

UTICAJ RAZLIČITIH DOZA HERBICIDA NIKOSULFURONA NA MORFOLOGIJU KOLONIJE I PREŽIVLJAVANJE AZOTOBAKTERA

Đurić Simonida, Jarak Mirjana, Tešić Dragana

Poljoprivredni fakultet, Novi Sad

Izvod: Azotobakter pripada sekciji Gram negativnih štapićastih ili ovalnih bakterija, iz porodice *Azotobacteriaceae*. To su asporogeni aerobni heterotrofni slobodni azotofiksatori (diazotrofi). Veća mu je zastupljenost u rizišnom nego okolnom zemljištu (Mišustin i Emcev, 1987). U našem klimatskom podneblju azotobakter je zastupljen od nekoliko stotina do desetina hiljada ćelija u gramu zemljišta i može da fiksira, u uslovima polja, od 20-60 kg N po hektaru godišnje. (Mrkovački i sar., 2006). Cilj ovih istraživanja bio je ispitivanje uticaja različitih doza herbicida nikosulfurona (preparat Motivell) na morfološke promene kolonije i preživljavanje četiri soja azotobaktera izolovanih iz četiri tipa zemljišta. Sojevi *Azotobacter* spp. u čistoj kulturi uzeti su iz kolekcije sa predmeta Mikrobiologija, a izolati potiču iz četiri različita tipa zemljišta: černozem - soj AČ006, ritska crnica - soj ARC003, pseudoglej - soj APS001 i luvisol - soj ARudo004. Ispitivanja su se sastojala iz dva dela: određivanje morfoloških osobina kolonija četiri soja azotobaktera pre primene herbicida i određivanje uticaja različitih doza nikosulfurona na preživljavanje (brojnost) i morfološke promene kolonije azotobaktera. Sve primenjene doze herbicida nikosulfurona uticale su značajno na smanjenje brojnosti azotobaktera poreklom iz černozema (soj AČ006) i ritske crnice (soj ARC003). Pet i deset puta veće doza od preporučenih uticale su stimulatивно na preživljavanje sojeva iz pseudogleja (soj APS001) i luvisola (soj ARudo004). Ove doze izazvale su i morfološke promene kolonija azotobaktera. Kolonije su sitnije, ravnijeg profila i jače pigmentacije. Kod svih ispitivanih sojeva slabije preživljavanje je bilo na varijantama sa manjim početnim brojem ćelija.

Ključne reči: Nikosulfuron, *Azotobacter*, kolonija, preživljavanje, zemljište.

Uvod

Mikroorganizmi koji vrlo brzo reaguju na nepovoljne uslove spoljne sredine je i rod *Azotobacter* spp.. Azotobakter pripada sekciji Gram negativnih štapićastih ili ovalnih bakterija, porodici *Azotobacteriaceae*. To su asporogeni aerobni heterotrofni slobodni azotofiksatori (diazotrofi). Veća mu je zastupljenost u rizišnom nego okolnom zemljištu (Mišustin i Emcev, 1987). U našem klimatskom podneblju azotobakter je zastupljen od nekoliko stotina do desetina hiljada ćelija u gramu zemljišta (Mrkovački i sar., 2006). Najzastupljenije vrste su *Azotobacter chroococcum*, *A. Vinelandii*, *A. agilis*. Vrste se međusobno razlikuju po veličini i obliku ćelije, a naročito po pigmentaciji kolonija. Mlade kolonije *A. chroococcum* su bezbojne dok sa starošću prelaze u mrku boju. Za *A. vinelandii* i *A. agilis* karakteristične su bezbojne kolonije, koje daju fluorescentni

žutozeleni odsjaj. U zavisnosti od ekoloških uslova i osobina, vrste roda *Azotobacter* fiksiraju, u uslovima polja, od 20-60 kg N po hektaru godišnje. (Mrkovački i sar., 2006).

Brojnost i efektivnost azotobaktera u zemljištu, pored ekoloških faktora, zavise i od primene herbicida, koji zauzimaju oko 32% u ukupnoj strukturi pesticida. U proizvodnji pšenice, ječma, pirinča, kukuruza i soje najviše se primenjuju sulfonilurea herbicidi (Mitić, 2004).

