وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة كربلاء – كلية الزراعة

قسم وقاية النبات

تقييم كفاءة بعض العوامل الأحيائية في تحطيم مبيد الأدغال كلايفوسيت في التربة ودراسة أمتزازه بأستعمال السليكا النانوية

رساله مقدمة الى مجلس كلية الزراعة – جامعة كربلاء

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الزراعة – وقاية النبات

من قبل

وسن صاحب عطية الثرواني

بإشراف

أ.م. د . مشتاق طالب محمد علي

أ.م.د. أستبرق محمد عبد الرضا

1444هـ

2023 م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

وَيَرَى الَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ الَّذِي أُنْزِلَ إِلَيْكَ مِنْ رَبِّكَ هُوَ الْحَقَّ وَيَهْدِي إِلَىٰ صِرَاطِ الْعَزِيزِ الْحَمِيدِ

صدق الله العلي العظيم

سورة سبأ: آية (6).

الإهداء

إلى النبي الأعظم خير خلق الله الاكرم النبي محمد (صل الله عليه وآله وسلم) .

إلى معلمي الاول وقدوتي إلى من رحل عن الحياة لكنه حي في ذاكرتي إلى من شرفني حمل أسمه ..... أبي الغالي رحمه الله.

إلى نبع الحنان وعطر الجنان الى من ساندتني ووقفت بجانبي وأنارت بدعائها حياتي والدتي الغالية اطال الله في عمرها وأمدها بالصحة والعافية .

إلى رفيق دربي وشريك حياتي ..... زوجي العزيز.

إلى أخوتي وأخواتي مشاطري أفراحي وأحزاني .

إلى بناتي روحي وقرة عيني ونبض فؤادي .

إلى كل من وقف بجانبي وتمنى لي الخير.

الباحثه

شكر وتقدير

الحمد لله والشكر له حمداً كثيراً طيباً مباركاً حمداً يليق بوجهه وعظيم سلطانه.....

لايسعني وانا اكتب السطور الاخيرة من رسالتي الا ان اتقدم بالشكر والامتنان لكل من مد يد العون لي للمساهمة في اتمام هذا العمل.....

وبداية أود أن أشكرمن كان لهم الدور الاكبر في مسيرتي البحثية الأساتذة المشرفين فكل الشكر وعظيم الامتنان والتقدير لصاحب الهمة العالية والعلم الوفير الدكتور مشتاق طالب محمد علي و الى الاستاذة الفاضلة الدكتورة أستبرق محمد عبد الرضا لما قدماهُ لي من نصائح وتوجيهات وعلى مساعدتهم لاتمام هذه الرسالة على أكمل وجه شاكرة تفانيهم وعطائم.....

ويملي علي واجب الوفاء أن اتقدم بجزيل الشكر والامتنان لجميع أساتذة ومنتسبي قسم وقاية النبات وفي مقدمتهم السيد رئيس القسم الدكتور علي عبد الحسين كريم والدكتورة زينب عليوي في قسم الانتاج الحيواني لتزويدي بعزلة الفطر *Trichoderma harzianum* و الدكتور علي ناظم و م.م. علي عبد الرحيم للمساعدة التي بذلوها .

والشكر الموصول لأخوتي وأخواتي من طلبة الدراسات العليا وكل من أسهم في أنجاز هذه الرسالة وساندني داعية من الله ان يوفق الجميع.

المستخلص : (Abstract)

نفذت تجارب مختبرية وحقلية في كلية الزراعة - جامعة كربلاء بهدف تقييم العوامل الاحيائية الفطر *Trichoderma harzianum* والأنواع البكتيرية *Azotobacter chroococcum* و *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* و دورها في التحطيم الحيوي لمبيد الكلايفوسيت تحت الاسم التجاري تيلر 48% SL . شملت الدراسات المختبرية تقييم تحمل و نمو العوامل الاحيائية في الاوساط الزرعية المعاملة بتراكيز مختلفة من المبيد . شملت الدراسات الحقلية دور العوامل الاحيائية في التحطيم الحيوي وقياس متبقيات مبيد الادغال الكلايفوسيت عند التراكيز 10 ، 15 و 20 مل لتر$^{-1}$ في التربة والماء باستخدام تقنية جهاز الكروماتوغرافي السائل العالي الاداء HPLC . كما تم استخدام السليكا النانوية كعامل امتزاز لأزاله المبيد من الماء .

بينت نتائج الدراسة المختبرية الخاصة بمعاملة الاوساط الزراعية بالتراكيز 10و 15 و 20 و 25 مل لتر$^{-1}$ من مبيد الكلايفوسيت ، أن بكتريا *A. chroococcum* اظهرت تجاوبا ملحوظا في قدرتها على النمو و التحمل لتراكيز المبيد المستخدمة حيث سجلت معدل قطر نموها 7.20 سم ولم تختلف معنويا عن معاملة الفطر *T. harzianum* والذي سجل معدل قطر نمو 6.00 سم في حين بلغ أقل معدل قطر نمو 4.60 سم للبكتريا *P. fluorescens* والتي اختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى. كانت التراكيز 10 و 15 مل لتر$^{-1}$ الافضل امتداداً و نمواً للبكتريا *A. chroococcum* ، *B. subtilis* و الفطر *T. harzianum* مسجله نمواً بلغ 9 ، 8 و 7 ، 5 و7 ، 5 سم على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة التي حققت 9 سم ، فيما حققت البكتريا *P. fluorescens* امتداد نمو بلغ 6 ، 4 سم على التوالي .

اوضحت نتائج دراسة النسبة المئوية لتثبيط للبكتريا *A. chroococcum* والفطر *T. harzianum* ان اعلى نسبة تثبيط بفعل مبيد الكلايفوسيت كانت للبكتريا عند تركيز المبيد 20 مل لتر$^{-1}$ بنسبة مئوية بلغت 58.30 % و بفروق معنوية عن معاملة الفطر *T. harzianum* التي سجلت نسبة تثبيط مئوية 66.70 % عند التركيز نفسه . سجل التركيز 10 مل لتر$^{-1}$ اقل نسب التثبيط 18.90 و 55.60 % للبكتريا و الفطر و على التوالي ، في ضوء النتائج المستحصلة تم انتخاب ثلاث تراكيز هي 10 ، 15 و20 مل لتر$^{-1}$ مع اختيار البكتريا *A. chroococcum* والفطر *T. harzianum* للتجارب الحقلية .

اظهرت نتائج دراسة تقييم الفطر والبكتريا في التحطيم الحيوي لمبيد الكلايفوسيت في التربة ان التراكيز الثلاثة المستخدمة 10 ، 15 و 20 مل لتر$^{-1}$ ماء سجلت 4238 ، 6176 ، 7933 و 4126 ، 6050 و 7353 ملغم لتر$^{-1}$ لكل من معاملة الفطر والبكتريا على التوالي بعد المعاملة مباشرة مقارنة بمعاملة المقارنة

التي سجلت 4640 ، 6828 ، 8725 ملغم لتر$^{-1}$ ، ثم بدا تركيز المبيد بالانخفاض بعد 3 يوم من المعاملة مسجلا 1552 ، 2235 ، 3096 و 1132 ، 1955 ، 2626 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي. في اليوم السابع انخفضت التراكيز مسجلة 975 ، 1227 ، 1970 و 541 ، 942 ، 1242 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت 1493، 3675 و 4536 ملغم لتر$^{-1}$ ، في اليوم العاشر لم تسجل اي متبقيات في التربة .

بينت نتائج دراسة تقدير متبقيات مبيد الكلايفوسيت في الماء لمدة 15 يوماً ، ان التراكيز الثلاثة المستخدمة 10 ، 15 و 20 مل لتر$^{-1}$ ماء سجلت 3520 ، 5600 و 7955 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي بعد المعاملة مباشرة ، ثم بدا تركيز المبيد بالانخفاض وبمرور الايام قيد الدراسة لحين الوصول الى 822 ، 2011 و 3652 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي في اليوم السابع . ان التراكيز انخفضت في اليوم العاشر مسجلة 356 و 852 و 1203 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي ، وبعدها عند اليوم 15 لم يتحسس جهاز HPLC لأي تركيز من التراكيز المستخدمة في معاملة الماء .

اشارت نتائج دراسة استخدام السليكا النانوية كعامل امتزاز في ازالة مبيد الكلايفوسيت في الماء ان التركيز 200 ملغم لتر$^{-1}$ حقق اعلى معدل في ازالة للمبيد و بنسبة مئوية بلغت 89.37 % متفوقا على التراكيز الاخرى 100 و 150 ملغم لتر$^{-1}$ التي حققت 63.45 و 82.87 % على التوالي.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1	**المقدمة**	1
2	**أستعراض المراجع**	3
1-2	التلوث البيئي بالمبيدات	3
2-2	الكلايفوسيت	4
3-2	ألية عمل الكلايفوسيت في النباتات المعاملة	5
4-2	المعالجة البيولوجية	7
5-2	مسار تحلل الكلايفوسيت في التربة	8
6-2	العوامل التي تتحكم في التحلل الحيوي للمبيدات	10
1-6-2	تأثير التركيب الكيميائي وتركيزه	10
2-6-2	الكائنات الحية الدقيقة	11
3-6-2	تأثير نوع التربة والمغذيات	11
4-6-2	العوامل البيئية	12
1-4-6-2	درجات الحرارة	12
2-4-6-2	درجة الحموضة و المحتوى المائي للتربة	12
7-2	العوامل الاحيائية المستخدمة في الدراسة	13
1-7-2	العامل الاحيائي الفطري *Trichoderma harzianum*	13
2-7-2	العامل الاحيائي البكتيري *Azotobacter chroococcum*	14
3-7-2	العامل الاحيائي البكتيري *Pseudomonas fluorecens*	15
4-7-2	العامل الاحيائي البكتيري *Bacillus subtilis*	16
8-2	استخلاص وتنقية بقايا المبيدات	17
9-2	كفاءة الاسترجاع	19
10-2	التقانة النانوية	19
3	**المواد وطرائق العمل**	21
1-3	الأجهزة والمواد المستخدمة لاجراء التجارب في الدراسة	21

1-1-3	الأجهزة والادوات المستخدمة في التجارب المختبرية	21
2-1-3	المواد الكيميائية والمبيدات المستخدمة لإجراء التجارب في الدراسة	22
2-3	الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة	23
1-2-3	الوسط الغذائي Nutrient Agar (NA)	23
2-2-3	وسط المرق المغذي Nutrient Broth (NB)	23
3-2-3	وسط البطاطا الغذائي Potato Dextrose Agar(PDA)	23
4-2-3	وسط البطاطا دكستروز السائل PotatoDextroseBroth (P.D.B.)	24
3-3	الأحياء المجهرية المستعملة في الدراسة	24
4-3	حفظ العينات قيد الدراسة	24
5-3	تنمية عزلة الفطر *Trichoderma harzianum*	24
6-3	تنمية عزلات الانواع البكتيرية الثلاثة قيد الدراسة	24
7-3	اللقاح البكتيري	25
8-3	حساب الكثافة العددية للبكتريا *A.chroococcum* و *B.subtilis* و *P.fluorescens*	25
9-3	قياس درجة التوافق بين الأحياء المجهرية ومبيد الادغال الكلايفوسيت مختبرياً	25
1-9-3	اختبار تأثير مبيد Glyphosate في نمو العزله الفطرية*T. Harzianum*	25
2-9-3	اختبار تأثير مبيد Glyphosate في نمو العزلات البكتيرية *A. chroococcum* و *B. subtilis* و*P. fluorescens*	26
10-3	تحضير لقاح البكتريا *A.chroococum*	26
11-3	تحضير لقاح الفطر *T. harzianum*	26
12-3	التجارب الحقلية	26
1-12-3	تعقيم التربة المستخدمة في التجارب الحقلية	26
2-12-3	تحليل التربة	27
13-3	دراسة كفاءة*T. harzianum* و*A. chrooccoccum* في تحلل مبيد الكلايفوسيت في التربة حقلياً	27
14-3	تقدير متبقيات مبيد الكلايفوسيت في الماء	28
15-3	الاستخلاص لمتبقيات مبيد الكلايفوسيت من التربة	28
16-3	الاستخلاص لمتبقيات مبيد الكلايفوسيت من الماء	29

17-3	الكشف والتحليل	29
18-3	استخدام السليكا النانوية المحبة للماء كعامل امتزاز لأزاله المبيد	30
1-18-3	تحضير المنحنى القياسي	30
2-18-3	المنحنى القياسي	32
3-18-3	زمن الاتزان	32
19-3	امتزاز المبيد باستخدام السليكا النانوية المحبة للماء	33
20-3	تصميم التجارب وتحليلها إحصائيا	33
4	**النتائج والمناقشة**	34
1-4	اختبار تأثير مبيد Glyphosate في نمو العزلات البكتيرية *A. chroococcum* و *B. subtilis* و *P. fluorescens* و الفطر *T. harzianum*	34
2-4	تأثير مبيد الكلايفوسيت على النسبة المئوية للتثبيط في بكتريا *A. chroococcum* و الفطر *T. harzianum* مختبريا	37
3-4	تقيم كفاءة *T. harzianum* و *A. chroococcum* في تلاشي مبيد الكلايفوسيت في التربة حقلياً	38
4-4	تقدير متبقيات مبيد الكلايفوسيت في الماء	42
5-4	فحص السليكا النانوية	44
6-4	استخدام السليكا النانوية المحبة للماء كعامل امتزاز لأزاله المبيد	45
5	**الاستنتاجات والتوصيات**	47
1-5	الاستنتاجات	47
2-5	التوصيات	47
6	**المصادر**	48
1-6	المصادر العربية	48
2-6	المصادر الاجنبية	50
7	**الملاحق**	72

قائمة الجداول

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
جدول 1	الخصائص الكيميائية والفيزيائية لمبيد الكلايفوسيت	5
جدول 2	الظروف البيئية المثلى لتدهور الملوثات بمكروبات التربة	12
جدول 3	الأجهزة والأدوات المستخدمة	21
جدول 4	المواد الكيميائية والمبيدات المستخدمة	22
جدول 5	الأوساط الزرعية المستخدمة	23
جدول 6	بعض الخواص الفيزيائية والكيميائية للتربة المستعملة في الدراسة	27
جدول 7	تواريخ وأوقات أخذ عينات التربة بعد معاملتها بمبيد الكلايفوسيت وبالتركيز الموصى به 10 و 15 و 20 مل / لتر	28
جدول 8	تقدير زمن الاتزان لامتزاز السليكا النانوية	33
جدول 9	تأثير مبيد الكلايفوسيت على النسبة المئوية لتثبيط بكتريا *A. chroococcum* والفطر *T. harzianum*	37
جدول 10	تقدير زمن الاتزان	45

قائمة الاشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
شكل 1	التركيب البنائي لمبيد الكلايفوسيت	5
شكل 2	تأثير Glyphosate في تصنيع الاحماض الامينية الحلقية PPT	6
شكل 3	مسار تحلل الكلايفوسيت في التربة	9
شكل 4	خطوات عمل طريقة QuEChERS في استخلاص متبقيات المبيدات	18
شكل 5	مخطط توضيحي لمكونات جهاز HPLC	19
شكل 6	منحني المادة القياسية للمبيد كلايفوسيت	29
شكل 7	المنحنى القياسي لمبيد الكلايفوسيت	32
شكل 8	تأثير مبيد Glyphosate عند التراكيز 10 ، 15 مل / لتر في نمو العزلات البكتيرية *A. chroococcum* و *B. subtilis* و *P. fluorescens* و الفطر *T. harzianum*	34
شكل 9	تأثير مبيد Glyphosate عند التراكيز 20 ، 25 مل / لتر في نمو العزلات البكتيرية *A. chroococcum* و *B. subtilis* و *P. fluorescens* و الفطر *T. harzianum*.	35
شكل 10	تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد المعاملة مباشرة	38
شكل 11	تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد 3 يوم من المعاملة	39
شكل 12	تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد 7 يوم من المعاملة	39
شكل 13	13 تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد 10 يوم من المعاملة	40
شكل 14	تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد 15 يوم من المعاملة	40
شكل 15	تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم / لتر في الماء باستعمال 3 تراكيز مع عامل الوقت	42
شكل 16	تلاشي كميات المبيد Glyphosate (ملغم / لتر) في الماء بعد 10 يوم	43
شكل 17	حجم دقائق أوكسيد السليكا النانوية	44
شكل 18	استخدام السليكا النانوية كعامل في ازالة مبيد الكلايفوسيت في الماء	46

قائمة المختصرات

المختصر	دلالته
Al2O3	Aluminium oxide
AMPA	Alpha-Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazole Propionic Acid
DT50	DataTraveler 50
EDX	Energy Dispersive X-Ray
EFSA	European Food Safety Authority
EPSP	Enolpyruvylshikimic acid-3-Phosphate Synthase
FAO	Food Agriculture Organization
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
MRLs	Maximum Residue Limits
PEP	Post Expousure Prophylaxis
PPm	Part per million
PSA	Primary Secondary Amen
SEM	Scanning Electron Microscopy
TCP	Tricalcium phosphate
USEPA	United States Environmental Protection Agency
WHO	World Health Organization

اولاً : المقدمة : (Introduction)

أحدث الأستعمال المفرط لمبيدات الادغال اضراراً بالنظام البيئي وخلق تهديداً لاستدامة النظام الزراعي ، (عباس واخرون، 2015). ، ومن بين اهم المبيدات المستخدمة للمكافحة في العراق مبيد الادغال كلايفوسيت Glyphosate وهو من مبيدات الادغال الجهازية الواسعة النطاق والذي يستخدم لمكافحة طيف واسع من الادغال ، تم ادخال مبيد الكلايفوسيت لمكافحة الحشائش في حقول الإنتاج الزراعي في عام 1974 تحت الاسم التجاري راوند اب Roundup من قبل شركة مونساتوMonsanto (الرديني و ماهر ، 2015 ; AL-Safor ، 2012) . قدر الاستهلاك العالمي من مبيد الكلايفوسيت ما يقارب 8.6 مليار/ لتر منذ عام 1974 (Benbrook ، 2016).

أدى زيادة أستخدام الكلايفوسيت بشكل متكرر وغالباً بجرعات أعلى من الموصى بها الى تراكم كميات كبيرة وزائدة في التربة وبالتالي وصوله الى المياه الجوفية ومياه المبازل عن طريق غسل التربة بالأمطار (Jayasumaua ، 2014). صنفت الوكالة الدولية لأبحاث السرطان مبيد الكلايفوسيت على أنه من الفئة I2 ، والتي حددت كمادة مسرطنة محتملة للإنسان (IARC ،2017). حيث اكتشفت آثار الكلايفوسيت في عينات الادرار ، مما يسلط الضوء على استمراره ، وتراكمه البيولوجي والمخاطر الصحية المحتملة (Niemann واخرون ، 2015) . يمكن تحقيق تحلل الكلايفوسيت باستخدام الوسائل اللاأحيائية والاحيائية ، مثل الامتصاص ، والتحلل الضوئي ، والحراري ، والمائي والبيولوجي باستخدام الكائنات الحية الدقيقة. في الآونة الأخيرة ، ظهر استخدام تقنية photocatalyst مع اشعة UV فوق البنفسجية في دائرة الضوء لقدرته على معالجة الملوثات. يمكن أن تودي هذه التقنية إلى تحلل الكلايفوسيت إلى مركبات غير سامة مثل ثاني أكسيد الكربون والماء والأيونات غير العضوية (Wang واخرون ،2016).

كشفت العديد من الدراسات عن قدرة الكائنات الحية الدقيقة كأداة قوية ومفيدة في المعالجة الحيوية ومن بينها دراسة تهدف الى تحديد السمية البيئية للكلايفوسيت وتحلله البيولوجي وانه يمكن تحقيق تحلل الكلايفوسيت باستخدام العوامل الأحيائية ، مثل اجناس معينه من الفطريات و البكتريا، أثبتت طريقة التحلل هذه أنها مثالية لإزالة متبقيات مبيد الكلايفوسيت قد تكون هذه الاستراتيجية الصديقة للبيئة حلا واعدًا للتغلب على المخاطر البيئية والصحية الناتجة عن الكلايفوسيت ومخلفاته (Singh واخرون، 2020).

اشارت العديد من الدراسات الى ازالة الملوثات من البيئية ومن التربة باستخدام الاحياء المجهرية الدقيقة التي تم عزلها من الترب الملوثة بالمبيدات ، على سبيل المثال استعملت انواع جنس البكتريا *Pseudomonas sp* (Zhang واخرون ، 2005) . كما استخدمت بكتريا *Klebsiella oxytoca* و *Flavobacterium johnsoniae*

(Alvarado-Gutiérrez واخرون ، 2017). وبكتريا *Bacillus subtilis* (Zhang واخرون ، 2013). وبكتريا *Streptomyces* sp ، *Brevibacillus borstelensis* و *Stenotrophomonas* sp (Arya وSharma ، 2015). اثبتت جميع هذه الدراسات ان هذه الاحياء الدقيقة لها قدرة عالية في ازالة الملوثات العضوية من التربة .

يعد الامتزاز من العمليات الواعدة ايضا في معالجة المياه بسبب مزايا كفاءة الأزالة العالية (Zhou واخرون ، 2017). ولأهمية مبيد الكلايفوسيت في مكافحة الأدغال ولكثرة أستخدامه أهتم الكثير من الباحثين والمختصين في أجراء دراسات حول الية إمتزاز المبيد في الماء (Sophiphun واخرون ، 2022). ومن أكثر المواد المستخدمة في إمتزاز الملوثات المائية هو الكاربون، الا أنه مكلف ويصعب تجديد المادة الممتزه فيه (Mojiri واخرون،2020). لذلك اقترحت بعض الدراسات استخدام السليكا النانوية غير المتبلورة وهي مادة بديلة لإمتزاز الكلايفوسيت وقد أثبتت الدراسات قدرتها على إمتزازالمبيد وهي غير مكلفة ويمكن تحضيرها والحصول عليها بسهولة (Chindaprasirt واخرون ، 2020).

استعمال المركبات النانوية Nanocomposites في ازالة المبيدات الكيمياوية ومتبقياتها تعد من التطبيقات الواعدة (Hee Joo و Cheng ، 2006) .كما اثبتت المركبات النانوية كفاءتها كمواد نانوية ماصة ممتزه Nano adsorbents وتم اجراء البحوث عليها بشكل واسع بسبب زيادة قدرتها على الامتصاص ، والتشتت ، والاستقرار الديناميكي الحراري والفيزيائي والكيميائي في الوسائط المائية ، علاوة على ذلك تتميز المركبات النانوية الممتزه بانها ذات مساحة سطح عالية محددة وفعالة في إزالة المواد العضوية (Bruckmann واخرون ، 2022) .

لذا هدفت الدراسة الى

1- تقييم فعالية بعض الكائنات العوامل الأحيائية (الفطر والانواع البكتيرية) مختبرياً وحقلياً في تحلل مبيد الأدغال كلايفوسيت.
2- تقدير بقايا المبيد في التربة والماء بأستعمال تقنية الكروماتوغرافي السائل العالي الأداء HPLC.
3- تقييم كفاءة مركب السليكا النانوية المحبة للماء في أزالة مبيد الكلايفوسيت من الأوساط المائية مختبرياً .

ثانياً : أستعراض المراجع : (Literatures Review)

2 -1 – التلوث البيئي بالمبيدات

على الرغم من الدور البارز والكبير الذي تؤديه المبيدات الكيميائية في المجال الزراعي والصحي ، الا أن معظم الدراسات والابحاث تتفق أن الاستخدام الواسع وغير العقلاني لتلك المبيدات يؤدي الى تلويث البيئة وينعكس ذلك سلبا على الانسان والحيوان والكائنات الحية الاخرى (العادل ، 2006) . يعد التلوث البيئي من اهم المشاكل العصرية التي ازدادت خلال القرن العشرين نتيجة تطور التكنولوجيا و التنمية الصناعية ، فضلا عن الزيادة الهائلة في معدل عدد السكان الذي تسبب بزيادة الطلب على الغذاء و الماء ، مما سبب ضغطا هائلا على الموارد البيئية تبعه زيادة أستخدام المبيدات التي ادت الى تلوثها (Karishma و Hari ، 2015) استخدام المبيدات الكيميائية يعد عاملا حاسما في الزراعة ، اذ يؤدي استعمالها الى زيادة الانتاج النباتي نتيجة القضاء على الآفات المختلفة . اشارت منظمة الفاو للزراعة و الاغذية العالمية ان استخدام مبيدات الآفات ارتفع بنسبة 36 % خلال العقدين الماضيين كما قدر الاستهلاك العالمي للمبيدات 4.2 مليون طن خلال عام 2019 (FAO ، 2019) . تترك هذه المبيدات مخلفاتها بشكل حر او مقيد في النظام البيئي مثل التربة و الماء وفي المواد الغذائية التي يستهلكها الانسان . لذلك يتعرض المستهلكون للمواد الغذائية و مصادر الماء الى حالات التسمم نتيجة انتقال هذه الملوثات الى اجسامهم (Hakeem واخرون ، 2016) .

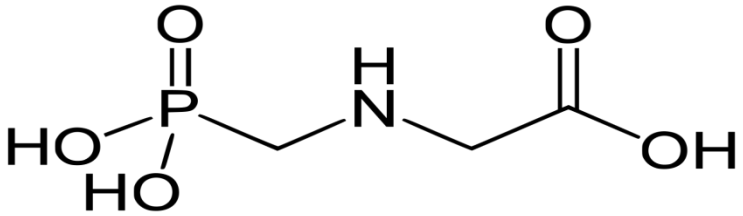
تعد دراسة متبقيات المبيدات الكيميائية من المواضيع المهمة في جميع الدول النامية ومن ضمنها العراق لان بعض المزارعين لا يلتزمون بالمدة ما بعد أستخدام المبيد وكذلك بالجرعات الموصى بها من قبل الشركة المنتجة لضمان جاهزية المنتج للاستهلاك البشري (الغزي وآخرون،2011). حيث حرصت دول العالم والمنظمات الدولية كمنظمة الصحة العالمية (WHO) ومنظمة الغذاء والزراعة (FAO) ووكالة حماية البيئة الأمريكية (USEPA) وهيئة سلامة الأغذية الأوربية (EFSA) بإصدار الحدود القصوى للمتبقيات (MRLs) (Giulia واخرون ،2022).

نتيجة الاستعمال المفرط وغير العقلاني للمبيدات ادى الى أنتشار الامراض السرطانية والمخاطر البيئية الاخرى كنتيجة طردية لمتبقيات المبيدات وبهذا يتطلب الاستعمال الامثل للمبيدات والتقيد بشروط استعمال من الامور المهمة لتقليل الاضرار الناجمة عن متبقياتها (Wilbert،2019). تشكل مبيدات الادغال النسبة الاعلى 53 % من نسبة مبيدات الآفات المستهلكة عالميا مقارنة مع المبيدات الفطرية 23 % و المبيدات الحشرية 18 % و المبيدات الاخرى 6 % حسب تقرير منظمة الغذاء و الزراعة العالمية لعام 2020 (FAO ، 2020). يعد الاستخدام المكثف

لمبيدات الادغال بصورة عامة ومبيد Glyphosate بصورة خاصة احد المشاكل البيئية المهمة بسبب المخاطر المحتملة للمواد الكيميائية على سير العمليات الحيوية للأحياء غير المستهدفة والتي تقود عمليات عده منها تحطيم المواد العضوية ، و تحرير العناصر المعدنية فضلا عن تحطيم المكونات المعقدة في التربة (Zobiole واخرون،2009). هنالك عدة عوامل تساعد على خفض كمية متبقيات المبيدات منها إمتزاز المبيد من قبل مكونات التربة و غسل المبيد بواسطة مياه الأمطار و التقاط المبيد من قبل النبات والحيوان وكذلك التبخر بصورة مباشرة أو غير مباشرة و حمل المبيد ونقله بواسطة الرياح بينما ننظر الى البيئة كوحدة واحدة نجد أن هذه العمليات لم تخفض من كمية متبقيات المبيدات(شعبان ونزار، 2022). الا أن العمليات التي تعمل حقيقة على خفض وازالة تلك المتبقيات هي تلك العمليات التي تتم من خلال الكائنات الدقيقة والتربة وضوء الشمس، ودرجة الـ pH، والحرارة والعوامل المساعدة في التربة وانزيماتها اذ تعمل هذه العوامل على تحللها وخفض كميتها في البيئة (شعبان و نزار، 2022).

2-2 : الكلايفوسيت (Glyphosate)

الكلايفوسيت مبيد أدغال جهازي غير انتقائي Non selective يكون على هيأة سائل مركز قابل للذوبان في الماء (البريدي واخرون ، 2016) يعود الى مجموعة الفسفور العضوية المصنعة شكل 1 ، يستعمل لمكافحة جميع الادغال الحولية والمعمرة رفيعة وعريضة الاوراق بعد البزوغ post-emergence في البساتين والاراضي الزراعية وقنوات الري والبزل وكذلك جوانب الطرق، و يستخدم على نطاق واسع في حماية المحاصيل من الأعشاب الضارة المعمرة كالحلفا و القصب و الثيل (Singh واخرون ، 2020). اكتشف من قبل Franz وقدمته شركة Monsanto في عام 1974 تحت الاسم التجاري Roundup ، ومنذ ذاك الوقت استخدم الكلايفوسيت على نطاق واسع ويعد مبيد الاعشاب الأكثر مبيعاً في تاريخ البشرية (2018,Duke). بعض اسمائه التجارية الشائعة هي Control,Weed ,Glysat ,Glyphpsul ,Glyphosate ,Herbazed ,Glyfolod ,Kalach ,Clean up master, Round-up (Benbrook ، 2016). ، اما الاسم الشائع لمبيد الكلايفوسيت هو Glyphosate-Isopropylamonium (Baer و Marcel ، 2014) . يؤثر مبيد الكلايفوسيت سلبا في العمليات الفسيولوجية في النبات كالتركيب الضوئي وتثبيت النتروجين وايض الكاربون حتى عند استخدامه بتراكيز واطئة (Geiger واخرون، 1999، Riberio واخرون ، 2008) .



شكل(1) التركيب البنائي لمبيد الكلايفوسيت (Baer و Marcel ، 2014) .

جدول (1) الخصائص الكيميائية والفيزيائية لمبيد الكلايفوسيت (دلالي و اخرون ، 2002) .

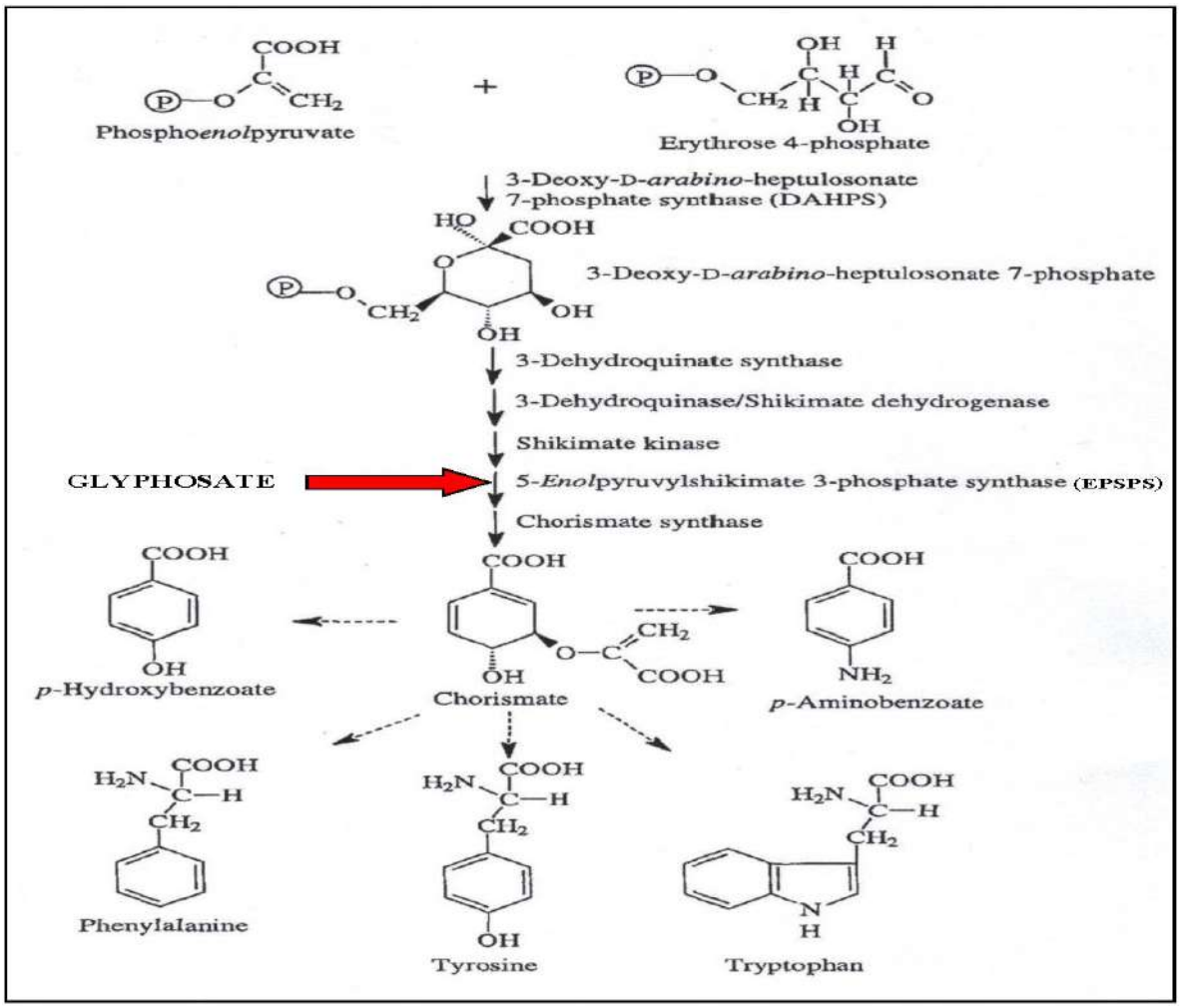
الاسم الكيميائي	N-(phosphomethyl) glycine
الاسم الشائع	Glyphosate
الوزن الجزيئي	228.2 غم/ مول
الثباتية	ثابت في 60 °م. ثابت في الضوء.
درجة الانصهار	200 °م
قابلية الذوبان	سريع الذوبان في الماء ، لا يذوب في المذيبات العضوية الشائعة – كالأسيتون ، الايثانول و الزايلين . تذوب املاح الامين في الماء بسرعة .
المستحضرات	36%SL ، 48%SL
معدل الاستعمال	2.5 لتر / دونم
الحد المسموح تناوله يوميا	0.3 ملغم / كغم من وزن الجسم

3-2 : آلية عمل الكلايفوسيت في النباتات المعاملة

ترتكز الية عمل مبيد الكلايفوسيت في النباتات المعاملة على تثبيط نشاط الانزيم (EPSP) ، وهذا الانزيم ضروري لتخليق الأحماض الأمينية العطرية مثل tyrosine وphenylalanine tryptophan و ايضا مركبات الايض الثانوية secondary metabolites (Kanissery واخرون ، 2019) . يمكن أن يعمل الكلايفوسيت أيضًا كمثبط تنافسي للفوسفوينول بيروفات (PEP) والذي يدخل ايضا في تخليق الاحماض الامينية العطرية شكل (2) (Lyydia واخرون ، 2021) . يؤدي تراكم الكلايفوسيت في القمم النامية للجذور والفروع الى خلل في عملية التبادل الايوني والعناصر من خلال خفض جاهزية تلك العناصر الحرة اذ ان للمبيد القابلية العالية على عمل معقدات

مع العناصر ثنائية التكافؤ مثل الكالسيوم والمغنيسيوم والمنغنيز والحديد ، وهذه العناصر ببساطة تتحد مع جزيئات الكاربوكسيل والفوسفات للمبيد وتكون معقدات ذات ثباتيه عالية (Barja واخرون ،2001) . يؤثر المبيد ايضا على تمثيل الكاربون في عملية التركيب الضوئي وعملية نقل السكروز في النبات (Geiger واخرون ، 1999 ، Riberio واخرون ، 2008) . يسبب المبيد خلل في استيعاب النترات وتثبيت النتروجين في النباتات المعاملة (King واخرون، 2001 ، De Maria واخرون ، 2006 ، Bellaloui واخرون ، 2006) .

تؤكد الدراسات و البحوث ان الايونات ثنائية التكافؤ تقل جاهزيتها للنبات عند المعاملة بالمبيد والذي يمكن عده احد السلبيات غير المباشرة للمبيد بتأثيره على المحاصيل التي تزرع لاحقا بعد اجراء المكافحة والتي تعد نباتات غير مستهدفة في عملية المكافحة (Buehting واخرون 2007 : Rolder واخرون 2007) .



شكل (2) تأثير glyphosate في تصنيع الاحماض الامينية الحلقية PPT

(Lyydia واخرون ،2021) .

2 – 4 : المعالجة البيولوجية

تعرف المعالجة البيولوجية بانها تقنية يستعمل فيها الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتريا و الفطريات فتسمى Bioremediation او تستخدم فيها النباتات فتدعى Phytoremediation . تعمل هذه التقنية على تحويل الملوثات السامة في البيئة الى مركبات غير سامة او قليلة السمية (Dash ،2014). تتميز هذه الطرق بانها اقتصادية وفعاله في معالجة ملوثات مختلفة (Bharadwaj واخرون ، 2016) . تتم عملية المعالجة الحيوية بعد قيام الاحياء الدقيقة بإفراز انزيماتها في تحليل الملوثات العضوية للاستفادة منها من خلال عملية ازالة السموم Detoxification تتحول فيها الملوثات الى مركبات غير عضوية مثل احادي اوكسيد الكاربون و الماء و الميثان (Schoefs ، 2004) .

تعتمد المعالجة البيولوجية على استعمال الكائنات الدقيقة كالبكتريا والفطريات و البكتريا الشعاعية لتقليل مستويات التلوث سواء في التربة او في الماء . اذ تتميز هه الكائنات بقدرتها على تحليل المبيدات و الاستفادة منها كمصدر للطاقة (María واخرون ، 2021) . تهاجم انزيمات البكتريا الاواصر الكيميائية و تكسرها الى جزيئات صغيرة محولة هذه المركبات الى مواد او نواتج اقل سمية او غير سامة (Gupta واخرون ، 2019) .اشارت العديد من الدراسات الى ازالة الملوثات البيئية من التربة باستخدام الاحياء المجهرية الدقيقة التي تم عزلها من الترب الملوثة بالمبيدات ، على سبيل المثال استعملت انواع جنس البكتريا *Pseudomonas* sp (Zhang واخرون ،2005). كما استخدمت بكتريا *Klebsiella oxytoca* وبكتريا *Flavobacterium johnsoniae* (Alvarado-Gutiérrez واخرون، 2017). وبكتريا *Bacillus subtilis* (Zhang واخرون، 2013). وبكتريا *Streptomyces* sp ، *Brevibacillus borstelensis* و *Stenotrophomonas* sp (Arya وSharma ، 2015). اثبتت جميع هذه الدراسات ان هذه الاحياء الدقيقة لها قدرة عالية في ازالة الملوثات العضوية من التربة .

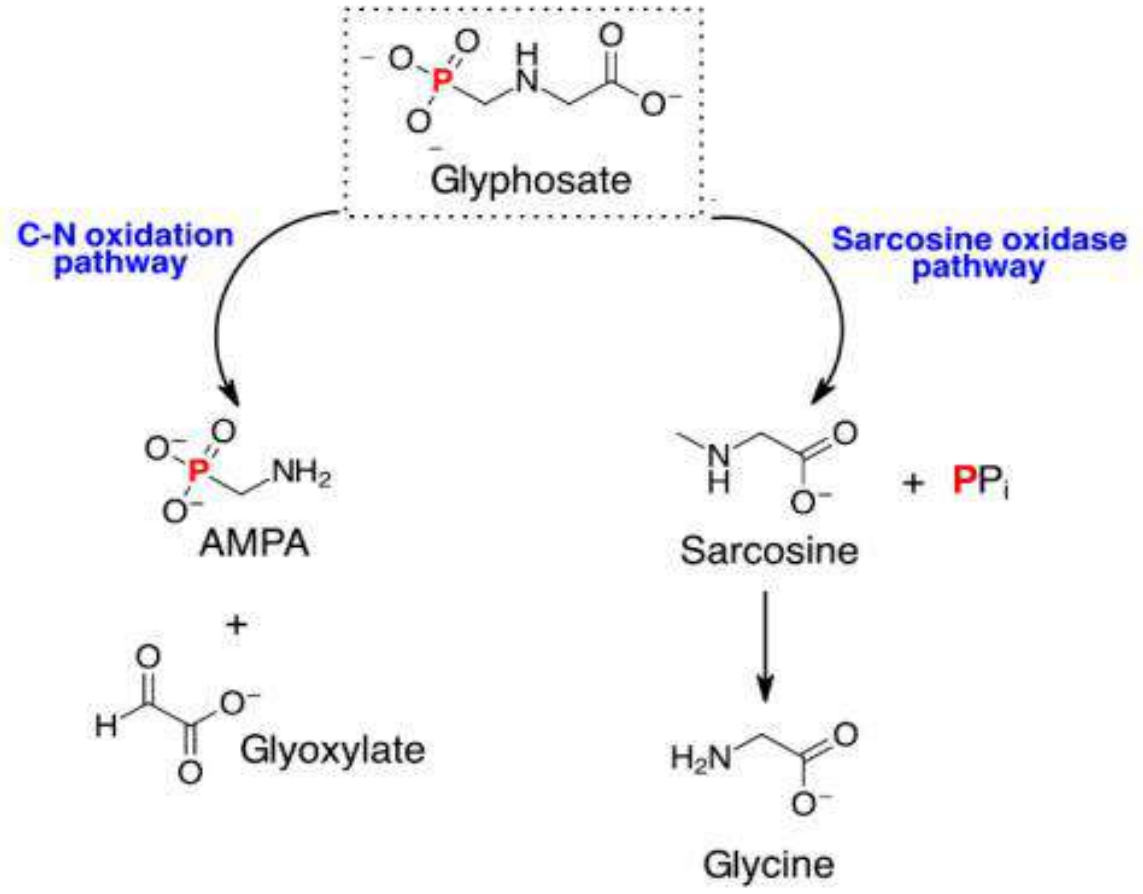
أوضحت دراسات اخرى ان العديد من السلالات الفطرية ، التي تنتمي بشكل أساسي إلى أجناس قليلة مثل *Aspergillus* و *Trichoderma* و *Penicillium* و *Mucor* و *Fusarium* ، لها القدرة على تحمل و تحليل الكلايفوسيت في التربة . حيث وجد ان الفطر *Penicillium chrysogenum* كان قادرًا على النمو في وجود تركيزات عالية من مبيد الكلايفوسيت وكذلك ايضا بالنسبة للجنسين *Fusarium solani* و *Fusarium oxysporum* ، والتي أظهرت تحمل جرعات عالية جدا من المبيد و قدرتها على التحليل و بكفاءة اقل من البكتريا (Klimek واخرون ، 2001 ؛ Krzysko-Lupicka و Sudol ، 2008). ان كسر الاصرة C-P في مبيد الكلايفوسيت بواسطة بكتريا *Pseudomonas spp* هو عن طريق دراسة radio respirometry ، هنالك مصادر تنوه ان كاربون هذه الاصرة يؤكسد الى CO_2 بسبب التحلل البايلوجي للمبيد كمصدر للفسفور، بينما الفورمالدهايد

والفورمات مركبات احادية الكاربون تقدر ان تتحد مع tetrahydrofolate كعامل مساعد ، ويمكن اكسدة المركبين الى CO_2 بواسطة بكتريا P G2982، تشير النتائج ان المسار الأيضي لتحلل المبيد هو تكوين glycine (Jacob واخرون، 1985). اشارت البحوث ان السلالات البكتيرية Sq20 *Ochrobactrum intermedium* ، و SW9 *Agrobacterium radiobacter* ، و LW9 *Achromobacter sp* . تستخدم الكلايفوسيت كمصدر للفسفور أو الكربون (Firdous واخرون ، 2018 ؛ McAuliffe واخرون ، 1990) . بين Gurikar واخرون (2016) كفاءة البكتريا *Azotobacter chroococcum* في التحلل البيولوجي لمبيد الكلايفوسيت ، حيث تعد أنواع بكتريا *Azotobacter* فعالة في تثبيت أعلى كمية من النيتروجين (29.21 ميكروغرام NmL^{-1} يوم $^{-1}$) ، وإنتاج حامض اندول اسيتك (24.50ميكروغرام لتر) وحامض الجبريليك (15.2 ميكروغرام 25 مل$^{-1}$) ، وتشكيل منطقة ذوبان أكبر للفوسفات (13.4 ملم).

