

Nitrogénkötő, növényi növekedést serkentő *Azospirillum* baktériumok

A hüvelyes növények gyökérgümő baktériumainak (*Rhizobium*) biológiai N_2 -kötése már több, mint egy évszázada ismert (HELLRIEGEL & WILFARTH, 1988). Az endoszimbionta *Rhizobium* és *Bradyrhizobium* baktériumokkal való oltás közel évszázada sikerrel alkalmazott technika, amelynek segítségével a növény N_2 -igényének akár teljes ellátása is lehetséges.

A legtöbb táplálék és takarmánynövény (pl. kukorica, rizs, búza, köles) és a fűfélék viszont nem hüvelyesek, és esetükben a biológiai N-kötést sokáig nem tarották lehetségesnek. BEIJERINCK 1925-ben felfedezett ugyan a talajban spirillumszerű N_2 -kötő baktériumokat, de a tény és a rizoszférával való kapcsolat bizonyítása közel fél évszázadig váratott magára, az acetilén-redukciós technika kifejlesztéséig. Ennek segítségével pontos "in situ" méréseket lehetett megvalósítani és sikerült izolálni a spirillumszerű mikroorganizmust is trópusi fűfélék, rizs, kukorica és gyöngyköles gyökeréből (VON BULOW & DÖBEREINER, 1975; SMITH et al., 1976).

Ezután világszerte megindultak a kutatások és számos, különböző genuszhoz tartozó (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*) N_2 -kötő

diazotróf baktériumot izoláltak, amelyek nemcsak a talajban, a rizoszférában, hanem még a gyökér belsejében - a hisztoszférában - is nagy számban előfordulhattak. Újabban néhány trópusi növényfaj földfeletti részeiből is sikerült N_2 -kötő mikroorganizmusokat izolálni, melyek szintén jelentősnek bizonyultak a növénytáplálásban (BALDANI et al., 1986).

Az *Azospirillum* genuszhoz tartozó baktériumok ígéretes oltóanyagoknak tűnnek az egyszikű takarmánynövények és fűfélék, valamint a gabonafélék esetében. Számos kedvező tulajdonságuk folytán képesek alkalmazkodni a rizoszféra különleges kompetíciós körülményeihez is. A rhizobiumok után valószínűleg a leginkább tanulmányozott növénynövekedést serkentő rizo-baktériumok egyikévé váltak.

Az *Azospirillum* fajok

Az " N_2 -kötő Spirillum", azaz *Azospirillum* elnevezést TARRAND és munkatársai (1978) definiálták, mely szerint 2 fajt különböztettek meg:

1. Az *Azospirillum lipoferum*ot, melyek főleg a C_4 -típusú anyagcsereúttal rendelkező növények (pl. kukorica) gyökérkörnyezetében található

(mivel azok nagyrészt malátot választanak ki); és

2. az *A. brasiliense*-t, amely a C₃-as típusú, főleg oxalátot kiválasztó növényekben (búza, rizs) található meg.

Egy harmadik fajt, a savtűrő *A. amasonense*-t MAGALHAES és munkatársai (1983) írták le, amely főleg trópusi körülmények között található meg a *Leptochloa fusca*-ról izolált, sőtűrő (legalább 0,25 % NaCl szükséges az optimális szaporodásához) *A. halopraeferans*-szal együtt (REINHOLD et al., 1987). Ezek mellett még meg kell említeni az *A. irakense*-t (KHAMMAS et al., 1989), amely több, mint 1 % NaCl-dal szemben is tűrőképes, és így az *A. halopraeferans*-hoz sorolható leginkább, mint helyi, iraki változat. Nemrégiben DNS-DNS homológia alapján az *Azospirillum* genuszról elkülönítettek egy új, *Herbaspirillum seropedicae* fajt is, ez ha sejtméretben és sok más tulajdonságban nem is, de élőhely tekintetében különbözik azoktól. Ezideig még csak trópusi, vegetatív szaporodású növények (pl. cukornád) növények gyökér- és hajtásrészéből tudták kimutatni (BALDANI et al., 1986), de feltételezések szerint mérsékelt égövi növények endofitája is lehet. A növény táplálásban betöltött szerepe jelenleg is kutatás tárgya, mivel az *Azospirillum*-mal ellentétben a *Herbaspirillum*-ot talajból eddig még nem izolálták.