Posebno mesto u metabolizmu pesticida, pa tako i sulfonilurea herbicida, pripada mikroorganizmima zemljišta. Mikroorganizmi, u zavisnosti od vrste, metabolišu pesticide odgovarajućom brzinom i na različitiom stepenu destrukcije, koristeći ih kao izvor ugljenika, azota i drugih biogenih elemenata (Van Eerd et al., 2003). Proizvodi enzimske transformacije pesticida u zemljištu poseduju različit stepen toksičnosti na gajene biljke i druge korisne organizme. Zbog toga je veoma važno poznavati uticaj brojnih faktora na sudbinu pesticida u zemljištu; mehanizam i intezitet različitih fizičkih, hemijskih i bioloških procesa koji deluju na umanjeње sadržaja pesticida u zemljištu, odnosno na stepen njihove detoksikacije, uticaj pesticida na metaboličke procese u ćeliji kao i na brojnost i aktivnost pojedinih grupa mikroorganizama.

Cilj ovih istraživanja bio je da se ispita uticaj različitih doza herbicida nikosulfurona (preparat Motivell) na morfološke promene kolonije i preživljavanje četiri soja azotobaktera izolovanih iz četiri tipa zemljišta.

Materijal i metod rada

Ogled je postavljen u laboratoriji predmeta Mikrobiologija na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu. U ogledu je ispitivan uticaj različitih doza herbicida nikosulfurona (preparat Motivell) na morfološke osobine kolonija i brojnost azotobaktera. Sojevi *Azotobacter spp.* u čistoj kulturi uzeti su iz kolekcije sa predmeta Mikrobiologija, a izolati potiču iz četiri različita tipa zemljišta: černo zem (soj AČ006), ritska crnica (soj ARC003), pseudoglej (soj APS001) i luvisol (soj ARudo004). Ispitivanja su se sastojala iz dva dela: određivanje morfoloških osobina kolonija četiri soja azotobaktera pre primene herbicida i određivanje uticaja različitih doza Motivell-a (a.m. nikosulfuron) na preživljavanje (brojnost) i morfološke promene kolonije azotobaktera.

Umnožavanje sojeva *Azotobacter*-a (AČ006; ARC003; APS001 i ARudo004) vršeno je u 100 ml tečne hranljive podloge po Fjodoru, sa inkubacijom na 28 °C u trajanju od 48 časova. Nakon perioda inkubacije određivan je broj ćelija, metodom razređenja na čvrstoj hranljivoj podlozi, kao i morfološke karakteristike kolonija. Broj i opis morfoloških osobina kolonija određivan je standardnim mikrobiološkim metodama (Jarak i Đurić, 2006).

Za ogled sa herbicidom, odabrane su dve gustine inokuluma:

- 10^8 ćelija u ml (gustina I)
- 10^5 ćelija u ml (gustina II).

U tikvice sa po 50 ml tečne Fjedorove podloge zasejano je po 1,0 ml odgovarajuće gustine inokuluma (10^8 i 10^5 ćelija) i dodat je herbicid u sledećim dozama:

- | | |
|---------------------------------|--------------------------------|
| 1. Preporučena doza | - 0,312 ml preparata - herb. 1 |
| 2. 2,5 puta veća od preporučene | - 0,781 ml preparata - herb. 2 |
| 3. 5 puta veća od preporučene | - 1,562 ml preparata - herb. 3 |

4. 10 puta veća od preporučene - 3,125 ml preparata - herb. 4
 5. Kontrola - bez herbicida

Primenjene doze herbicida nikosulfurona preračunate su na osnovu preporučenih količina preparata Motivell-a (a.m. nikosulfuron 40 g/l) koje se koriste u poljskim uslovima i iznose 1,25 l/ha preparata rastvoranog u 400 l vode i zapreminske težine zemljišta - černoze od 1,21 g/cm³.

Tikvice sa azotobakterom i herbicidom stavljene su na mućkalicu, na 28°C u toku 48 h. Nakon perioda inkubacije, na čvrstoj Fjodorovoj hranljivoj podlozi određivan je broj preživelih ćelija azotobaktera kao i promene morfoloških osobina kolonija.

Rezultati istraživanja i diskusija

Morfološke osobine kolonije azotobaktera pre primene herbicida

Morfološke osobine kolonije azotobaktera opisivane su nakon 48 sati inkubacije na 28°C. Uočeno je da između ispitivanih sojeva postoje značajnije razlike samo u boji kolonija.