للمعالجة الحيوية أيجابيات منها سهولة تطبيقها و ان لها القدرة العالية في تحليل اغلب الملوثات العضوية .تقوم الكائنات بتحطيم كل الملوثات في اغلب الاحيان ، و لا تلجأ الى تكوين ملوثات وسطية و تتميز هذه التقنية بانها لا توثر في الانشطة الطبيعية . وفيما يخص مساوئها و معوقاتها انها غير قادرة على تحليل بعض المركبات الخطرة وانها تحتاج الى ظروف بيئية مثلى لتوفر احياء التربة المجهرية ومن جانب اخر يتأثر نمو الاحياء المجهرية بدرجة الحرارة والرطوبة ودرجة الحموضة ، كما يعد الوقت العامل الأهم لأن المعالجة الحيوية تحتاج وقتا طويلا مقارنة بالطرق الاخرى كالحرق او الحفر لهذا تستغرق وقتا طويلا (Endeshaw واخرون ، 2017) .

2 -5 : مسار تحلل الكلايفوسيت في التربة

أن مركب AMPA اكثر ثباتاً و خطورةً من الكلايفوسيت في البيئة او التربة (Bruggen واخرون ، 2018). يودي الى احداث الاجهاد التأكسدي في الحيوانات اضافة الى ذلك يتسبب في تلف DNA واعاقة تخليق mRNA (Sviridov واخرون ، 2015) . عملية التحطم الحيوي للكلايفوسيت في التربة الى مركبات AMPA ، sarcosine و glycine تعتمد على نوع الكائنات الدقيقة الحية و التي تحدد بدورها المسار شكل (3) .



شكل 3 . مسار تحلل الكلايفوسيت في التربة (Cecilia و Maggi ، 2018) .

يتضمن المسار الأكثر شيوعًا المتمثل بأكسدة C-N ، حيث تحلل الكائنات الحية الدقيقة الكلايفوسيت مثل البكتريا و الفطريات محرره منه AMPA و Glyoxylate ، و الذي يستخدم لاحقًا كمصدر للكربون (Cecilia و Maggi ، 2018). وهناك مسار تحلل آخر ، من خلال اكسدة الساركوزين ، والذي يؤدي في النهاية الى الحصول على مصدر للفسفور . في هذا المسار تتم معالجة الساركوزين أيضًا إلى الجلايسين Glycine بدلاً من AMPA ، مما يجعل هذا المسار الصديق الأفضل للبيئة (Sviridov واخرون، 2015 و González و Dussán، 2018). علاوة على ذلك ، يمكن استخدام الجلايسين في النشاط الايضي من قبل الكائنات الحية الأخرى (Hove-Jensen واخرون 2014) وهذا ما اشار اليه Kulikova واخرون (2020). في التحلل البيولوجي لمبيدات الأدغال الكلايفوسيت يتم من خلال مسارين و النواتج تكون اما مركب AMPA او مركب Glycine وهذا المركب الاخير هو مسار التحلل الرئيسي للمبيد . تشكيل AMPA والساركوزين ، وهذا الأخير هو مسار التحلل الرئيسي. كما وجد

Njoku واخرون (2020). في دراسة اجريت على التحلل البيولوجي لمبيد الكلايفوسيت والتي من خلالها تم التعرف على عزلات فطرية هي 2021، 9، 2322 13 و 21 للفطر *Aspergillus fumigatus* FJAT-31052 من خلال تحليل الكلايفوسيت الى AMPA وعلى الرغم من ذلك فان عمليات التمثيل الغذائي لتحليل المبيد بواسطة الفطريات لم يتم وصفة بشكل كامل . بشكل عام تم تسجيل 13 نوعًا من الفطريات التي تنتمي إلى أربعة أجناس لديها القدرة على تحلل مبيد الكلايفوسيت ، حيث ان هذه الانواع أظهرت أهميتها من خلال الدراسات التي تناولتها و هي *Aspergillus*، *Trichoderma = Penicillium* و *Fusarium* (Guo واخرون ، 2021) . بعض العزلات البكتيرية تقوم بتحليل مبيد الكلايفوسيت إلى ساركوزين Sarcosine ، تستفاد منه كمغذي نمو لها .وهذا ما اشارت اليه بعض الدراسات في ان العزلات البكتيرية *Bacillus cereus* CB4 و *Ochrobactrum anthropi* GPK و 3 و *Pseudomonas sp*. LBr ، لها القدرة على تحليل الكلايفوسيت إلى AMPA وكذلك الساركوزين Sarcosine (Mario واخرون ، 2019 ،Fan واخرون ، 2012 ، Sviridov واخرون ، 2012) .

6-2 - العوامل التي تتحكم في التحلل الحيوي للمبيدات

ان التحكم بالمعالجة الحيوية يعد امرا معقدا. لهذا السبب توجد عدة عوامل اما تحسن او تسبب تراجعاً في كفاءة المعالجات الحيوية ومن اهم هذه العوامل :-

1-6-2: تأثير التركيب الكيميائي وتركيزه

قابلية التحلل الحيوي يحددها الهيكل الجزيئي للمبيد اذ أن ادخال المجموعات القطبية للتركيب الكيميائي للملوثات مثل COOH و NH_2 و OH يحفز الكائنات الحية الدقيقة على مهاجمة الملوثات ، اما بدائل الهالوجين والالكيل تميل الى جعل الجزيء أكثر مقاومة للتحلل الحيوي . بعض المبيدات تمتاز بأن لها القابلية للذوبان في الماء بسبب أدمصاصه من قبل التربة فهو غير متاح نسبيا للتدهور الحيوي .تؤثر تراكيز المبيدات على قابلية تحلله فكلما مكث تركيز المبيد في التربة مدة اطول انخفض معدل تحلله . (Azmi و اخرون 2009) .

يعتمد بقاء المبيدات على تركيبها الكيميائي ، وعلى وجود المواد الفعالة غير الاعتيادية التي تحتل موقعاً كبيراً من جزيئة المبيد ويساعد التركيب الكيميائي على تحديد قابلية ذوبان المبيد بالماء، وتواجد الأحياء المجهرية التي حينما ترتبط مع المجاميع الفعالة للمبيد بأواصر ضعيفة او غير مستقرة، فانها تتحلل بسرعة اكبر ، والعديد من المبيدات الحديثة تمتلك مثل هذه الروابط فعند أضافة الماء تتكسر الكثير منها وهذه العملية تدعى التحلل المائي (hydrolysis) كما في المبيدات ملاثيون والكارباميت و مشتقات اليوريا و البايرمتسرويد و الديازينون و الاترازين و D،2,4 وغيرها من المبيدات ، ويطلق على مجاميع الانزيمات التي تساعد على عمليات التحلل هي مجموعة انزيمات Hydrolytical Enzymes ومنها انزيمي الاستريز والفوسفاتيز، اما المجموعة الاخرى فهي انزيمات الاكسدة الاحادية والثنائية mono-and di-

oxygenases ، وهي تساعد في عملية تحطم المبيد وتزيد من ذوبانه بالماء وتبدآ عملية التحطيم خارج الخلية extracellular وتكتمل في داخلها interacellular. وتستعمل الاحياء المجهرية في تحطيم السليلوز والهيميسيليلوز واللكنين وكثير منها تعمل على تحطيم المبيدات ، وان عملية التحطيم تكون خارج الخلية بافراز انزيمات خارج جسمها تقوم هذه الانزيمات بكسر الروابط في السليلوز والهيميسيليلوز واللكنين الى مركبات أصغر (العادل،2006).

2-6 -2: الكائنات الحية الدقيقة

الكائنات الدقيقة لها دور مهم في ازالة المبيدات من التربة الملوثة بها ؛ لقدرتها على انتاج انزيمات متعددة تستطيع مصاحبة المركب ثم تحلله للاستفادة منه كغذاء أو مصدر للطاقة . يعد وجود انواع مختلفة من الكائنات الحية الدقيقة أكثر فاعلية من تواجد نوع واحد (Dasgupta واخرون ، 2010 و Megharaj واخرون ، 2011).

أكد Jilani (2015) أن الاحياء الدقيقة المتواجدة طبيعيا في التربة يمكن ان تتكاثر وتنمو في البيئة التي تحتوي على المواد الكيمياوية الخطرة وتستفاد منها كمصدر للطاقة او عنصر للكاربون ، الجانب السلبي الوحيد في هذه الطريقة أنها تحتاج وقتا طويلا . أثبت Shapir واخرون (2007) و Rao واخرون (2007). أن طريقة المعالجة بأستعمال البكتريا تعتمد على عوامل عديدة منها ، عمر الخلايا البكتيرية وتركيزها والاس الهيدروجيني ودرجات الحرارة ونوع مكونات الوسط الزرعي المغذي.

2-6-3: تأثير نوع التربة والمغذيات

وجد Thabit و El-Naggar (2014). أن معدل تحلل المبيدات بفعل الاحياء الدقيقة يزداد بزيادة محتوى التربة من روث الابقار مقارنة بالتربة الفقيرة ، أذ تعد خصائص التربة الفيزيائية والكيميائية من العوامل الرئيسية التي تساعد احياء التربة في النمو والتكاثر. فمحتوى التربة من المواد العضوية ودرجة الحرارة ومحتوى المعدن الطيني له أهمية كبيرة في معدل التحلل الحيوي للمبيدات.أوضح Chirnside واخرون (2007). أن دور المغذيات مهما في ديمومة المجتمع الميكروبي، ولذلك انعكاس ايجابي على مسار التحلل الحيوي للملوثات العضوية. حيث أن المغذيات تحفز الكائنات الدقيقة على النمو وانتاج الانزيمات المهمة في تحلل المبيدات وكافة الملوثات العضوية ومن ثم يزداد معدل التحطيم الانزيمي. من أهم العناصر الكيمياوية المحفزة لنمو وانتاج انزيمات أحياء التربة الدقيقة هو الكاربون يليه النتروجين والاوكسجين والهدروجين والفسفور والبوتاسيوم والكبريت والكالسيوم والصوديوم وكلوريد الحديد والمغنيسيوم وغيرها من العناصر المهمة لبناء خلايا البكتريا.

2-6-4: العوامل البيئية

تلعب العوامل البيئية دوراً مهاً في استدامة الاحياء الدقيقة في التربة كالحرارة والحموضة (pH) والرطوبة الملائمة والمواد المغذية . تساعد هذه العوامل في تحقيق اعلى معدل لنمو البكتريا والفطريات او غيرها و يؤدي الى زيادة معدل التحلل بشكل فعال (Khan, 2018). وهذة العوامل تشمل :-

2-6-4-1: درجات الحرارة

عند ارتفاع درجة الحرارة يزداد تدهور الملوثات اذ تؤثر ايضا في التمثيل الغذائي للأحياء الدقيقة فأن انخفاض درجات الحرارة من شأنه أن يخفض النشاط الانزيمي ومن ثم يقل معدل التحلل الحيوي (Magan واخرون ، 2010).

2-6-4-2: درجة الحموضة والمحتوى المائي للتربة

بينت عدد من الدراسات ان درجة الحموضة في التربة تؤثر في معدل التحلل . اذا اوضحت بعض الدراسات ان درجة حموضة التربة هي الاكثر اهمية للحصول على افضل درجة من التحلل (Muller و أخرون ، 2007) . اذ تشير دراسة قام بها Rarhore و Nollet (2012). ان افضل درجة pH للبكتريا المستعملة في تحطيم المبيدات تتراوح بين (5.5-8.5). ذكر Shalgholi ،(2014) أن لماء التربة دورٌ كبيرٌ في تحلل المبيدات وتحولاتها. اذ أن رطوبة التربة تساعد المبيد على التفاعل ثم الاذابة والحركة والانتشار. لوحظ ايضا أن التحلل الحيوي للمبيدات يقل بالترب الجافة عنه في الترب الرطبة . ومن جانب اخر اكد Odukkathil و Vasuderan ، (2013) ان ملئ التربة بالماء يؤثر في صعوبة تغلغل الاوكسجين في التربة مما يقلل عملية التحلل اللاهوائي .

جدول 2 . الظروف البيئية المثلى لتدهور الملوثات بمكروبات التربة (Rathore و Nollet ،2012).

العوامل البيئية	الحالة المثلى للنشاط الحيوي
PH	8.8-5.5
درجة الحرارة	45-15 م°
الرطوبة	28-25 %
نوع التربة	محتوى منخفض من الطين او الطمى
الاوكسجين	اكثر من 10%
المغذيات	الكاربون والنتروجين والفسفور

7-2 : العوامل الاحيائية المستخدمة في الدراسة

1-7-2 : العامل الاحيائي الفطري *Trichoderma* spp.

يعود الفطر *Trichoderma* spp. الى تحت قسم الفطريات الناقصة Duteromycotina ، صف Hyphomycetes، رتبة Moniliales، عائلة Moniliaceae (Alexopouls ، 1996) . كما ينتشر الفطر *Trichoderma* spp. في جميع انواع الترب الحامضية والقاعدية والطينية الثقيلة والرملية وعلى جذور النباتات وايضا على البقايا النباتية ويعود سبب ذلك لامتلاكه فعاليات ايضية مختلفة ولقدرته التنافسية العالية ويتميز الفطر بسهولة عزله وسرعة نموه على الاوساط الزرعية (Ali Khan و اخرون 2020, Delta واخرون 2020). وهو من الفطريات المعروفة بتنوعها الايضي وقدرتها على تحلل المواد الكيميائية المترسبة في التربة ومن ضمنها مبيد الكلايفوسيت اشارت الدراسات عند اجراء تجارب مختبرية عن 50 سلالة فطرية معزولة من التربة (بأستخدام اوساط الاستزراع ملوثة بالكلايفوسيت كركيزة كاربونية وحيدة) فبينت النتائج ان جميع السلالات الخمسين ومن ضمنها الجنس *T. harzianum* تستخدم الكلايفوسيت كمصدر للفسفور (Correa واخرون، 2021 وBedin و اخرون، 2022).

يقوم الفطر *Trichoderma* spp. بإفراز بعض الانزيمات التي تحلل المواد المضافة الى التربة والمواد العضوية والكيميائية كالمبيدات فضلا عن فهو يقوم بزيادة العناصر المهمة لنمو النبات وتحسين المقاومة الطبيعية للنبات ضد المسببات المرضية ومن اهم هذه العناصر هي البوتاسيوم والزنك والنتروجين والحديد فضلا عن الفسفور الذي يعتبر الكلايفوسيت مصدر مهم لانتاجه وهذه المواد تحسن نمو النبات عند بقائها في التربة بعد المعاملة بهذا الفطر(Akrami واخرون ،2015 وElshahawy و اخرون 2018 و). يستخدم *T. harzianum* كسماد حيوي وبنطاق واسع لجميع المحاصيل تقريبًا مع أو بدون اضافات (Debnath وآخرون، 2020). ان الفطر *T. harzianum* له دور في تحسين غلة المحاصيل ويتحقق هذا الهدف بشكل أساسي من خلال القدرة على تحلل المركبات العضوية المعقدة الموجودة في التربة وايصالها للنباتات بشكل أبسط بحيث يمكن امتصاصها (Khan وآخرون، 2017 و Debnath وآخرون، 2020)، لذلك يمكن تقليل متطلبات النبات من السماد الكيميائي عن طريق إضافته للتربة بدلاً من الأسمدة الصناعية (Khan وآخرون، 2017 و Mahato وآخرون، 2018).

أكدة دراسة قام بها Beine و اخرون، (2022). على ستة سلالات من *Trichoderma* spp. حيث تم فحص قدرتها على إذابة فوسفات ثلاثي الكالسيوم (TCP) اذ كانت جميع السلالات الست قادرة على إذابة TCP بدرجات مختلفة ، وايضا ساهمة في تحسين طول النبات ووزن الجذع والجذر وامتصاص الفوسفور والأصباغ الضوئية ومحتوى البروتين الكلي.

وجد Carro- Huerga واخرون(2023). كفاءة عزلات الفطر *Trichoderma* spp. في اذابة الفوسفات وجاهزية عنصر الفسفور من خلال انتاجها انزيم Phosphatase تم اختيار سلالتين أصليتين من *Trichoderma* كعوامل تحكم بيولوجية محتملة (*Trichoderma gamsii* و *Trichoderma harzianum*) وتوصلو من خلال تجربتهم إلى استنتاج مفاده أن سلالات *Trichoderma* الأصلية لها إمكانات كبيرة كعوامل تحكم بيولوجية وكمنتج للأيض الثانوي. فضلا عن قدرة *T. harzianum* على اذابة بعض المركبات العضوية فأن بعض عزلات الفطر تعزز نمو النبات عن طريق افرازها لمنظمات نمو نباتية مثل هرمون الاثلين الذي يسرع انبات البذور ويعمل على زيادة نمو بادراتها نتيجة للعلاقة التكافلية بين الفطر والمجموع الجذري وزيادة قابلية النباتات على مقاومة الظروف غير الملائمة سواء كانت بيئية مثل الجفاف أو حيوية مثل المسببات المرضية (Alizadeh وآخرون، 2020).

2-7-2 : العامل الاحيائي البكتيري *Azotobacter chroococcum*

تنتمي بكتريا ***A**zotobacter* الى عائلة Azotobacteriaceae والتي تضم اجناساً عديدة واسعة الانتشار ومنها Azomonas و Beijerinkia و Derxia ، تعد هذه البكتريا من المحفزات التي تساعد على نمو النبات وهي تتواجد في المنطقة المحيطة بالمجموع الجذري (Rhizosphere) (Jeffries واخرون، 2003؛ Wani و اخرون، 2016) وهي بكتريا سالبة لصبغة كرام ذات خلايا كبيرة الحجم قد تكون كروية او عصوية او بيضوية وتتجمع بشكل سلاسل مفردة او مزدوجة وقد تكون متحركة بواسطة الاهداب او غير متحركة (Waini واخرون ،2016 ؛ Soleymanifard واخرون 2022).

تتمكن بكتريا *A. chroococcum* من النمو والعيش في ظروف بيئية قاسية أي انها تتحمل تراكيز عالية من الاملاح يمكنها العيش حتى في الترب الجافة ذات درجات حرارة عالية والتي قد تصل الى 45 م° وايضا درجة حموضة 8 وانها تتحمل مايصل الى 5% من تركيز المبيدات ، وكذلك تحلل المعادن الثقيلة ومبيدات الآفات (Bandyopadhyay و اخرون، 2022). اشار Kadam و Gangawane (2005) ان Azotobacter spp. لها القدرة على تحطيم مبيد phorate تحت ظروف المختبر مع التركيز الفعال الذي يتم استخدمه كمبيد ضد افات محصول القطن .

اثبتت الدراسات كفاءة البكتريا *A. chroococcum* في التحلل البيولوجي للعديد من مبيدات الآفات الشائعة الاستخدام ومنها اندوسلفان وكلوربيريفوس والكلايفوسيت والعديد من المبيدات الاخرى ومن هذا يتضح ان هذه البكتريا لا تنتج فقط مواد معززة لنمو النبات و لكنها تتحمل ايضاً الاجهاد اللأحيائي في ظل ظروف فسيولوجية مختلفة (Chennappa واخرون، 2016). أوضحت دراسة قام بيها Mousa واخرون،(2021). أن البكتريا .

Azotobacter spp لها دور في تحلل الكيميائيات المطبقة عن طريق التحلل المائي حيث انها تربط روابط الفسفور بالأوكسجين وتهضم المبيدات لأنتاج النتروجين والكربون كعناصر اساسية لنموها. أوضح Golhandapani واخرون (2017) و Razmjooei واخرون (2022) ان .*Azotobacter* spp من الاحياء المستخدمة على نطاق واسع في المكافحة الاحيائية ، اذ تستخدم البكتريا النتروجين لتخليق البروتين في الخلية وهي حساسة للتغيرات في الاس الهيدروجيني ودرجة الحرارة .

3-7-2 :العامل الاحيائي البكتيري *Pseudomonas fluorecens*

يعـــــــود الجنـــس *Pseudomonas* إلى عائلـــة Pseudomonadaceae التابعـة لرتبـــة Psuodomonadales من المملكة البكتيرية (Palleroni، 1984) والتي لها دور في نمو وتطور أشجار الغابات والخضر والمحاصيل الأخرى فضلاً عن احداثها تأثيرات في تحسين انبات البذور والحصول على بادرات نشطة وزيادة معايير النمو والتزهير وزيادة محتوى النبات والكبريت وانتاج الهرمونات النباتية ودورها في استحثاث المقاومة الجهازية في النبات (Vessey، 2003 و Saharan, Nehra ، 2011). أول من عزل هذه البكتريا Flugg عام 1886 شكل البكتريا عصوي مستقيم الشكل ذات انحناء قليل سالبة لصبغة كرام تتحرك بوساطة اسواط قطبية تنتج صبغة متألقة خضراء أ مصفرة تسمى fluorescin خاصة في الاوساط التي تفتقر إلى عنصر الحديد (Meyer و 1978,Abdallah) وهي بكتريا هوائية ولها سلالات يمكنها النمو لا هوائياً ولا تكون أبواغاً والمدى الحراري لها 4-40مº وأن درجة الحرارة المثلى لها من 24-35مº وتكون رمية المعيشة واسعة الانتشار في التربة(الكرخي،2001 و Brenner واخرون، 2004).

أشارت دراسة قام بها Oliveira واخرون (2022). بأن استجابة البكتريا ***P. fluorecens*** لتحلل مبيد الكلايفوسيت تعتمد على انخفاض نفاذية الغشاء البكتيري وفعاليته وقد تصل الاستجابة الـى 0-2.30 مل من مبيد الكلايفوسيت ، في منتصف مرحلة نمو البكتريا ، مع وجود الأحماض الدهنية مثل حمض nonadecylic ، وحمض margaric و lauric ويمكن تعديل تركيبة الأحماض الدهنية ونفاذية الأغشية في وضعين للاستجابة وفقًا للتركيب الفسيولجي. أوضحت دراسة قام بها Kaczynski واخرون (2020). عن المخاطر البيئية المحتملة لمتبقيات مبيد الكلايفوسيت ومسارات تدهوره في التربة اذ تم التركيز على الكلايفوسيت وتأثير المستقلبات الخمسة على المجتمع الميكروبي والنشاط الانزيمي للتربة وفي هذه الدراسة تم اقتراح آليات تحلل مبيد الكلايفوسيت في أنواع مختلفة من التربة من خلال عدة فرضيات الاولى تأثير البكتريا ***P. fluorecens*** و مياة الصرف الصحي على وقت تحلل مبيد الكلايفوسيت، والثانية إجراء تحلل الكلايفوسيت في وجود ***P. fluorecens*** ومياة الصرف الصحي في مسارات

أيضية مختلفة مقارنة بمعاملة السيطرة، والثالثة أن البكتريا *P. fluorecens* ومياه الصرف الصحي يحفز النشاط الانزيمي للتربة.

4-7-2 : العامل الاحيائي البكتيري *Bacillus subtilis*

تنتمي البكتريا *Bacillus subtilis* إلى عائلة Bacillaceae وهي من رتبة Bacillales من المملكة البكتيرية ، وقد وصفها Ferdinand kohn بالتفصيل لأول مرة في عام 1872 (Errington و Lizah ،2020). هي بكتيريا موجبة لصبغة جرام ، توجد في التربة والجهاز الهضمي للحيوانات المجترة تم تصنيف *B. subtilis* على أنها هوائية إجبارية ، على الرغم من وجود دليل على أنها لا هوائية اختيارية. تعتبر *B. subtilis* من أفضل أنواع البكتيريا المدروسة في إنتاج الإنزيمات المفرزة وتستخدم على نطاق صناعي بواسطة شركات التكنولوجيا الحيوية وكذلك سهلة الزراعة والاكثار مختبرياً(Borriss و اخرون، 2018). يتمكن جنس البكتريا *Bacillus* أن يشكل بوغًا داخليًا للبقاء على قيد الحياة في الظروف البيئية القاسية من درجة الحرارة العالية والجفاف، وتستخدم بشكل واسع لإنتاج بروتينات غير متجانسة (Su و اخرون، 2020). أكدت الدراسات عن أمكانية تحلل متبقيات مبيد الكلايفوسيت في التربة بأستخدام البكتريا *B. subtilis* وتتحمل تراكيز عالية من المبيد وقد يبلغ الحد الأقصى للتركيز الذي تتحمله Bs-15 40000 مجم / لتر عند توفر الظروف المثلى لنموها اما في الظروف العادية كان فكان أقل من أقل من 10000 ملغم / لتر من الجليفوسات ، مع درجة حرارة 35 درجة مئوية و درجة حموضة 8.0 (Yu واخرون ، 2015).

أكدت دراسة قام بها Manogaran واخرون (2017). بأن توجد سلالات ومن بينها *B. subtilis* قادرة على النمو في وسط يحتوي على الغليفوسات كمصدر وحيد للفوسفور، وأنَ لها القدرة على تحمل ما يصل إلى 12 مل / لتر من مستحضر glyphosate و 200 جزءً في المليون من الغليفوسات التحليلي والظروف المثلى للتحلل عند درجة حرارة 30 م° ودرجة حموضة 6.

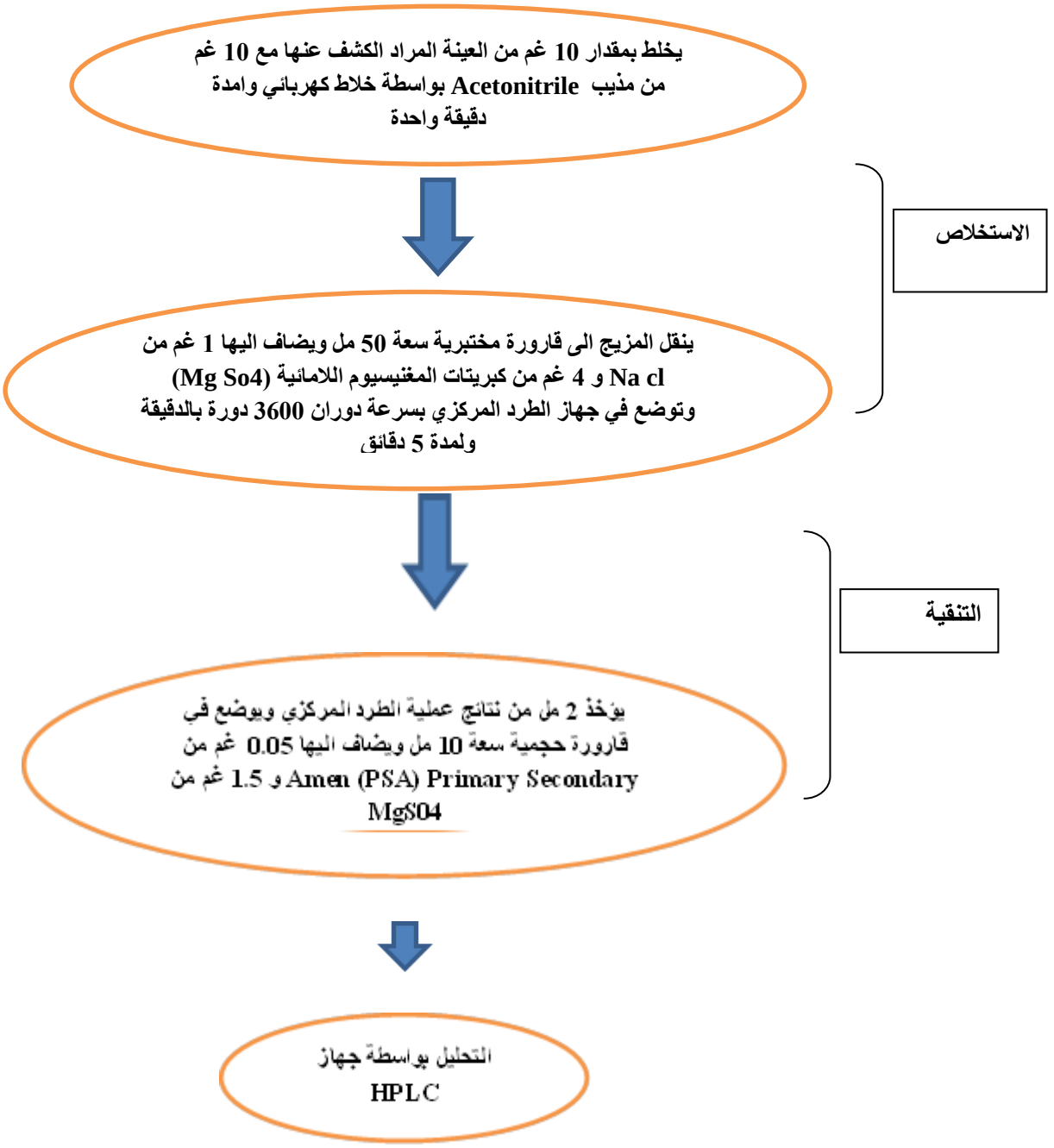
اشارت دراسة اجراها Salunkhe واخرون (2013) حول قدرة اربعة سلالات من البكتريا *Bacillus subtilis* هي DR-39, CS-126, TL-171، TS-204 في التحطيم الحيوي لمبيد الفسفور العضوي Profenofos حيث تمكنت من تحطيم 90 % من المبيد للسلالات (TS-204, TL-171, CS-126) و 79 % للسلالة (DR-39) مقارنة بمعاملة المقارنة الغير ملقحة و التي 52 % من تدهور و تحلل مبيد Profenofos . وجد Saurabh واخرون (2018) قدرة البكتريا *Bacillus subtilis* strain 1D في التحطيم الحيوي لمبيد

Cypermethrin خلال 15 يوما تحت الظروف المختبرية ، حيث عدت هذه الدراسة الاولى التي توضح دور انزيم laccase في التحلل الحيوي للمبيد . كما اشار Gangola واخرون (2018). ان انواع البكتريا *Bacillus spp* *لديها* الانزيماتlaccase و esterase والتي لها دور فعال في تحلل المبيدات و خصوصا الفسفورية العضوية . اضافة الى وجود انزيمات hydrolase (Narayanan واخرون ، 2020). و carboxylesterases (Khan واخرون ، 2016) و organophosphate hydrolase (Acharya واخرون ، 2015) .

8-2 : استخلاص وتنقية بقايا المبيدات

وظفت طريقة كويجرز QuEChERS لأجل تقدير متبقيات المبيدات التي طورت عام 2003 من قبل Anastassiades ولا تزال قيد التحديث والتطوير وقد أشتق اسم الطريقة من الحروف الأولى لتوصيف الطريقة Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe أي إن الطريقة سريعة النتائج، سهلة التطبيق، ورخيصة الثمن، وفعالة، ودقيقة النتائج ، وأمينة (Anastassiades، وآخرون 2003).

في العراق اجريت العديد من الدراسات التي تناولت دراسة متبقيات و تلاشي المبيدات الكيميائية واجراء بعض العمليات الغذائية في معالجة المركبات الثانوية العائدة لمتبقيات المبيدات لبعض انواع المحاصيل الزراعية (Mahdi و Mohammed،2017 ; المشهداني،2012 ; حسين،2018 ; العبيدي،2018 ; حسن،2018 ; علي،2018 ; ابو دكه ، 2021 ; المكصوصي ، 2021). ذكر Momčilović (2012) خطوات عمل لهذه الطريقة كما في الشكل (4):



شكل (4) : خطوات عمل طريقة QuEChERS في استخلاص متبقيات المبيدات .

2-9 : كفاءة الاسترجاع:

تعد كفاءة الاسترجاع بمثابة تقويم لكفاءة طرائق تحليل واسترداد المبيدات أو المواد الكيميائية المستخدمة على الغذاء وتتراوح قيم هذا المعيار عالمياً ما بين 70 – 120 %. يحدث أحيانا أن تكون الطريقة ذات كفاءة في التحليل ولكن قد يحصل تحطيم العينة أثناء مراحل تحضيرها فتكون كفاءة الاسترجاع قليلة وأفضل مثال على ذلك كفاءة استرجاع مبيد الكابتان والتي تتراوح ما بين 30-40٪ وهي مستويات قليلة قد تقبل على أن يستمر البحث عن طريقة أخرى لاستخدامها واختبارها فقد تكون أكثر ملاءمة من الطريقة السابقة (. EU Guideline SANCO/12571/2013 G5) . ذكر المشهداني (2012). في دراسته أن كفاءة الاسترجاع للمبيدات أكتارا و أوبيرون و السايبرمثرين هي 85 – 90%,80 – 8 5%, 70 -75% على التوالي. بينما بلغت كفاءة استرجاع مبيد Pyroxsulam 4.5% OD المستخدم على الحنطة والتربة 99.5 - 101.8% و 96.7 – 103.1% على التوالي. (Abdulkareem, وآخرون 2017).

2-10 : التقانة النانوية

وصفت التقانة النانوية بأنها من اسرع التقانات انتشارا على المستوى العالمي وقد اطلق عليها بالثورة التقنية القادمة في مختلف المجالات لما تتمتع بها من ميزات كبيرة (Lux ، 2008). أن تقانة النانو من التقانات الحديثة التي تدخل في مجلات عديدة منها الزراعة. اذ يتم تخليق الجسيمات النانوية بطرائق عديدة، اذ تعد الطريقة الحيوية من الطرائق السهلة، السريعة، الرخيصة والامنة بيئيا والتي تتم باستخدام الكائنات الحية الدقيقة أو المستخلصات النباتية (علوش 2020). يهتم علم النانو تكنولوجي بدراسة تركيب وخواص وتصنيع المواد النانوية التي يتراوح حجمها بين 1-100 نانومتر فضلا عن تطبيقات تلك المواد في مختلف المجالات الصناعية والطبية والزراعية (Chinnamuthu و MurugesaBoopathi، 2009).

تحتل التطبيقات الزراعية اولوية متقدمة في سلم اولويات التقانة النانوية ويتوقع منها احداث ثورة في مختلف المجالات الزراعية منها وقاية النبات، من خلال انتاج مستحضرات ومبيدات نانوية nanopesticides يمكن ان تقدم الحلول الفعالة في مكافحة الآفات الزراعية المختلفة فضلا عن تحسين خواص عوامل المكافحة الاحيائية المختلفة وطرائق دقيقة في الكشف عن متبقيات المبيدات وازالة اثارها السلبية وبالتالي تقليل التلوث البيئي وتخفيض كلف التطبيقات (Chowdappa و ShivaKumar، 2013) . ويعد استعمال الجسيمات النانوية في امتزاز المبيدات الكيمياوية ومتبقياتها من التطبيقات الواعدة اذ اظهرت تلك الجسيمات كفاءة في تحطيم مبيدات مجموعة السايكلودين

التي تتميز بمقاومتها لعوامل التحلل المختلفة (2006,Cheng, Hee Joo) .المعلقات النانوية (Nano suspension) هي عبارة عن جسيمات نانوية يتراوح حجمها بين 1 – 100 نانومتر تكون على شكل معلقات مائية تستعمل بشكل محاليل مائية في مكافحة الافات مثل السليكا النانوية (Hakravarthy واخرون 2012).

تعد السليكا النانوية المادة الأكثر تصنيعًا من حيث الكمية بين مختلف أطياف المواد النانوية نظرًا لاستخداماتها الكثيرة في مختلف جوانب الحياة، ولكون تكلفة إنتاجها تكون غالبًا أرخص من تكلفة إنتاج معظم المواد النانوية، فضلاً عن سهولة التعامل معها نسبيًا بالمقارنة مع باقي المواد النانوية. حظيت السليكا النانوية باهتمام كبير من قبل الباحثين لتحسين فعالية وسلامة مبيدات الآفات بسبب مزاياها المميزة منها سميتها المنخفضة ، واستقرار حراري وكيميائي مرتفع ، ولا سيما قابلية ضبط الحجم والوظائف المتعددة. والأدوار المتعددة لـذلك تمت مناقشة السليكا النانوية في الاستخدام الآمن لمبيدات الآفات باستخدام تقنية النانو كعامل ممتاز لبقاء أو إزالة مبيدات الآفات في الوسط المائي ، و كدعم محفزات لتدهور ملوثات مبيدات الآفات ، و كدعم لأجهزة الاستشعار للكشف عن مبيدات الآفات (Kong واخرون 2021).

ثالثاً. المواد وطرائق العمل : (Materials and Methods)

1-3: الأجهزة والمواد المستخدمة لإجراء التجارب في الدراسة.

1-1-3: الاجهزة والادوات المستخدمة في التجارب المختبرية.

جدول (3) : الأجهزة والأدوات المستخدمة.

ت	أسم الجهاز او الاداة	الشركة المصنعة	بلد المنشأ
1	الثلاجة Refrigerator	Hitachi	Japan
2	جهاز التعقيم البخاري Autoclave	Hysc	Korea
3	الحاضنة Incubator	Hysc	Korea
4	مجهر ضوئي مركب Compound light microscope	Olympus	Japan
5	ميزان حساسSensitive Balance	Sartorius	Germany
6	غرفة عزل Laminar Flow Hood	Hysc	Korea
7	جهاز قياس الحرارة و الرطوبة Temperature and humidity	Hygrometer	China
8	جهاز التقطير Distillation device	G F L	Germany
9	Vortex	Digisystem	Taiwan
10	حمام مائي Water bath	Gallen hamp	England
11	جهاز كروموتغرافيا السائل HPLC	SYKAMN	Germany
12	جهاز المطياف الضوئي	EMC-11-UV	Germany
13	PH meter	Sartorius	Germany
14	ميزان حساس Analytical balance	Radwag	Poland (EU)
15	أطباق بتري بلاستيكية	-	Jordan
16	أنابيب اختبار بلاستيكية Test tubes	Hiprove	China
17	دوارق زجاجية مختلفة الأحجام Flasks	-	China

18	أوراق ترشيح Filter paper	Whatman	England
19	محقنة طبية Medical syringes	-	England
20	ثاقب فليني Cork borer	-	Germany
21	ماصات دقيقة Micro pipits	Gilsom	Germany
22	مناخل Sieves	-	China
23	أصص بلاستيكية Plastic pots	-	China
24	أطباق بلاستيكية Plastic dishes	-	China
25	ورق المنيوم Aluminum Foil	Zhangjiagang	China
26	قطن Cotton	-	China

- (-) تعني الجهاز او الاداة لا تحمل اسم الشركة او بلد المنشأ

2-1-3 : المواد الكيميائية والمبيدات المستخدمة لإجراء التجارب في الدراسة

جدول (4): المواد الكيميائية والمبيدات المستخدمة

ت	أسم المادة	الشركة المصنعة	بلد المنشأ
1	مبيد الاعشاب تيلر Tiller 48% SL	Astrachem	KSA
3	كحول ايثانول 70%	الجود Aljoud	Iraq
4	سيليكا نانوية (Nano silica)	US Research Nano., Inc.	USA
5	سولفات المغنيسيوم	Merck	Germany
6	مولبيدات الصوديوم5%	BDH	England
7	كلوريد الصوديوم	BDH	England
8	ثنائي هيدرات سترات الصوديوم	BDH	England
9	سيترات هيدروجين ثنائي الصوديوم	BDH	England
10	أسيتونتريل (Acetonitrile)	Merck	Germany
11	نيهايدرين 5% (Ninhydrin 5%)	BDH	England

2-3: الأوساط الزرعية المستخدمة في التجارب المختبرية

جدول(5): الأوساط الزرعية المستخدمة

ت	اسم الوسط الزرعي	الشركة المصنعة	بلد المنشأ
1	وسط اكار دكستروز البطاطا (Potato dextrose Agar)	Liofilchem	Italy
2	وسط (Nutrient Agar)	Liofilchem	Italy
3	وسط (Nutrient Broth)	BD Difco	USA
4	وسط البطاطا السائل (Liquid potato Agar)	Himedia	India

1-2-3 : الوسط الغذائي Nutrient Agar(NA)

حضر الوسط الغذائي Nutrient Agar حسب تعليمات الشركة المجهزة Liofilchem الإيطالية بإذابة 28غم من المادة في 1000 مل من الماء المقطر واغلقت فوهته بواسطة القطن وورق الألمنيوم وعقم بجهاز المؤصدة (Autoclaveبدرجة حرارة 121 ْم وضغط 15 باوند / انج ² لمده 20 دقيقة وبعد التعقيم صب في اطباق بتري قطر 9 سم بمعدل 20 مل / طبق.

2-2-3 : وسط المرق المغذي Nutrient Broth (NB)

حضر الوسط حسب تعليمات الشركة الأمريكية المجهزة Difco BD بإذابة 13 غم من المادة في 1000 مل من الماء المقطر ثم عقم بنفس الظروف المستخدمة في الفقرة 3-2-1 وأستخدم هذا الوسط لتنشيط واكثار البكتريا المستخدمة في التجارب.

3-2-3 : وسط البطاطا الغذائي Potato Dextrose Agar(PDA)

حضر الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة شركة Liofilchem الايطالية بإذابة 42 غم من الوسط الزرعي في 1000 مل من الماء المقطر في دورق زجاجي سعة 1000 مل (1 لتر) وضع مضاد حيوي بعدها اغلقت فوهته بواسطة القطن وورق الالمنيوم عقم بنفس الظروف المستخدمة في الفقرة 3-2-1 بعدها صب في اطباق بتري قطر 9 سم بمعدل 20 مل / طبق.

4-2-3: وسط البطاطا دكستروز السائل Potato Dextrose Broth (P.D.B.)

حضر الوسط بأخذ 200 غرام من درنات البطاطا قشرت وقطعت الى مكعبات صغيرة وبعد غليها بالماء لمدة 20 – 30 دقيقة أخذ الراشح بواسطة قطعة من القماش الشاش وأضيف له 15 غرام من السكروز (السكر العادي) وأكمل الحجم الى 1000 مل ثم وضع في جهاز المؤصدة وعقم بنفس الظروف المستخدمة في الفقرة 3-2-1 ثم وضع المضاد الحيوي 250 مليغرام / لتر.

3-3 : الاحياء المجهرية المستعملة في الدراسة

استعملت الاجناس البكتيرية *Pseudomonas f luorescens* و *Bacillus subtilis* و *Azotobacter chrooccoccum* المشخصة مورفولوجيا وجزيئيا والتي اخذت من مختبرات وزارة العلوم والتكنلوجيا بتاريخ 2022/9/21 و عزلة الفطر *Trichoderma harzianum* أخذت مشخصة من مختبرات كلية الزراعة جامعة كربلاء (الاستاذ الدكتورة زينب عليوي في قسم الانتاج الحيواني) في تاريخ 28 /9 /2022 .

