewska W., Ziemięcka J., Myśków W., Strzelczyk E.: Mikrobiologia gleby i nawozów organicznych. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 1974: 61.
 39. Martinez Toledo M.V., Moreno J., De la Rubia T., Gonzalez-Lopez J.: Root exudates of *Zea mays* and production of auxins, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter chroococcum*. Plant Soil., 1989, **110**: 149-152.
 40. Martyniuk S.: Systemy biologicznego wiązania azotu. Nawozy i Nawożenie, 2002, **1**: 264-277.
 41. Martyniuk S., Martyniuk M.: Occurrence of *Azotobacter* spp. In some Polish soils. Pol. J. Environ. Stud., 2003, **12**: 371-374.
 42. Martyniuk S., Księżniak A., Jończyk K., Kuś J.: Charakterystyka mikrobiologiczna gleb pod pszenicą ozimą uprawianą w systemie ekologicznym i konwencjonalnym. J. Res. Appl. Agric. Eng., 2007, **52(3)**: 113-116.
 43. Martyniuk S.: Znaczenie procesu biologicznego wiązania azotu atmosferycznego w rolnictwie ekologicznym. J. Res. Appl. Agric. Eng., 2008, **53**: 9-14.
 44. Mazinani Z., Asgharzadeh A.: Genetic diversity of *Azotobacter* strains isolated from soils by amplified ribosomal DNA restriction analysis. Cytology and Genetics, 2014, **48**: 293-301.
 45. Mehrotra C.L., Lehri L.K.: Effect of *Azotobacter* inoculation on crop yields. J. Indian Soc. Soil Sci., 1971, **19**: 243-248.
 46. Mrkovacki N., Milic V.: Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. Ann. Microbiol., 2001, **51**: 145-158.
 47. Nannipieri P., Aschner J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G., Valori F.: Microbial diversity and microbial activity in the rhizosphere. Cienc Suelo, 2007, **25**: 89-97.
 48. Natywa M., Selwet M., Ambroży K., Pocijowska M.: Wpływ nawożenia azotem i deszczowania na liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter* w glebie pod uprawą kukurydzy w różnych fazach rozwoju roślin. Pol. J. Agron., 2013, **14**: 53-58.
 49. Ocampo J.A., Barea J.M., Montoya E.: Interactions between *Azotobacter* and "phosphobacteria" and their establishment in the rhizosphere as affected by soil fertility. Can. J. Microbiol., 1975, **21**: 1160.
 50. Ozimowska-Dąbrowska I.: Działanie szczepienia azotobakterem na plony niektórych roślin uprawnych. Roczn. Nauk Rol., 1954, **68**: 565-611.
 51. Page W., Shivprasad S.: *Azotobacter salinestrus* sp. nov., a sodium-dependent, microaerophilic, and aerotolerant nitrogen-fixing bacterium. Int. J. Syst. Bacteriol., 1991, **41**: 369-376.
 52. Page W.J., Tindale A., Chandra M., Kwon E.: Alginate formation in *Azotobacter vinelandii* UWD during stationary phase and the turnover of poly-β-hydroxybutyrate. Microbiology, 2001, **147**: 483-490.
 53. Pajewska M., Kaszubiak H.: Wpływ różnych form azotu i organicznego węgla na rozwój Azotobaktera w glebie. Pam. Puł. 1975, **63**: 177-182.
 54. Paul E.A., Clark F.E.: Mikrobiologia i biochemia gleb. Wyd. UMCS, Lublin, 2000: ss. 400.