Tab. 1. Osobine kolonija sojeva azotobaktera pre tretiranja herbicidom

Tab. 1. Colony characteristics of azotobacter strains before herbicide treatment

Osobine kolonija Colony characteristics	Sojevi azotobaktera iz različitih tipova zemljišta <i>Azotobacter strains isolated from differet types of soil</i>			
	Soj Ač006 iz černozema Strain Ač006 from chernozem	Soj ARC003 iz Ritske crnice Strain ARC003 from humogley	Soj APS001 iz Pseudogleja Strain APS001 from pseudogley	Soj ARudo004 iz Luvisola Strain ARudo004 from Luvisol
Oblik - Shape	okrugao	okrugao	okrugao	okrugao
Veličina - Size	sitne	sitne	sitne	sitne
Površina - Surface	glatka i sjajna	glatka i sjajna	glatka i sjajna	glatka i sjajna
Ivica - Edge	ravna	ravna	ravna	ravna
Položaj - Position	površinski	površinski	površinski	površinski
Profil - Profile	ispupčen	ispupčen	ispupčen	ispupčen
Boja - Color	mlečno bela	mlečno bela (sivkasti centar)	Mlečno bela (krem centar)	mlečno bela (žućkasti centar)
Optičke osobine Optical feature	poluprovodna	poluprovodna	poluprovodna	poluprovodna
Konzistencija Consistance	sluzava	sluzava	sluzava	sluzava
Struktura Structure	sitno zrnasta	sitno zrnasta	sitno zrnasta	sitno zrnasta
Promene u podlozi Changes in medium	bez promena	bez promena	bez promena	bez promena

Naime svi sojevi su imali mlečno bele kolonije, ali kod sojeva izolovanih iz ritske crnice (ARC003) pseudogleja (APS001) i luvisola (ARudo004), pojavila se različita pigmentacija u centru kolonije, kako je to i navedeno u tabeli 1. Takođe, konstatovane su i neznatne razlike u veličini kolonija. Kolonije azotobaktera sa

pseudogleja (APS001) i luvisola (ARudo004) su bile nešto sitnije u odnosu na kolonije druga dva soja izolovana iz černoze (Ač006) i ritske crnice (ARC003).

Uticaj herbicida na morfološke osobine kolonije i preživljavanje azotobaktera

Herbicid koji je ispitivan pripada hemijskoj grupi sulfonilurea. Konkretno, korišćen je preparat Motivell, aktivna materija nikosulfuron (SC 40 g/l). Hemijski naziv nikosulfurona je 2-(4,6-dimetoksipirimidin-2-ikarbamoilsulfa-moil)-N,N-dimetil-nikotinamid. Nikosulfuron (Motivell) je selektivni herbicid koji se usvaja lišćem i korenom. Aktivna materija niosulfuron sprečava aktivnost enzima acetolaktat sintaze (ALS, E.C. 2.2.1.6) koji je odgovoran za sintezu razgranatih aminokiselina leucina, izoleucina i valina. Osim biljaka, direktnom uticaju herbicida izloženi su i mikroorganizmi u zemljištu. Uticaj herbicida zavisi od njegove koncentracije, ali i od vrste mikroorganizma (Gigliotti et al., 2001).

U ovom istraživanju primenjene doze preparata Moltivell-a različito su delovale na preživljavanje pojedinih sojeva azotobaktera.

Soj azotobaktera poreklom iz černoze (Ač006) bio je veoma osetljiv na primenjen herbicid pri čemu je negativan efekat bio izraženiji na varijanti sa manjim početnim brojem ćelija, gde je uočena potpuna inhibicija sa sve četiri primenjene doze (Tab. 2).

Tab. 2. Uticaj različitih doza herbicida na preživljavanje azotobaktera (soj Ač006) poreklom iz černoze (log broja ćelija u ml).

Tab. 2. Effect of different doses of herbicide on surviving of azotobacter (strain Ač006) from chernozem (log of number of cells per ml).