4-3 : حفظ العينات قيد الدراسة

حفظت اطباق العينات في مختبر الدراسات العليا كلية الزراعة جامعة كربلاء قسم وقاية النبات لغرض أكثارها والأستفادة منها في اجراء التجارب المختبرية و الحقلية وحفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م°.

5-3 : تنمية عزلة الفطر *T. harzianum*

حضر وسط البطاطا الغذائي المعقم والحاوي على المضاد الحيوي Choramphenicol بنسبة 25 غم لكل لتر صب في اطباق بتري. كما في الفقرة 3-2-4 واخذ جزءً من المستعمرة النامية على الوسط اعلاه بواسطة الثاقب الفليني من حافة المستعمرة ووضعت وسط الطبق وحضنت الاطباق بالحاضنة في درجة حرارة 2 ± 25م° درجة مئوية لحين اكتمال النمو بعدها حفظت بالثلاجة بدرجة حرارة 4 م°.

6-3 : تنمية عزلات الانواع البكتيرية الثلاثة قيد الدراسة

حضر الوسط الغذائي وعقم في جهاز Autoclave بنفس الظروف في الفقرة 3-2-1 ، وبعدها صب في أطباق بتري حتى تتصلب ثم لقحت بأنواع البكتريا قيد الدراسة بطريقة التخطيط وضعت بالحاضنة في درجة حرارة 28 2 ± درجة مئوية لحين اكتمال النمو ومن ثم حفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م°.

7-3 : اللقاح البكتيري

اجريت سلسلة من التخافيف العشرية من مستنبت العزلة البكتيرية قيد الدراسة بمقدار 10^{-1} -10^{-6} بواسطة الماء المقطر المعقم ، نقل 1 مل من التخفيف الاخير لكل طبق بتري يحتوي على الوسط الغذائي وحضنت الاطباق في الحاضنة على درجة 28 م° لحين نمو البكتريا.

8-3: حساب الكثافة العددية للبكتريا *A.chroococcum* و *B. subtilis* و *P. fluorescens*

حسبت اعداد البكتريا باستعمال طريقة التخفيف والعد بالأطباق ، اذ اجريت سلسلة من التخافيف العشرية من مستنبت العزلة البكتيرية قيد الدراسة بمقدار 10^{-1} -10^{-6} بواسطة الماء المقطر، في انابيب حاوية على المحلول الملحي المعقم Sterilized normal saline 85% NaCl , وضع 1مل من التخفيف الاخير بواسطة ماصة معقمة الى الاطباق بواقع ثلاث اطباق لكل معاملة حضنت الاطباق بدرجة حرارة 2 $\pm$ 28 م° لمدة 48 ساعة ، لعد المستعمرات البكتيرية النامية عدد الوحدات البكتيرية في cfu /1 مل = عدد المستعمرات النامية × مقلوب التخفيف , (1965Clark).

3- 9: قياس درجة التوافق بين الأحياء المجهرية ومبيد الادغال الكلايفوسيت مختبرياً

1-9-3: اختبار تأثير مبيد Glyphosate في نمو العزله الفطرية*T. harzianum*

سمم وسط البطاطا الغذائي الصلب PDA المعقم بإضافة تراكيز المبيد 10 و15و 20 و 25 مل لتر$^{-1}$ و صب الوسط في اطباق بتري ثم لقحت الاطباق بأقراص الفطر*T. harzianum* بواقع ثلاث مكررات لكل تركيز فضلا عن معاملة السيطرة لقحت بالفطر لكن بدون أضافة المبيد ، و حضنت الاطباق في درجة حرارة 25 م° ± 2 ولمدة 48 ساعة احتساب الكفاءة التثبيطية للعامل الاحيائي وقد حددت الفعالية التضادية للعامل الاحيائي بالاعتماد على النسبة المئوية للتثبيط وباستعمال مقياس Sangoyomi (2004) .

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل النمو في المقارنة} - \text{معدل النمو في المعاملة}}{\text{معدل النمو في المقارنة}} \times 100$$

3-9-2: اختبار تأثير مبيد Glyphosate في نمو العزلات البكتيرية *A. chroococcum* و *B. subtilis* و *P. fluorescens* .

سمم الوسط الغذائي .P.D.B المعقم بإضافة تراكيز المبيد 10و 15 و 20 و 25 مل لتر$^{-1}$. وصب الوسط في اطباق بتري ولقحت الاطباق من المزروع البكتيري لأنواع البكتريا الثلاث بواقع ثلاث مكررات لكل تركيز ومعاملة السيطرة لقحت بالأنواع البكتيرية الثلاث لكن بدون أضافة تراكيز المبيد الى الوسط الغذائي المعقم، بدون مبيد وحضنت بدرجة حرارة 28 ±2 °م ولمدة 48 ساعة ثم تم قياس كثافة النمو البكتيري .

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{عدد المستعمرات في المقارنة} - \text{عدد المستعمرات في المعاملة}}{\text{عدد المستعمرات في المقارنة}} \times 100$$

3-10 : تحضير لقاح البكتريا *A.chroococum*

حضر لقاح البكتريا عن طريق تنميتها على وسط البطاطا السائل بوضع 50 مل من هذا الوسط في دورق زجاجي حجم 1000 مل وبعد التعقيم لقح بالبكتريا المأخوذة من مزرعة بعمر 24 ساعة، وبنفس الطريقة حضرت كميات أكبر من اللقاح البكتيري لاستخدامها في التجارب الحقلية، وحضنت المزارع لمدة 24 ساعة على درجة حرارة 28 م^{o} .

3-11 : تحضير لقاح الفطر *T. harzianum*

حضر لقاح الفطر عن طريق تنميته على وسط البطاطا السائل بوضع 50 مل من هذا الوسط في دورق زجاجي حجم 1000 مل وبعد التعقيم لقح بالفطر من مزرعة وسط البطاطا الغذائي، وبنفس الطريقة تم تحضير كميات اكبر من اللقاح الفطري لاستخدامه في التجارب الحقلية، حضنت المزارع لمدة 24 ساعة على درجة حرارة 25 م^{o}.

3-12 : التجارب الحقلية

اجريت جميع التجارب الحقلية في أحد حقول جامعة كربلاء – كلية الزراعة التابعة لقسم وقاية النبات

3-12-1 : تعقيم التربة المستخدمة في التجارب الحقلية

نظفت التربة الخاصة بالتجربة من جميع الشوائب والأحجار وبعدها نقلت الى مختبر المقاومة الاحيائية التابع لقسم وقاية النبات في كلية الزراعة اذ عقمت بجهاز المؤصده تحت ضغط 15 باوند / انج ^{2} ودرجة حرارة121 م^{o} لمده ساعة واحدة مرتين متتاليتين بفترة فاصلة يوم واحد.

3- 12- 2: تحليل التربة

تم فحص و تحليل الخواص الفيزيائية و الكيميائية للتربة في مختبر الدراسات العليا قسم المحاصيل الحقلية ، كلية الزراعة جامعة كربلاء و حسب ما مبين في الجدول 6.

جدول 6. بعض الخواص الفيزيائية والكيميائية للتربة المستعملة في الدراسة .

نوع التربة	رملية مزيجيه
مستوى حامضية التربة pH	7.2
درجة الملوحة (التوصيل الكهربائي) E.C	4.2
المادة العضوية %	0.54
الرمل %	68.2
الغرين %	17.8
الطين %	14

3-13: تقييم كفاءة *T. harzianum* و *A. chrooccoccum* في تحلل مبيد الكلايفوسيت في التربة حقلياً

نفذت هذه الدراسة في تاريخ 2022/12/11 اذ أخذ 50 كيلو غراما من التربة المعقمة ووزعت على 27 سندانه بلاستيكية حجم 1.5 كيلوغرام لثلاث تراكيز من المبيد الموصى بها وهي 10 و 15 و 20 مل لتر$^{-1}$ وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وللمقارنة ايضاً ثلاث مكررات لكل تركيز ،وحقنت السنادين باللقاح الفطري *Harzianum* . *T* واللقاح البكتيري *A.chroococcum* ، اخذت القراءات بعد المعاملة مباشرة و بعد 3 و 7 و 10 و 15 يوما من المعاملة ولأجل التحري عن بقايا المبيد في التربة أخذت نماذج من تربة السنادين من مواقع مختلفة ومن مستويات مختلفة من كل مكرر وضعت العينات في اكياس بلاستيكية وحفظت بالمجمدة عند درجة حـــــــرارة – 20 °م وذلك لتجنب تأثير أي عامل على متبقيات المبيد ولحين أجراء التحاليل الخاصة بكشف وتقدير المبيدات بواسطة جهاز HPLC. (Chavarri وآخرون،2005 ; Sivaperumal واخرون،2015

جدول 7. تواريخ وأوقات أخذ عينات التربة بعد معاملتها بمبيد الكلايفوسيت وبالتركيز 10 و 15 و 20 مل لتر$^{-1}$

رقم العينة	أوقات ما بعد المعاملة (الوقت)	تأريخ أخذ العينة
1	بعد المعاملة مباشرة	2022/12/12
2	بعد المعاملة بثلاثة أيام	2022/12/15
3	بعد المعاملة بسبعة أيام	2022/12/19
4	بعد المعاملة بعشرة أيام	2022/12/22
5	بعد المعاملة بخمسة عشر يوم	2022/12/27

3-14: تقدير متبقيات مبيد الكلايفوسيت في الماء

تم فحص مستوى حامضية الماء ودرجة الملوحة لعينات الماء المستخدمة في سقي السنادين في مختبرالدراسات العليا كلية الزراعة – جامعة كربلاء

مستوى حامضية الماء PH	8.20
درجة الملوحة EC	6.5

اجريت هذه التجربة في حقول كلية الزراعة جامعة كربلاء في تاريخ 2023/1/18، استخدم مبيد الكلايفوسيت تيلر 48 % سعودي المنشأ و المسجل لدى وزارة الزراعة العراقية وبواقع ثلاث تراكيز، هي 10 و 15 و 20 مل / لتر ماء ، اخذ راشح ماء السقي من سنادين معاملة بمبيد الكلايفوسيت وضعت العينات في قناني بلاستيكية سعة 10 مل ، وتم اخذ القراءات بعد المعاملة مباشرة و بعد 3 و 7 و 10 و 15 يوم من المعاملة . حفظت العينات في انابيب بلاستيكية في المجمدة عند درجة حرارة – 20 °م لحين اجراء عملية الاستخلاص .

3- 15 : الاستخلاص لمتبقيات مبيد الكلايفوسيت من التربة

اخذت 10 غم من التربة المعاملة بمبيد الكلايفوسيت ثم وضعت في انبوبة بلاستيكية. تمت عملية الاستخلاص من خلال اضافة 10 مل من acetonitrile و تم رجه جيدا لمدة دقيقة واحدة بعدها اضيفت الاملاح (4 ± 0.2 غم magnesium sulfate anhydrous ، 1 ± 0.05 غم sodium chloride ، 1 ±0.05 غم trisodium citrate dehydrate و 0.5 ± 0.03 غم disodium hydrogen citrate sesquihydrate) بعدها نقل الخليط الى

جهاز الطرد المركزي لغرض الفصل . تم استخدام 150 ملغم من primary secondary amine و 900 ملغم من MgSO4 لغرض التنظيف و التقليل من التلوث .

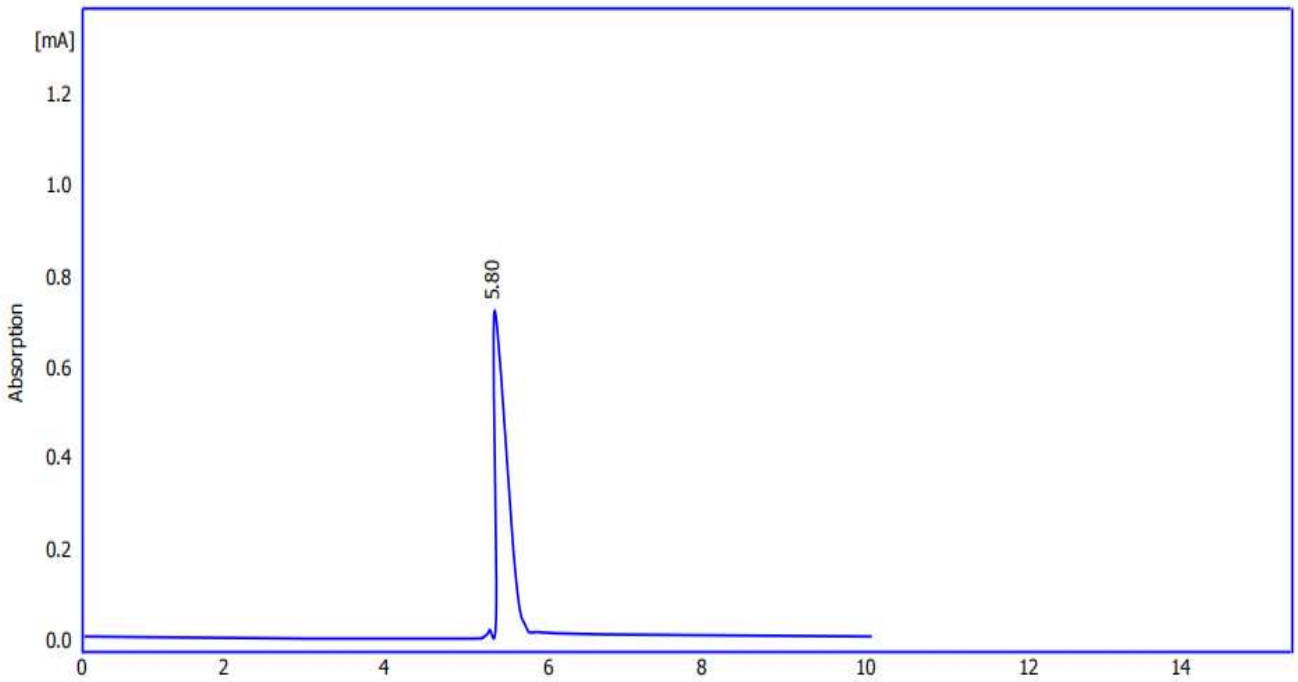
3- 16: الاستخلاص لمتبقيات مبيد الكلايفوسيت من الماء

اخذ 10 مل من الماء المعامل بمبيد الكلايفوسيت ووضع في انبوبة بلاستيكية. وتمت عملية الاستخلاص من خلال اضافة 10 مل من Acetonitrile و تم رجه جيدا لمدة دقيقة واحدة بعدها اضيفت الاملاح (4 ± 0.2 غم magnesium sulfate anhydrous ، 1 ± 0.05 غم sodium chloride ، 1 ±0.05 غم trisodium citrate dehydrate و 0.5 ± 0.03 غم disodium hydrogen citrate sesquihydrate) بعدها نقل الخليط الى جهاز الطرد المركزي لغرض الفصل . تم استخدام 150 ملغم من primary secondary amine و 900 ملغم من MgSO4 لغرض التنظيف و التقليل من التلوث .

3-17 : الكشف والتحليل

جرى الكشف و التحليل بمختبرات كلية الزراعة جامعة كربلاء للكشف عن بقايا مبيد الكلايفوسيت في عينات الماء المعاملة باستخدام جهاز كروموتوغرافيا السائل عالي الكفاءة (HPLC) حيث كانت ظروف الجهاز كالاتي :

Chromatographic column: NH2 (5µm) 250 mm x 4.6 mm, mobile phase: 85%water solution KH2PO4 with 1,5% NaOH 3M : 15% Acetonitrile (80 : 20 V/V) atflow rate 0,8 ml/min, the detector was Fluorescence detection at Ex = 265 nm، and Em = 310 nm .



Result chromatography Table (Uncal - F:\ Glyphosate (10 PPM)

No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	5.80	3220.98	985.49	100.00	100.00	0.25	
	Total	3220.98	985.49	100.00	100.00		

شكل 6. منحني المادة القياسية للمبيد كلايفوسيت

18-3 : استخدام السليكا النانوية المحبة للماء كعامل امتزاز لأزاله المبيد

لغرض تقدير امتزاز مبيد الكلايفوسيت تم اتباع الطريقة الموصوفة من قبل Carneiro واخـــــــرون (2015) و Sen وMondal (2020) وذلك باتباع الخطوات الاتية

1-18-3: تحضير المنحني القياسي

يعد منحني المعايرة المعروف بالمنحني القياسي طريقة عامة لتحديد تركيز مادة ما غير معروفة عن طريق مقارنة المجهول بمجموعة من العينات القياسية ذات التركيز المعروف، إذ يتم حقن مادة معروفة التركيز من المبيد(محضرة من المادة القياسية) في جهاز High performance liquidchromatography(HPLC) ، ليتم مقارنة الناتج مع المادة المجهولة المحقونة في جهاز HPLC عن طريق مساحة القمة (Peak Area) ووقت الاحتجاز (Retention

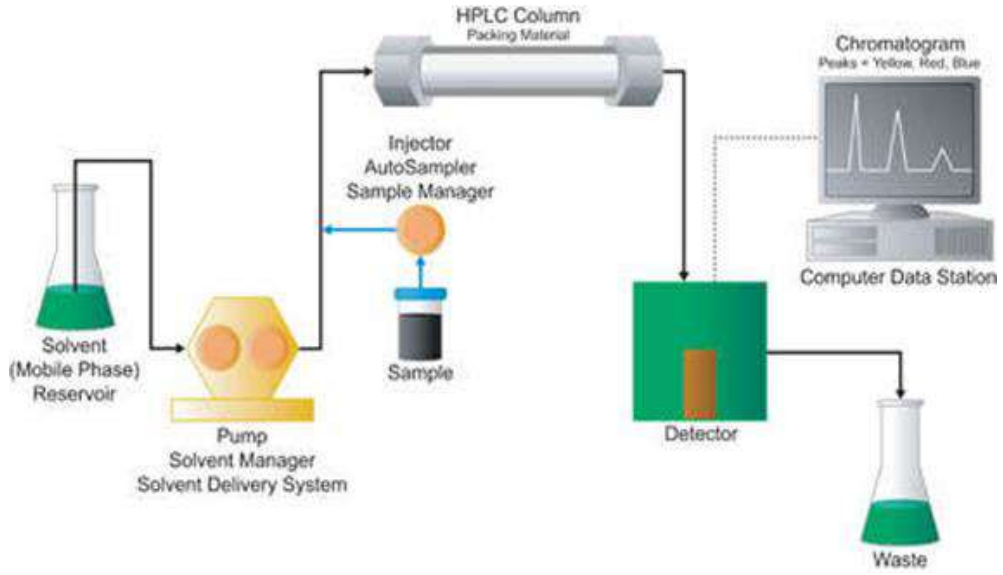
Time) والذي يستخدم كمؤشر للكشف عن المادة الفعالة في المبيد في العينات المأخوذة في الفترات الزمنية المختلفة ليتم استخراج المجهول.(FSANZ ،2018).

جهاز الكروماتوغرافي السائل عالي الاداء (HPLC)**:**

يستخدم جهاز الكروموتوغرافي السائل عالي الاداء (شكل 5) لفصل المكونات لمزيج ما كل على حدة ويتألف هذا الجهاز من الأجزاء التالية:

- خزان المذيب Solvent Reservoir
- نظام الصخ Pumping System
- وحدة تفريغ الغازات Degassing Unit
- أنابيب توصيل Connecting Tubes
- نظام حقن النماذج Sample Injection System
- العمود Culumn
- فرن العمود Coumn Oven
- المكشافت Detectors
- نظام معالجة البيانات Data Processing System

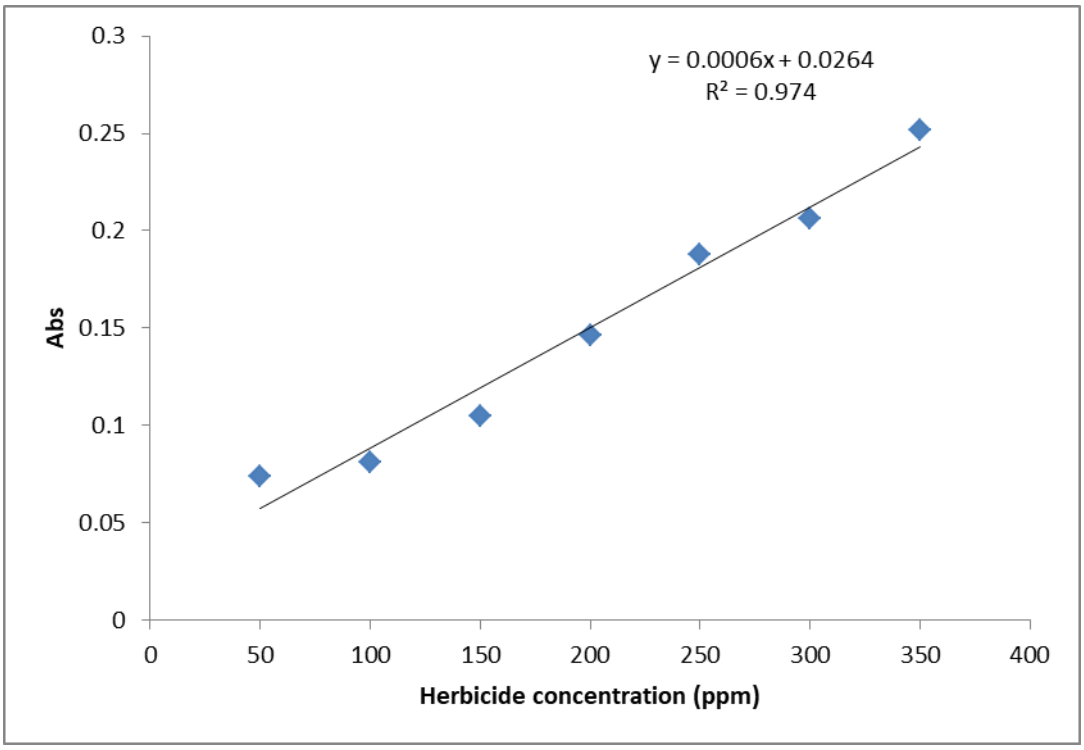
وقد ظهرت هذه التقانة في السنوات الأخيرة كتقانة قوية للتقدير الكمي للعقاقير والمواد السامة المتبقية على المواد المعاملة فيها (Matuszewski، 2003).



شكل 5. مخطط توضيحي لمكونات جهاز (HPLC) .

2-18-3 : المنحنى القياسي

حضر المنحنى القياسي لتقدير تركيز مبيد Glyphosate وذلك بتحضير تراكيز مختلفة منه 5 و 10 و 20 و 25 و 30 و 35 ملغم . اضيف لكل تركيز من التراكيز المحضرة 1 مل من مادة Ninhydrin 5 % و 1مل من مولبيدات الصوديوم 5 % ، حضن الخليط في الحمام المائي بدرجة حرارة 100°م لمدة 5 دقائق وثم ترك الخليط لتبرد بحرارة الغرفة ومن بعدها تم قراءة الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي EMC-11-UV المنشا عند 570 نانوميتر شكل 7.



شكل 7. المنحنى القياسي لمبيد الكلايفوسيت .

3-18-3 : زمن الاتزان

قدر زمن الاتزان وذلك بتجهيز 8 انابيب بلاستيكية وضع في كل منها 2 مل من المبيد 30 ملغم مل$^{-1}$ و 1 مل Ninhydrin% 5 و 1 مل Sodium molybdate %5 و 1 مل Cilica ، ثم نقلت الانابيب البلاستيكية الى حمام مائي 100°م ، ثم تنقل الى جهاز هز الانابيب عند درجة حرارة درجة حرارة 1 ±25 °م وبسرعة 100 دورة/ دقيقة. وضعت الانابيب البلاستيكية في جهاز الطرد المركزي (85 دورة / دقيقة) لمدة 15 دقيقة ومن ثم يتم فلترة السائل والتخلص من الراسب ومن بعدها يتم تقدير الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي عند , 570 نانومتر وهكذا لبقية الانابيب البلاستيكية وحسب الزمن المخصص لكل منها جدول 8.

جدول 8. تقدير زمن الاتزان لامتزاز السليكا النانوية .

رقم الانبوبة البلاستيكية	الزمن الذي ترفع بعده (دقيقة)
1	10
2	20
3	30
4	40
5	50
6	60
7	70
8	80

19-3 : امتزاز المبيد باستخدام السليكا النانوية المحبة للماء

تم تحضير ثلاثة تراكيز من السيليكا النانوية المحبة للماء 100 و 150 و 200 ملغم لتر$^{-1}$ ، تم اضافة 1 مل من كل تركيز الى 2 مل من المبيد و 1 مل 5% Ninhydrin و 1 مل مولبيدات الصوديوم 5% ثم نقلت الى حمام مائي عند درجة حرارة 100م° لمدة 5 دقائق ومن بعدها نقلت الى الى جهاز هز الانابيب لمدة 50 دقيقة زمن الاتزان ومن بعدها نقلت الانابيب البلاستيكية الى جهاز الطرد المركزي 85 دورة / دقيقة لمدة 15 دقيقة ومن ثم تم فلترتها وتم اهمال الراسب ومن بعدها حسبت الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي عند نانومتر, 570 ، طبقت المعادلة ادناه لمعرفة النسبة المئوية للمبيد المزال Asouhidou واخرون (2009) .

$$Re\ Herbicide\% = \left\{ \frac{\text{Cinitial} - \text{Cadsorpition}}{\text{Cinitial}} \right\} \times 100$$

Initial C : التركيز الاولي adsorpition C : التركيز بعد الادمصاص

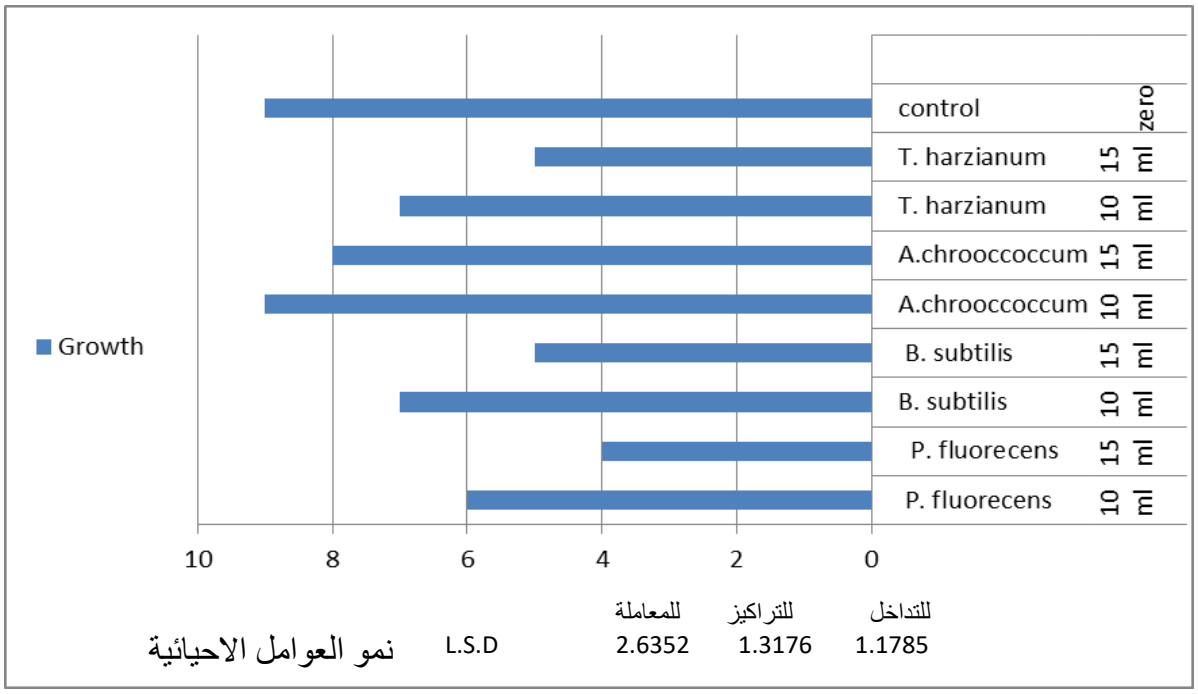
20-3 : تصميم التجارب وتحليلها إحصائيا

حللت البيانات احصائيا بأستعمال برنامج SAS (2001) وبتجربة عاملية وبأستعمال التصميم العشوائي الكامل (CRD) وقورنت الفروق بين المتوسطات بأستعمال اختبار اقل فرق معنوي (LSD) أقل فرق معنوي SAS (2012).

رابعا : النتائج والمناقشة : (Results and Discussion)

1-4 : اختبار تأثير مبيد Glyphosate في نمو العزلات البكتيرية *A. chroococcum* و *B. subtilis* و *P. fluorescens* و الفطر *T. harzianum* مختبرياً.

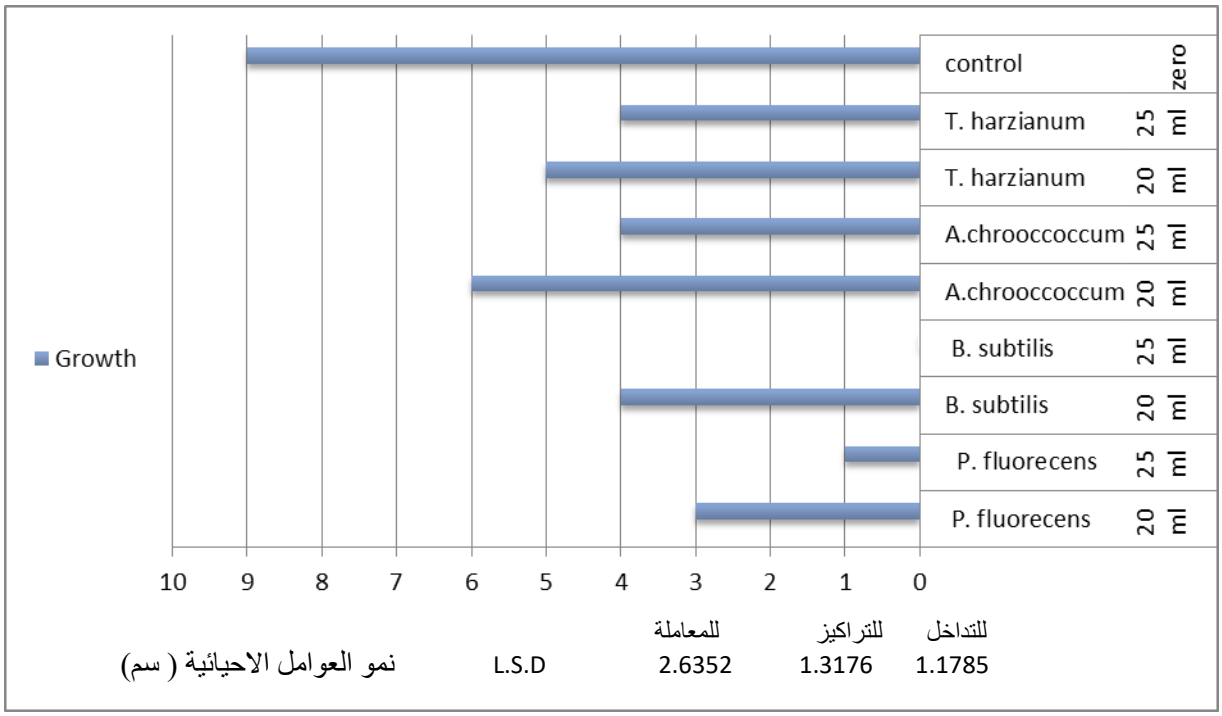
أظهرت نتائج دراسة امتداد النمو البكتيري و الفطري على الاوساط الزراعية N.A. و على التوالي P.D.A. المسمم بالتراكيز 10و 15 و 20 و 25 مل لتر$^{-1}$ من مبيد Glyphosate ، أن بكتريا *A. chroococcum* اظهرت تجاوبا ملحوظا في قدرتها على النمو و التحمل لتراكيز المبيد المستخدمة (10 و 15 و20 و 25 مل لتر$^{-1}$) حيث سجلت معدل قطر نموها 7.20 سم ولم تختلف معنويا عن معاملة الفطر *T. harzianum* والذي سجل معدل قطر نمو 6.00 سم في حين بلغ أقل معدل للنمو في 4.60 سم للبكتريا *P. fluorecens* والتي اختلفت معنويا عن المعاملات الاخرى. كانت التراكيز 10 و 15 مل لتر$^{-1}$ شكل (8) الافضل امتداداً و نمو للبكتريا *A. chroococcum* ، *B. subtilis* و الفطر *T. harzianum* مسجله نمو بلغ 9 ، 8 و 7 ، 5 و7 ، 5 سم على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة التي حققت 9 سم ، فيما حققت البكتريا *P. fluorecens* امتداد نمو بلغ 6 ، 4 سم على التوالي .



شكل 8. تأثير مبيد Glyphosate عند التراكيز 10 ، 15 مل لتر$^{-1}$ في نمو العزلات البكتيرية *A. chroococcum* و *B. subtilis* و *P. fluorescens* و الفطر *T. harzianum*

اشارت نتائج دراسة التراكيز 20 و 25 مل لتر$^{-1}$ شكل 9 قدرة البكتريا *A. chroococcum* و الفطر *T. harzianum* على التحمل و النمو في التراكيز العالية للمبيد حيث مسجلة نسبة نمو بلغت 6 ، 4 و 5 ، 4 سم على التوالي و بدون اختلاف معنوي مقارنة بالبكتريا *B. subtilis* و *P. fluorescens* التي حققتا نسبة نمو 4 ، 0 و 3 ، 1 سم وبفروق معنوية عن باقي المعاملات الاخرى .

وفيما يخص التداخلات بين العوامل الاحيائية والتراكيز المختلفة فقد بلغ اعلى معدل نمو للتداخل فيما بين البكتريا *A. chroococcum* والتركيز 10 مل لتر$^{-1}$ اذ كان معدل النمو 9 سم واختلف معنويا عن بقية التداخلات في حين كان اقل معدل للنمو للتداخل فيما بين البكتريا *B.subtilis* والتركيز 25 مل لتر$^{-1}$ اذ كان معدل النمو 0 سم .



شكل 9. تأثير مبيد Glyphosate عند التراكيز 20 ، 25 مل / لتر في نمو العزلات البكتيرية *A. chroococcum* و *B. subtilis* و *P. fluorescens* و الفطر *T. harzianum* .

يرى إن نمو البكتريا *A. chroococcum* كان بشكل جيد اذ يرجع ذلك إلى أن البكتريا تقوم بتفكك المبيد بوساطة اليات متعددة ، كإزالة مجموعة الإلكيل المتصلة بذرة الأوكسجين او إزالة مجاميع المثيل المتصلة بذرة الأوكسجين ،النتروجين أو الكاربون، أما التفاعلات الأخرى التي يمكن أن تحصل للمبيدات نتيجة لتأثير الإنزيمات البكتيرية ، فتشمل استبدال بعض المجاميع مثل الكاربوكسيل والهيدروكسيل لتنتج مركبات من نوع Azo ، أو يحدث أن ترتبط أكثر من جزيئة من جزيئات المبيد نتيجة لتأثير الإنزيمات ، وهذا ما يطلق علية بالتكثيف ، الذي يؤدي في معظم الأحيان إلى تثبيط

فعالية المبيد ، وقد تقوم الأحياء بإبطال فعالية المبيدات بربطها بمجاميع أخرى خلال تفاعلات مثل تفاعلات Formylation وMethylation أوAcetylation (الخفاجي ، 1987) .

اجرى Sangeeta (2008) دراسة للكشف عن قدرة *A. chroococcum* JL 102 على تحطيم مبيد اللينديين التابع الى مجموعة الكلور العضوية في التربة ، اظهرت البكتريا القدرة على تحلل المبيد بنسب 73.69٪ و 45.1٪ عند التراكيز 10 و 100 جزء في المليون على التوالي . كما اشار Balajee و Mahadevan (1993) عن قدرة *A. chroococcum* في تحطيم 58 % من مبيد الادغال 2,4-D عند درجة الحرارة 30 °م في التربة المعاملة .

يعتقد أن الفطر *T.harzianum* يقوم بإفراز إنزيمات Enzymes خاصة بأيض المبيدات تؤدي عملها بطريقتين مترابطتين يتم في الأولى تغيير التركيب الجزئي للمبيد ليصبح أقل سمية من المادة الأصلية ، أما في الثانية فيتم تحويل الجزء إلى مركب أكثر قطبيه ، وعندها يصبح أكثر ذوبانا في الماء ويمكن التخلص منه إلى خارج الجسم ، حيث تكون معظم المبيدات الكيميائية غير ذائبة في الماء ، وان أكسدتها أو تحللها مائيا يساعد على إدخال مجاميع قطبية إلى الجزيء ليصبح أكثر ذوباناً في الماء مهيأً للدخول في تفاعلات أخرى تدعى هذه الخطوة بالأيض الأولي ، وفي معظم الأحيان يتم ارتباط المركب الناتج من الأيض الأولي بمركبات طبيعية داخل أنسجة الكائن كالسكريات والأحماض(العادل ،2006)

اذ اتفقت هذه النتائج مع اراء العديد من الباحثين إلى إن سبب كفاءة الفطر*T.harzianum* يعود إلى امتلاكه العديد من الآليات التي يؤثر من خلالها كإفراز الأنزيمات. ان الفطر *T. harzianum* يقوم بإفراز انزيمات تؤدي عملها بطرقيتين متتاليتين في الاولى تغير التركيب الجزيئي للمبيد ليصبح اقل سمية من المبيد الاصلي اما الطريقة الثانية فيتم تحويل التركيب الجزيئي الى مركب اكثر قطبية واكثر ذوبانا في الماء ويمكن التخلص منه بسهولة اذ ان معظم المبيدات الكيميائية غير ذائبة في الماء ونتيجة اكسدتها او تحللها مائيا تدخل مجاميع قطبية الى الجزيئي ليصبح اكثر ذوبانا في الماء ومهيا للدخول بالتفاعلات الاخرى ربما يعود السبب في امكانية البكتريا*A. chroococcum* في النمو الى قدرتها على افراز مواد ايض ثانوي تساعد في تحلل المبيد وتحوله من سام الى أقل سمية (Gurikar واخرون ،2014 و Gurikarواخرون،2015) .

من خلال ما تقدم انتخبت البكتريا *A. chroococcum* والفطر *T. harzianum* لأجراء التجارب حقليا وتم اهمال تركيز المبيد 25 مل لتر$^{-1}$ لمستوى سميته العالية و عدم تحمل الفطر و البكتريا لهذا التركيز العالي .

2-4 : تأثير مبيد الكلايفوسيت على النسبة المئوية للتثبيط في الفطر *T. harzianum* و البكتريا *A. chrooccoccum.* مختبريا

بينت نتائج جدول 9. ان اعلى نسبة تثبيط بفعل مبيد الكلايفوسيت كانت للبكتريا *A. chroococcum* عند تركيز المبيد 20 مل / لتر بنسبة مئوية بلغت 58.30 % و بفروق معنوية عن معاملة الفطر *T. harzianum* التي سجلت نسبة تثبيط مئوية 66.70 % عن التركيز نفسه. كما سجل التركيز 10 مل / لتر اقل نسب التثبيط مسجلا 18.90 و 55.60 % للبكتريا و الفطر و على التوالي .

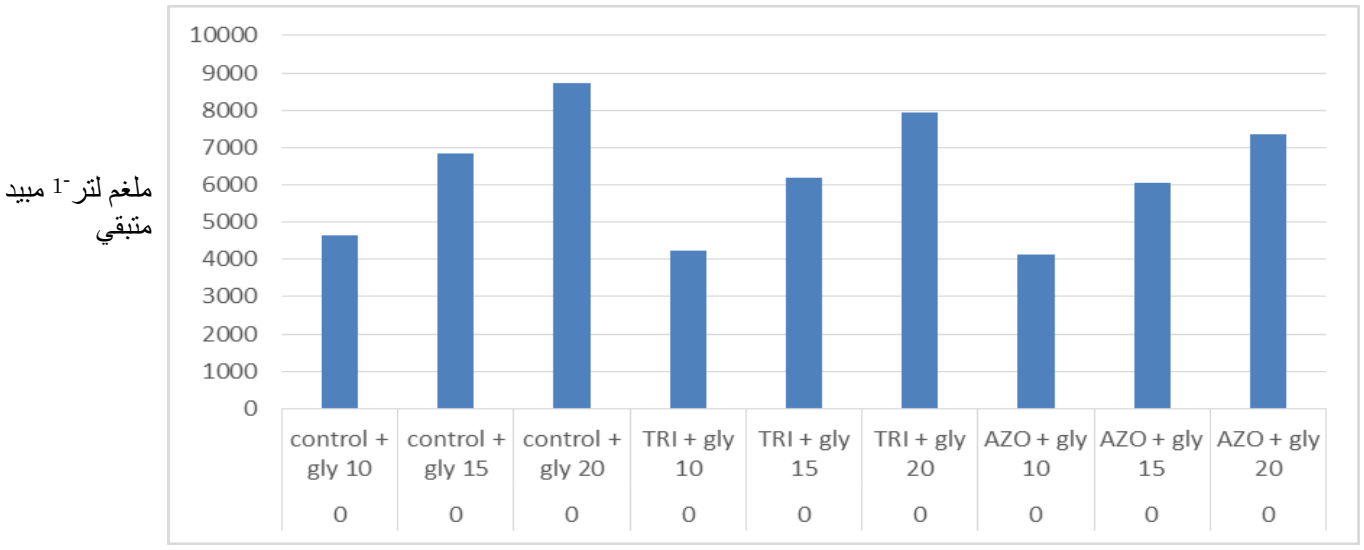
جدول 9. تأثير مبيد الكلايفوسيت على النسبة المئوية لتثبيط بكتريا *A. chroococcum* والفطر *T. harzianum* .

تركيز مبيد الكلايفوسيت مل / لتر	النسبة المئوية للتثبيط *A . chroococcum*	النسبة المئوية للتثبيط *T. harzianum*
10	18.90	55.60
15	37.84	60.70
20	58.30	66.70
Control	0.00	0.00
L.S.D 0.05	5.06	7.25

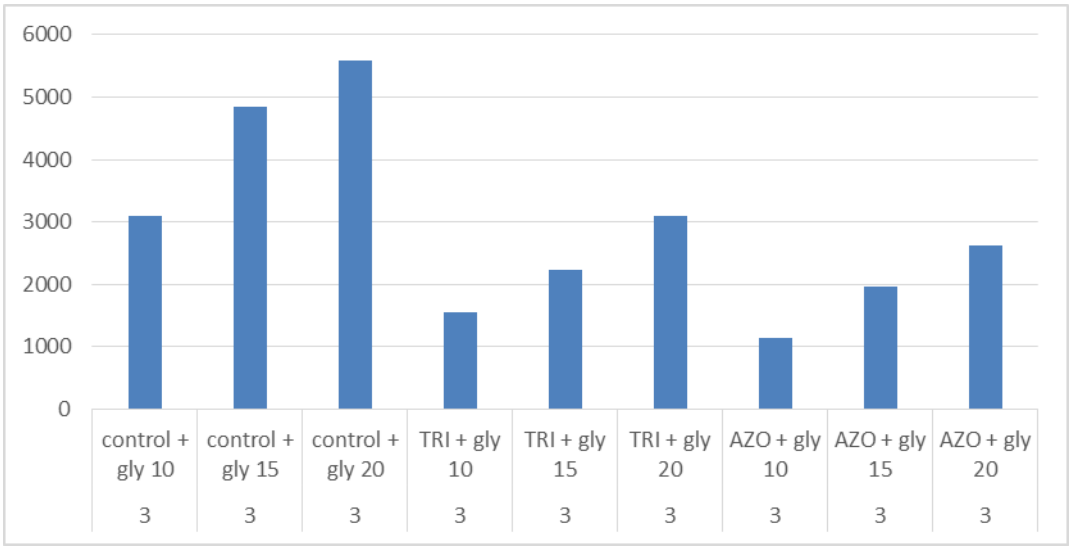
تتفق نتائج دراستنا مع تلك التي ذكرها Santos وFlores (1995) أن التراكيز العالية لمبيد الكلايفوسيت لا تثبط فقط عملية تثبيت النيتروجين في *A. chroococcum* ولكن أيضًا يقلل من معدل تنفس البكتيريا بنسبة 60٪ وبالتالي تمنع تكاثرها و تثبط من نموها . كما اشارت Elsa و Verónica (2020). ان استخدام تركيز 1 لتر من المبيد التجاري كلايفوسيت Fuego 480 g./l في 200 لتر ماء ادى ان تثبيط نمو الفطر *T. Harzianum* بنسبة وصلت الى 81 % .