55. Pettinari M.J., Vazquez M.J., Silberschmidt D., Rehm B., Steinbuchel A., Mendez B.S.: Poly (3-hydroxybutyrate) synthesis genes in *Azotobacter* sp. strain FA8. Appl. Environ. Microbiol., 2001, **67**: 5331-5334.
56. Pridachina N.N., Novogrudskaya E.D., Kruglyak E.B.: *Azotobacter chroococcum*, producer of a new antifungal antibiotic. Antibiotiki, 1982, **27(1)**: 3-5.
57. Safari Sinegani A.A., Sharifi Z.: Land use effect on the occurrence and distribution of *Azotobacter* in Hamadan soils, Iran. Proceeding of the Fourth International Iran and Russia Conference in Agriculture and Natural Resources. Sep. 8-10, Shahrekord, Iran, 2004: 614-618.
58. Salmeron V., Martinez-Toledo M.V., Gonzalez-Lopez J.: Nitrogen fixation and production of auxins, gibberellins and cytokinin by *Azotobacter chroococcum* strain isolated from root of *Zea mays* in presence of insoluble phosphate. Chemosphere, 1990, **20**: 417-422.
59. Saude N., Cheze-Lange H., Beunard D., Dhulster P., Guillochon D., Caze A.M., Morcellet M., Junter G.A.: Alginate production by *Azotobacter vinelandii* in a membrane bioreactor. Process Biochem., 2002, **38**: 273-278.
60. Siebielec G., Suszek B. i wsp.: Monitoring chemizmu gleb ornych w Polsce w latach 2010-2012. Biblioteka Monitoringu Środowiska, Warszawa, 2012, ss. 202.
61. Siebielec G., Siebielec S., Podolska G.: Porównanie mikrobiologicznej i chemicznej charakterystyki gleb po ponad 100 latach uprawy roślin zbożowych. Pol. J. Agron., 2015, **23**: 88-100.
62. Starzyk J., Niewiadomska A., Wolna-Maruwka A., Swędrzyńska D.: Zmiany liczebności *Azospirillum* i *Azotobacter* w glebie pod uprawą kukurydzy (*Zea Mays* L.) z zastosowaniem różnych nawozów organicznych. Fragn. Agron., 2013, **30(4)**: 147-155.
63. Stella M., Suhaimi M.: Selection of suitable growth medium for free-living diazotrophs isolated from compost. J. Trop. Agric. And Fd. Sc., 2010, **38(2)**: 211-219.
64. Stevenson L.H., Socolofsky M.D.: Cyst formation and poly-β-hydroxybutyric acid accumulation in *Azotobacter*. J. Bacteriol., 1966, **91(1)**: 304-310.
65. Trzeleńczyk E.: Wpływ różnych roślin uprawnych na liczebność azotobaktera i *Clostridium* w ich rizosferze. Acta Microb. Polon., 1958, **7**: 112.
66. Strzelec A.: Oddziaływanie szczepionek *Azotobacter chroococcum* na plonowanie gorczyicy białej i gryki. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Konferencje, 1998, **18**: 103-107.
67. Strzelec A., Martyniuk M.: Szczepionki *Azotobacter chroococcum* – wpływ na plonowanie roślin okopowych. Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Konferencje, 1998, **18**: 109-119.
68. Szember A., Królikowska K., Kusy J., Niedzielska J., Tyczyńska B., Wielgosz E.: Występowanie w glebach Kielecczyzny bakterii niesymbiotycznie wiążących azot atmosferyczny. W: Maliszewska W. (ed.) Mikrobiologiczne przemiany związków azotowych w glebie w różnych warunkach ekologicznych, IUNG, Puławy, 1981: 113-121.
69. Szember A.: Zarys mikrobiologii rolniczej. Wyd. AR, Lublin, 2001: 215.
70. Taller B.J., Wong T.: Cytokinins in *Azotobacter vinelandii* culture medium. Appl. Environ. Microbiol., 1988, **55(1)**: 266-267.
71. Tejera N., Lluch C., Martinez-Toledo M.V., Gonzalez-Lopez J.: Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere. Plant Soil, 2005, **270(1)**: 223-232.
72. Tchan Y.T., New P.B.: *Azotobacteraceae*, in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 1, red. Kreig N.R., Holt J.G., Williams and Wilkins, Baltimore, 1984: 220-229.
73. Turesin F., Gumusyazici Z., Kok F.N., Gursel I., Alaaddinoglu N.G., Hasirci V.: Biosynthesis of polyhydroxybutyrate and its copolymers and their use in controlled drug release. Turk. J. Med. Sci., 2000, **30**: 535-541.
74. Wu F.J., Moreno J., Vela G.R.: Growth of *Azotobacter vinelandii* on soil nutrients. Appl. Environ. Microbiol., 1987, **53(3)**, 489-494.
75. Yadav A. K., Chandra K.: Mass production and quality control of microbial inoculants. Proc. Indian. Natn. Sci. Acad., 2014, **80(2)**: 483-489.
76. Zahir Z.A, Asghar H.N., Akhtar M.J., Arshad M.: Precursor (L-tryptophan) – inoculum (*Azotobacter*) interaction for improving yields and nitrogen uptake of maize. J. Plant Nutr., 2005, **28**, 805-817.

77. Zawislak K.: Występowanie azotobaktera w glebach na stokach w województwie olsztyńskim. *Rocz. Glebozn.*, 1973, **24**: 344.
78. Ziemięcka J.: Występowanie azotobaktera w glebach polskich. *Rocz. Nauk Roln.*, 1923, **10**: 1-78.
-

Adres do korespondencji:

mgr Monika Koziel
Zakład Mikrobiologii Rolniczej
IUNG-PIB
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
tel. 81 47 86 952
e-mail: mmaczka@iung.pulawy.pl