Koncentracija herbicida <i>Herbicide concentration</i>	Gustina I <i>Density I</i>	Broj preživelih ćelija <i>Number of survived cells</i>	Gustina II <i>Density II</i>	Broj preživelih ćelija <i>Number of survived cells</i>
Herb. 1		6,89		-
Herb. 2		6,94		-
Herb. 3	6,90	/	3,77	-
Herb. 4		6,49		-
Kontrola - Control		7,36		4,41
LSD 1 %		0,432		
5 %		0,285		

Inokulum sa 10^8 ćelija u ml uslovio je bolje preživljavanje, ali nakon statističke obrade podataka, vidi se da su sve primenjene doze herbicida i u ovoj varijanti statistički visoko značajno smanjile broj ćelija azotobaktera u odnosu na kontrolu. Primenjene doze herbicida nisu imale uticaja na morfološke osobine kolonija koje se nisu razlikovale od onih sa kontrolne varijante (Slika 1).

Azotobakter poreklom iz ritske crnice (ARC003) reagovao je na primenjene doze nikosulfurona vrlo slično soju iz černoze (Ač006), ali se uočavaju razlike u odnosu na primenjene doze herbicida i gustinu početnog inokuluma (Tab. 3). Kod varijante sa većim početnim brojem ćelija azotobaktera, primenjene doze herbicida 5 i 10 puta veće od preporučene, značajno su smanjile preživljavanje

(LSD za 5% 0.48), dok preporučena i 2.5 puta veća doza, nisu bitnije uticale na brojnost ovog soja (ARC003). Kod varijante sa manjim početnim brojem ćelija statistički visoko značajno smanjenje brojnosti azotobaktera konstatovano je kod svih primenjenih doza herbicida, osim kod 10 puta veće od preporučene.

Ako se uzme u obzir uticaj interakcije faktora (početna gustina ćelija i doza herbicida), na preživljavanje soja azotobaktera poreklom iz ritske crnice (ARC003), gustina početnog inokuluma ne utiče značajnije, ali doza herbicida ima značajnog uticaja. Uticaj se ogleda u smanjenom preživljavanju ćelija azotobaktera ako je herbicid primenjen u preporučenoj, 2.5 i 5 puta većoj dozi od preporučene (LSD interakcije od 5% je 0,68).

Kao i kod prethodnog soja - Ač006, ni kod ovog - ARC003 nisu uočene značajnije promene u morfologiji kolonije nakon primene ispitivanog herbicida.

Tab. 3. Uticaj različitih doza herbicida na brojnost azotobaktera (soj ARC003) izolovanog iz ritske crnice (log broja ćelija u ml).

Tab. 3. Effect of different doses of herbicide on surviving of azotobacter (strain ARC003) from humogley (log of number of cells per ml).

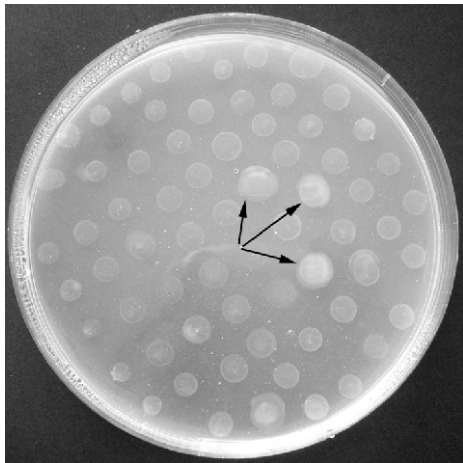
Koncentracija herbicida Herbicide concentration (A)	Gustina I Density I (B)	Broj preživelih ćelija Number of survived cells	Gustina II Density II	Broj preživelih ćelija Number of survived cells
Herb. 1		6,23		5,25
Herb. 2		6,39		5,94
Herb. 3	6,30	5,72	5,17	5,77
Herb. 4		5,72		6,20
Kontrola - Control		6,36		6,66
LSD			1 %	5%
(A) doza herbicida - herbicide dose			0,66	0,48
(B) gustina inokuluma - inoculum density			0,42	0,31
Interakcija - Interaction			0,94	0,68

Tab. 4. Uticaj različitih doza herbicida na brojnost azotobaktera (soj APS001) poreklom iz pseudogleja (log broja ćelija u ml).

Tab. 4. Effect of different doses of herbicide on surviving of azotobacter (strain APS001) from pseudogley (log of number of cells per ml).