Az asszociáció kifejlődése

A rizocönózis kialakulása közös interakció eredménye. Ez az interakció vagy a rizoszférában, vagy a gyökérszövetben jön létre, de a *Rhizobium* - hüvelyes kapcsolathoz hasonló speciális gümősövet nem fordul elő, az *Azo-*

spirillum baktérium csak a rizoszférát, rizoplánt, vagy a hisztoszférát kolonizálja, képes osztódni a xilem edénynyalábokon belül és a vaszkuláris rendszerben is (PATRIQUIN et al., 1983). A baktériumok a rizoszférához kemotaktikusan kerülnek a növényi gyökérkivonatok hatására, amelyek számukra szén- és energiaforrásként szolgálnak (rizoszféra effektus). A stabil és kedvező asszociáció kialakulását viszont nagyon sok környezeti, növényi és baktériumi tényező befolyásolja, melynek megfelelően az ekto- és endorizoszférát is más-más törzs hódíthatja meg (BALDANI et al., 1986). A növény gyökeréhez egy fonalas, lektinszerű anyaggal kapcsolódnak, melynek segítségével a *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* és *Klebsiella* fajokhoz képest nagyobb mértékben kötődhetnek (OKON et al., 1977).

Az azospirillumok változatos anyagcserével rendelkeznek, ami lehetővé teszi azok túlélését extrém környezeti feltételek esetén is. Versenyképességük emellett sziderofor termelésükben is megnyilvánul, amellyel képesek a Fe^{III}-ionokkal kelát-kötést létrehozni és azt más mikrobák számára felvehetlenné tenni (SAXENA et al., 1986).

Előfordulásuk és mennyiségük

Az *Azospirillum* genusz felfedezését BELJERINCK (1925) *Spirillum lipoferum*-ra vonatkozó adatai után VON BULOW és DÖBEREINER (1975) munkájától számítjuk, mely szerint asszociatív N₂-kötőket találtak *Digitaria decumbens* és *Zea mays* növények gyökérszövetében.

Ezen kezdeti eredmények után már nagy számban izoláltak azospirillumokat a legkülönbözőbb növényekről, a

trópusoktól a hideg klímáig, a víz elárasztotta rizsföldektől kezdve a szikes talajokig (KLOSSAK et al., 1987). Számuk azonban csak néhány trópusi vegetáció alatt lehet számszerűleg jelentős, ahol 10^5 - 10^7 *Azospirillum* sejt/g száraz gyökérsúly határozható meg (PATRIQUIN et al., 1983), bár KALINYINSZKAJA és REDKINA (1981) szerint elárasztott körülmények között a rizs rizoszférájában elérheti a 10^7 - 10^8 sejt/g gyökér értéket is. KLEEBERGER és munkatársai (1983) megállapították, hogy mérsékelt égövi talajokban, ahol a pszeudomonaszok és az enterobaktetek dominálnak, számuk már kevésbé jelentős, nem haladja meg a 10^3 - 10^4 értéket. Téli viszonyok között ez a mennyiség még tovább csökkenhet 3×10^1 -re is.

A növény gyökérrendszerében mindemellett tízszer nagyobb mennyiségben fordulnak elő (főleg a felső 10 cm-es részben) mint a talajban, a már korábban említett "rizoszféra effektus" miatt (CONINK et al., 1988).