3-4 : تقيم كفاءة *T. harzianum* و *A. chroococcum* في تحلل مبيد الكلايفوسيت في التربة حقلياً

اظهرت نتائج دراسة تقييم الفطر والبكتريا في تلاشي مبيد الكلايفوسيت في التربة شكل 10 ان التراكيز الثلاثة المستخدمة 10 ، 15 و 20 مل لتر$^{-1}$ ماء سجلت 4238 ، 6176 ، 7933و 4126 ، 6050 و 7353 ملغم لتر$^{-1}$ لكل من معاملة الفطر والبكتريا على التوالي بعد المعاملة مباشرة مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت 4640 ، 6828 ، 8725 ملغم لتر$^{-1}$ ، ثم بدا تركيز المبيد بالانخفاض بعد 3 يوم من المعاملة شكل 11 مسجلا 1552 ، 2235 ، 3096 و 1132 ، 1955 ، 2626 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي .

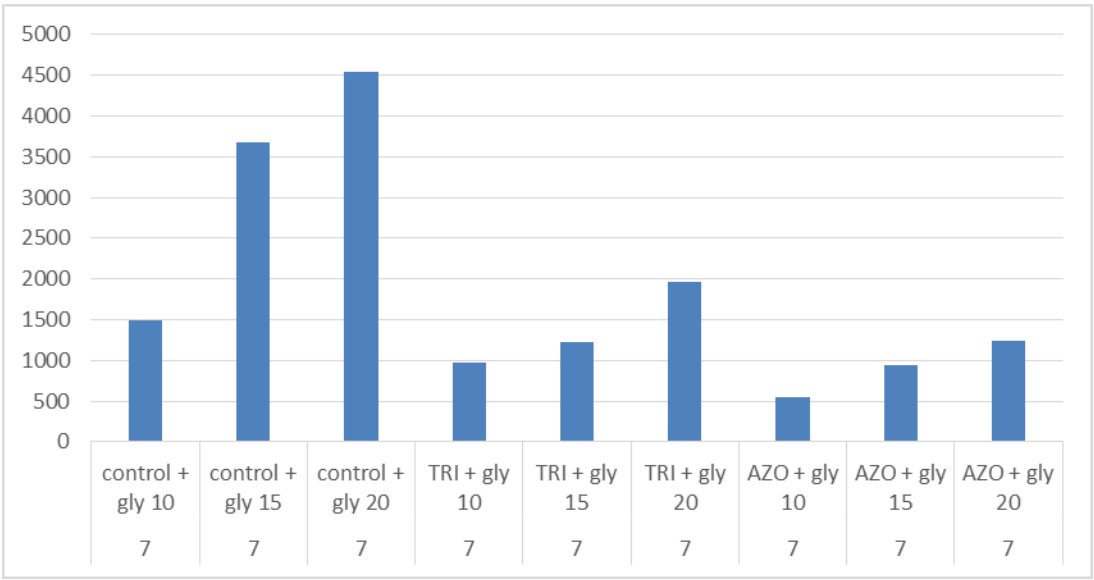


شكل 10. تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد المعاملة مباشرة



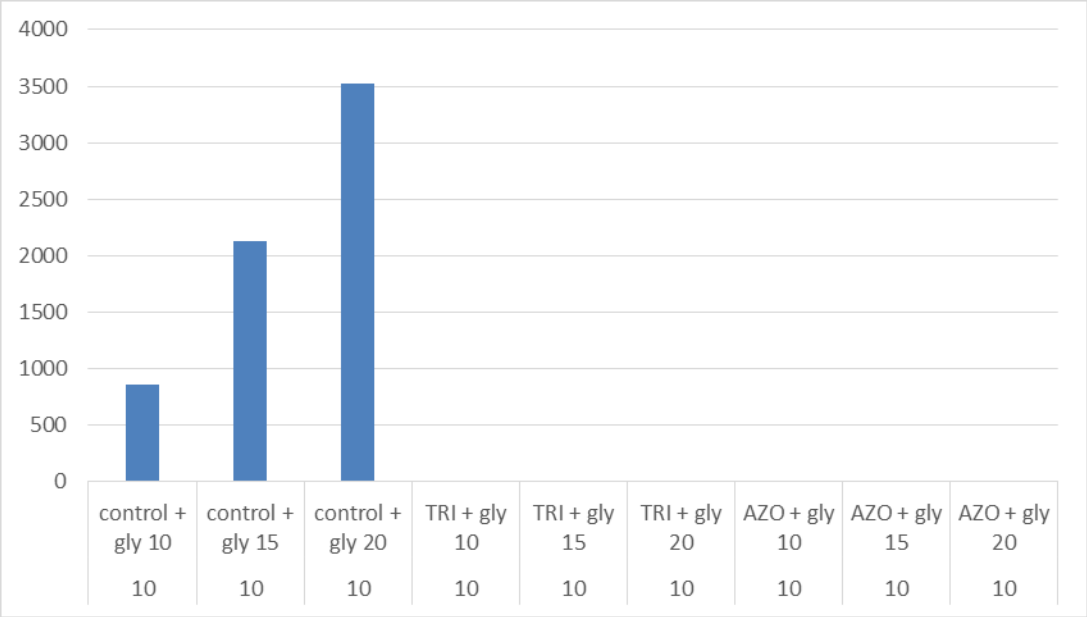
شكل 11. تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد 3 يوم من المعاملة.

كما يلاحظ من الشكل 12. ان التراكيز انخفضت في اليوم السابع مسجلة 975 ، 1227 ، 1970 و 541 ، 942 ، 1242 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت 1493، 3675 و 4536 ملغم لتر$^{-1}$.

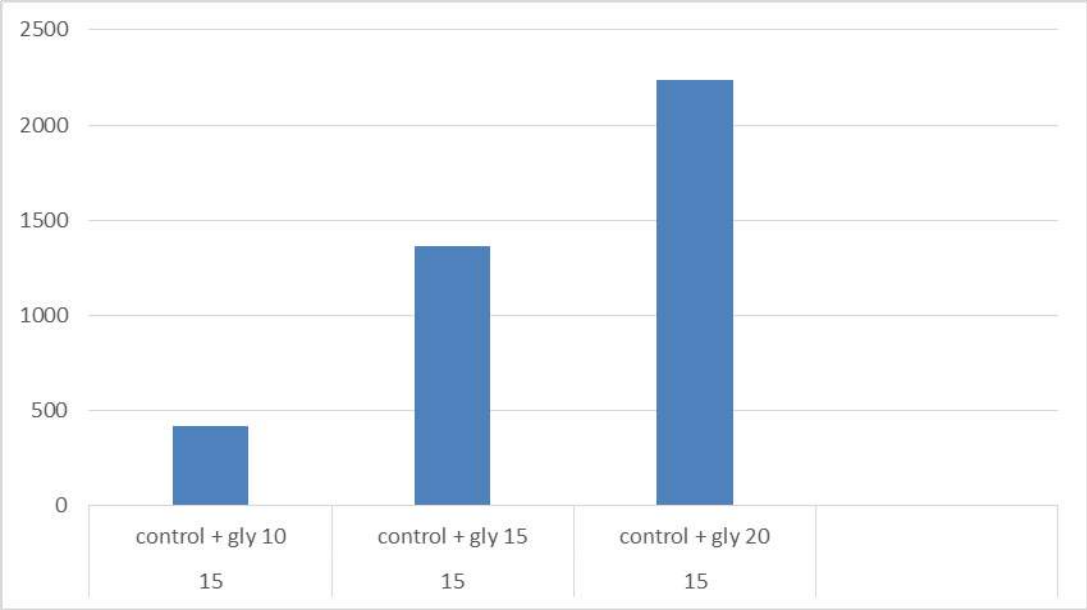


شكل 12. تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد 7 يوم من المعاملة.

اشارت نتائج الدراسة ان الفطر *T. harzianum* والبكتريا *A.chroococcum* حققتا الكفاءة في تحطيم و تلاشي المبيد بعد 10 ايام من المعاملة شكل 13. حيث كان التركيز المتبقي صفر و للتراكيز الثلاثة المستخدمة في الدراسة مقارنة بمعاملة المقارنة بعد 10 و 15 يوم التي سجلت 855 ، 2125 ،3528 و 420 ، 1365 ،2235 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي شكل 14.



شكل 13. تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد 10 يوم من المعاملة.



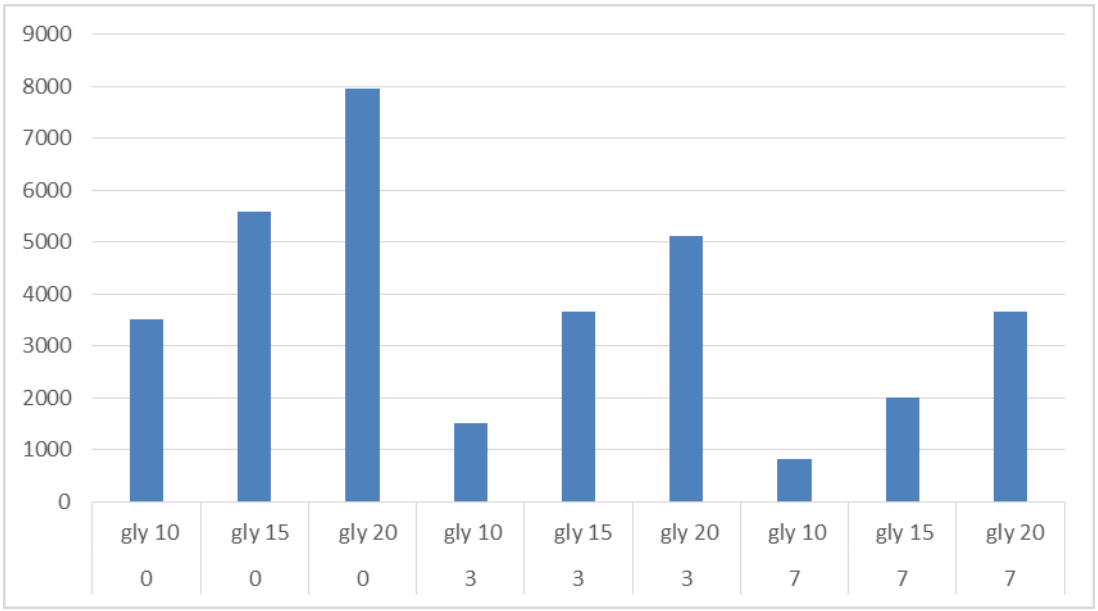
شكل 14. تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد 15 يوم من المعاملة.

بينت نتائج الدراسة كفاءة الفطر *T. harzianum* والبكتريا *A.chroococcum* في تحطيم مبيد الكلايفوسيت بعد 10 يوم من المعاملة . كانت البكتريا الاحيائية *A.chroococcum* الاكثر كفاءة نسبيا من الفطر في تحطيم متبقيات مبيد الكلايفوسيت في التربة وهذا يتفق فيما اشارت اليه البحوث التي تناولت قدرة البكتريا على التحطيم الحيوي للمبيدات . أوضح Kole واخرون (1994). قدرة وكفاءة البكتريا *A. chroococcum* في تحلل مبيد ادغال Pendimethalin و بنسبة تحطيم بلغت 45٪ بعد 10 أيام و 55 ٪ بعد 20 يومًا. اشار Hove-Jensen واخرون (2014). في ان البكتريا الموجودة في التربة تقوم بعملية التحلل الايضي البيولوجي لمبيد الكلايفوسيت و بالتالي تقوم باستخدام نتائج التحلل الايضي كمصدر للكربون والنيتروجين والفوسفور. اجرى Sangeeta (2008) دراسة للكشف عن قدرة *A. chroococcum* JL 102 على تحطيم الليندين التابع الى مجموعة الكلور العضوية في التربة ، اظهرت البكتريا القدرة على تحلل المبيد بنسب 73.69٪ **و** 45.1٪ عند التراكيز 10 **و** 100 جزء في المليون على التوالي . بين Balajee و Mahadevan (1993) الى قدرة*A. chroococcum* في تحطيم 58 % من مبيد الادغال 2,4-D عند درجة الحرارة 30 °م في التربة.

. كما اوضح Moneke واخرون (2010) في دراسة اجريت على الانواع *Azotobacter, Pseudomonas, Escherichia, Acetobacter* المعزولة من التربة لها القدرة على تحمل تراكيز عالية من مبيد الكلايفوسيت 100 – 250 ملغم مل$^{-1}$ وبالتالي ممكن استخدامها في تحطيم المبيدات الاخرى التابعة لمجموعة الفسفور العضوية . وجد Correa واخرون (2021). من خلال دراسة اجريت على الفطربات *Trichoderma* و *Aspergillus* و *Penicillium* لمعرفة قدرتها غلى تحطيم مبيد الكلايفوسيت في البرازيل انها حققت معدل تحطيم بلغ من 8-87 % بين Abd El-Ghany و Masmali (2016). في دراسة اجريت حول قدرة الفطر *T. harzianum* في تحطيم المبيد الفسفوري ديازنون بتراكيز و فترات و درجات حرارة مختلفة ، ان للفطر القدرة على تحطيم المبيد عن التراكيز 10 ، 20 و 40 ملغم لتر$^{-1}$ وبنسبة بلغت 91.8 ، 88.2 و 84.8 % على التوالي بعد 20 يوم من المعاملة وان درجة الحرارة المثلى للفطرهي 35°م . وضح Moneke واخرون (2010). ان انواع البكتريا *Azotobacter, Pseudomonas, Escherichia, Acetobacter* و المعزولة من التربة لها القدرة على تحمل تراكيز عالية من مبيد الكلايفوسيت 100 – 250 ملغم مل $^{-1}$.

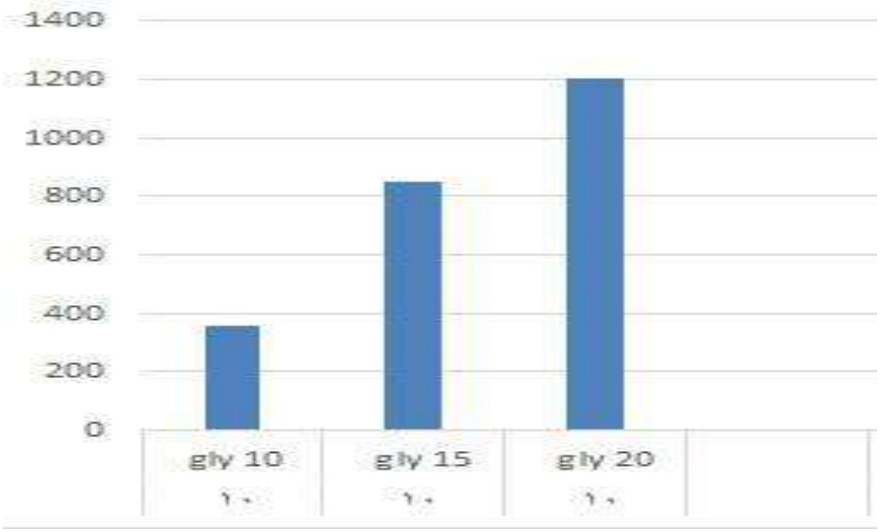
4-4 : تقدير متبقيات مبيد الكلايفوسيت في الماء

اظهرت نتائج دراسة تقدير متبقيات مبيد الكلايفوسيت في الماء لمدة 10 ايام كما في الشكل 15. والشكل 16. ان التراكيز الثلاثة المستخدمة 10 ، 15 و 20 مل لتر$^{-1}$ ماء سجلت 3520 ، 5600 و 7955 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي بعد المعاملة مباشرة، ثم بدا تركيز المبيد بالانخفاض وبمرور الايام قيد الدراسة لحين الوصول الى 822 ، 2011 و 3652 ملغم لتر$^{-1}$ ،على التوالي في اليوم السابع بعد المعاملة بالسيليكا النانوية شكل 15.



شكل 15. تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في الماء باستعمال 3 تراكيز للمبيد مع عامل الوقت .

كما يلاحظ من الشكل 16. ان التراكيز انخفضت في اليوم العاشر مسجلة 356 و 852 و 1203 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي ، وبعدها عند اليوم 15 لم يتحسس جهاز HPLC لأي تركيز من التراكيز المستخدمة في معاملة الماء .

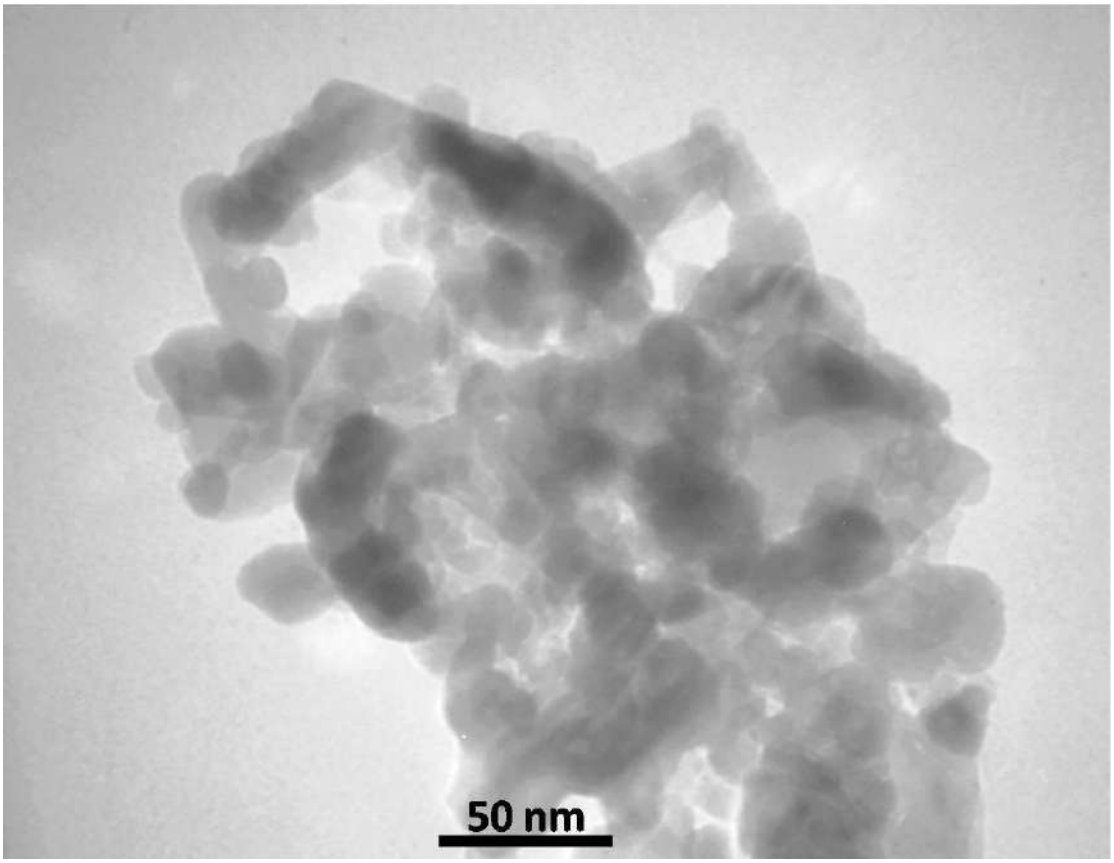


شكل 16. تلاشي كميات المبيد Glyphosate (ملغم لتر$^{-1}$) في الماء بعد 10 يوم .

وجد Evandro واخرون (2017). في دراسة اجريت لقياس متبقيات مبيد الكلايفوسيت وتقدير العمر النصفي half-time في احواض الماء الموبوءة بأدغال زنبق الماء واخرى نظيفة في البرازيل عند التركيز الموصى به 7 لتر / هكتار حيث قدر العمر النصفي للمبيد 16 يوم في الاحواض التي تحتوي على زنبق الماء و 6 ايام في الاحواض النظيفة . كما اجرى Bandana واخرون (2015). دراسة لتحديد تلاشي بقايا مبيد الكلايفوسيت المطبق على ثلاثة مستويات من الجرعات في محصول الشاي في شمال غرب الهيمالايا في الهند على موسمين متتاليين . استمر وجود الكلايفوسيت في التربة لمدة تصل إلى 30 و 45 و 60 يومًا عند تراكيز بلغت 0.5 و 1 و 2 لتر / هكتار على التوالي . تراوحت أعمار نصف الكلايفوسيت من 5.80 إلى 19.10 يومًا في تربة حقول الشاي . يمتلك مبيد الكلايفوسيت قابلية للذوبان بالماء بدرجة عالية ويعتبر غير ثابت ، حيث اشارت البحوث ان قيمة DT50 (الوقت اللازم لتبديد 50 ٪ من التركيز الأولي) بلغت من 1.1 إلى 13.7 يومًا تحت ظروف الدراسة الحقلية (PPDB, 2022) . لهذا تتفق دراستنا في ان متبقيات مبيد الكلايفوسيت في الماء كان اكثر نسبيا مع مرور الوقت مع معاملة التربة بسبب ان الكلايفوسيت يمتاز بقابلية الذوبان بالماء و تتركز متبقياته في راشح الماء .

4-5: فحص السليكا النانوية

اظهرت نتائج الفحص المجهري لتحديد حجم دقائق اوكسيد السليكا النانوي بالمجهر الالكتروني الماسح Scanning Electron Microscopy (SEM) الى ان معدل اقطار اوكسيد السليكا صورة (1) كان 50 نانومتر ، بنقاوة 98 % . تشير نتائج الاشعة السينية المشتتة للطاقة Energy Dispersive X-Ray Analysis (EDX) الى ان نسب التحليل الكمي لمحتويات اوكسيد السليكا كانت السليكون (Si) 66.38 % و الاوكسجين 33.26 % و الصوديوم (Na) 0.37 % و النحاس (Cu) 0.25 % .



شكل 17. حجم دقائق اوكسيد السليكا النانوية

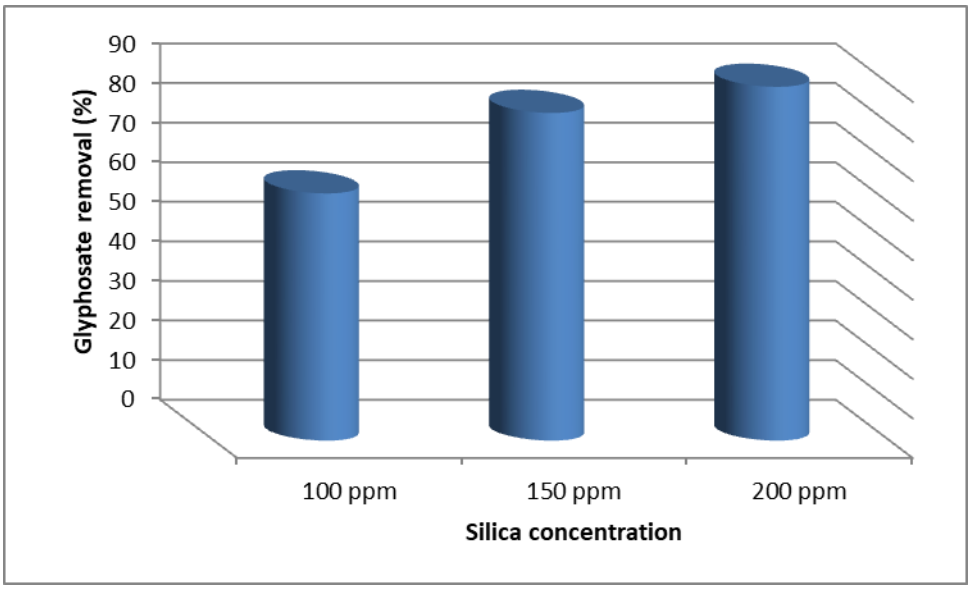
6-4 : استخدام السليكا النانوية المحبة للماء كعامل امتزاز لأزاله المبيد

بينت النتائج جدول 10. و شكل 18. إن التراكيز بعد الزمن 50 دقيقة عند الاتزان يحدث فيها ثبوت نسبي مسبب معه ثبوت قيم النسبة المئوية لكفاءة الامتزاز حيث حقق الزمن 50 دقيقة افضل زمن اتزان في ازالة المبيد بلغ 81.55 % ، اذ اشارت النتائج ان زمن الاتزان يبدأ بعد 50 دقيقة من بدء عملية الامتزاز للسليكا النانوية المحبة للماء و إن هذا الثبوت يعود الى عدم وجود مواقع امتزاز غير مشغولة على سطوح المادة النانوية.

جدول 10. تقدير زمن الاتزان لأمتزاز السليكا النانوية

Glyphosate removal (%) النسبة المؤية لازالة المبيد	Glyphosate concentration (ppm) تركيز مبيد الكلايفوسيت	Time (min)
1.71	344	10
20.98	276.56	20
49.05	178.34	30
67.26	114.58	40
81.55	64.56	50
81.56	64.55	60
81.59	64.45	70
81.59	65.48	80

اوضحت نتائج دراسة استخدام السليكا النانوية كعامل في ازالة مبيد الكلايفوسيت في الماء ان التركيز 200 ملغم لتر$^{-1}$ حقق اعلى معدل في ازالة المبيد و بنسبة مئوية بلغت 89.37 متفوقا على التراكيز الاخرى 100 و 150 ملغم لتر$^{-1}$ و التي حققت 63.45 و 82.87 % على التوالي .



شكل 18. السليكا النانوية كعامل في ازالة مبيد الكلايفوسيت في الماء .

وفقًا لـSophia و Lima (2018). يعد استخدام المواد النانوية طرق واعدة نتيجة كونها منخفضة التكلفة و عملية و فعالة لإزالة الملوثات العضوية وغير العضوية في المحلول المائي. يمكن أن تكون آليات الامتزاز عبارة عن فعل فيزيائي ، وارتباط كيميائي عبر رابطة تساهمية قوية ، ضعف في قوى فان دير فالس ، تبادل الكاتيونات ، تبادل ثنائي القطب ثنائي القطب ، أو تفاعلات أيون ثنائي القطب (Mojiri واخرون ، 2020) .وبين Amini و Armaghan (2012). ان المركب النانوي Al2O3 حقق كفاءة في ازالة المبيد الحشري الفسفوري diazinon و المبيد الحشري البايثرويدي fenitrothion و بكفاءة ازالة بلغت 90٪ و 57٪ عند التراكيز 0.32 و 0.28 ملغم / مل على التوالي خلال فترة 24 ساعة .

خامسا : الاستنتاجات والتوصيات: (Conclusions and Recommendations)

1-5 : الاستنتاجات: (Conclusions)

1- العوامل الاحيائية البكتريا *Azotobacter chrooccoccum* و الفطر *Trichoderma harzianum* امتلكت القدرة على التحمل والنمو في التراكيز العالية من مبيد الكلايفوسيت ، وان اعلى نسبة تثبيط للنمو كانت للفطر *T.harzianum* عند تركيز 20 مل/لتر.

2- نتائج تقدير متبقيات مبيد الكلايفوسيت في الماء اشارت الى تلاشي مبيد الكلايفوسيت بعد 10 أيام من المعاملة.

3- كفاءة أستخدام السليكا النانوية المحبة للماء كعامل أمتزاز في أزالة متبقيات مبيد الكلايفوسيت في الماء وكان التركيز 200 ملغم لتر $^{-1}$ الأكفأ في تحقيق أعلى معدل في أزالة المبيد .

2-5 : التوصيات: (Recommendations)

1- عزل فطريات وبكتريا من تربة ملوثة أصلا بالمبيد وأكثارها مختبريا لمعودة أستخدامها في المعالجة الحيوية للتخلص من متبقيات مبيد الكلايفوسيت.

2- الالتزلم بتراكيز المبيد الموصى بها من قبل الشركة المصنعة والمكتوبة على عبوة المبيد عند مكافحة الادغال.

3- استخدام السليكا النانوية كعامل أمتزاز فعال لإزالة متبقيات مبيد الادغال كلايفوسيت .

سادساً : المصادر : (References)

1-6 : المصادر العربية

ابو دكة ، احمد برير . 2021 . دراسة بقايا المبيدين Acetamiprid 20 % SP و 25 % WG Thiamethoxam واستخدامها لمكافحة المن *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) على محصول اللهانة ودور بعض العمليات الغذائية في خفضهما . رسالة ماجستير . كلية الزراعة ، جامعة كربلاء . 104 صفحة .

الاثوري ، ياسر ناشر طائف .2002. تأثير البسترة الشمسية وبعض المعاملات الكيميائية والاحيائية في مرض الذبول الفيوزارمي على الطماطه والمتسبب عن الفطر Fusarium oxysporum Schl.f.sp. lycopersici (Sacc.) Snyder & Hansen رسالة ماجستير ، كلية الزراعة –جامعة البصرة . 89 صفحة .

البريدي ، فهد بن حمد وماجد بن سعود الفهيد و ابراهيم عبد الله الحسون وعبد العزيز عبد علي الطبشي . 2016 . دليل المبيدات الزراعية في المملكة العربية السعودية. ص 307-308.

حسن ، زهراء بشير. 2018. تقدير متبقيات الاسيتامبريد في الحنطة و دراسة تحلله الحيوي باستخدام خميرة الخبز المعزولة محليا . رسالة ماجستير . كلية الزراعة ، جامعة بغداد. 94 صفحة.

حسين، علاء حسين. 2018. دراسة بقايا المبيدين Oxymatrine 2.4% S.L وImidacloprid 20% S.L واستخدامهما لمكافحة المن *Aphis gossypii Glopher* على محصول الخيار . رسالة ماجستير .كلية الزراعة ، جامعة بغداد. 108 صفحة.

الخفاجي ، زهرة محمود . 1987. الفعاليات الحيوية للبكتريا .مديرية دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة بغداد .

دلالي ، باسل كامل وابراهيم جدوع الجبوري وصلاح مجيد كسل. 2002. المبيدات المسجلة والمستخدمة في الزراعة والصحة العامة في العراق. اللجنة الوطنية لتسجيل واعتماد المبيدات. وزارة الزراعة. جمهورية العراق. صفحة 532.

الرديني ، عبدالمطلب جاسم و ماهر عطاالله عبدالعزيز. 2015 .تأثير مبيد الكلايفوسيت اكوا في الصورة الدمية لسمكة البني Barbus sharpeyi . المجلة الطبية البيطرية العراقية .39 (2):12 – 18 .

السعدي ، كريم عبيد حسن . 2009 . تحليل مبيد الكلايفوسيت ببكتريا Pseudomonas aeruginosa ومساره الحركي في التربة . أطروحة مقدمة الى مجلس كلية الزراعة في جامعة بغداد.149 صفحة.

سكر ، احمد رشيد .2009 . دراسة اولية لأختبار بعض الانواع الفطرية في التحطيم الحيوي لانواع مختلفة من المبيدات الكيميائية . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة الكوفة .

شعبان ، عواد والملاح ، نزار مصطفى . 1993 . المبيدات . جامعة الموصل ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .

شعبان ، عواد والملاح ، نزار مصطفى .2022. كتاب المبيدات . ص 321-329.

العادل ، خالد محمد . 2006 . مبيدات الآفات مفاهيم اساسية ودورها في المجالين الزراعي والصحي . كلية الزراعة - جامعة بغداد . 422 صفحة .

العادل ، خالد محمد ومولود كامل عبد . 1979. المبيدات الكيمياوية في وقاية النبات . مطابع دار الكتب ، جامعة الموصل.

عباس ، زيد رعد و عبد الجبار رياض عباس و عبود هادي مهدي . 2015 . اثر مبيد الادغال كلايفوسيت في سكان بكتريا *Azotobacter chroococcum* وبكتريا *Rhizobium leguminosarum* . مجلة كلية التربية الاساسية المجلد 21 العدد 88 .

العبيدي ، علي بسام ابراهيم. 2018. تلاشي مبيد ثايوفنايت المثيل على محصول الخيار المعرض للإصابة بمرض البياض الدقيقي . رسالة ماجستير . كلية الزراعة ، جامعة بغداد. 72 صفحة.

العكيدي ، انمار سعدي عبود . 2004. تأثير بعض مبيدات الادغال والحشرات في نمو ونشاط بكتريا العقد الجذرية في نبات الباقلاء . رسالة ماجستير ، كلية التربية / ابن الهيثم ، جامعة بغداد.153 صفحة.

علوش، ميساء توفيق. 2020 .التخليق الحيوي للجسيمات النانوية وتطبيقاتها في مجال مكافحة الافات الز ارعية: د ارسة مرجعية. مجلة وقاية النبات العربية،38(4): 267-280.

علي، ايهاب حمود. 2018. تقدير متبقيات الأسيتامبرد في ثمار الطماطة ودراسة تأثيراتها الفسلجية والنسيجية. رسالة ماجستير. كلية الزراعة ، جامعة بغداد. 102 صفحة.

الغزي، كاظمية والي منصور ، لمى جاسم محمد العنبر، هدية مولـى گوام المياح ، جاسم حسين عبد الله المالكي، عبد الجبار ناصر حمد وأنوار عبد الكريم جمعة . 2011 . دراسة عن الاستخدام الطبيعي وغير الطبيعي للمبيدات في منطقة أنهار وأهوار محافظة البصرة. مجلة جامعة بابل. العلوم الصرفة والتطبيقية ، 19 (1) : 142- 149.

الكرخي ، عناء داود خماس . 2001. تأثير بعض العوامل الفيزيائية والكيميائية والاحيائية في كفاءة سلالة البكتريا CHAO *Pseudomonas fluorescence* ضد الفطر *Rhizoctonia solani* المسبب لموت الطماطة . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة البصرة. 125 صفحة.

المشهداني ، وسام علي .2012 . دراسة متبقيات بعض المبيدات الحشرية على محصول الخيار ودور بعض عمليات التحضير الغذائي في خفضها. أطروحة دكتوراه . كلية الزراعة ، جامعة بغداد. 100 صفحة .

المكصوصي ، سلام هاشم . 2021 . دراسة بقايا المبيدين Abamectin 1.8 %EC و Chlorfenapyr 24%SC واستخدامهما لمكافحة الحلم ذي البقعتين Koch *Tetranychus urticae* على محصول الخيار تحت ظروف الزراعة المحمية . رسالة ماجستير . كلية الزراعة ، جامعة كربلاء . 112 صفحة .

2-6 : المصادر الاجنبية

Abd El-Ghany T.M., Masmali I.A. 2016. Fungal biodegradation of organophosphorus insecticides and their impact on soil microbial population. Journal of Plant Pathology & Microbiology, 7(5).1000349 .

Abdulkareem J. A. , Sadeem S. A. , Hanan A. K. 2017. Residual Determination of (Pyroxsulam 4.5%OD) in Iraqi Wheat and Field Soil Using QuEChERS / HPLC. International Journal of Science and Research (IJSR) 6(10):570-573 DOI: 10.21275/ART20177141.

Acharya K.P., Shilpkar P., Shah M.C., Chellapandi P. 2015. Biodegradation of insecticide monocrotophos by *Bacillus subtilis* KPA-1, isolated from agriculture soils. Applied Biochemistry and Biotechnology, 175: 1789–1804.

Akrami، M. and Zohreh، Y. 2015. Biological Control of Fusarium wilt of Tomato (*Solanum lycopersicum*) by *Trichoderma spp*. As AntagonistFungi. Biological Forum. An International Journal 7(1): 887-892

Elshahawy، I. E.، and El-Sayed، A. E. K. B. 2018. Maximizing the efficacy of *Trichoderma* to control *Cephalosporium maydis*، causing maize late wilt disease، using freshwater microalgae extracts. Egyptian Journal of Biological Pest Control ، 28(1) ، 1-11.

Alexopoulus, G. J.; Mims, C. W. and Blackman, M. M. 1996. Introductory Mycology. 4th Ed. 869 pp. John Wiley and Sons. New York.

Ali Khan, R.;Najeeb, S.;Hussain, S.;Xie, B. and Li Y. 2020. Bioactive Secondary Metabolites from *Trichoderma* spp. Against *Phytopathogenic* Fung Microorganisms, 8:1-22.

Alizadeh, M.; Vasebi, Y.and, Safaie, N. 2020. Microbial antagonists against plant pathogens in Iran: A review. Pen Agriculture 5: 404-440 .

AL-Safor, F.A. 2012. Isolation and identification of local isolates of *Sinorhizobium meliloti* and studying its tolerance towards the herbicides Glyphosate. Rafidain Journal of Science 23:11-21.

Alvarado-Gutiérrez ML, Ruiz-Ordaz N, Galíndez-Mayer J, Santoyo- Tepole F, Curiel-Quesada E, García-Mena J, Ahuatzi-Chacón D 2017. Kinetics of carbendazim degradation in a horizontal tubular biofilm reactor. Bioprocess Biosyst Eng 40:519–528.

Anastassiades, M.; Lehotay, S.J.; Štajnbaher, D. and Schenck, F.J. 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. Journal of AOAC International, 86(2), pp.412-431.

Armaghan, M., Amini, M., 2012. "Adsorption of diazinon and fenitrothion on nanocrystalline alumina from non-polar solvent", Colloid J., 74: 427-433.

Aron, F.B.; Ochet, M.F.C. ; Blain,W.A.; Grosset,N. ; GAUTIER J, M.2006. Rapid and cost-effective method for micro- organism enumeration based on miniaturization of the conventional plate-counting technique. 251–257.

Arya R, Sharma AK 2015. Bioremediation of carbendazim, a benzimidazole fungicide using *Brevibacillus borstelensis* and *Streptomyces albogriseolus* together. Curr Pharm Biotechnol 17:185–189.

Asouhidou D., Triantafyllidis K. S., Lazaridis N. K., Matis K. A. 2009. Adsorption of remazol Red 3BS from aqueous solutions using APTES- and cyclodextrin-modified HMS type mesoporous silicas. Colloids Surface ,346: 83–90

Azmi M.A.; Naqvi S.N.H.; Kehkashan, A.; Moinuddin.; Shahida, P.; Rehana, p. and Aslam, M. 2009. Effect of pesticide residues on health and blood parameters of farm workers from rural Gadap Karach- Pakistan. J. Environ. Biol. Ind. 30: 747 – 756.

Baer K.N. , Marcel B.J. .2014. Glyphosate.Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), P. 767-769 .

Bagheini A., Saeidi M., Boroomand N.2018. Removal of diazinon pesticide umino-silane modified magnetite nanoparticles from contaminated water. International Journal NanosciencNanotechnology, 14 (1) , pp. 19-32.

Balajee s. and Mahadevan A..1993. Biodegradation of 2, 4-D in soil by *Azotobacter chroococcum*. Toxicological and Environmental Chemistry 39(3-4):169-172 .

Bandana B., Neelam S., Robin J., Ashu G. , Shobha S. 2015. Dissipation kinetics of glyphosate in tea and tea-field under northwestern mid-hill conditions of India. Journal of Pesticide Science , 40(3), 1–5.

Bandyopadhyay‹ P.‹ Yadav‹ B. G.‹ Kumar‹ S. G.‹ Kumar‹ R.‹ Kogel‹ K. H.‹ and Kumar‹ S. 2022. *Piriformospora indica* and *Azotobacter chroococcum* Consortium Facilitates Higher Acquisition of N‹ P with Improved Carbon Allocation and Enhanced Plant Growth in Oryza sativa. Journal of Fungi ‹ 8(5) 453.

Barja, B.C., Herszage, J., dos Santos Afonso, M., 2001. Iron (III)–phosphonate complexes. Polyhedron 20, 1821–1830.

Bedine , M.A. B.; Beatrice, I.; Severin, N.T.; Modeste, L. S.; Fabrice, B. F.2022. Harnessing the phosphate-solubilizing ability of *Trichoderma* strains to improve plant growth, phosphorus uptake and photosynthetic pigment contents in common bean (*Phaseolus vulgaris*). Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. Volume 45, 102510.

Bellaloui, N., Reddy, K.N., Zablotowicz, R.M., Mengistu, A., 2006. Simulated glyphosate drift influences nitrate assimilation and nitrogen fixation in nonglyphosate-resistant soybean. J. Agric. Food Chem. 54, 3357–3364.

Benbrook, C.M., 2016. Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. Environ. Sci. Eur. 28, 1-15.

Bharadwaj, A., N.Wahi, N. Nehra, M. Gupta, G. Pant and A. Bhatia, 2016. Bioremediation: An eco-friendly approach for treating pesticides. Adv. Biores.,7 (3): 200-206.

Bharadwaj, A., N.Wahi, N. Nehra, M. Gupta, G. Pant and A. Bhatia, 2016 . Bioremediation: An eco-friendly approach for treating pesticides. Adv. Biores.,7 (3): 200-206.

Borriss R, Danchin A, Harwood CR, Médigue C, Rocha EPC, et al. 2018. Bacillus subtilis, the model Gram-positive bacterium: 20 years of annotation refinement. Microb Biotechnol.;11:3–17.

Bruckmann, F.S.; Rossato Viana, A.; Tonel, M.Z.; Fagan, S.B.; Garcia WJ, D.S.; Oliveira AH, D.; Dorneles, L.S.; Mortari, S.R.; Da Silva, W.L.; Da Silva, I.Z.; .2022. Influence of magnetite incorporation into chitosan on the adsorption of the methotrexate and in vitro cytotoxicity. Environ. Sci. Pollut. Res. 29, 1–22.

Boruah P., Sharma B., Hussain N., Das M.2017. Magnetically recover-able Fe_3O_4/graphene nanocomposite towards efficient removal of triazine pesticides from aqueous solution: Investigation of the adsorption phenomenon and specific ioneffect.Chemosphere, 168 , pp. 1058-1067.

Bott, S., Tesfamariam, T., Candan, H., Cakmak, I., Roemheld, V., Neumann, G., 2008. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.). Plant Soil 312, 185–194.

Brenner, D. J. ; N. R. Krieg and J. T. Staly. 2004. Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams and Wilking Baltimore. London. 1136 pp.

Bruggen, A.H.C.; He, M.M.; Shin, K.; Mai, V.; Jeong, K.C.; Finckh, M.R.; Morris, J.G. 2018. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. Sci. Total Environ, 616–617, 255–268.

Buehting, N.W., Massey, J.H., Reynolds, D.B., 2007. Shikimic acid accumulation in field-grown corn (Zea mays) following simulated glyphosate drift. J. Agric. Food Chem. 55, 819–824.

Busse M.D, Ratcliff A.W, shestak C.J, Powers R.F.2001. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities, J. Soil Biol. Biochem. 33: 1777-1789.

Carlisle , S. 2001 . A new sources of estrogens in the male gonad. Mol cell Endocrinol. 178.65-72.

Carro - Huerga,G.; Sara, M.-P.;Alvaro, R.-G.; Rosa, E. C.; Santigo,G.; Pedro,A. C. 2023. Vineyard Management and Physicochemical Parameters of Soil Affect Native *Trichoderma* Populations, Sources of Biocontrol Agents against *Phaeoacremonium minimum.* Plants (Basel). 12(4): 887.