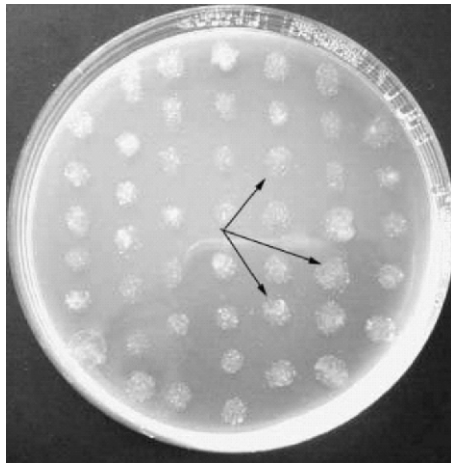
Koncentracija herbicida Herbicide concentration	Gustina I Density I	Broj preživelih ćelija Number of survived cells	Gustina II Density II	Broj preživelih ćelija Number of survived cells
Herb. 1		6,23		6,46
Herb. 2		5,97		6,34
Herb. 3	6,78	7,30	5,20	-
Herb. 4		9,09		-
Kontrola - Control		6,88		7,14
LSD	1 %	1,647		0,155
	5 %	1,132		0,093

Soj azotobaktera poreklom iz pseudogleja (APS001) pokazao je daleko veću otpornost na primenjen herbicid od prethodna dva soja izolovana iz černoze i ritske crnice (AČ006 i ARC003), (Tab. 4). Ova pojava se donekle može objasniti poreklom samog soja koji potiče iz zemljišta sa lošijim fizičko-hemijskim svojstvima koja uslovljavaju bolju kompeticionu sposobnost, pa samim tim i bolje preživljavanje mikroorganizma. Kada je u pitanju veći početni broj ćelija azotobaktera primenjeni herbicid sa preporučenom i 2.5 puta većom dozom, nije imao značajniji uticaj na preživljavanje soja APS001 poreklom iz pseudogleja. Kod pet i deset puta veće doze herbicida, odnosno herb. 3 i 4 (Tab. 4) utvrđena je značajna stimulacija koja se ogleda u povećanju brojnosti.



Sl. 1. Izgled kolonija azotobaktera izolovanog iz černoze (soj AČ006).

Fig. 1. Appearance of azotobacter colony from chernozem (strain AČ006).



Sl. 2. Izgled kolonija sa izmenjenim morfološkim osobinama (strain APS001).

Fig. 2. Appearance of colony with changed morphological characteristics (strain APS001).

Kod varijante sa manjim početnim brojem ćelija azotobaktera preživljavanje je značajno smanjeno (LSD 1% 0.155), naročito sa preporučenom i 2.5 puta većom koncentracijom herbicida.

Formirane kolonije razlikovale su se po morfologiji u odnosu na prethodno dobijene (Slika 2). Po veličini su bile dosta sitnije, ali zato značajno brojnije, što se može i videti iz dobijenih rezultata. Profil je bio više ravan nego ispupčen, za razliku od prethodnih. Takođe, ove kolonije imale su jaču pigmentiranost, odnosno bile su tamnije od prethodnih.

Azotobakter izolovan iz luvisola (ARudo004) reagovao je slično soju iz pseudogleja (APS001). Pet i deset puta veća doza herbicida od preporučene, (herb. 3 i herb. 4), uslovljava značajno bolje preživljavanje azotobaktera na varijanti sa većom početnom gustinom inokuluma (Tab. 5). Na varijanti sa manjim početnim brojem ćelija utvrđena je veća osetljivost ovog soja, tako da se statistički značajno smanjenje brojnosti javlja na varijantama gde je herbicid primenjen sa 2.5 i 10 puta većom dozom od preporučene. I kod ovog soja (ARudo004) došlo je do promena morfoloških osobina kolonija, koje su bile iste kao kod soja izolovanog iz pseudogleja.

Tab. 5. Uticaj različitih doza herbicida na preživljavanje azotobaktera (soj ARudo004) poreklom iz luvisola (log broja ćelija u ml).

Tab. 5. Effect of different doses of herbicide on surviving of azotobacter (strain ARudo004) from luvisol (log of number of cells per ml).