Az azospirillumok N₂-kötő képessége

Mivel ezek a spirillumszerű baktériumok szoros asszociációban vannak a gabona- és fűfélékkel, fontos volt tudni azt, hogy vajon képesek-e mezőgazdaságilag jelentős mennyiségű N₂-t kötni a gazdanövénynek? A kérdésre a választ az acetilénredukciós technika kifejlesztése jelentette, mellyel számos növény (rizs, kukorica, trópusi fűfélék) esetén "in situ" mérésekkel bizonyították a biológiai N₂-fixációt, bár ezek a "korai" mérései eredmények még jelentős mennyiségekről számolnak be (VON BULOW & DÖBEREINER, 1975; BARBER et al., 1976). Később bebizonyoso-

dott, hogy ezzel a technikával túlbecsülik a tényleges N₂-kötő aktivitást (BODDEY et al., 1978).

Az 1980-as évek elején a ¹⁵N izotópos technika szintén demonstrálta, hogy az asszociatív N₂-kötő baktériumok szignifikáns mennyiségű N-t szállíthatnak a növénynek (ESKEW et al., 1981). Ezek a pozitív változások persze nemcsak a megnövekedett N-fixáció miatt, hanem az erőteljesebb talaj- és műtrágya-N felvétel miatt is bekövetkezhetnek, bár mérsékelt égövi viszonyok között ennek jelentősége is kisebb (BODDEY et al., 1986; KAPULNIK et al., 1985). Összességében azonban elmondható, hogy az *Azospirillum*-oltás bizonyos fűfélék N-igényének akár 40 %-át is fedezheti (BODDEY et al., 1983), de az N-felhalmozódás mértéke a gyökérben előforduló azospirillum-számtól is függ (BALDANI et al., 1983). Trópusi körülmények között ezért is lehet fokozottabb biológiai N₂-fixációt megállapítani. DÖBEREINER szóbeli közlése és az Agrokémia és Talajtan e számában szintén megjelenő cikke szerint például *Azospirillum* oltás segítségével N-műtrágyázás nélkül is sikerrel lehet termesztani a cukornádat a braziliai szegényes tápanyag-ellátottságú "cerado" szavannákon.

Az oltás hatása

A megfigyelt kedvező hatások ellenőrzése érdekében számos kísérlet irányult az azospirillumok oltással előidézett hatására vonatkozóan is. A korábbi eredmények szerint szárazanyag-gyarapodást és/vagy nitrogén-felhalmozódást lehetett kimutatni. A világ minden táján végeztek már hasonló

teszteléseket. Ennek megfelelő adatokról számolnak be izraeli, egyiptomi, indiai, angol, belga, német, ausztrál, amerikai és brazil szerzők (cit.: BODDEY et al., 1986).

A szignifikáns termésnövelő hatást egyesek az acetilénredukciós aktivitás megemelkedésével magyarázzák, 1-ről 2,5 $\mu\text{mol}/\text{C}_2\text{H}_4/\text{növény}/\text{óra}$ értékre (YAHALOM et al., 1984). Ennek következtében a megnövekedett biológiai N_2 -fixáció eredményeképpen a növény 5- (OKON et al., 1983), vagy akár 13 % (RENNIE, 1980) nitrogénnel is gyarapodhat, pl. a kukorica azospirillum oltása esetén.

A kutatók többsége a pozitív hatást a baktérium auxin és egyéb fitohormon termelő képességével magyarázza, ami által a növény gyökértömege megnövekszik és ezáltal a tápanyagfelvevő képessége is javul (PATRIQUIN et al., 1983; KAPULNIK et al., 1985).

Az auxint, citokinint és a gibberellinszerű anyagokat az *Azospirillum* a növényi gyökér által kibocsátott triptofánból és egyéb aminosavakból nyeri (TIEN et al., 1979). A nagyobb gyökértömeg miatt tehát a növény nitrát-, foszfát- és káliumfelvétele is fokozódik (OKON et al., 1983), de SARIG és munkatársai (1984) a vízellátottság javulásáról is említést tesznek, amit a nedvesség talajból való hatékonyabb kivonásával magyaráznak.