Cecilia, D.; Maggi, F. 2018. Analysis of glyphosate degradation in a soil microcosm. Environ. Pollut., 233, 201–207.

Chakravarthy,A.K.,S.B.Chandrashekharaiah,B.Kandakoor,K. Dhanabala , K.Gurunatha , &. Ramesh P .2012. Bio efficacy of inorganic nanoparticles CdS, Nano-Ag and Nano-TiO2 *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera:Noctuidae).CurrentBiotica6(3):271-2

Chavarri, M. J., Herrera, A., and Ariño, A. 2005. The decrease in pesticides in fruit and vegetables during commercial processing. International journal of food science & technology, 40(2): 205-211.

Cheng, F. I. ; Hee Joo, S.2006. Nanotechnology for Environmental Remediation. USA: Springer

Chennappa G., Naik K. M., Sreenivasa M. Y. 2016. *Azotobacter*: PGPR Activities with Special Reference to Effect of Pesticides and Biodegradation. Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity pp 229–244Cite as.

Chindaprasirt, P. and Rattanasak, U., 2020. Eco-production of silica from sugarcane bagasse ash for use as a photochromic pigment filter. Scientific Reports, 10

Chinnamuthu, C.R. and MurugesaBoopathi, P. 2009. Nanotechnology and Agroecosystem. Madras Agricultural Journal. 96: 17-31.
Chowdappa, P.and ShivaKumar G.2013. Nanotechnology in crop protection: Status and scope. J.Pest.Management in Horticultural Ecosystems, Vol. 19, No. 2 pp 131-151.

Chirnside, A.;Ritter, W. and Radosevich, M. 2007 . Isolation of a selected microbial consortium from a pesticide- contaminate mix-load site soil capable of degrading the herbicides atrazine and alachlor. Soil Biol. Biochem., 39: 3056-3065.

Clark, F.E. 1965. Agar-plats method for total microbial count publisher Madison Wisconson U.S.A. PP.1572

Correa, L.O.; Bezerra, A.F.M.; Honorato, L.R.S.; Cortêz, A.C.A.; Souza, J.V.B.; Souza, E.S. 2021. Amazonian soil fungi are efficient degraders of glyphosate herbicide; novel isolates of *Penicillium*, *Aspergillus*, and *Trichoderma*. Braz. J. Biol., 83, e242830.
Dasgupta, S.; Meisner, C. and Wheeler ,D. 2010.Stockpiles of obsolete pesticides and cleanup priorities: A methodology and application for Tunisia. J. Enviro. Manag. , 91(4): 824-830.

De Maria, N., Becerril, J.M., Garcia-Plazaola, J.I., Hernandez, A., De Felipe, M.R., Fernandez-Pascual, M., 2006. New insights on glyphosate mode of action in nodular metabolism: role of shikimate accumulation. J. Agric. Food Chem. 54, 2621–2628.

Debnath, S.; Chakraborty, G. ; Dutta,S. S.; Chaudhuri, S. R.; Das, P.and Saha, A. K. 2020. Potential of *Trichoderma* species as biofertilizer and biological control on *Oryza sativa* L. cultivation. Biotecnología Vegetal, 20(1): 1 – 16.

Delta, M. A. V., Lezama, C. P., and Simon, A. B. 2020. In vitro Antagonism of Strains of *Trichoderma spp.,* on Pathogenic Fungi of Nopal Vegetable. J Pure Appl Microbiol, 14(2), 1345-1352.

Duke, S.O. 2018 . The history and current status of glyphosate. Pest. Manag. Sci., 74, 5. Pages 1027-1034 .

Eker, S., Ozturk, L., Yazici, A., Erenoglu, B., Roemheld, V., Cakmak, I., 2006. Foliarapplied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in sunflower (*Helianthus annuus L.*) plants. J. Agric. Food Chem. 54, 10019–10025.

Elsa X. M. and Verónica N. C. 2020. Influence of Glyphosate in the Fungus *Trichoderma harzianum* Coming from *Rhizoctonia Solani* in Huancayo 2019 . International Journal of Environmental Science and Development, Vol. 11, No. 11 . 514-518.

Endeshaw, A., Birhanu, G., Zerihun, T., & Misganaw, W. 2017. Application of microorganisms in bioremediation-review. Environ. Microb, 1(1), 2-9.

Errington J. , Lizah T. A. 2020. Microbe Profile: *Bacillus subtilis*: model organism for cellular development, and industrial workhorse. Microbiology (Reading). 166(5): 425–427.

Estok , D.; Freedman , B. and Boyle. D. 1989 . Effects of the herbicides 2,4-D glyphosate hexazinone , and triclopyr on the growth of three species of Ectomycorhizal fungi. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 42 : 835-839.

Evandro L. C., Luiz L. F., José T. Fi., Edivaldo D. V., Luis M. S., José R. M. 2017. Half-Life of Glyphosate on the Control of Water Hyacinths in Water Tanks . Journal of Water Resource and Protection, 2017, 9, 470-481.

Extension Toxicology Network (ETN). 1996. Pesticide information proafiles. pp. 1 – 9.

Fan J., Yang G., Zhao H., Shi G., Geng Y., Hou T., Tao K. . 2012. Isolation, identification and characterization of a glyphosate-degrading bacterium, *Bacillus* cereus CB4, from soil. *J. Gen. Appl. Microbiol*;58:263–271.

Firdous S., Iqbal S., Anwar S., Jabeen H. . 2018. Identification and analysis of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) gene from glyphosate-resistant *Ochrobactrum intermedium* Sq20. Pest Manag. Sci;74:1184–1196.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).2019. Annual Report.39 p.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).2020. Annual Report.25 p.

Franz, J. E. 1 985. Discovery, development and chemistry of glyphosate. in . Grossbard, E. and Atkinson, D, eds. The Herbicide Glyphosate. Buttennrorths. London. Pp. 3-1 7.

FSANZ. Food Standards Australia New Zealand 2018. Guide to submitting requests for maximum residue limit (MRL) harmonisation proposals. P.6.

Gangola S., Sharma A., Bhatt P., Khati P., Chaudhary P. 2018. Presence of esterase and laccase in *Bacillus subtilis* facilitates biodegradation and detoxification of cypermethrin. Scientific Reports, 8: 12755. doi: 10.1038/s41598- 018-31082-5

Geiger, D.R., Shieh, W.J., Fuchs, M.A., 1999. Causes of selfl imited translocation of glyphosate in Beta vulgaris plants. Pestic. Biochem. Physiol. 64, 124–133.

Giulia B., Giovanni B., Alba B., Luis C., Irene C,,Lucien F., German G., Luna G., Samira J., Renata L.,Jose O., Ileana M., Stefanie N., Ragnor P., Hermine R,,Tobin R,, Silvia R,, Miguel S., Alessia P. , Anne T. and Alessia V. 2022. Targeted review of maximum residues levels (MRLs) forindoxacarb. EFSA Journal;20(8):7527 .

González-Valenzuela, L.E.; Dussán, J. 2018. Molecular assessment of glyphosate-degradation pathway via sarcosine intermediate in Lysinibacillus sphaericus. Environ. Sci. Pollut. Res. 25, 22790–22796.

González-Valenzuela, L.E.; Dussán, J. 2018. Molecular assessment of glyphosate-degradation pathway via sarcosine intermediate in *Lysinibacillus sphaericus*. Environ. Sci. Pollut. Res., 25, 22790–22796.

Gordon, B., 2007. Manganese nutrition of glyphosate-resistant andconventional soybeans. Better Crops 91/4, 12–13.

Gothandapani‹ S.‹ Sekar‹ S.‹ and Padaria‹ J. C. 2017. *Azotobacter chroococcum*: Utilization and potential use for agricultural crop production: An overview. Int. J. Adv. Res. Biol. Sci ‹ 4(3) ‹ 35-42.

Goy‹ R. C.‹ Britto‹ D. D.‹ and Assis‹ O. B. 2009. A review of the antimicrobial activity of chitosan. Polímeros‹ 19(3)‹ 241-247.

Guo, J.; Song, X.; Zheng, C.; Sun, S.; Zhuang, B.; Tao, B. 2021. Transcriptome analysis and identification of candidate genes involved in glyphosate resistance in the fungus *Fusarium verticillioides*. J. Environ. Sci. Health. Part B 2021, 56, 658–669.

Gupta, J., Rathour, R., Singh, R., Thakur, I.S., 2019. Production and characterization of extracellular polymeric substances (EPS) generated by a carbofuran degrading strain Cupriavidus sp. ISTL7. Bioresour. Technol. 282, 417–424.

Gurikar , C.; Naik ,M. K.and Sreenivasa, M. Y. 2015. *Azotobacter* - PGPR Activities with Special Reference to Effect of Pesticides and Biodegradation.Microbial Inoculants in Sustainable Agricultural Productivity, 229-244.

Gurikar ,C.; Adkar-Purushothama, C. R.; Naik, M. K.;Umdale, S.and Sreenivasa, M. Y. 2014. Impact of Pesticides on PGPR Activity of *Azotobacter* sp. Isolated from Pesticide Flooded Paddy Soils. Greener Journal of Agricultural Sciences , 4 (4):117-129.

Gurikar,C.; Naik, M.K. and Sreenivasa,M.Y. 2016. *Azotobacter*: PGPR Activities with Special Reference to Effect of Pesticides and Biodegradation. Springer link. 229-224.

Hakeem, K. R., Akhtar, M. S., & Abdullah, S. N. A. 2016. Plant, soil and microbes: Volume 1: Implications in crop science. Plant, Soil and Microbes: Volume 1: Implications in Crop Science, 1–366. doi.org/10.1007/978-3-319-27455-3 .

Hamaker , J.W. 1972., Decomposition : Quantitative aspects . in C.A.F. Goring and J.W. Hamaker . Eds Organic chemicals in the Environment : 255-340 . Dekker. New York.

Hamedi, H.; Moradi, S.; Hudson, S. M.; and Tonelli, A. E. 2018. Chitosan based hydrogels and their applications for drug delivery in wound dressings: A review. Carbohydr. Polym., 199, 445.

Hee Joo, S ؛.I .F .Cheng .2006 . Nanotechnology for Environmental Remediation. USA: Springer

Henry , W., Layne , M., and Douglas , M., 1984. Glyphosate Utilization by *Pseudomonas sp.* and *Alcaligenes sp.* Isolated from Environmental Sources. Current Microbiology , Vol. 10 pp : 255-260.

Hove-Jensen, B.; Zechel, D.L.; Jochimsen, B. 2014. Utilization of glyphosate as phosphate source: Biochemistry and genetics of bacterial carbon-phosphorus lyase. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 78, 176–197.

International Agency for Research on Cancer . 2017. Some Organophosphate Insecticides and Herbicides. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 112. International Agency for Research on Cancer; Lyon, France:. pp. 1–452.

Jacob, G.S.; Schaefer, J.S.; Stejskal,E.O., and Mckay,R.A. 1985. Solid- state NMR determination of glyphosate metabolism in a *Pseudomonas sp.* J.Biol. Chem. 260: 5899-5905.

Jayasumana, C.; Gunatilake, S.; and Senanayake, P. 2014. Glyphosate, hard water and nephrotoxic metals: are they the culprits behind the epidemic of chronic kidney disease of unknown etiology in Sri Lanka. Int. J. Environ. Res. Public Health 2014, 11, 2125–2147.

Jeffries، P.، Gianinazzi، S.، Perotto، S.، Turnau، K. and Barea، J. M. 2003. The contribution of *Arbuscular mycorrhizal* fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology and Fertility of Soils ، 37(1) ، 1-16.

Jilani S. 2015. Bioremediation Application for Textile Effluent Treatment. Middle- East Journal of Scientfic Research 23(1): 26- 34.

Johal, G.S., Huber, D.M., 2009. Glyphosate effects on diseases of plants. Eur. J. Agron. 31, 144–152.

Kadam T.A.;Gangawane L.V.2005. Degradation of phorate by *Azotobacter isolates*. Indian J Biotechnol 4:153–155.

Kanissery, R.; Gairhe, B.; Kadyampakeni, D.; Batuman, O.; Alferez, F. 2019 . Glyphosate: Its Environmental Persistence and Impact on Crop Health and Nutrition. Plants 2019, 8, 499.

Karishma,B. and Hari,P.S. 2015. Advances in biodegradation of organophosphorus pesticides. Archi. Appli. Scie. rese. 7 (4):37-43.

Khan S., Zaffar H., Irshad U., Ahmad R., Khan A.R., Shah M.M., Bilal M., Iqbal M., Naqvi T. 2016. Biodegradation of malathion by *Bacillus licheniformis* strain ML-1. Archives of Biological Sciences, 68: 51–59

Khan, M.Y.; Haque, M.M.; Molla ,A.H.; Rahman, M.M.and Alam, M.Z. 2017. Antioxidant compounds and minerals in tomatoes by *Trichoderma*-enriched biofertilizer and their relationship with the soil environments. J Integr Agric,16:691-703.

Khan, N. T. 2018. "Bioremediation-An Effective Cleanup Technology.". Environ Sci Ind J 14.1: 170.

King, C., Purcell, L.C., Vories, E.D., 2001. Plant growth and nitrogenase activity of glyphosate-tolerant soybean in response to foliar glyphosate applications. Agron. J. 93, 179–186.

Klimek, M.; Lejczak, B.; Kafarski, P.; Forlani, G. 2001. Metabolism of the Phosphonate Herbicide Glyphosate by a Non-Nitrate-Utilizing Strain of *Penicillium Chrysogenum*. Pest. Manag. Sci. 57, 815–821.

Kole, R. K., Saha, J., Pal, S., Chandhuri, S., Chowdhury, A. 1994. Bacterial degradation of the herbicide pendimethalin and activity evaluation of its metabolites, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 52 (5): 779—786.

Kong, X.-P.; Zhang,B.-H. and Wang,J. 2021. Multiple Roles of Mesoporous Silica in Safe Pesticide Application by Nanotechnology : A Review. Agricultural and Food Chemistry , 69, 6735-6745.

Krzysko-Lupicka, T.; Sudol, T. 2008. Interactions between Glyphosate and Autochthonous Soil Fungi Surviving in Aqueous Solution of Glyphosate. Chemosphere, 71, 1386–1391.

Kulik ova, N.A.; Zhelezova, A.D.; Filippova, O.I.; Plyushchenko, I.V.; Rodin, I.A. . 2020 . The Degradation of Glyphosate and Its Effect on the Microbial Community of Agro-Sod–Podzolic Soil under Short-Term Model Experiment Conditions. Mosc. Univ. Soil Sci.Bull, 75, 138–145.

Kulikova, N.A.; Zhelezova, A.D.; Filippova, O.I.; Plyushchenko, I.V.; Rodin, I.A. 2020. The Degradation of Glyphosate and Its Effect on the Microbial Community of Agro-Sod–Podzolic Soil under Short-Term Model Experiment Conditions. Mosc. Univ. Soil Sci.Bull., 75, 138–145. [

la Cecilia, D.; Maggi, F. 2018. Analysis of glyphosate degradation in a soil microcosm. Environ. Pollut., 233, 201–207.

Lyydia I. Leino, ; Miia J. Rainio,; Kari Saikkonen,; Irma Saloniemi,; Marjo Helander. 2021. Does Glyphosate Affect the Human Microbiota .Life 2022, 12, 707.

La Nauze , J.M., Rosenberg , h., Shaw , D.C.,1970. The enzymic cleavage of the carbon- phosphonatase bond : purification and properties of phosphonatase . Biochimical Biophysical Acta , 212 : 332-350.

Laveglia , J., and Dahm , P.A. 1977 . Degradation of organophosphorus and carbamate insecticides in the soil and microorganism. Annu. Rev. Entomol. 22 : 483-513.

Lux, R . 2008. Nanomaterials State of theMarketQ3 2008: Stealth Success, Broad Impact. Report. https://portal.luxresearchinc . **Lyydia I. Leino, ; Miia J. Rainio,; Kari Saikkonen,; Irma Saloniemi,; Marjo Helander. 2021.**Does Glyphosate Affect the Human Microbiota .Life 2022, 12, 707.

Magan, N.; Fragoeiro, S. and Bastos, C. 2010. Environmental factors and bioremediation of xenobiotics using white rot fungi. Mycobiology, 38(4) : 238- 248 .

Mahato, S.; Bhuju, S.and Shrestha, J. 2018 . Effect of Trichoderma Viride As Biofertilizer on Growth and Yield of Wheat. Malaysian J Sustain Agric. 2(2):1-5.

Mahdi, M.N. and Mohammed, A.J. 2017. Treatment of Pesticide Residues Bi-Products in Some Iraqi Vegetables. Iraqi Journal of Science, 58(3B), 1398-1418.

Manogaran M, Shukor MY, Yasid NA, Johari WLW, Ahmad SA. 2017 . Isolation and characterisation of glyphosate-degrading bacteria isolated from local soils in Malaysia. Rendiconti Lincei. 11;1-9.

María Luisa C. , Efraín T., Leticia V. , Marcos F., Alexis R., Patricia M. 2021. Glyphosate Pollution Treatment and Microbial Degradation Alternatives, a Review. Microorganisms, 9, 2322. https://doi.org/10.3390/ microorganisms9112322.

Mario P. Rodríguez , C. Melo , E, Jiménez , J. Dussán . 2019. Glyphosate Bioremediation through the Sarcosine Oxidase Pathway Mediated by *Lysinibacillus sphaericus* in Soils Cultivated with Potatoes. Agriculture, 9, 217; doi:10.3390/agriculture9100217

Matuszewski, B. K., Constanzer, M. L., & Chavez-Eng, C. M. 2003. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC−MS/MS. Analytical chemistry, 75(13), p.p.3019-3030.

Megharaj, M.; Ramakrishnan, B.; Venkateswarlu, K.;Sethunathan, N. , Naidu, R.2011. Bioremediation approaches for organic pollutants: A critical perspective. Enviro. Inter. , 37: 1362–1375.

McAuliffe K.S., Hallas L.E., Kulpa C.F. 1990. Glyphosate degradation by *Agrobacterium radiobacter* isolated from activated sludge. J. Ind. Microbiol. ;6:219–221.

Meyer, J. M. and M. A. Abdallah , 1978. The fluorescent Pigment of *Pseudoomonas fluorescens*: Biosynthesis urification and physicochemical properties. J. Gen. Microbiol , 107 : 319-328.

Milan, M. 2012. Kinetic and equilibrium parameters of adsorption processes under removal of certain harmful cationic ingredients from aqueous solutions using activated carbons derived by thermochemical treatment of chestnut kernel and Black pine, PhD thesis, Faculty Science, University of Niš , Serbia.

Mojiri, A., Zhou, J.L., Robinson, B., Ohashi, A., Ozaki, N., Kinsaichi, T., Farraji, H. and Vakili, M., 2020. Pesticides in aquatic environments and their removal by adsorption methods. Chemosphere, 253

Momčilović, M. 2012. TI: Kinetic and equilibrium parameters of adsorption processes. place, PP: Niš, Višegradska 33.

Moneke AN, Okpala GN, Anyanwu CU .2010. Biodegradation of glyphosate herbicide in vitro using bacterial isolates from four rice fields. Afr J Biotechnol 9:4067–4074 .

Moore, J.K.,Larson,A.D., and Braymer, H.D. 1983. Isolation of a *Pseudomonas sp.* Which utilizes the phosphonate herbicide glyphosate. Appl.Environ. Microbiol.46: 316-320.

Mousa N. Adham A. Merzah N. Jasim S.2021. Azotobacter spp. Bioremediation Chemosate. Asian Journal of Water, Environment and Pollution, 18,3: pp. 103-107.

Mujtaba ,M. ; Khawar ,M.K. Camara ,M. C. Carvalho ,L. P. ;Fraceto ,L. F. ; Rania E. Morsi, Maher Z. Elsaabe; Kaya M. ; Labidi ,J. ; and Ullah ,H.; Wang. 2018. Chitosan-based delivery systems for plants: A brief overview of recent advances and future directions. Original language English, Pages (from-to) 683-697.

Muller, K.; Magesan, G.N. and Bolan ,N.S. 2007. A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. Agric. Ecosyst. Environ. ,120: 93-116.

Narayanan M., Kumarasamy S., Ranganthan M., Kandasamy S., Kandasamy G., Gnanavel K. 2020. Enzyme and metabolites attained in degradation of chemical pesticides β Cypermethrin by Bacillus cereus. Materials Today: Proceedings, 33: 3640–3645.

Niemann L., Sieke C., Pfeil R., Solecki R. 2015. A critical review of glyphosate findings in human urine samples and comparison with the exposure of operators and consumers. J. Verbrauch. Leb. ;10:3–12.

Njoku, K.L.; Eludini, P.O.; Adesuyi, A.A.; Ude, E.O.; Oyelami, A.O. 2020. Physiological and molecular characterization of active fungi in pesticides contaminated soils for degradation of glyphosate. Res. Square, 1–14.

Odukkathil, G. and Vasudevan, N. 2013. Toxicity and bioremediation of pesticides in agricultural soil. Reviews in Environmental Science and Bio/Technology, 12, 421-444.

Oliveira, P. E.; Kathleen, E. M. ; Janaina, E. ; Stella, M. C. H. S. ; Alisson, H. F. ; Rafael, M. E.; Pericles, M. R. , Sonia, A. V. P.; Karlos, H. M. K.; Marcos,R. T.; Zelinda, S. G.; Marcos, P. 2022. Changes in fatty acid composition as a response to glyphosatetoxicityin *Pseudomonas fluorescens*. by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY licens . 2405-8440

Palleroni, N. J. 1984. *Pseudomonadaceae*. Bergeys M annual of Systematic Bacteriology. Krieg, N. R. and Holt J. G. (editors) Baltimore: The Williams and Wilkins Co. P 141-199.

PPDB (Pesticide Properties DataBase) University of Hertfordshire; 2022. Glyphosate(Ref:Mon0573).

Rao , P.S.C., and Davidson. J.M. 1982. Retention and Transformtion of selected pesticides and phosphorus in soil water systems. A critical Review . US Environ. Prot. Agency. (USEPA) Athens , Georgia. 600-82-060.

Rathore, H. S., & Nollet, L. M. L. 2012. Evaluation of Environmental PollutionIn Pesticides. Pub. Location Boca Rato. Pages 662. https://doi.org/10.1201/b11864

Razmjooei، Z.، Etemadi، M.، Eshghi، S.، Ramezanian، A.، Mirazimi Abarghuei، F.، and Alizargar، J. 2022. Potential Role of Foliar Application of *Azotobacter* on Growth، Nutritional Value and Quality of oLettuce under Different Nitrogen Levels. Plants ، 11(3)، 406.

Riberio, D.N., Gil, D., Cruz-Hipolito, H.E., Ruiz-Santaella, J.P., Christoffoleti, P.J., Vidal, R.A., De Prado, R., 2008. Rapid assays for detection of glyphosate-resistant *Lolium* spp. J. Plant Dis. Prot. 21, 95–99.

Rolder, C.A., Griffin, J.L., Harrison, S.A., Jones, C.A., 2007.Wheat response to simulated glyphosate drift.Weed Technol. 21, 1010–1015.

Rueppel, M.L.; Brightwell, B.B., Schaefer, J.,and Marvel, J.T. 1977. Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. J.Agric. Food.Chem.25: 517-527. **Saharan, B. S. and V. Nehra. 2011.** Plant growth promoting rhizbacteria : A critical review. Life Sciences and Medicine Research, LSMR- pp.

Salunkhe V.P., Sawant I.S., Banerjee K., Rajguru Y.R., Wadkar P.N., Oulkar D.P., Naik D.G., Sawant S.D. 2013 . Biodegradation of profenofos by *Bacillus subtilis* isolated from grapevines (*Vitis vinifera*). Journa of Agricultural and Food Chemistry, 61: 7195–7202.

Sangeeta Paul.2008. Potential of *Azotobacter chroococcum* for lindane degradation. First International Conference on Agrochemicals Protecting Crop, Health and Natural Environment . J Environ Sci Health B. 45(1):58-66.

Sangoyomi‹ T. 2004 . Post-harvest Fungal deterioration of yam (*Dioscorea rotundata*. *Poir*) and its Control. Ph.D. Thesis. University of Ibadan‹ Nigeria.

Santos, A., Flores, M. 1995 . Effects of glyphosate on nitrogen fixation of free-living heterotrophic bacteria (Abstract), Letters Application of Microbiology, 20 (6): 349—352.

SAS . 2012. Statistical Analysis System, User,s Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Institute Incorporated Cary. N.C. USA

Saurabh G., Anita S., Pankaj B., Priyanka K., Parul C.2018. Presence of esterase and laccase in *Bacillus subtilis* facilitates biodegradation and detoxification of cypermethrin. Sci Rep. ; 8: 12755. doi: 10.1038/s41598-018-31082-5 .

Schoefs, O.; Perrier, M. and Samson, R. 2004. Estimation of contaminate depletion in unsaturated soils using a reduced order biodegradation model and carbon dioxide measurement .Applied Microbiology and Biotechnology 64:256-261.

Sen, K and N. K. Mondal. 2020 . Facile fabrication of aminofunctionalized silicon flakes for removal of organophosphorus herbicide: in silico optimization. Water Conservation Science and Engineering, 5: 67-80

Shahgholi, H. 2014. Factors controlling degradation of pesticides in the soil environment: A review. Agric. Sci. Dev., 3(8): 273-278.

Shalaby, T. I. ; Abdallah, S. M. ; El-Segini, H. S. . 2018. Efficient adsorption of heavy metals and pesticides onto chitosan nanoparticles and chitosan-zinc oxide nanocomposite. Academia Journal of Agricultural Research 2018 Vol.6 No.5 Conference Proceedings pp.133-149 .

Shapir N.; Mongodin E.F.; Sadowsky M.J.; Daugherty S.C.; Nelson K.E. , Wackett L.P.2007. Evolution of catabolic pathways: genomic insights into microbial S-triazine mmetabolism.JBacteriol;189:674–682.

Singh ,S. ; Kumar ,V. ; Gill , J. p. Datta , s. ; Singh, s. ; Dhaka , v. ; Kapoor, d. ; Wani, a.b.; Kumar,m. ; Harikumar, l.s.; and Singh, j. 2020. Herbicide Glyphosate: .Toxicity and Microbial Degradation : 17(20), 7519.

Sivaperumal, P.; Anand, P. and Riddhi, L. 2015. Rapid determination of pesticide residues in fruits and vegetables, using ultra-high-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. Food chemistry, 168, pp:356-365.

Soleymanifard‹ A.‹ Mojaddam‹ M.‹ Lack‹ S.‹ and Alavifazel‹ M. 2022. Effect of *Azotobacter chroococcum* and Nitrogen Fertilization on Some Morphophysiological Traits‹ Grain Yield‹ and Nitrogen Use Efficiency of Safflower Genotypes in Rainfed Conditions. Communications in Soil Science and Plant Analysis‹ 1-20.

Sophia C., Lima E.2018.Removal of emerging contaminants from environment by adsorption Ecotoxicology. Environmental., 150 , pp. 1-17.

Sophiphun O .; Sontichai C. and Chanakan L .2022. Evaluation of Synthesis Method of Fe Loaded Amorphous Silica on the Adsorption of Glyphosate . Current Applied Science and Technology Vol. 23 No. 3(1-12).

Souza, A.P., Ferreira, F.A., Silva, A.A., Cardoso, A.A., Ruiz, H.A., 1999. Respirac_~ao microbiana do solo sob doses de glyphosate e de imazapyr. Planta Daninha 17 (3), 387–398.

Sprankle , P., Meggitt , W.F., Penner , D. 1975 . Rapid in activation of glyphosate in the soil. Weed Science , 23 : 224-228.

Su Y. Chuan L. Huan F .and Dawei Z. 2020. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine. . Microb Cell Fact 19:173.

Sviridov A.V., Shushkova T.V., Zelenkova N.F., Vinokurova N.G., Morgunov I.G., Ermakova I.T., Leontievsky A.A. 2012. Distribution of glyphosate and methylphosphonate catabolism systems in soil bacteria *Ochrobactrum anthropi* and *Achromobacter* sp. Appl. Microbiol. Biotechnol. ;93:787–796.

Sviridov, A.V.; Shushkova, T.V.; Ermakova, I.T.; Ivanova, E.V.; Epiktetov, D.O.; Leontievsky, A.A. . 2015 . Microbial degradation of glyphosate herbicides (Review). Appl. Biochem. Microbiol, 51, 188–195.

Thabit, T.M.A. and El-Naggar, M.H.(2014). Potential impact of some soil borne fungi on biodegradation of some organophosphorous nematicides. Amer. J. Envir. Prot. , 3(6): 299-304.

Towl , A. 1989 . Modern biology . Austin , TX: Holt , Rinehart & Winston. 342 p.

Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting *rhizobacteria* as biofertilizers . Plant and Soil 255: 571-586.

Walker , A. 1976 a . Simulation of herbicide persistence in soil. I. Simazine and prometryne. Pestic. Sci. 7 , 41- 49.

Walker , A. 1976 b. Simulation of herbicide persistence in soil. II. Simazine and linuron in long - term experiments , Pestic Sci. 7 : 50 – 58.

Wang S., Seiwert B., Kästner M., Miltner A., Schäffer A., Reemtsma T., Yang Q., Nowak K.M. .2016. Biodegradation of glyphosate in water sediment microcosms—A stable isotope. WaterRes. ;99:91–100.

Wani‹ S. A.‹ Chand‹ S.‹ Wani‹ M. A.‹ Ramzan‹ M. and Hakeem‹ K. R. 2016. *Azotobacter chroococcum*–a potential biofertilizer in agriculture: an overview. Soil science: Agricultural and Environmental Prospectives ‹ 333-48.

Wardle, D.A., Parkinson, D., 1990a. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. Plant Soil 122, 21–28.

Wilbert B. M. 2019. Pesticides, Anthropogenic Activities, History and the Health of Our Environment: Lessons from Africa. Intechopen ,pp. 7.

Wiren-Lehr, S., Komoba, D., Glabgen, W.E., 1997. Mineralization of [14C] glyphosate and its plant-associated residues in arable soilsyam (Dioscorea rotundata. Poir) and its Control. Ph.D. Thesis. University of Ibadan‹ Nigeria. 0370-3908

Wojciech D.; Jakub L.; Nurlan A. ; Julia R.; Aleksandra P.2020. Complex study of glyphosate and metabolites influence on enzymatic activity and microorganisms

association in soil enriched with *Pseudomonas fluorescens* and sewage sludge. Journal of Hazardous Materials. Volume 393, 5 July , 122443.

Yu, M. X.; Yu, T. ; Yin, H. G.; Dong, L.Q.; An,M.; Wang, H. R.; Ai,CX.C.2015. Glyphosate biodegradation and potential soil bioremediation by *Bacillus subtilis* strain Bs-15. Genet. Mol. Res. 14 (4): 14717-14730.

Zhang G.S., Jia X.M., Cheng T.F., Ma X.H., Zhao Y.H. 2005. Isolation and characterization of a new carbendazim-degrading Ralstonia sp. strain. World J Microbiol Biotechnol 21(3):265–269.

Zhang, X., Huang, Y., Harvey, P. R., Li, H., Ren, Y., Li, J., Wang, J., & Yang, H. 2013. Isolation and Characterization of Carbendazim-degrading Rhodococcus erythropolis djl-11. PLoS ONE, 8(10), 1–6.

Zhou, C., Jia, D., Liu, X. and Li, C. 2017. Removal of glyphosate from aqueous solution using nanosizes copper hydroxide modified resin: equilibrium isotherms and kinetics. Journal of Chemical and Engineering Data, 62(10), 3585-3592.

Zobiole, L.H.S., deOliveira, R.S., Huber, D.M., Constantin, J., Castro, C, deOliveira, F.A., de Oliveira, A., 2009. Glyphosate reduces shoot concentrations of mineral nutrients in glyphosate-resistant soybeans. Plant Soil. 328(1):57-69

سابعاً: الملاحق

ملحق 1 جهاز الطرد المركزي

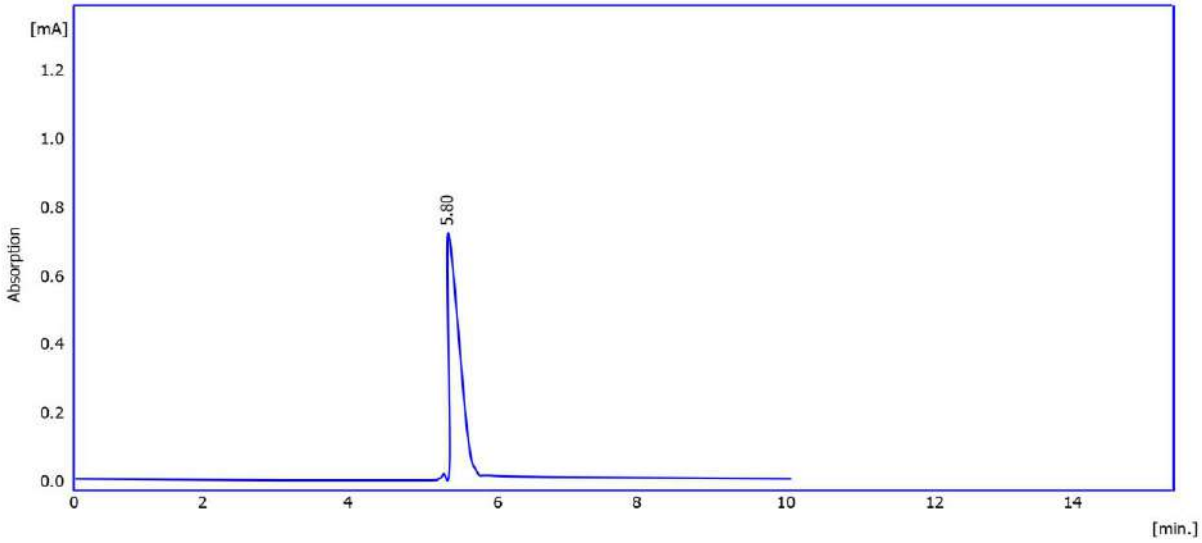
ملحق 2 جهاز HPLC SYKAMN ألماني المنشأ

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: Glyphosate (10 PPM)	Amount	0
Sample	: Glyphosate (10 PPM)	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ Glyphosate (10 PPM)

No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	5.80	3220.98	985.49	100.00	100.00	0.25	
	Total	3220.98	985.49	100.00	100.00		

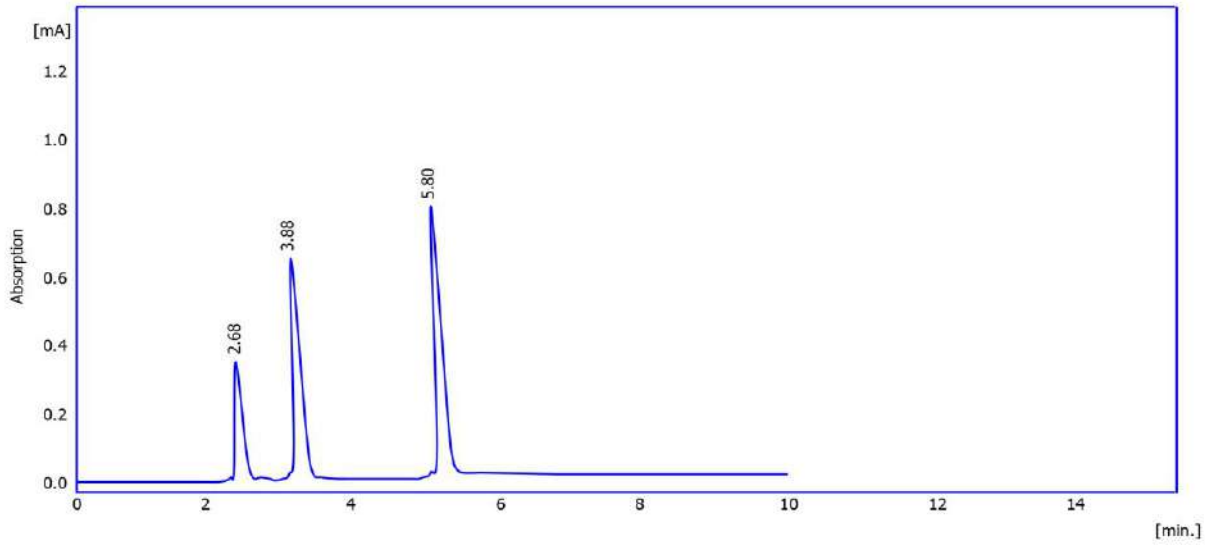
ملحق 3

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 1	Amount	0
Sample	: sample 1	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 1)

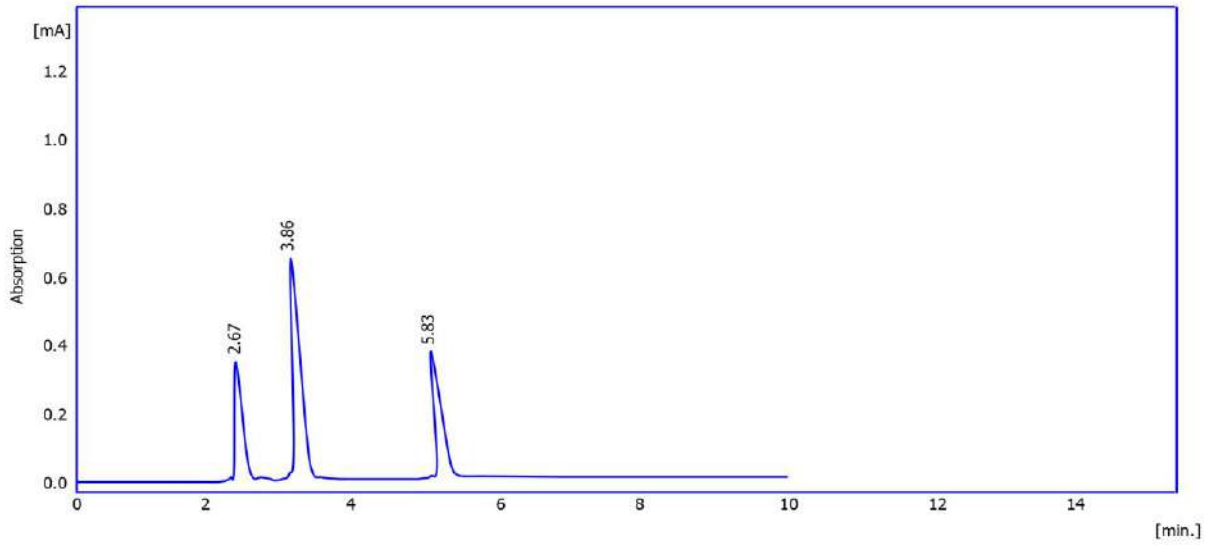
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9521.78	384.59	20.00	20.00	0.15	
2	3.88	18595.15	695.44	30.00	30.00	0.25	
3	5.80	88451.36	808.98	50.00	50.00	0.35	
	Total	116567.84	1889.01	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 2	Amount	0
Sample	: sample 2	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 2)

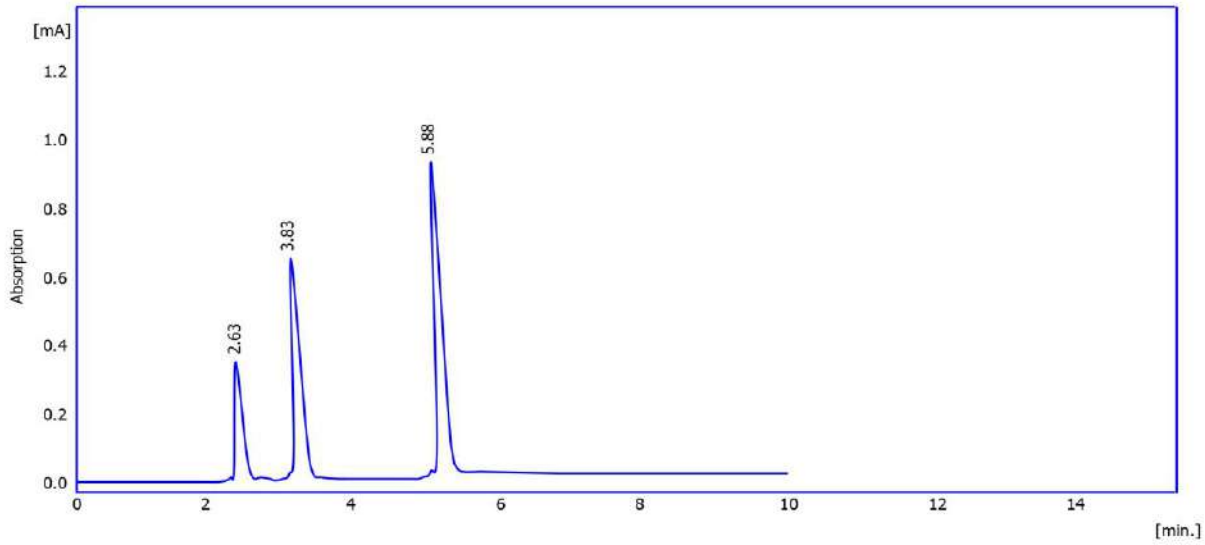
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.67	9125.06	380.15	30.00	30.00	0.15	
2	3.86	17155.22	690.55	40.00	40.00	0.25	
3	5.83	9862.00	388.45	30.00	30.00	0.15	
	Total	36124.43	1459.12	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 3	Amount	0
Sample	: sample 3	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 3)

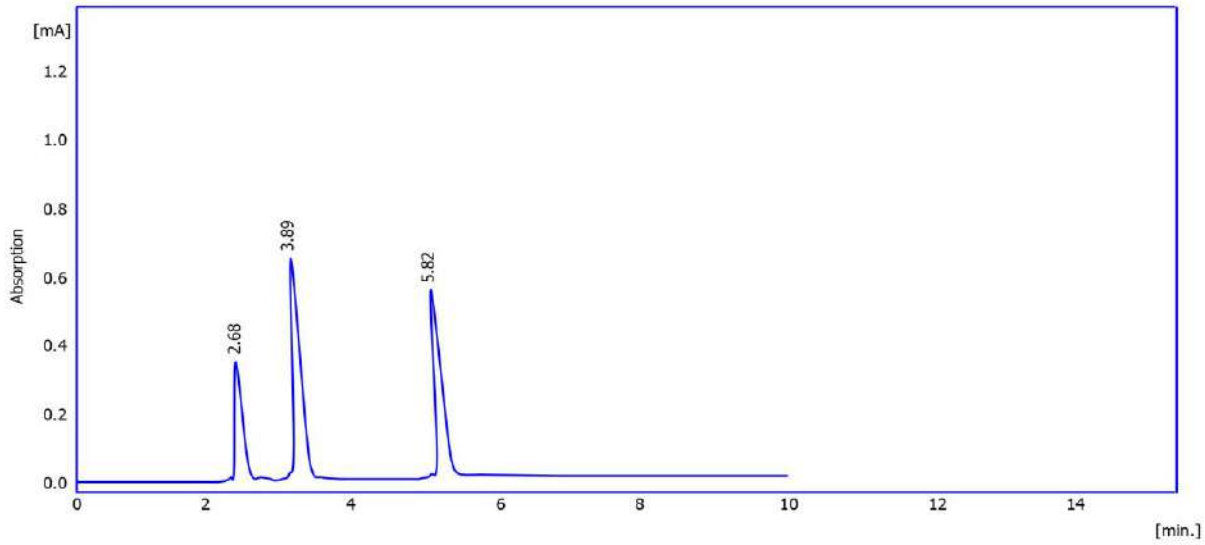
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.63	9485.65	385.49	20.00	20.00	0.15	
2	3.83	18950.11	696.00	30.00	30.00	0.25	
3	5.88	126508.98	988.14	50.00	50.00	0.35	
	Total	154944.89	2089.12	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 4	Amount	0
Sample	: sample 4	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 4)