Koncentracija herbicida Herbicide concentration (A)	Gustina I Density I (B)	Broj preživelih ćelija Number of survived cells	Gustina II Density II	Broj preživelih ćelija Number of survived cells
Herb. 1		6,20		6,49
Herb. 2		5,97		6,31
Herb. 3	7,15	6,93	5,66	7,08
Herb. 4		8,89		6,30
Kontrola - Control		6,53		7,15
LSD			1 %	5 %
(A) doza herbicida - herbicide dose			0,60	0,44
(B) gustina inokuluma - inoculum density			0,38	0,28
Interakcija - Interaction			0,85	0,62

Uticaj herbicida na brojnost i enzimatsku aktivnost mikroorganizama u zemljištu, kao i sposobnost mikroorganizama da vrše biodegradaciju herbicida, zavisi od količine i vrste primenjenog herbicida, hemijskih osobina herbicida, njegove pokretljivosti u zemljišnom profilu i velikog broja abiotičkih i biotičkih faktora (Aleem et al., 2003, Govedarica i sar., 1998).

Uticaj herbicida na mikroorganizme u zemljištu može biti inhibitoran, bez uticaja i stimulativan. Ako se koriste pravilno, većina pesticida ima mali efekat na mikroorganizme u zemljištu (Forlani i sar., 1995), što je potvrđeno i u ovim istraživanjima.

Prevelike količine pesticida po pravilu štetno utiču na mikrobiološke procese u zemljištu u celini, ali i na pojedine faze u ciklusima hranivih elemenata. Naročito su na pesticide osetljivi nitrifikatori, azotofiksatori i amonifikatori (Milošević i sar., 1996). Rezultati naših istraživanja su pokazali da su svi sojevi azotobaktera bili inhibirani na varijanti sa manjim početnim brojem ćelija. Međutim, i na ove mikroorganizme pesticidi ponekad nemaju uticaja ili ih čak stimulišu (Đurić, 2000). Ovo se dešava zbog toga što neki sojevi azotobaktera imaju sposobnost razlaganja pesticida (Pozo et al., 2000). To svojstvo se zasniva na sposobnosti mikroorganizma da enzimatskim putem otvori prstenove u molekulu pesticida a nakon njegove destrukcije usvaja pojedine hranljive elemente, najčešće azot, ugljenik i fosfor. U našim istraživanjima stimulativan uticaj primenjenog herbicida utvrđen je kod sojeva azotobaktera izolovanih iz pseudogleja (APS001) i luvisola (ARudo004).

Zaključak

Iz dobijenih rezultata može se zaključiti da je uticaj herbicida nikosulfurona (preparat Motivell), na preživljavanje i morfološke osobine kolonija azotobaktera, zavisio od primenjene doze herbicida, početnog broja ćelija, kao i porekla soja.

Sve primenjene doze herbicida nikosulfurona (preparat Motivell) uticale su značajno na smanjenje brojnosti azotobaktera poreklom iz černozema (soj AČ006) i ritske crnice (soj ARC003).

Pet i deset puta veće doze od preporučenih uticale su stumulativno na preživljavanje sojeva iz pseudogleja (APS001) i luvisola (ARudo004). Ove doze izazvale su i morfološke promene kolonija azotobaktera. Kolonije su sitnije, ravnijeg profila i jače pigmentacije.

Kod svih ispitivanih sojeva slabije preživljavanje je bilo na varijantama sa manjim početnim brojem ćelija.