Az egyszikű növények mellett a paradicsom produkcióját is növelte az *Azospirillum* oltás, amelynek hatására az 1 g száraz anyagra eső légzési arány kisebb lett, így kevesebb energiát használt fel a növény ugyanannyi termés előállításához.

Az oltás hatékonyságát persze a növény fenológiai stádiuma is lényegesen

befolyásolhatja. Ennek megfelelően YAHALOM és munkatársai (1984), valamint SARIG és munkatársai (1984) az oltást a reproduktív fázisban javasolják, míg mások a korai vegetatív állapotban (REYNDERS & VLASSAK, 1982), de fontos figyelembe venni az oltóanyagban alkalmazott törzs eredetét is, ugyanis ha a *Azospirillum* populáció szegényes a talajban, akkor az oltás kedvező hatású akár más klimatikus viszonyok közül izolált törzssel is.

Gazdag azospirillum populáció esetén pedig ugyanarról a növényfajról származó (homológ), a megfelelő talajból szelektált törzset javasolják leginkább (BALDANI et al., 1983; REYNDERS & VLASSAK, 1982).

Ennek megfelelően az asszociatív baktérium oltással való sikeres termésközelítés csak a talaj biotikus- és abiotikus tényezőihez, valamint a növényhez is sikeresen alkalmazkodni képes törzsekkel lehetséges.

Irodalom

- BALDANI, V. L. D., BALDANI, I. L. & DÖBEREINER, J., 1983. Effects of *Azospirillum* inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat. *Can. J. Microbiol.* **29**. 924-929.
- BALDANI, J. I. et al., 1986. Characterization of *Herbaspirillum seropedicae* gen. nov., sp. nov., a root-associated nitrogen-fixing bacterium. *Int. J. Syst. Bact.* **36**. 86-93.
- BARBER, L. E. et al., 1976. Acetylene reduction (nitrogen fixation) associated with corn inoculated with *Spirillum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **32**. 108-113.

- BELJERINCK, M. W., 1925. Über ein Spirillum, welches freien Stickstoff binden kann? Zentralbl. Bakt. II. abt. 63. 353-357.
- BODDEY, R. M., QUILT, P. & AHMAD, N., 1978. Acetylene reduction in the rhizosphere of rice: Methods of Assay. Plant & Soil. 50. 567-574.
- BODDEY, R. M. et al., 1983. The use of the ^{15}N isotope dilution technique to estimate the contribution of associated biological nitrogen fixation to the nitrogen nutrition of *Paspalum notatum* cv *batatais*. Can. J. Microbiol. 29. 1036-1045.
- BODDEY, R. M. et al., 1986. Effect of inoculation of *Azospirillum* spp. on nitrogen accumulation by field-grown wheat. Plant & Soil. 95. 109-121.
- VON BULOV, J. F. W. & DÖBEREINER, J., 1975. Potential of nitrogen fixation, in maize genotypes in Brazil. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 72. 2389-2893.
- DE CONINCK, K. et al., 1988. Occurrence and survival of *Azospirillum* spp. in temperate regions. Plant & Soil. 110. 231-218.
- ESKEW, D. L., EAGLESHAM, A. R. J. & APP, A. A., 1981. Heterotrophic $^{15}\text{N}_2$ fixation and distribution of newly fixed nitrogen in a rice-flooded soil system. Pl. Physiol. 68. 48-52.
- HELLRIEGEL, H. & WILFARTH, H., 1888. Beilagehaft zu der Zeitschrift des Vereins f.d. Rübenzuckerindustrie des Deutschen Reiches, November 1888.
- KALININSKAYA, T. H. & REDKINA, T. V., 1981. Microflora of rice seeds as a source of nitrogen-fixing micro-organisms of rhizosphere habitat. Proc. USSR Academy of Sciences. Biological Series. 617-621.
- KAPULNIK, Y. et al., 1985. Contribution of nitrogen fixed by *Azospirillum* to the nutrition of spring wheat in Israel. Soil Biol. Biochem. 17. 509-515.
- KHAMMAS, K. M. et al., 1989. *Azospirillum irakense* sp. nov. a nitrogen-fixing bacterium associated with rice roots and rhizosphere soil. Res. Microb. 140. 679-693.
- KLEEBERGER, A., CASTORPH, H. & KLINGMÜLLER, W., 1983. The rhizosphere microflora of wheat and barley with special reference to gram-negative bacteria. Arch. Microbiol. 136. 306-311.
- KLOSSAK, R. M. & BOHLOOL, B. B., 1983. Prevalence of *Azospirillum* spp. in the rhizosphere of tropical grasses. Can. J. Microbiol. 29. 649-652.
- KRIEG, N. R. & DÖBEREINER, J., 1984. Genus *Azospirillum*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. (Eds.: HOLT, J. G. & KRIEG, N. R.) 9th ed. 94-104. William and Wilkins. Baltimore.
- MAGALHAES, F. M. M. et al., 1983. A new acid-tolerant *Azospirillum* species. Ann. Acad. Bras. Cien. 55. 417-430.
- OKON, Y., ALBRECHT, S. L. & BURRIS, R. H., 1977. Methods for growing *Spirillum lipoferum* and for counting it in pure culture and in association with plants. Appl. Environ. Microbiol. 33. 85-88.
- OKON, Y., HEYTLER, P. G. & HARDY, R. W. F., 1983. N_2 -fixation by *Azospirillum brasilense* and its incorporation into host *Setaria*