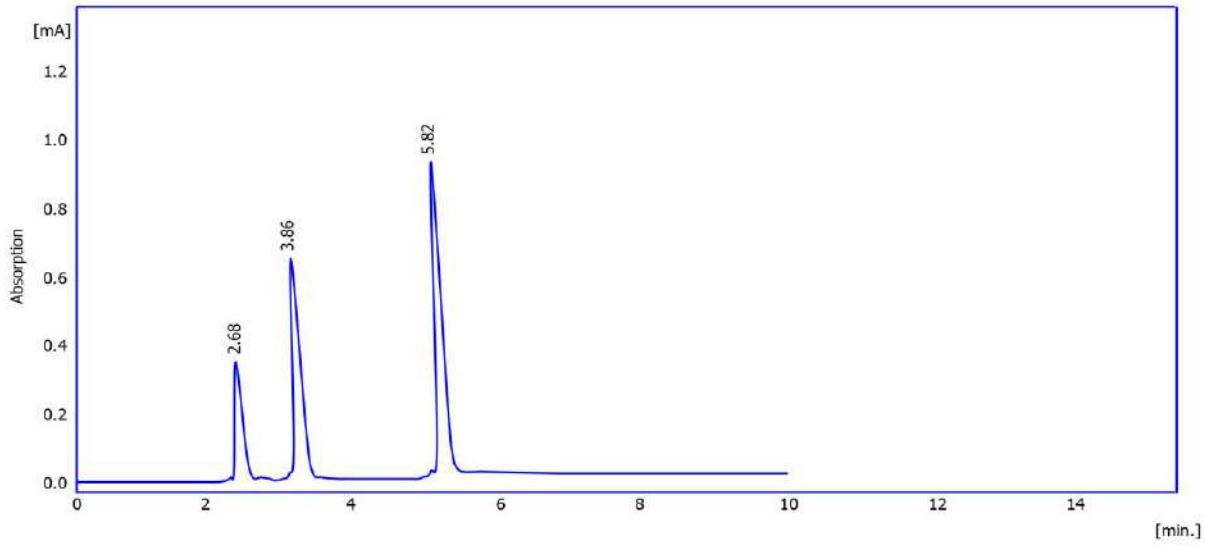
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9362.05	383.00	30.00	30.00	0.15	
2	3.89	17551.24	692.65	40.00	40.00	0.25	
3	5.82	10556.28	580.12	30.00	30.00	0.15	
	Total	37468.95	1679.49	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 5	Amount	0
Sample	: sample 5	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 5)

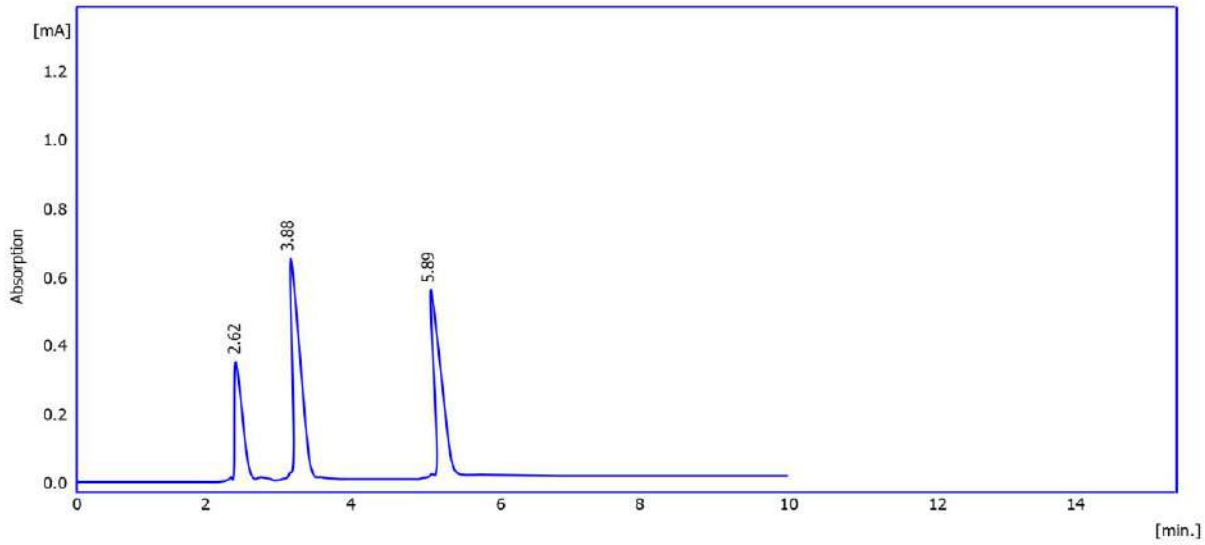
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9632.05	385.14	20.00	20.00	0.15	
2	3.86	19221.56	698.95	30.00	30.00	0.25	
3	5.82	145256.08	987.49	50.00	50.00	0.35	
	Total	174198.58	2095.29	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 6	Amount	0
Sample	: sample 6	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 6)

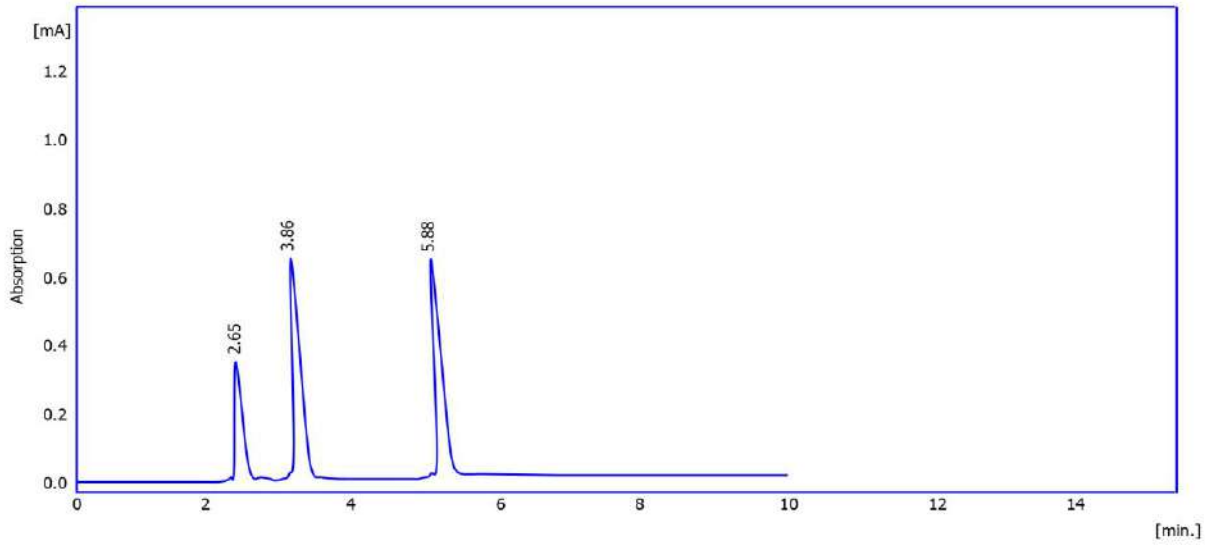
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9480.52	383.00	30.00	30.00	0.15	
2	3.88	18332.05	692.65	40.00	40.00	0.25	
3	5.89	16985.08	580.12	30.00	30.00	0.15	
	Total	44797.58	1679.49	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 7	Amount	0
Sample	: sample 7	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 7)

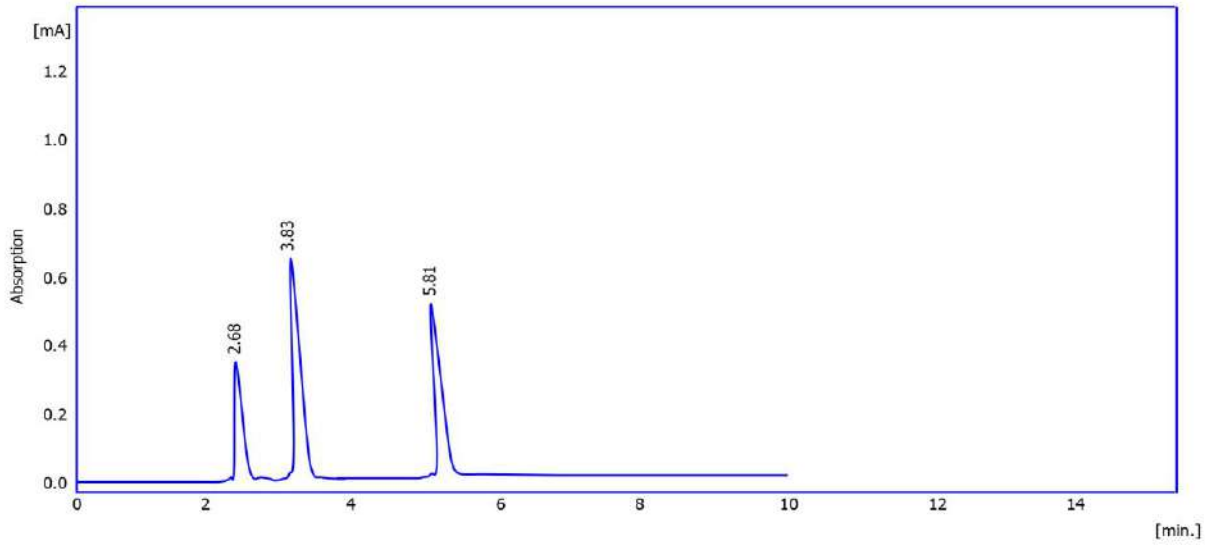
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.65	9415.21	381.65	20.00	20.00	0.15	
2	3.86	18995.01	682.56	40.00	40.00	0.25	
3	5.88	55421.15	680.15	40.00	40.00	0.25	
	Total	83652.25	1744.56	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 8	Amount	0
Sample	: sample 8	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 8)

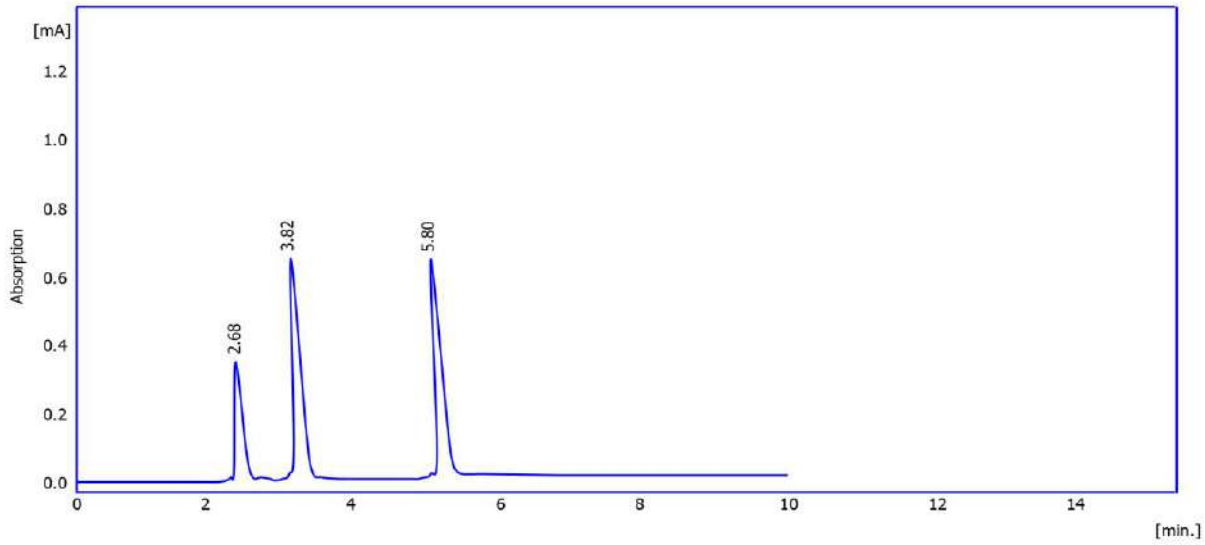
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9799.14	383.65	20.00	20.00	0.15	
2	3.83	19212.00	685.98	40.00	40.00	0.25	
3	5.81	33652.12	584.11	40.00	40.00	0.25	
	Total	62663.02	1532.01	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 9	Amount	0
Sample	: sample 9	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 9)

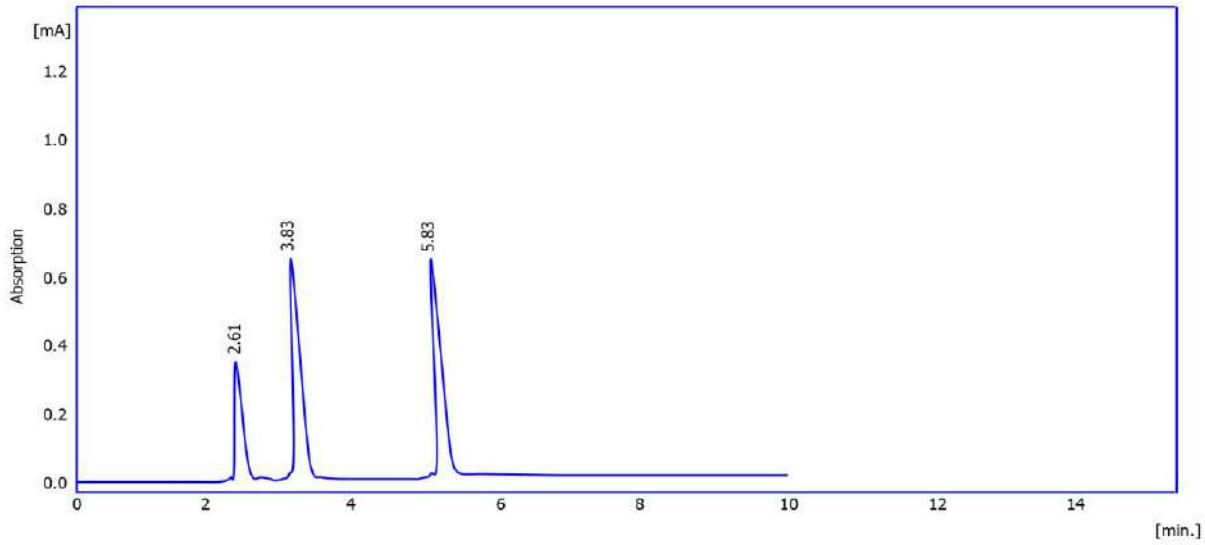
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9855.14	381.14	20.00	20.00	0.15	
2	3.82	19360.15	682.56	40.00	40.00	0.25	
3	5.80	66254.12	680.25	40.00	40.00	0.25	
	Total	95764.28	1744.99	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 11	Amount	0
Sample	: sample 11	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 11)

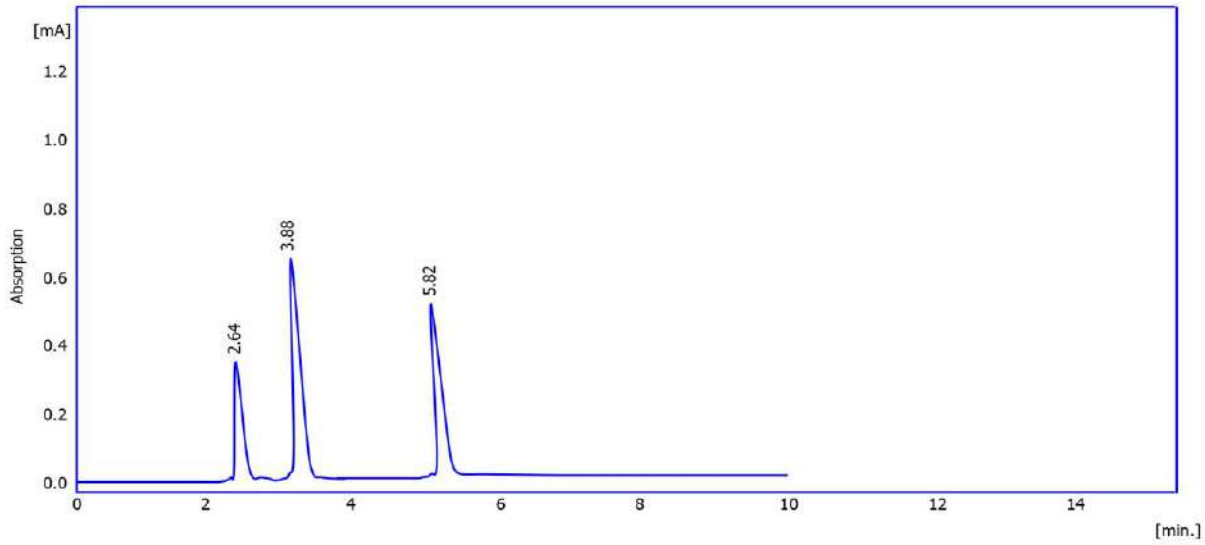
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.61	9652.05	382.15	20.00	20.00	0.15	
2	3.83	19886.14	683.65	40.00	40.00	0.25	
3	5.83	71452.65	689.58	40.00	40.00	0.25	
	Total	100990.36	1762.49	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 12	Amount	0
Sample	: sample 12	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 12)

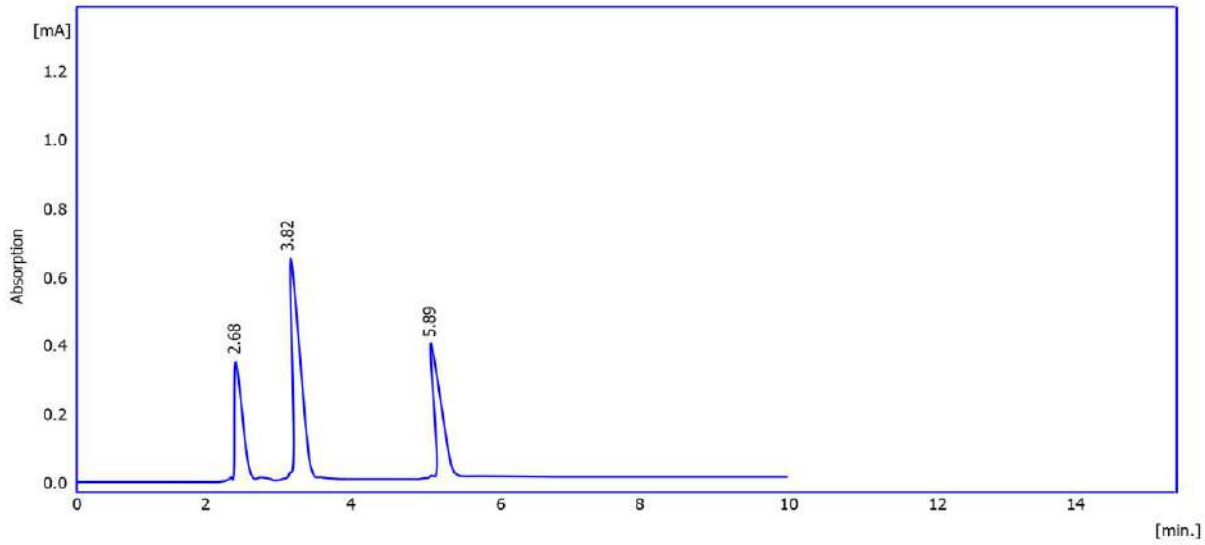
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.64	9854.12	385.11	20.00	20.00	0.15	
2	3.88	19774.17	683.65	40.00	40.00	0.25	
3	5.82	43652.00	589.55	40.00	40.00	0.25	
	Total	73280.49	1546.98	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 14	Amount	0
Sample	: sample 14	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 14)

No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9245.50	384.12	25.00	25.00	0.15	
2	3.82	19792.14	686.59	40.00	40.00	0.25	
3	5.89	9652.00	462.11	35.00	35.00	0.20	
	Total	38689.15	1365.29	100.00	100.00		

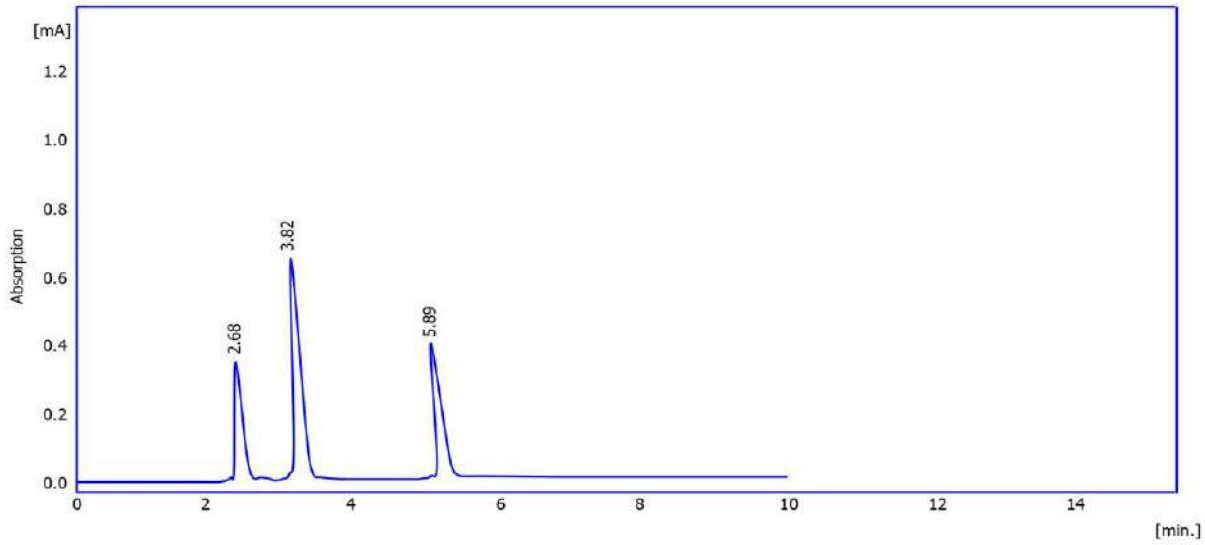
ملحق 15

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 14	Amount	0
Sample	: sample 14	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 14)

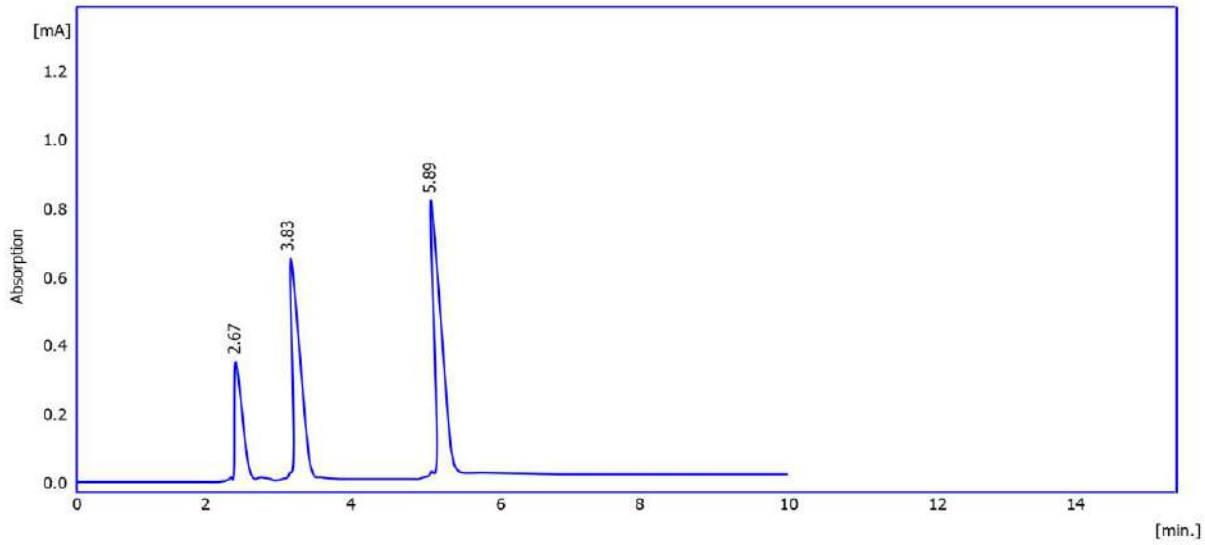
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9245.50	384.12	25.00	25.00	0.15	
2	3.82	19792.14	686.59	40.00	40.00	0.25	
3	5.89	9652.00	462.11	35.00	35.00	0.20	
	Total	38689.15	1365.29	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 15	Amount	0
Sample	: sample 15	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 15)

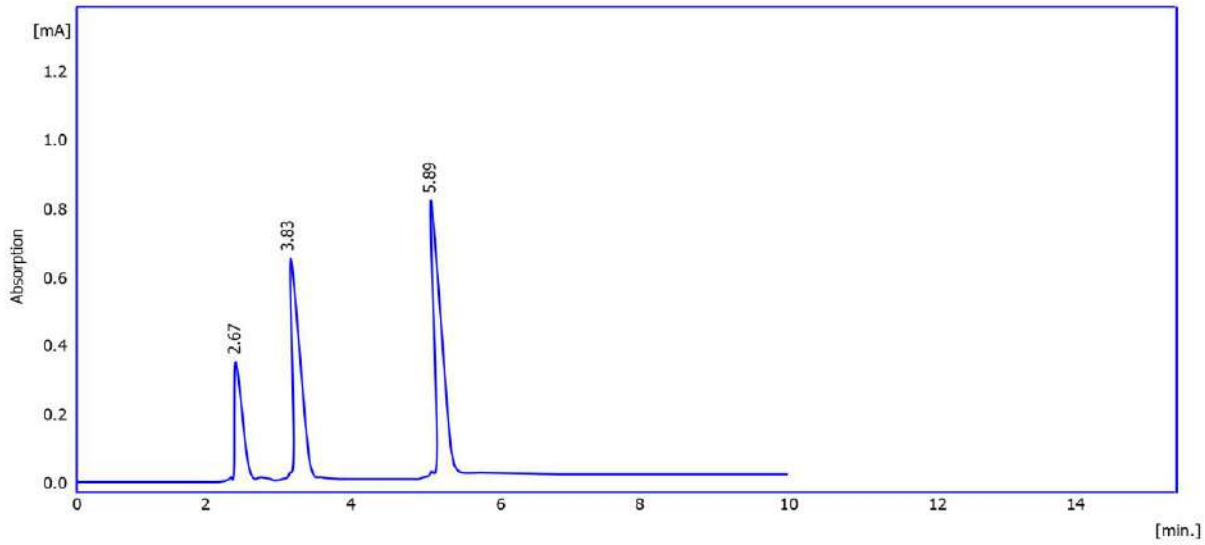
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.67	9652.23	383.65	20.00	20.00	0.15	
2	3.83	19952.14	687.94	30.00	30.00	0.25	
3	5.89	79224.59	815.49	50.00	50.00	0.30	
	Total	108828.95	1905.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 15	Amount	0
Sample	: sample 15	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 15)

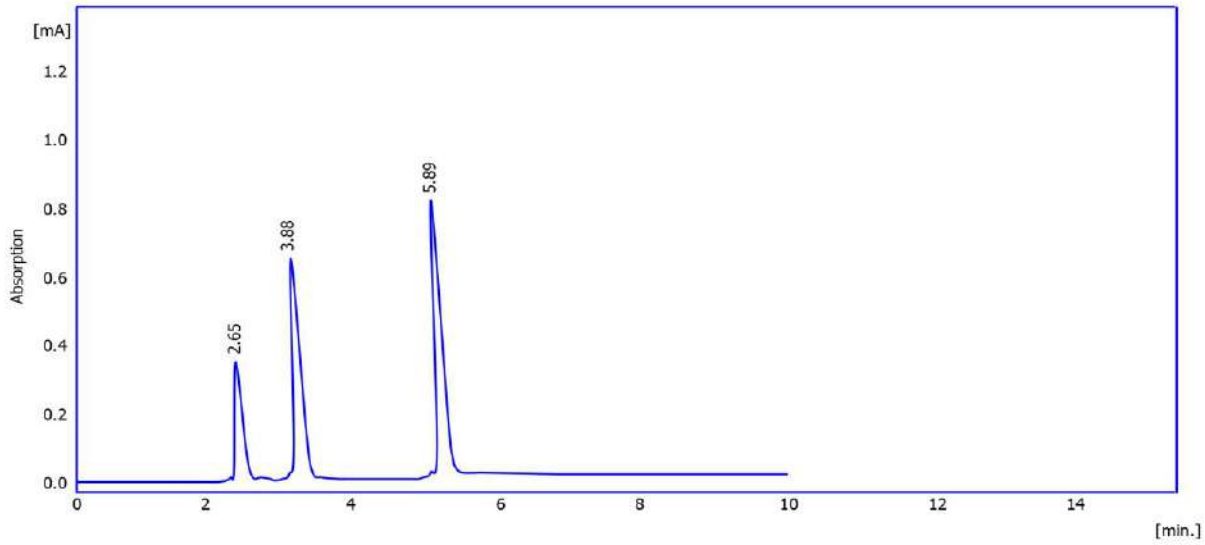
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.67	9652.23	383.65	20.00	20.00	0.15	
2	3.83	19952.14	687.94	30.00	30.00	0.25	
3	5.89	79224.59	815.49	50.00	50.00	0.30	
	Total	108828.95	1905.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 17	Amount	0
Sample	: sample 17	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 17)

No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.65	9845.25	385.64	20.00	20.00	0.15	
2	3.88	19633.23	689.25	30.00	30.00	0.25	
3	5.89	83652.02	814.55	50.00	50.00	0.30	
	Total	113130.59	1903.65	100.00	100.00		

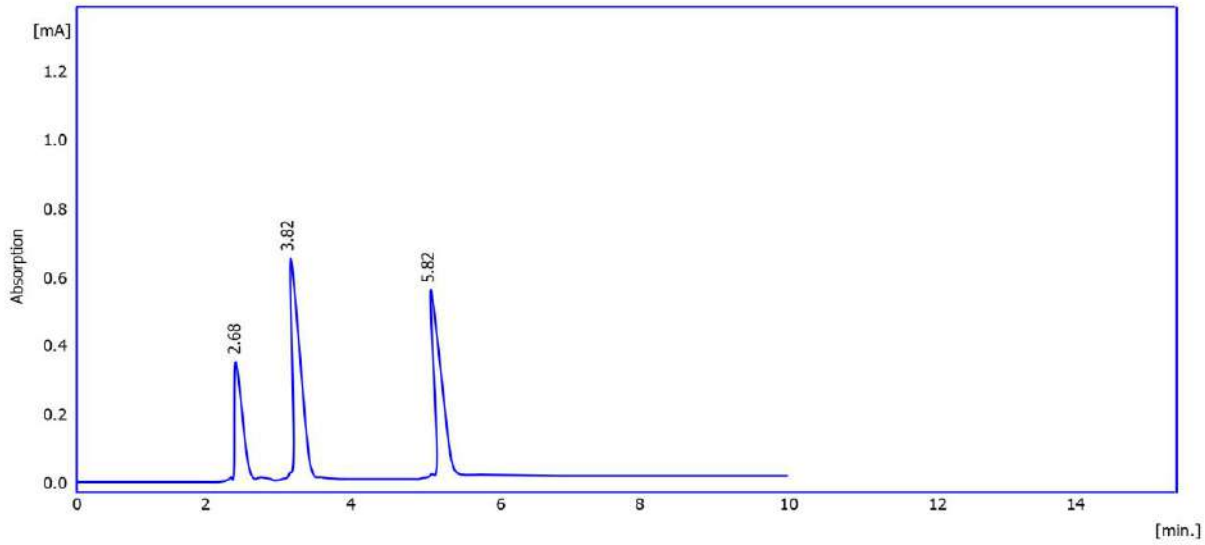
ملحق 19

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 19	Amount	0
Sample	: sample 19	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 19)

No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9621.00	382.66	30.00	30.00	0.15	
2	3.82	19652.14	694.59	40.00	40.00	0.25	
3	5.82	10256.64	583.65	30.00	30.00	0.15	
	Total	35929.49	1661.25	100.00	100.00		

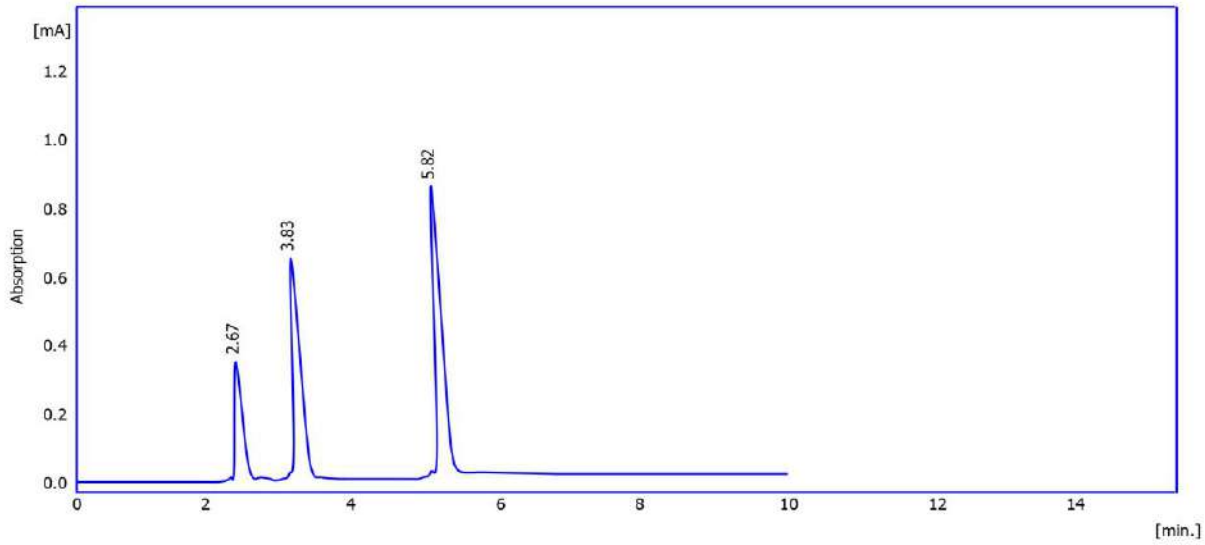
ملحق 20

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 20	Amount	0
Sample	: sample 20	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 20)

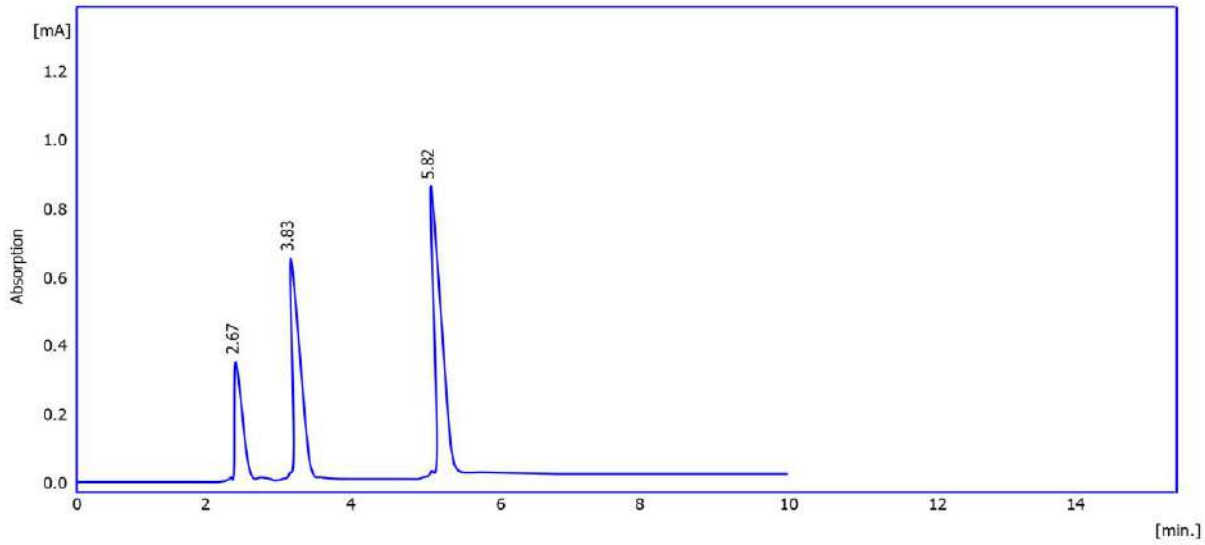
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.67	9745.29	382.12	20.00	20.00	0.15	
2	3.83	19744.08	693.52	35.00	35.00	0.25	
3	5.82	66985.48	820.65	45.00	45.00	0.30	
	Total	96474.58	1896.56	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 20	Amount	0
Sample	: sample 20	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 20)

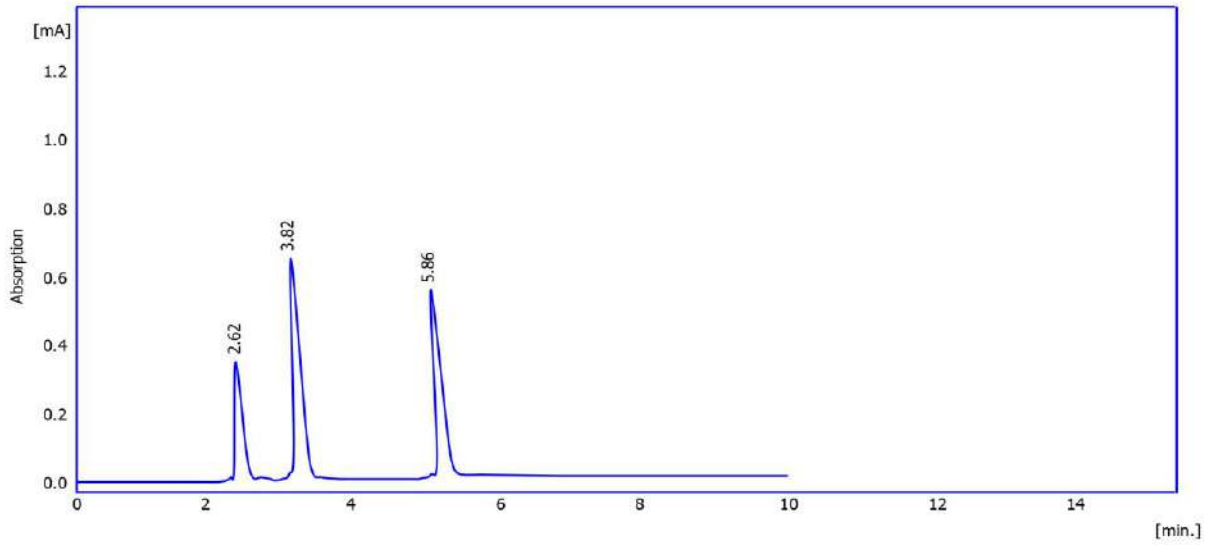
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.67	9745.29	382.12	20.00	20.00	0.15	
2	3.83	19744.08	693.52	35.00	35.00	0.25	
3	5.82	66985.48	820.65	45.00	45.00	0.30	
	Total	96474.58	1896.56	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 21	Amount	0
Sample	: sample 21	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 21)

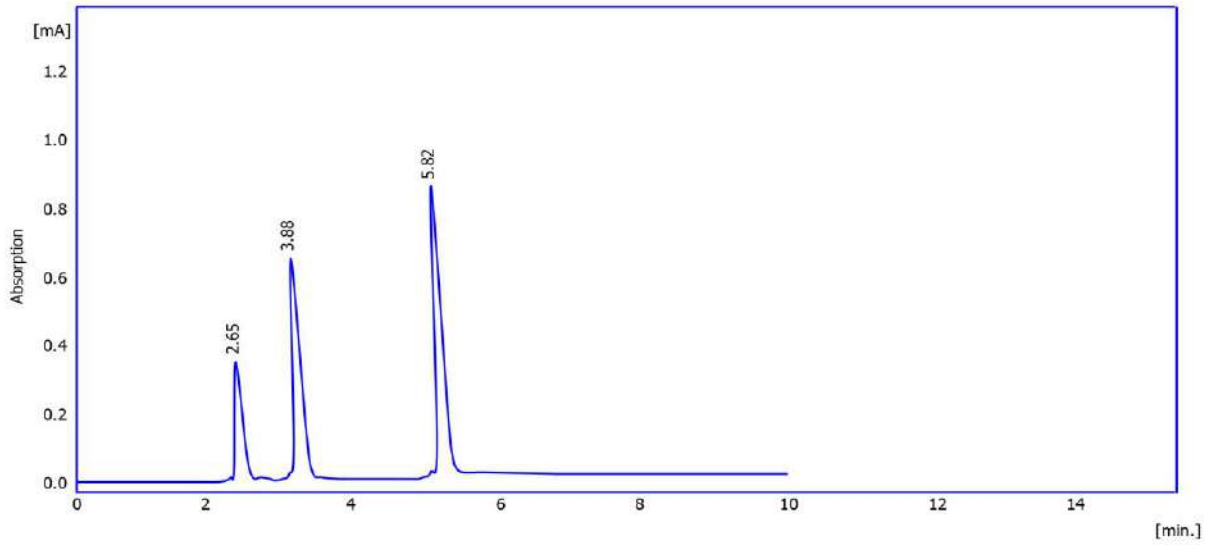
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9745.08	383.66	30.00	30.00	0.15	
2	3.82	19462.15	695.49	40.00	40.00	0.25	
3	5.86	15985.00	585.99	30.00	30.00	0.15	
	Total	45129.32	1669.25	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 22	Amount	0
Sample	: sample 22	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 22)

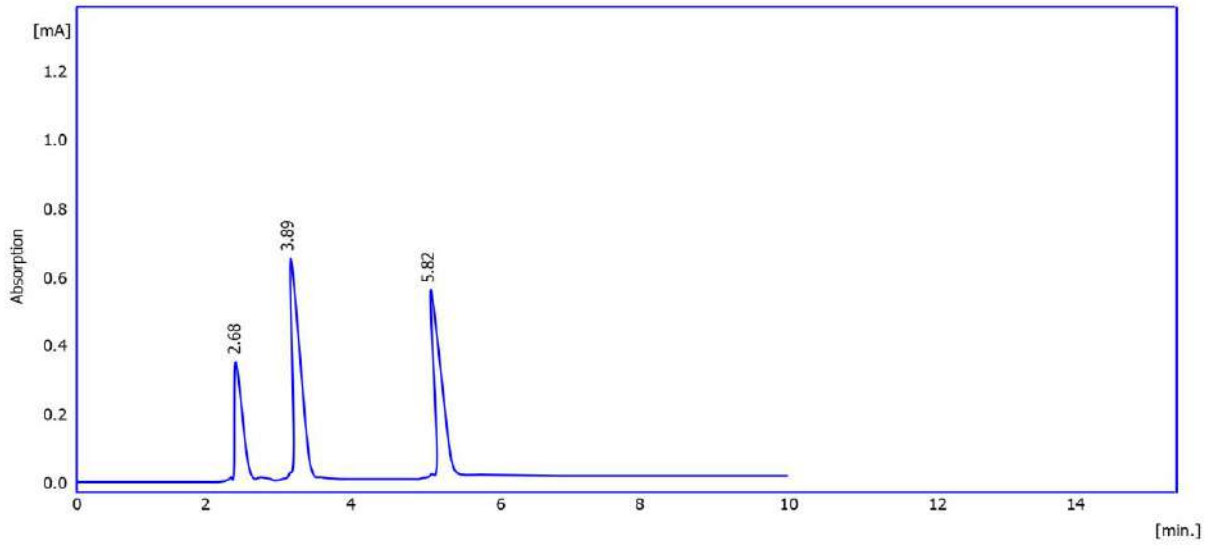
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.65	9962.15	385.64	20.00	20.00	0.15	
2	3.88	18665.08	692.66	35.00	35.00	0.25	
3	5.82	79521.48	825.98	45.00	45.00	0.30	
	Total	108148.95	1911.26	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 23	Amount	0
Sample	: sample 23	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 23)