Literatura

- Aleem, A., Isar, J., Malik, A., 2003: Impact of long-term application of industrial wastewater on the emergence of resistance traits in *Azotobacter chroococcum* isolated from rhizospheric soil, *Bioresource Technology*, 86,7-13.
- Đurić, S., 2000: Uticaj herbicida na mikrobiološku aktivnost u zemljištu pod usevom kukuruza. Magistarska teza, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Forlani, G., Mantelli, M., Branzoni, M., Neilsen, E., Favilli, F., 1995: Differential sensitivity of plant-associated bacteria to sulfonylurea and imidazolinone herbicides, *Plant and Soil* 176, 243-253.
- Gigliotti, C., Allievi, L., 2001: Differential effect of the herbicides bensulfuron and cinosulfuron on soil microorganisms, *Journal of Environmental Science and Health, Part B-Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, Vol. 36, issue 6, 775-782.
- Govedarica M., Jarak, Mirjana, 1995: Mikrobiologija zemljišta. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Govedarica M., Jarak, Mirjana, 1995: Opšta mikrobiologija. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Govedarica, M., Jarak, Mirjana, Milošević, Nada, 1993: Mikrobiološke karakteristike zemljišta Vojvodine. Poglavlje u monografiji "Teški metali i pesticidi u zemljištu - Teški metali i pesticidi u zemljištima Vojvodine", 259-268. Poljoprivredni fakultet Novi Sad.
- Govedarica, M., Milošević, Nada, Jarak, Mirjana, 1998: Uticaj pesticida na mikrobiološke procese u zemljištu, Poglavlje u monografiji Zaštita soje, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Janjić, V., Jovanović, Lj., Blanuša, T., Milošević, D., 2002: Sulfonylurea herbicides - mode of action: *Plant Physiology in the New Millennium*, monograph, Ed. Stephen A. Quarrie, Pub. Yugoslav Society of Plant Physiology, Belgrade.
- Jarak, Mirjana, Đurić, S., 2006: Praktikum iz mikrobiologije, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
- Milošević, Nada, Govedarica, M., Jarak, Mirjana, Konstantinović, B., Đurić, Simonida, 1996: Uticaj herbicida na biogenost černozema, *Zbornik radova sa V kongresa o korovima*, 581-586, Banja Koviljača.
- Milošević, Nada, Jarak, Mirjana, 2005: Značaj azotofiksacije u snabdevanju biljaka azotom, poglavlje u monografiji: Azot, Editor Kastori, R., Naučni institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad.
- Mitić, M., 2004: Pesticidi u poljoprivredi i šumarstvu u SCG.
- Mišustin, E. N., Emcev, V. T., 1987: Mikrobiologija, Moskva: Agropromozdat.
- Mrkovački, Nastasija, Čačić, N., Mezei, Snežana, Kovačev, L., 2006: How the potential for sugar beet yield increase can be better exploited by *Azotobacter chroococcum*. 10th European N-fixation Conference, Abstract book, p. 119, Aarhus, Danska, 22-26.jul.
- Pozo, C., Martinez-Toledo, M.V., Salmeron, V., Rodales, B., Gonzalez-Lopez, J., 2000: Effects of benzedine and benzedine analogues on the growth and nitrogenase activity of *Azotobacter*, *Applied Soil Ecology*, 14, 183-190.

Van Eerd, L. L., Hoagland, R. E., Zablotowicz, R. M., Hall, C. J., 2003: Pesticide metabolism in plants and microorganisms, Weed Science, Vol.51, No.4, 472-495.

THE EFFECT OF DIFFERENT DOSES OF HERBICIDE NICOSULFURON ON MORPHOLOGY OF COLONY AND SURVIVAL OF AZOTOBACTER

Đurić Simonida, Jarak Mirjana, Tešić Dragana

Faculty of Agriculture, Novi Sad

Summary: *Azotobacter* belong to the section of Gram negative rod to oval shape bacteria, fam. *Azotobacteriaceae*. They are non - sporogenic, aerobic, heterotrophic, free living N - fixing bacteria (diazotrophs). Their presence is greater in the rhizospheric soil than in bulk soil (Mrkovački et al., 2006). In our climate region *azotobacter* is present from few hundred to ten thousand cells per gram of dry soil, and they can fix, in the field condition, 20 - 60 kg N ha⁻¹ per year (Mrkovački et al., 1987).

The aim of the experiment was to investigate the effect of different doses of herbicide nicosulfuron (Motivell) on the morphological changes and survival of four *azotobacter* strains isolated from four different types of soil.

Azotobacter strains in pure culture were taken from the collection of laboratory of Microbiology, and they were isolated from four different types of soil: chernozem - strain Ač006, humogley - strain ARC003, pseudogley - strain APS001 and luvisol - strain ARudo004. Investigation was split in two parts: evaluation of morphological attributes of colonies of four *azotobacter* strains prior to herbicide application and enumeration of effect of different herbicide doses on surviving (number) and morphological changes of *azotobacter* colony.

All applied doses of herbicide nicosulfuron significantly decreased the number of *azotobacter* strains isolated from chernozem (strain Ač006) and humogley (strain ARC003). Five and ten fold doses, than recommended doses, enhance the survival of strains isolated from pseudogley (APS001) and luvisol ARudo004). Both doses caused the morphological changes of *azotobacter* colony. Colonies were smaller with thinner profile and stronger pigmentation. All investigated strains had weak survival in variants where the number of cells were lower at the beginning.

Key words: Nicosulfuron, *Azotobacter*, colony, survival, soil.