- italica*. Appl. Environ. Microbiol. **46**. 694-697.
- PATRIQUIN, D. G., DÖBEREINER, J. & JAIN, D. K., 1983. Sites and process of association between diazotroph and grasses. Can. J. Microbiol. **29**. 900-915.
- REINHOLD, B. et al., 1987. *Azospirillum halopraeferans* sp. nov., a nitrogen fixing organism associated with roots of Kallar grass (*Leptochloa fusca*). Int. J. Syst. Bacteriol. **37**. 43-51.
- RENNIE, R. J., 1980. ¹⁵N-isotope dilution as a measure of dinitrogen fixation by *Azospirillum brasilense* associated with maize. Can. J. Bot. **58**. 21-24.
- REINDERS, L. & VLASSAK, K., 1982. Use of *Azospirillum brasilense* as biofertilizer in intensive wheat cropping. Plant & Soil. **66**. 217-223.
- SARIG, S. et al., 1984. Response of non-irrigated Sorghum bicolor to *Azospirillum* inoculation. Expl. Agric. **20**. 59-66.
- SAXENA, B. I., MODI, M. & MODI, V. V., 1986. Isolation and characterization of siderophores from *Azospirillum lipoferum* D-2. J. Gen. Microbiol. **132**. 2219-2224.
- SMITH, R. L. et al., 1976. Nitrogen fixation in grasses inoculated with *Spirillum lipoferum*. Science. **193**. 1003-1005.
- TARRAND, J. J., KRIEG, N. R. & DÖBEREINER, J., 1978. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group, with description of a new genus, *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. Can. J. Microbiol. **24**. 967-980.
- TIEN, T. M., GASKINS, M. H. & HUBBEL, D. H., 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). Appl. Environ. Microbiol. **37**. 1016-1024.
- YAHALOM, E., KAPULNIK, Y. & OKON, Y., 1984. Response of *Setaria italica* to inoculation with *Azospirillum brasilense* as compared to *Azotobacter chroococcum*. Plant & Soil. **82**. 77-85.

BÍRÓ BORBÁLA
MTA Talajtani és Agrokémiai
Kutató Intézete, Budapest

Érkezett: 1992. január 21.