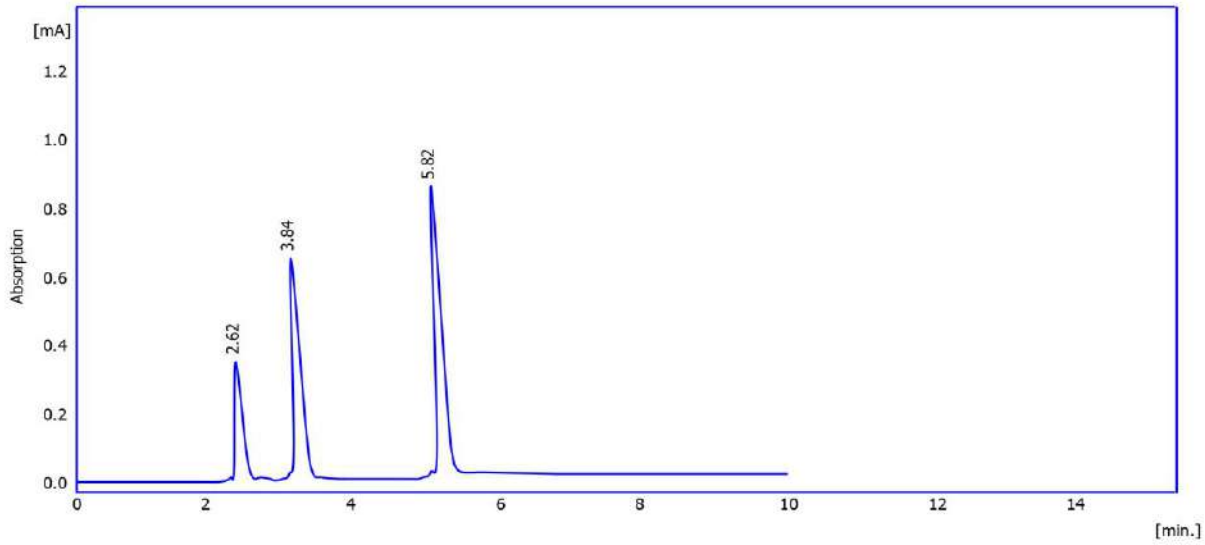
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9865.25	382.46	30.00	30.00	0.15	
2	3.89	19991.25	693.05	40.00	40.00	0.25	
3	5.82	19332.05	584.19	30.00	30.00	0.15	
	Total	49188.26	1671.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 24	Amount	0
Sample	: sample 24	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 24)

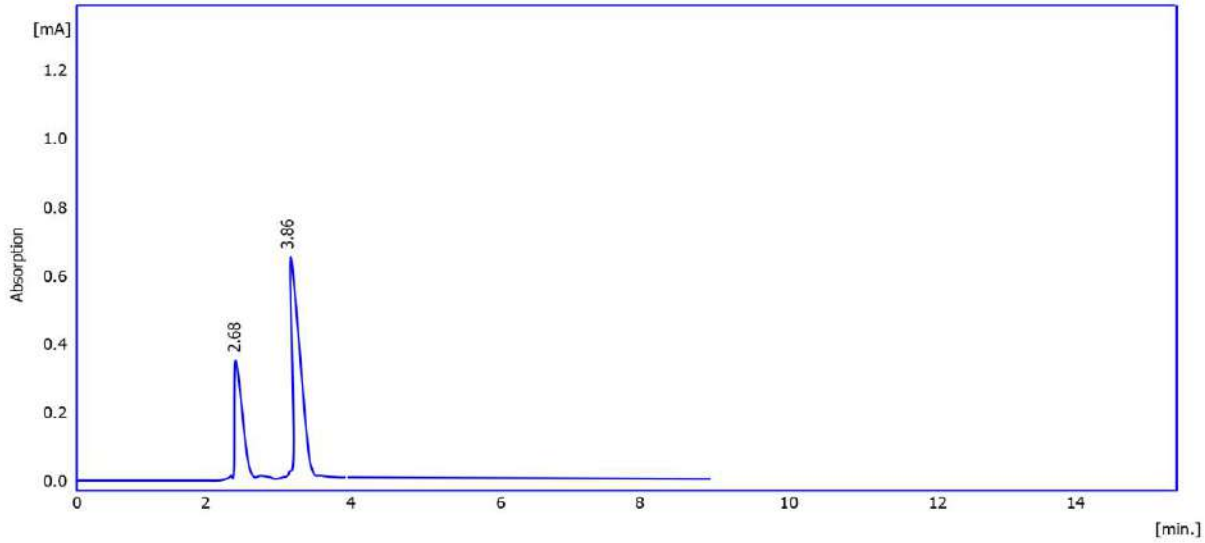
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9832.59	382.49	20.00	20.00	0.15	
2	3.84	19221.58	693.66	35.00	35.00	0.25	
3	5.82	92587.49	825.98	45.00	45.00	0.30	
	Total	121641.59	1933.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 25	Amount	0
Sample	: sample 25	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 25)

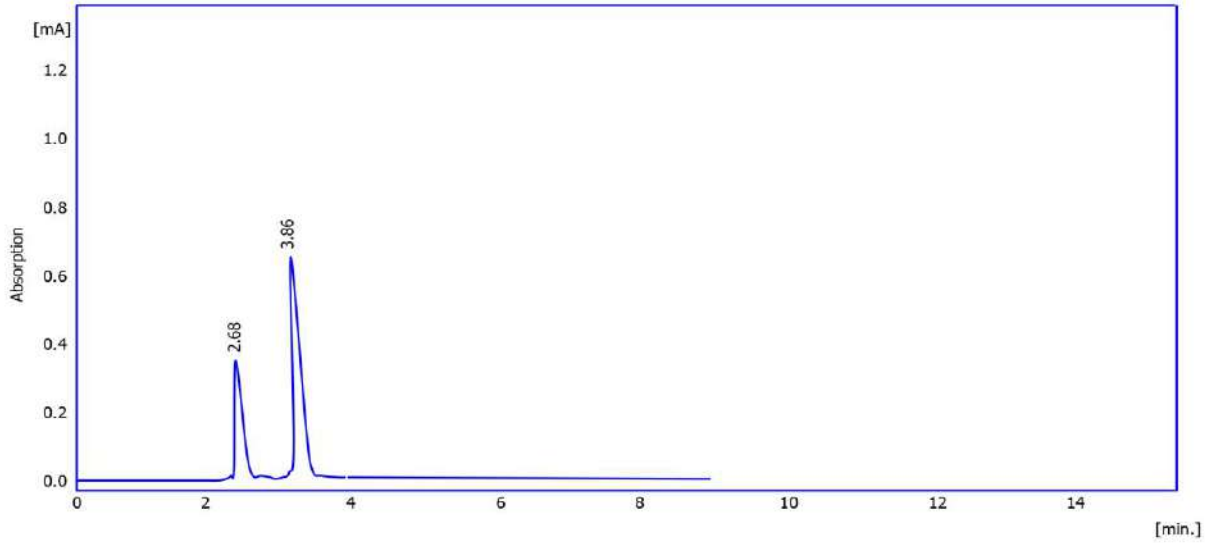
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.68	9854.21	382.22	40.00	40.00	0.15	
2	3.86	18995.05	683.14	60.00	60.00	0.25	
	Total	28849.58	1065.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 25	Amount	0
Sample	: sample 25	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 25)

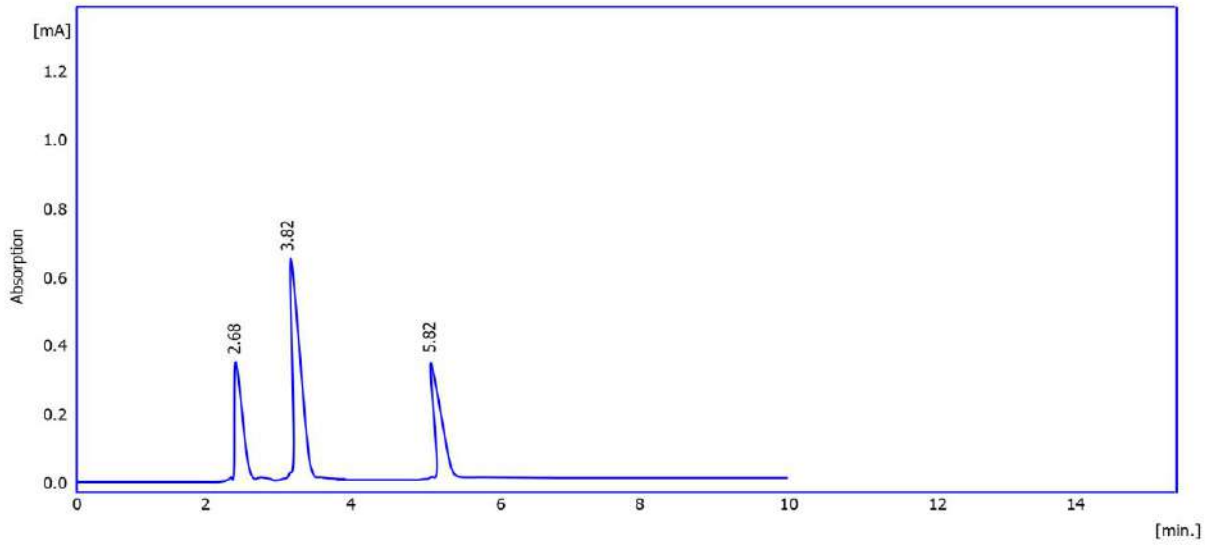
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.68	9854.21	382.22	40.00	40.00	0.15	
2	3.86	18995.05	683.14	60.00	60.00	0.25	
	Total	28849.58	1065.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 26	Amount	0
Sample	: sample 26	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 26)

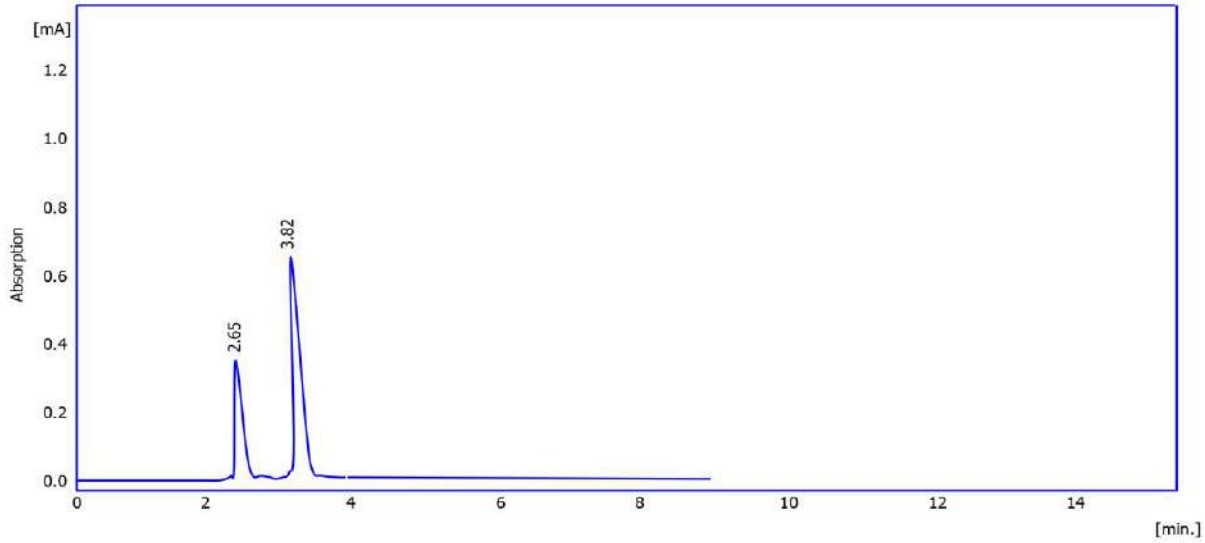
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9458.98	382.22	25.00	25.00	0.15	
2	3.82	19621.49	683.14	45.00	45.00	0.25	
3	5.82	25254.05	362.89	30.00	30.00	0.20	
	Total	54334.59	1281.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 27	Amount	0
Sample	: sample 27	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 27)

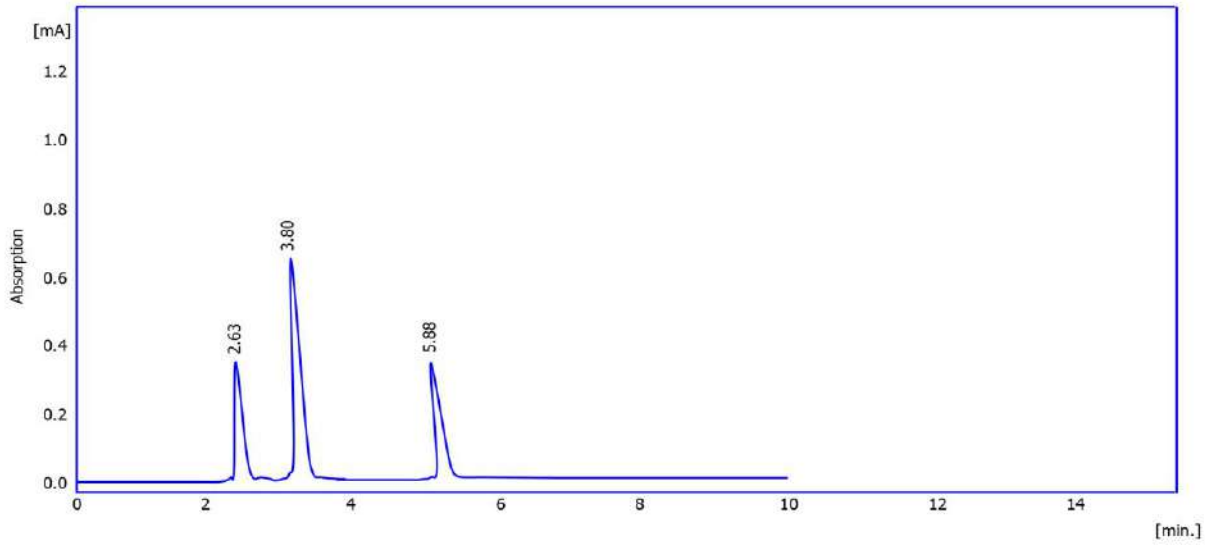
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.65	9621.25	381.25	40.00	40.00	0.15	
2	3.82	19621.45	682.00	60.00	60.00	0.25	
	Total	29247.49	1063.25	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 28	Amount	0
Sample	: sample 28	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 28)

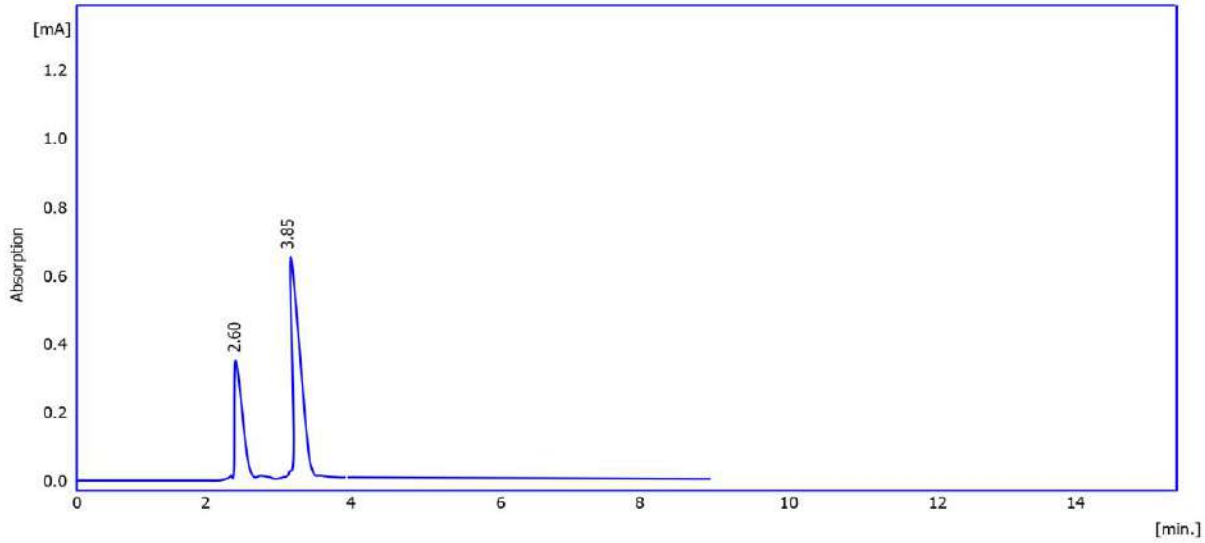
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.63	9325.08	382.22	25.00	25.00	0.15	
2	3.80	19774.15	683.14	45.00	45.00	0.25	
3	5.88	29652.32	362.89	30.00	30.00	0.20	
	Total	58571.55	1281.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 29	Amount	0
Sample	: sample 29	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 29)

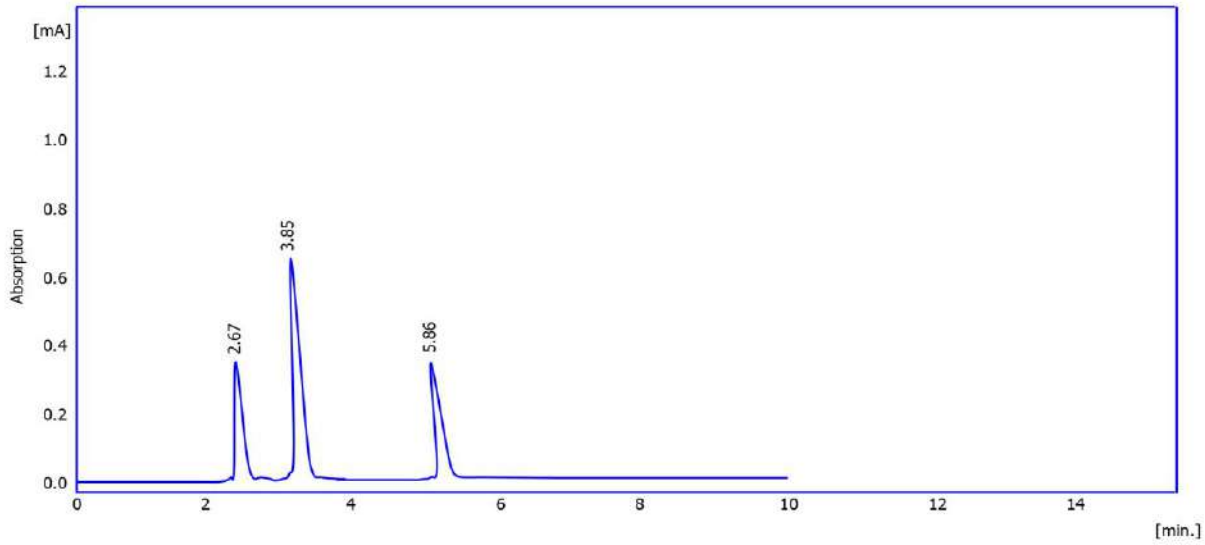
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.60	9145.06	381.14	40.00	40.00	0.15	
2	3.85	19552.14	682.41	60.00	60.00	0.25	
	Total	28697.20	1063.55	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 30	Amount	0
Sample	: sample 30	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 30)

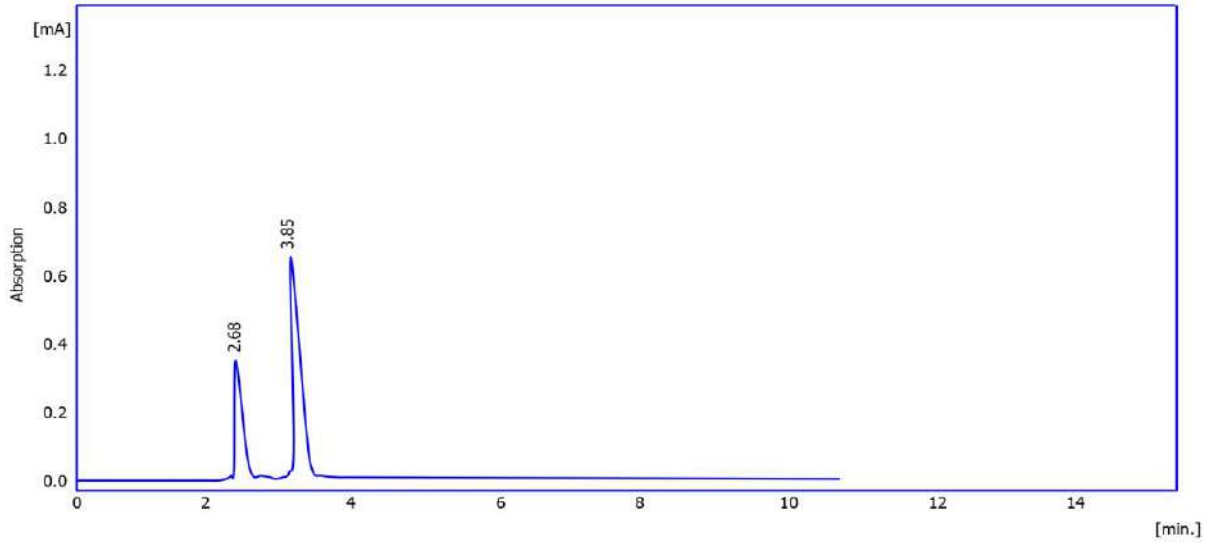
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.67	9598.08	383.65	25.00	25.00	0.15	
2	3.85	19995.25	688.59	45.00	45.00	0.25	
3	5.86	32652.12	363.66	30.00	30.00	0.20	
	Total	62245.45	1289.45	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 31	Amount	0
Sample	: sample 31	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 31)

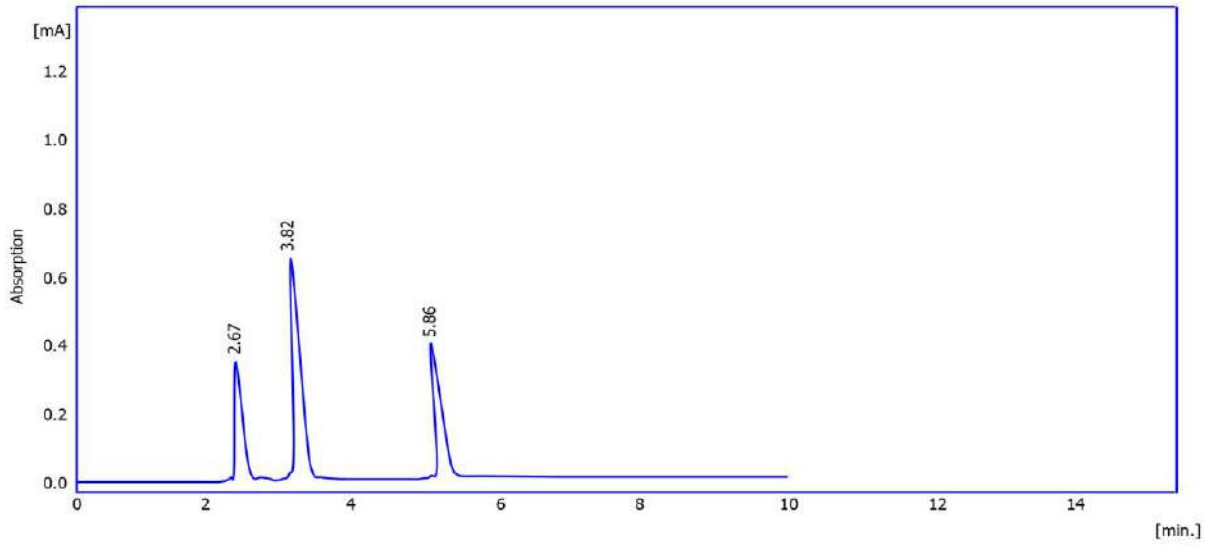
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.68	9621.05	382.12	40.00	40.00	0.15	
2	3.85	19554.19	681.05	60.00	60.00	0.25	
	Total	29175.49	1125.17	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 32	Amount	0
Sample	: sample 32	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



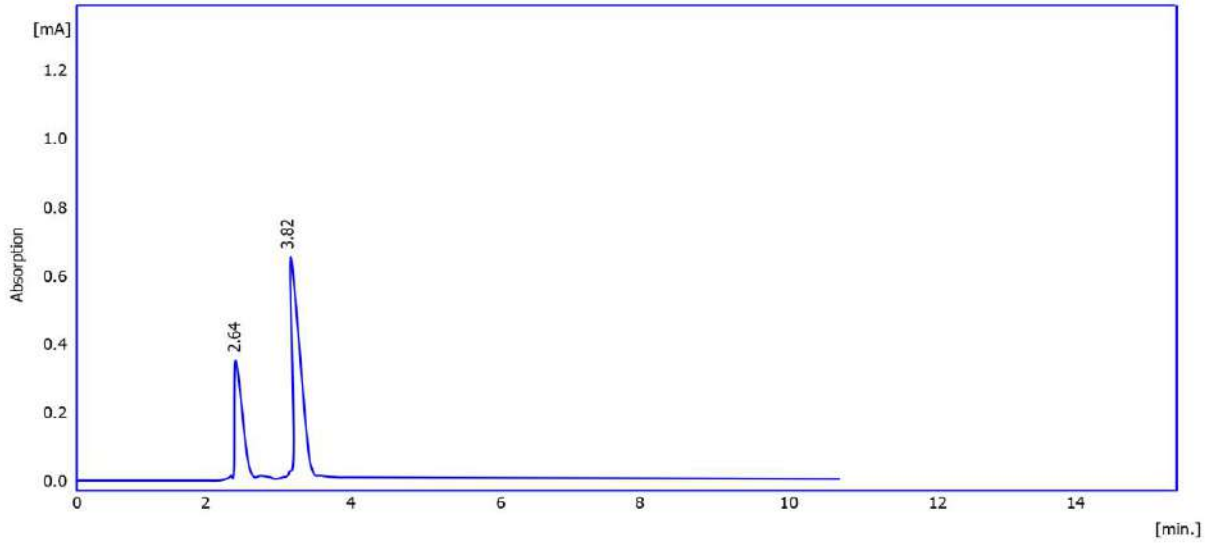
Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 32)

No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.67	9584.15	383.65	25.00	25.00	0.15	
2	3.82	19332.25	688.44	40.00	40.00	0.25	
3	5.86	33521.56	465.98	35.00	35.00	0.20	
	Total	62437.58	1376.59	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 33	Amount	0
Sample	: sample 33	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1
Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 33)

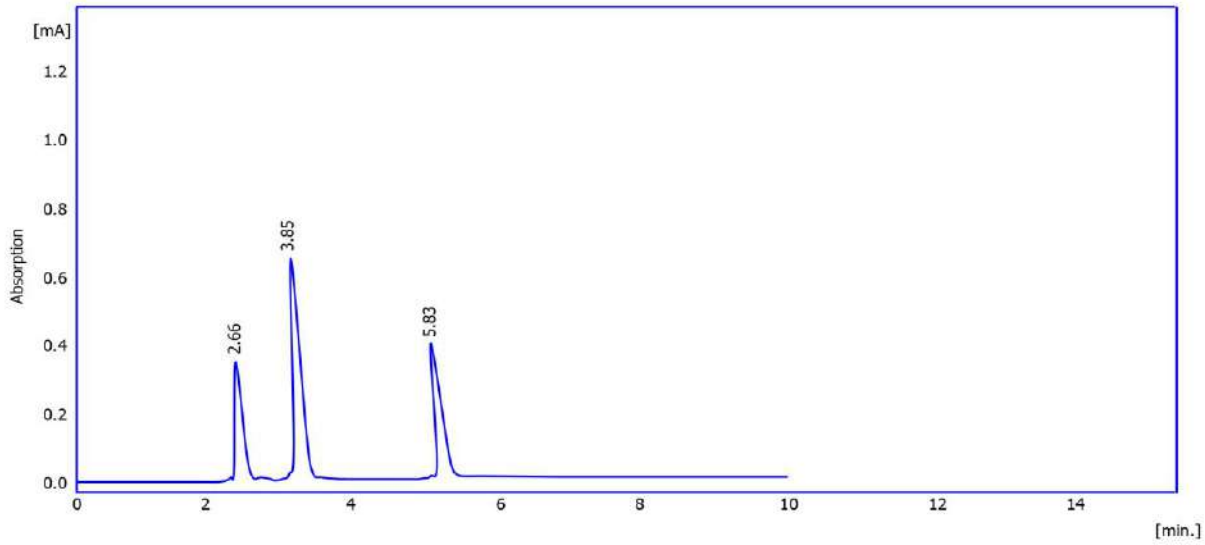
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.68	9452.25	383.65	40.00	40.00	0.15	
2	3.85	19966.05	682.00	60.00	60.00	0.25	
	Total	29418.59	1125.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 34	Amount	0
Sample	: sample 34	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 34)

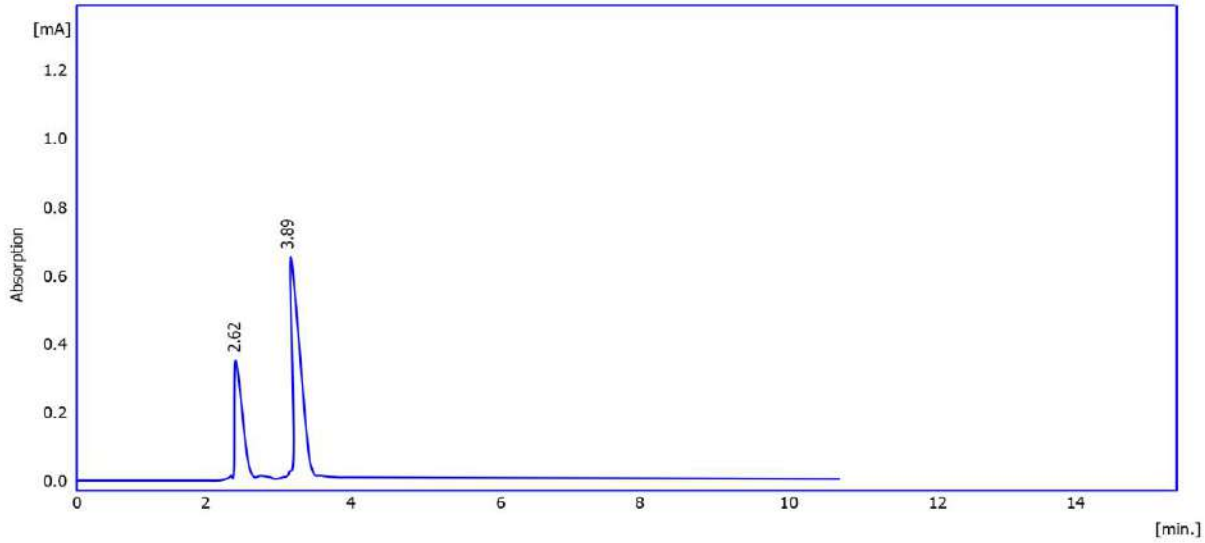
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.66	9620.12	385.44	25.00	25.00	0.15	
2	3.85	19865.28	689.58	40.00	40.00	0.25	
3	5.83	36598.08	463.25	35.00	35.00	0.20	
	Total	66083.19	1373.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 35	Amount	0
Sample	: sample 35	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 35)

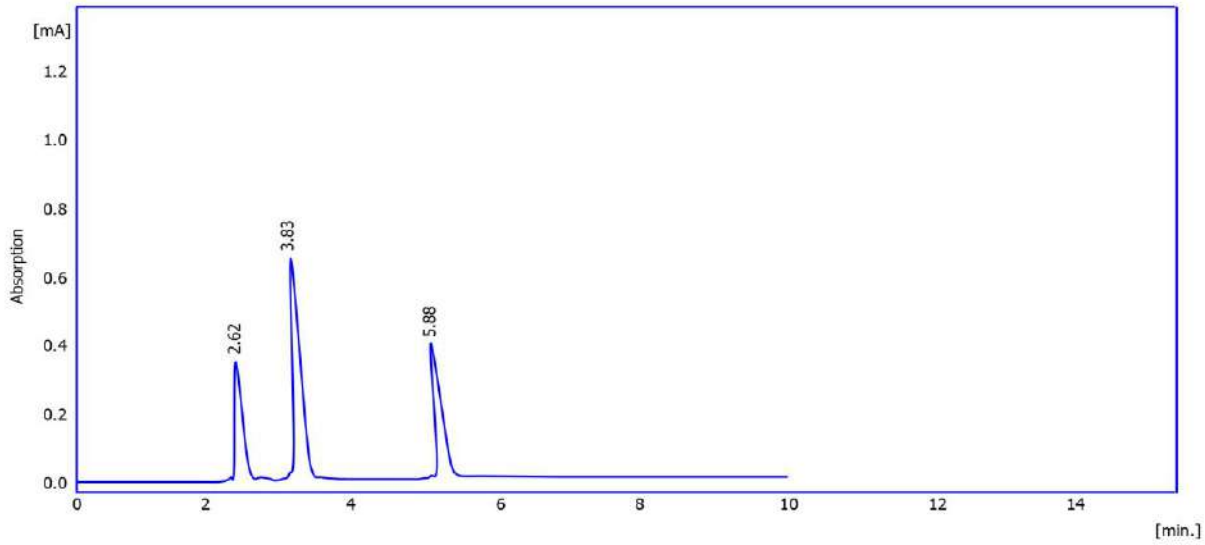
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.62	9520.16	381.25	40.00	40.00	0.15	
2	3.89	19652.14	680.14	60.00	60.00	0.25	
	Total	29172.56	1061.39	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 36	Amount	0
Sample	: sample 36	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



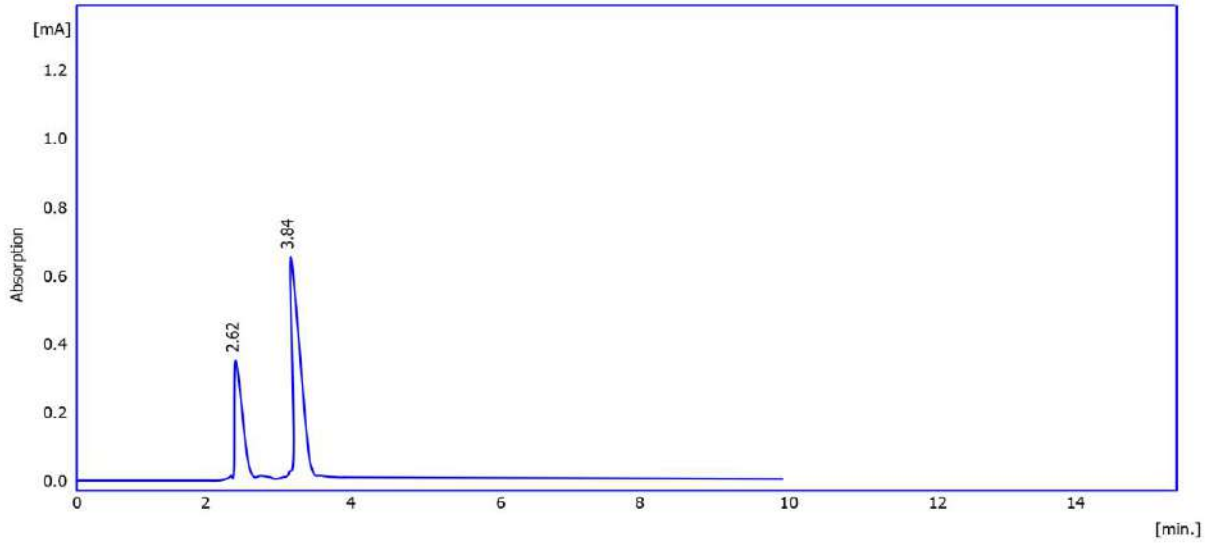
Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 36)

No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9214.59	382.65	25.00	25.00	0.15	
2	3.83	19320.22	681.49	40.00	40.00	0.25	
3	5.88	39665.25	465.99	35.00	35.00	0.20	
	Total	68200.19	1375.28	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 37	Amount	0
Sample	: sample 37	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1
Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 37)

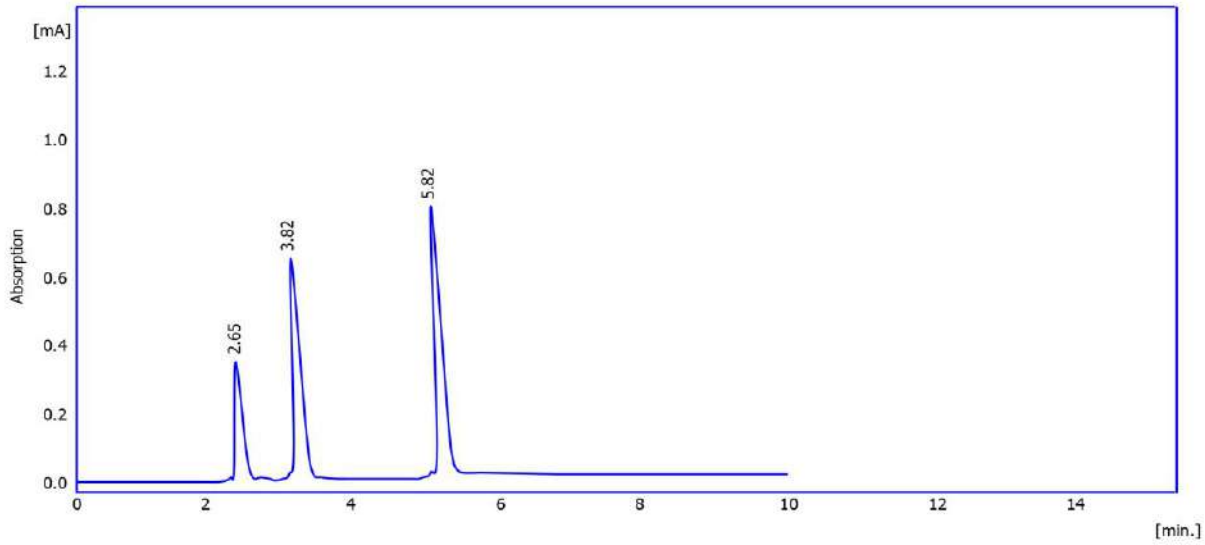
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.62	9832.01	382.49	40.00	40.00	0.15	
2	3.84	19221.12	693.66	60.00	60.00	0.25	
	Total	29054.13	1933.65	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 38	Amount	0
Sample	: sample 38	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 38)

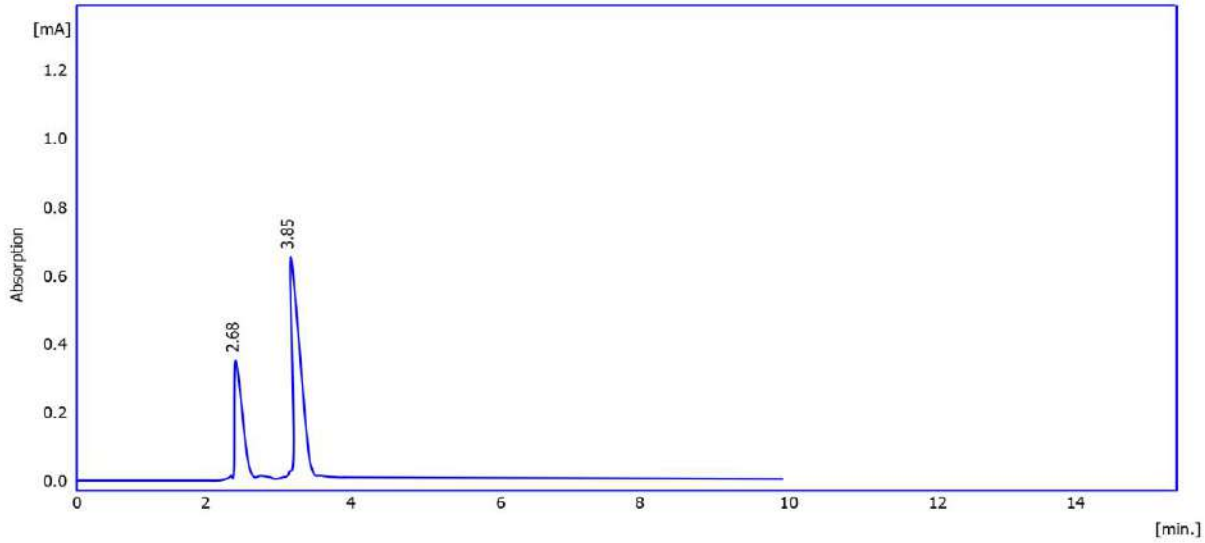
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.65	9412.56	382.45	20.00	20.00	0.15	
2	3.82	19224.19	694.11	30.00	30.00	0.25	
3	5.82	60213.56	800.25	50.00	50.00	0.35	
	Total	88850.31	1871.58	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 39	Amount	0
Sample	: sample 39	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 39)

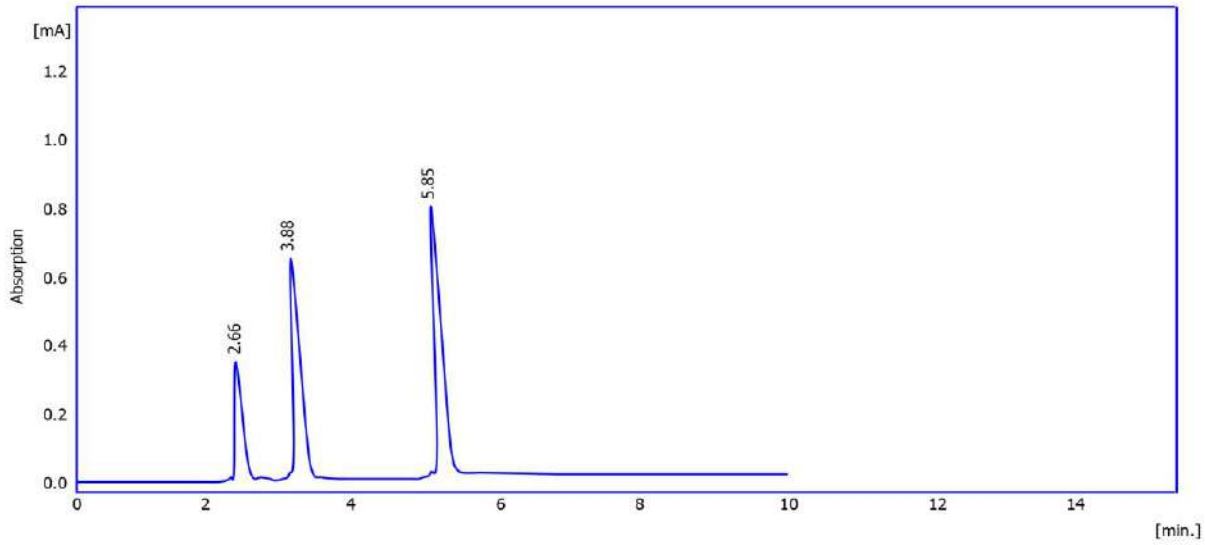
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.68	9720.15	381.05	40.00	40.00	0.15	
2	3.85	18145.10	692.11	60.00	60.00	0.25	
	Total	25214.25	1933.16	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 40	Amount	0
Sample	: sample 40	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 40)

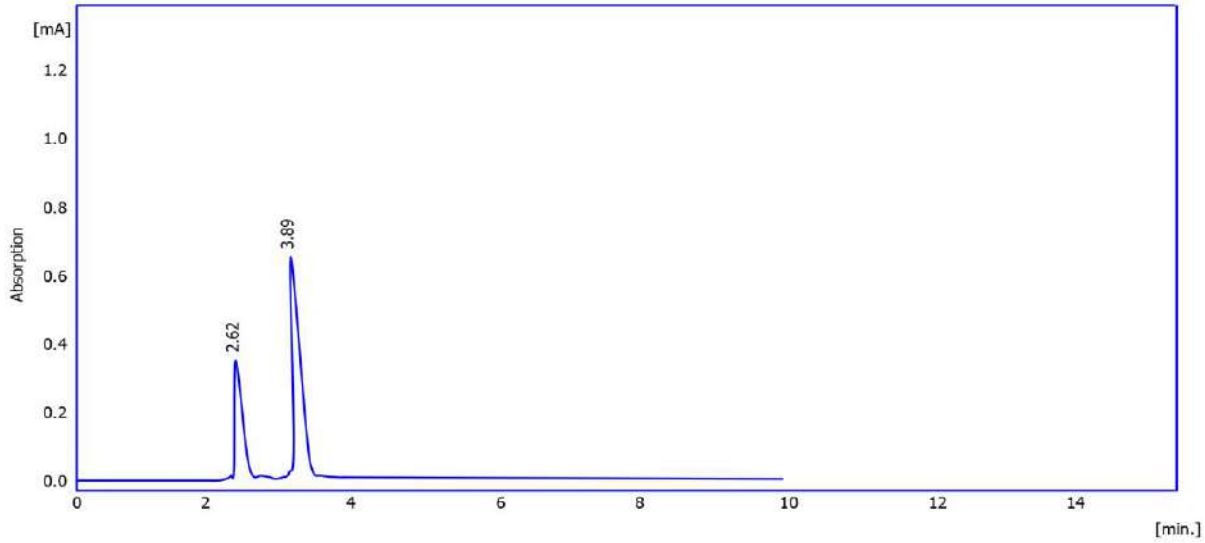
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.66	9620.14	382.84	20.00	20.00	0.15	
2	3.88	19858.66	694.22	30.00	30.00	0.25	
3	5.85	64221.56	800.12	50.00	50.00	0.35	
	Total	93700.25	1871.99	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 41	Amount	0
Sample	: sample 41	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 41)

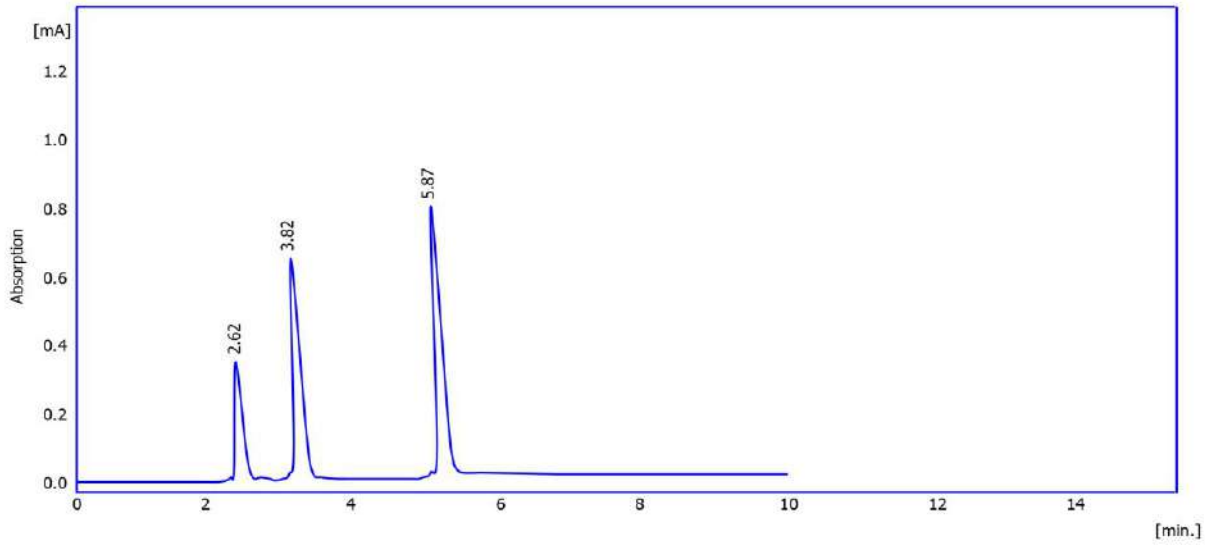
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W05 [min]	Compound Name
1	2.62	9542.08	381.33	40.00	40.00	0.15	
2	3.89	19332.16	692.05	60.00	60.00	0.25	
	Total	28874.24	1933.38	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 42	Amount	0
Sample	: sample 42	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 42)

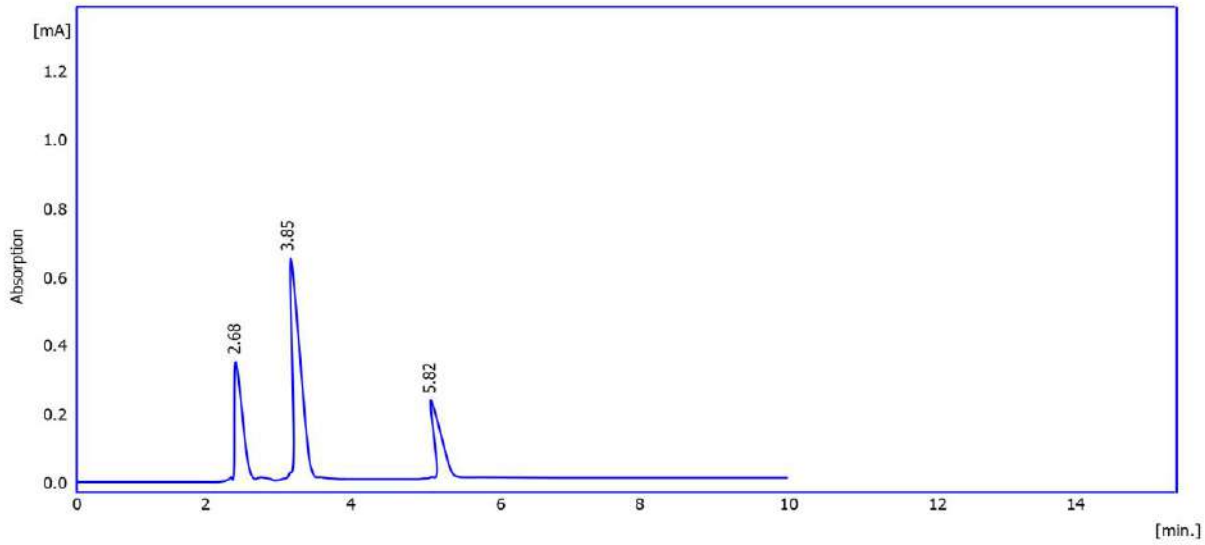
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9485.11	383.15	20.00	20.00	0.15	
2	3.82	19320.15	695.22	30.00	30.00	0.25	
3	5.87	71256.00	802.14	50.00	50.00	0.35	
	Total	100061.49	1878.49	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 44	Amount	0
Sample	: sample 44	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 44)

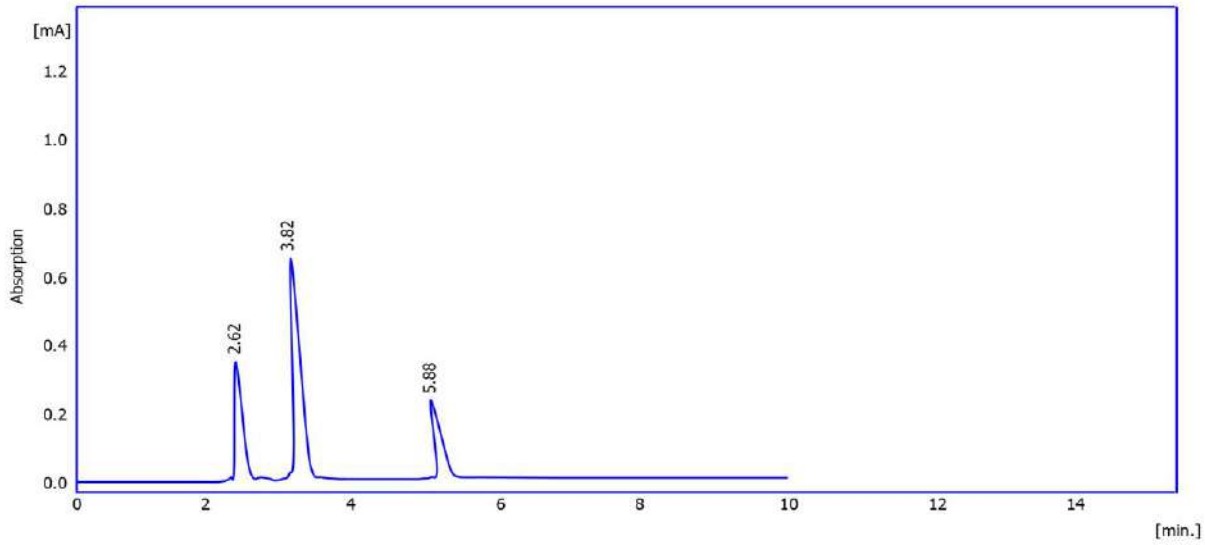
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9365.02	380.15	30.00	30.00	0.15	
2	3.85	19712.66	682.66	50.00	50.00	0.25	
3	5.82	9825.23	251.46	20.00	20.00	0.15	
	Total	38902.56	1314.59	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 46	Amount	0
Sample	: sample 46	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 46)

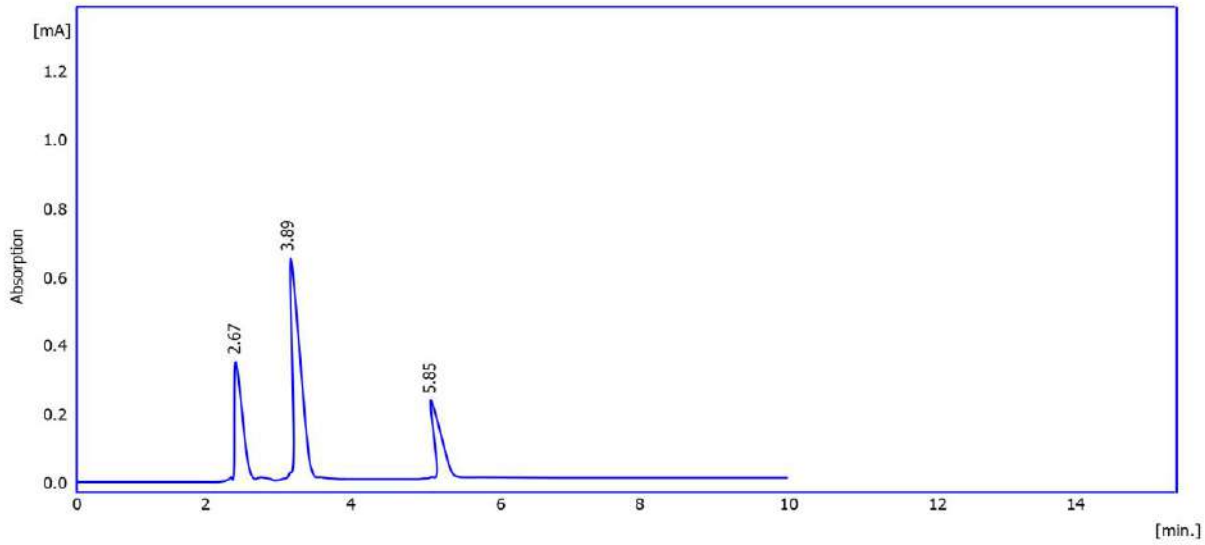
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9854.15	381.45	30.00	30.00	0.15	
2	3.82	19621.46	683.22	50.00	50.00	0.25	
3	5.88	12352.11	252.55	20.00	20.00	0.15	
	Total	41826.59	1318.12	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 48	Amount	0
Sample	: sample 48	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 48)

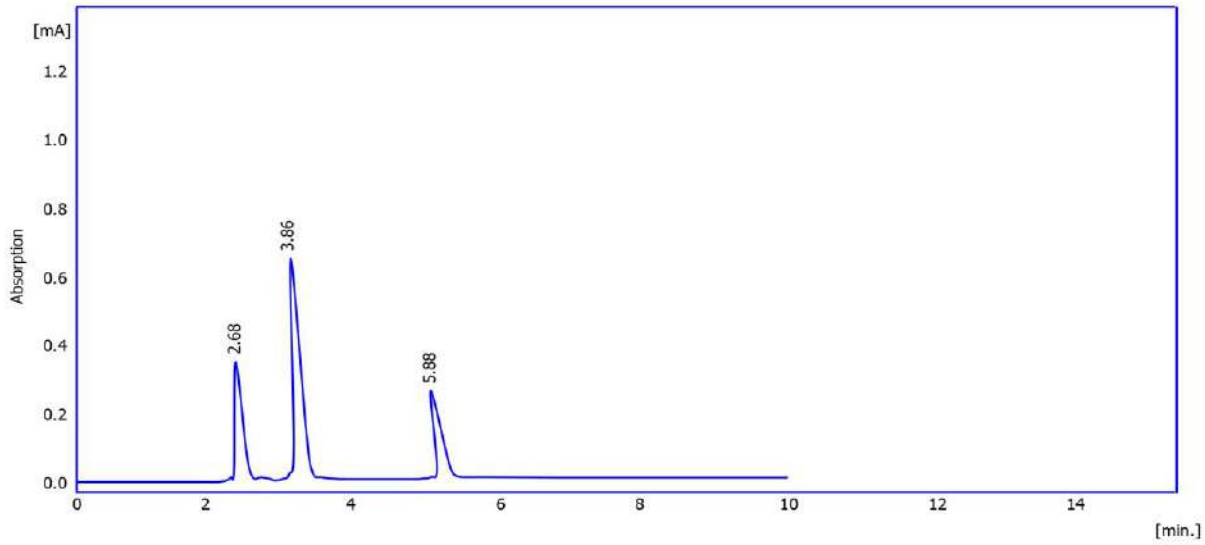
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.67	9254.05	381.12	30.00	30.00	0.15	
2	3.89	18945.21	683.85	50.00	50.00	0.25	
3	5.85	15985.66	252.98	20.00	20.00	0.15	
	Total	44184.59	1319.55	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 50	Amount	0
Sample	: sample 50	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 50)

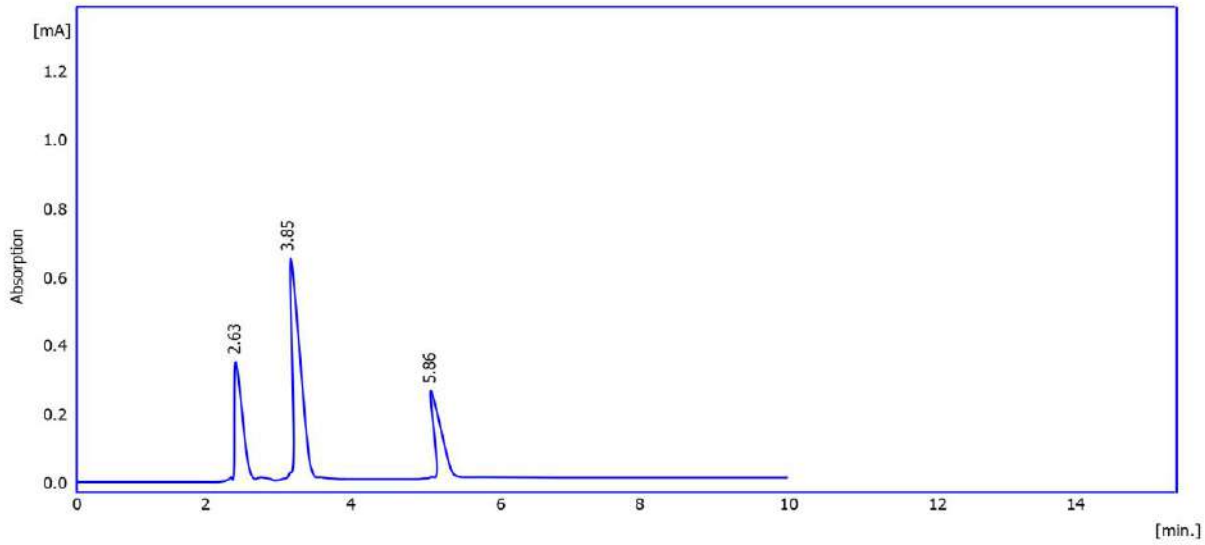
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9632.05	381.55	35.00	35.00	0.15	
2	3.86	19441.25	683.65	45.00	45.00	0.25	
3	5.88	5621.05	241.56	20.00	20.00	0.10	
	Total	34694.58	1306.73	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 52	Amount	0
Sample	: sample 52	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 52)

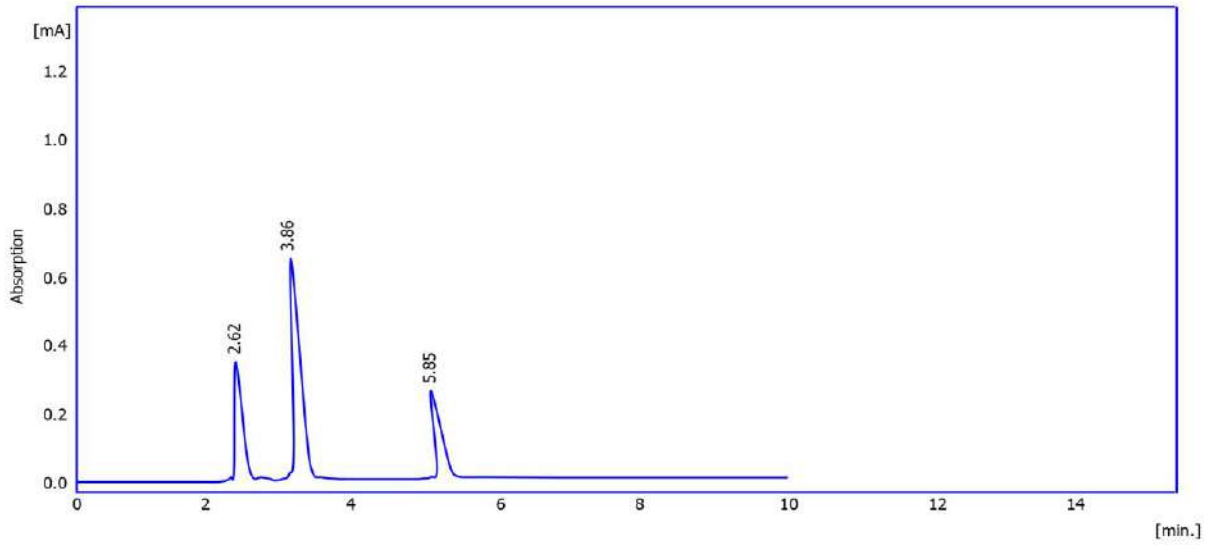
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.63	9785.64	381.15	35.00	35.00	0.15	
2	3.85	19621.25	683.85	45.00	45.00	0.25	
3	5.86	7854.08	241.66	20.00	20.00	0.10	
	Total	37260.15	1307.98	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 54	Amount	0
Sample	: sample 54	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 54)

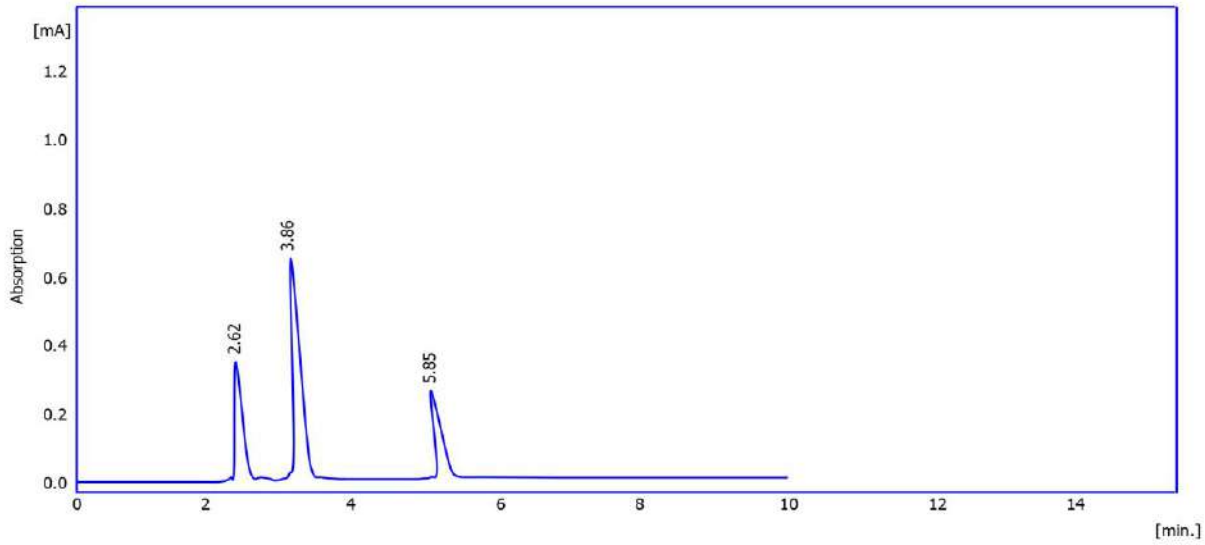
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9721.00	382.65	35.00	35.00	0.15	
2	3.86	19965.21	684.11	45.00	45.00	0.25	
3	5.85	9652.00	242.65	20.00	20.00	0.10	
	Total	39338.58	1312.99	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 54	Amount	0
Sample	: sample 54	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 54)

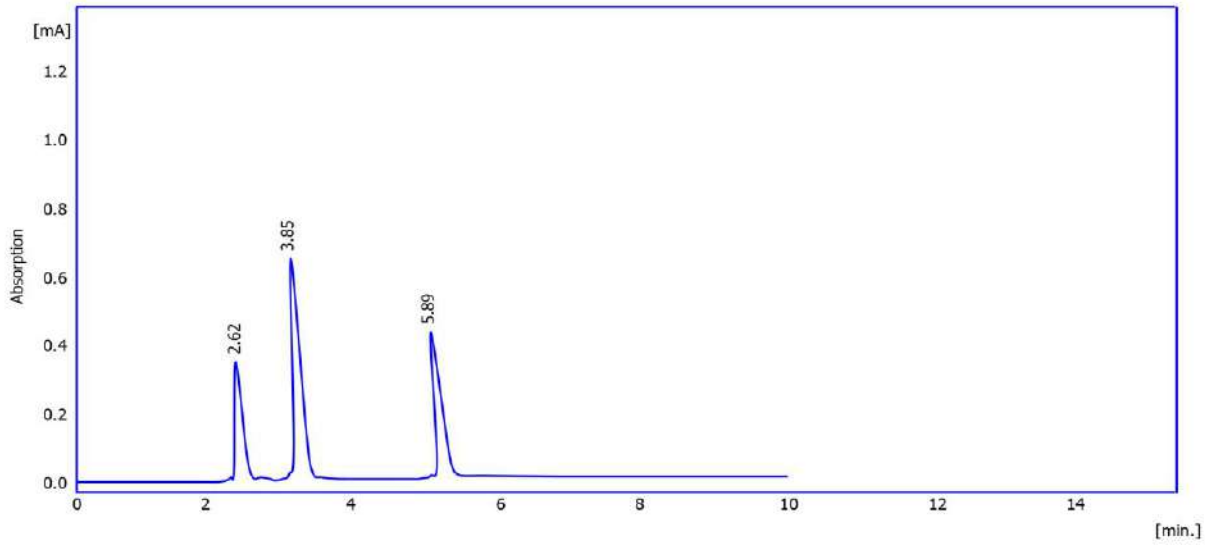
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9721.00	382.65	35.00	35.00	0.15	
2	3.86	19965.21	684.11	45.00	45.00	0.25	
3	5.85	9652.00	242.65	20.00	20.00	0.10	
	Total	39338.58	1312.99	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 56	Amount	0
Sample	: sample 56	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 56)

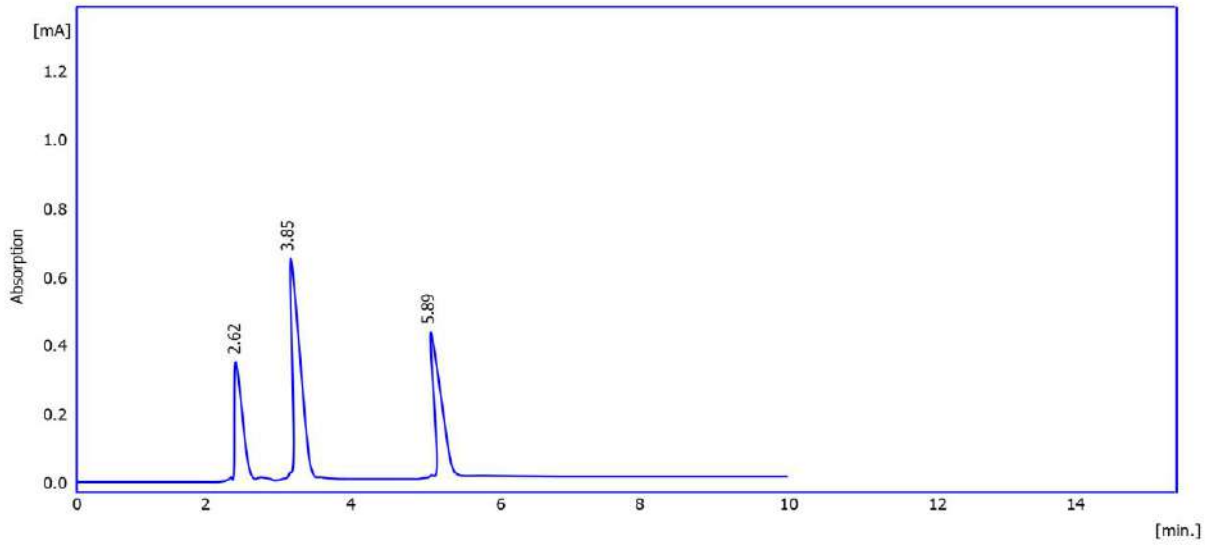
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9410.23	380.15	25.00	25.00	0.15	
2	3.85	18441.25	691.55	40.00	40.00	0.25	
3	5.89	33256.01	410.23	35.00	35.00	0.25	
	Total	61107.49	1481.93	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 56	Amount	0
Sample	: sample 56	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 56)

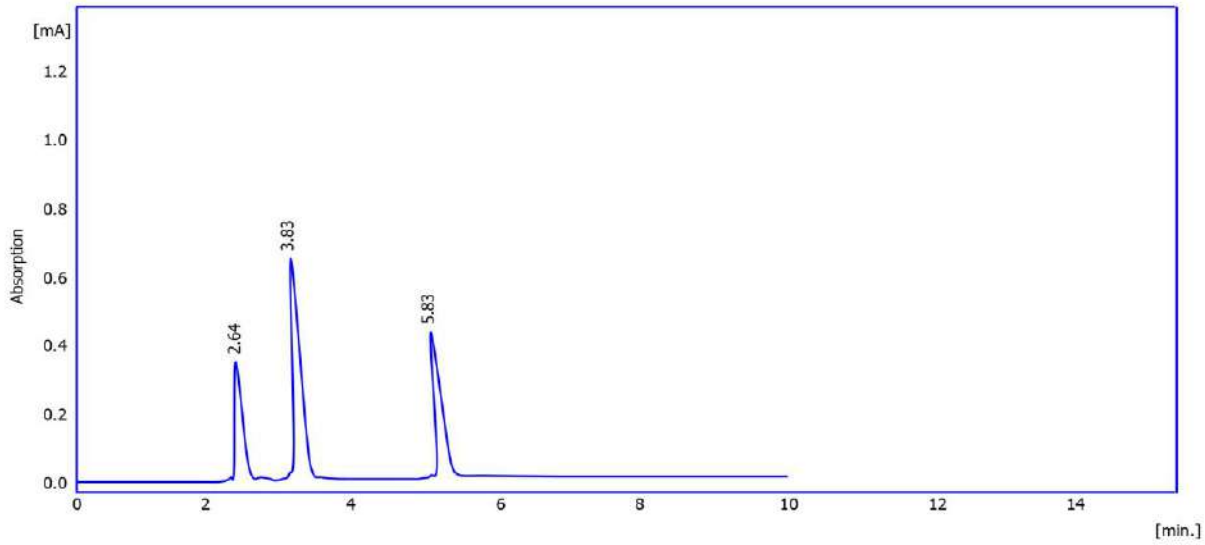
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9410.23	380.15	25.00	25.00	0.15	
2	3.85	18441.25	691.55	40.00	40.00	0.25	
3	5.89	33256.01	410.23	35.00	35.00	0.25	
	Total	61107.49	1481.93	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 58	Amount	0
Sample	: sample 58	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 58)

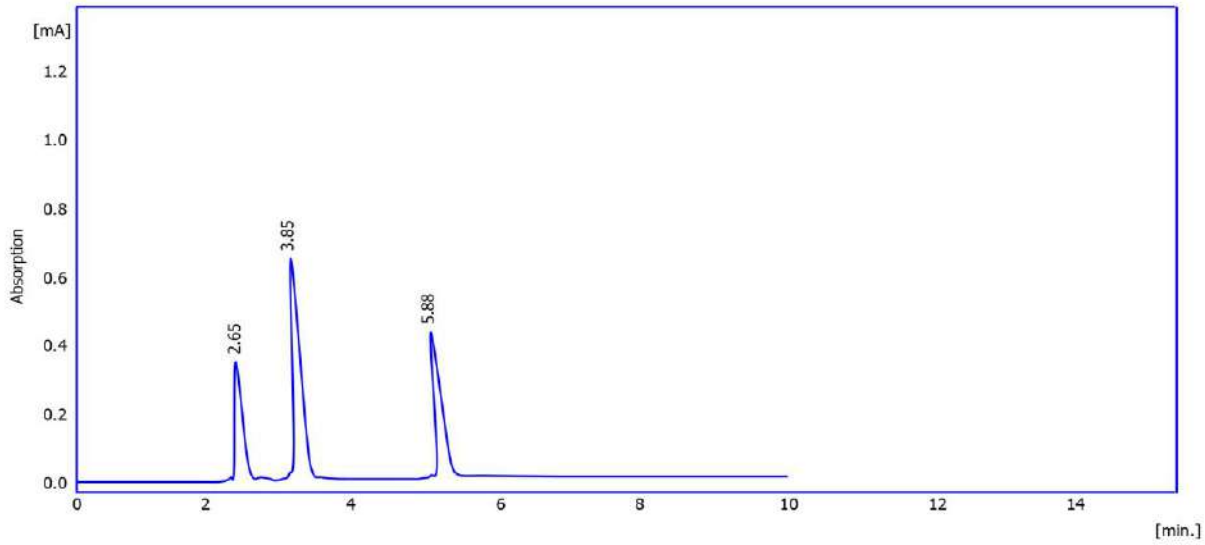
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.64	9821.44	382.46	25.00	25.00	0.15	
2	3.83	19112.05	693.52	40.00	40.00	0.25	
3	5.83	39621.00	415.00	35.00	35.00	0.25	
	Total	68554.79	1489.48	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 60	Amount	0
Sample	: sample 60	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 60)

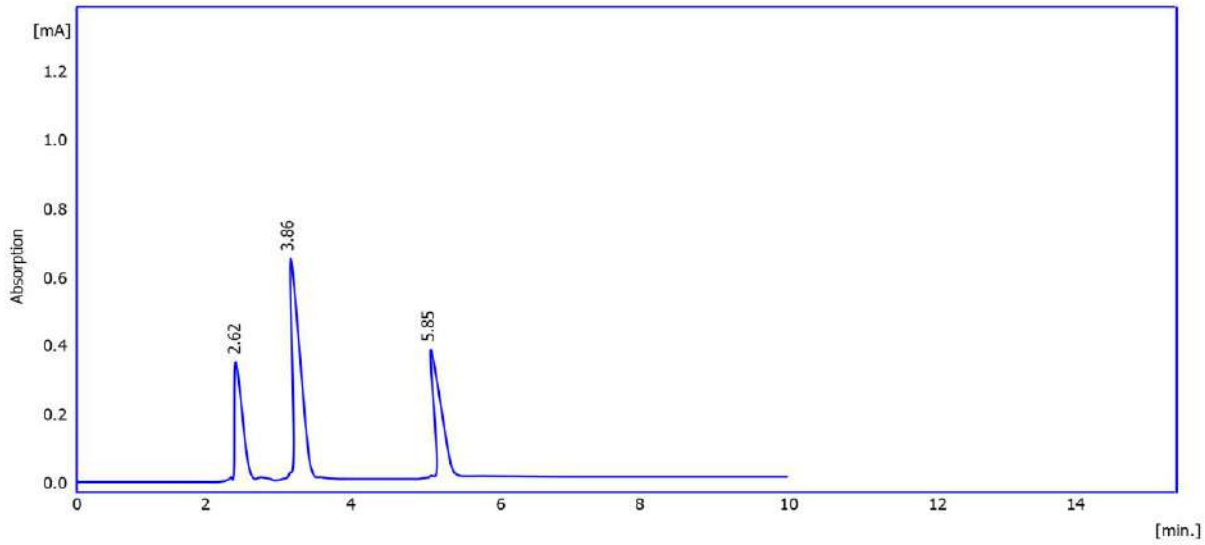
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.65	9455.12	383.05	25.00	25.00	0.15	
2	3.85	19256.08	691.46	40.00	40.00	0.25	
3	5.88	43652.22	412.51	35.00	35.00	0.25	
	Total	72363.43	1492.66	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 74	Amount	0
Sample	: sample 74	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 74)

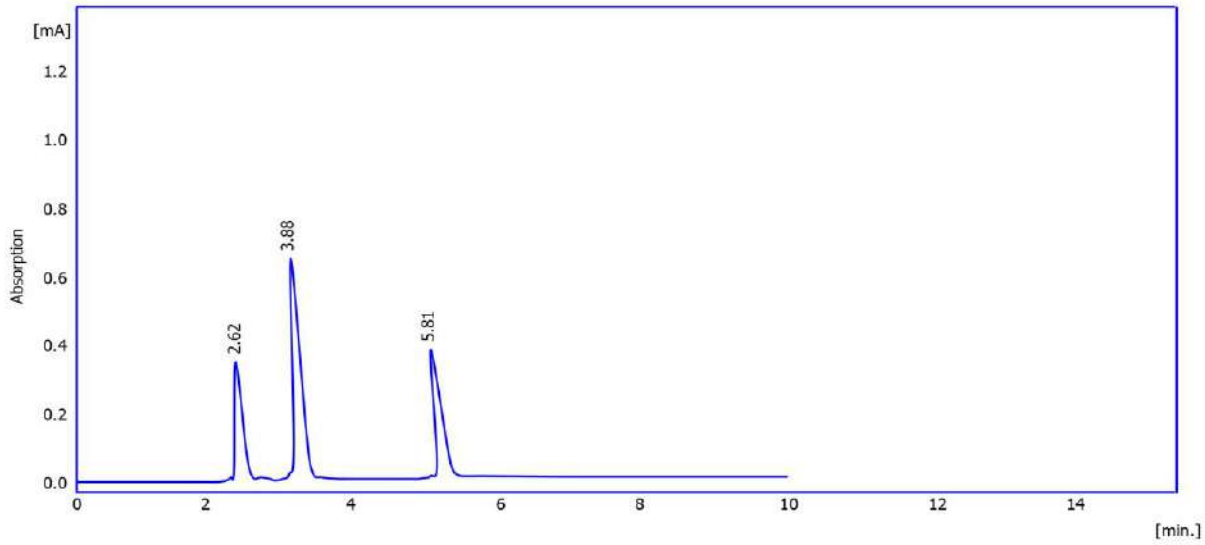
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9520.36	385.14	25.00	25.00	0.15	
2	3.86	19788.14	685.46	40.00	40.00	0.25	
3	5.85	13524.58	401.25	35.00	35.00	0.25	
	Total	42833.54	1432.54	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 76	Amount	0
Sample	: sample 76	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 76)

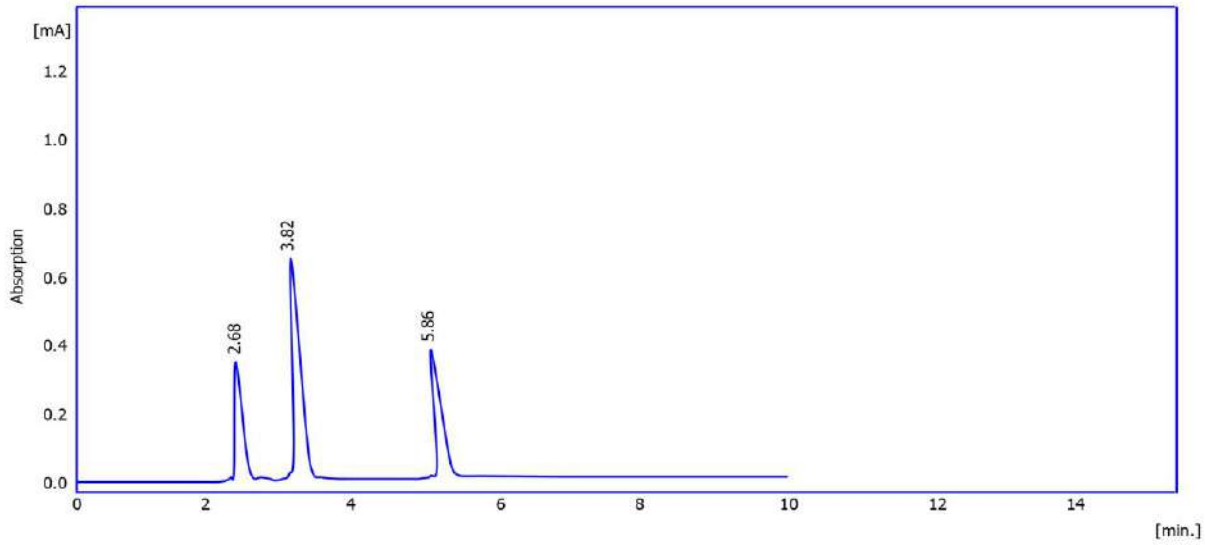
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9412.33	382.52	25.00	25.00	0.15	
2	3.88	19901.23	684.15	40.00	40.00	0.25	
3	5.81	16221.45	402.66	35.00	35.00	0.25	
	Total	45535.01	1434.98	100.00	100.00		

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 78	Amount	0
Sample	: sample 78	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 78)

No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.68	9521.00	381.05	25.00	25.00	0.15	
2	3.82	18114.25	682.55	40.00	40.00	0.25	
3	5.86	18952.32	403.65	35.00	35.00	0.25	
	Total	46587.12	1436.98	100.00	100.00		

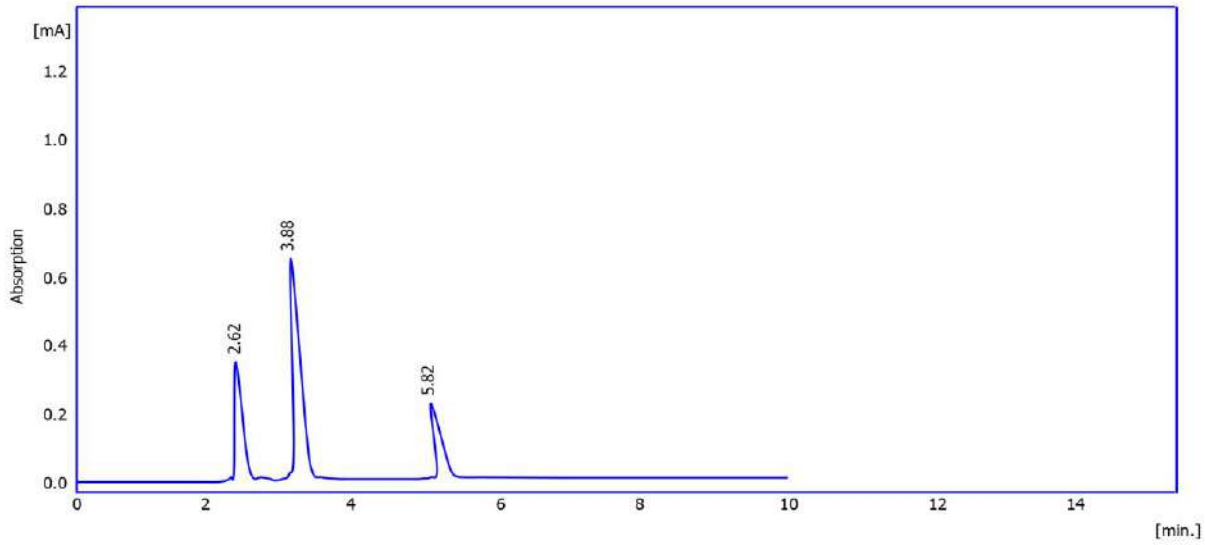
liter of water recorded 4238, 6176, 7933 and 4126, 6050 and 7353 mg L^{-1} for each of the fungus and bacteria treatment, respectively after the treatment. In contrast,

Chromatography Laboratory
HPLC

Sample Info:

Sample ID	: sample 96	Amount	0
Sample	: sample 96	ISTD Amount	0
Inj. Volume [mL]	: 0.1	Dilution	1

Autostop	: 20.00 min	External Start	: Start - Restart, Down
Detector 1	: Detector 3	Range 1	: Bipolar, 2000 mAU, 10 Samp. per Sec.
Subtraction Chromatogram	: (None)	Matching	: No Change



Result chromatography Table (Uncal - F:\ sample 96)

No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	2.62	9632.05	380.22	35.00	35.00	0.15	
2	3.88	1955.14	680.14	45.00	45.00	0.25	
3	5.82	6221.05	230.52	20.00	20.00	0.10	
	Total	17808.49	1211.58	100.00	100.00		

liter of water recorded 4238, 6176, 7933 and 4126, 6050 and 7353 mg L^{-1} for each of the fungus and bacteria treatment, respectively after the treatment. In contrast, control treatment reached 4640, 6828, 8725 mg L-1, then the pesticide concentration began to decrease after 3 days of treatment, recording 1552, 2235, 3096 and 1132, 1955, 2626 mg L-1, respectively. On the seventh day, the concentrations decreased, recording 975, 1227, 1970 and 541, 942, 1242 mg L-1, respectively, compared to the control treatment, which recorded 1493, 3675 and 4536 mg L-1. On the tenth day, no residues were recorded in the soil.

The residuals of Glyphosate in water for 15 days showed that the three concentrations used, 10, 15 and 20 ml/liter of water, recorded 3520, 5600 and 7955 mg L^{-1}, respectively, immediately after the treatment. The pesticide concentration began to decrease, and with the passage of days, The study reached 822, 2011 and 3652 mg L-1, respectively, on the seventh day. The concentrations decreased on the tenth day, recording 356, 852, and 1203 mg L-1, respectively, and after that, on the 15th day, the HPLC device was not sensitive to any of the concentrations used in the water treatment.

The results of a study using nano-silica as an adsorption agent in the removal of Glyphosate in water indicated that the concentration of 200 mg L^{-1} achieved the highest rate of removal of the pesticide with a percentage of 89.37%, surpassing the other concentrations of 100 and 150 mg L^{-1}, which achieved 63.45 and 82.87% respectively.

Abstract

A laboratory and field experiment was carried out at the College of Agriculture - University of Kerbala to evaluate the biological factors *Trichoderma harzianum*, *Azotobacter chroococcum*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* and their role in the biodegradation of the Glyphosate pesticide under the commercial name Teller SL 48%. Laboratory studies included the assessment of tolerance and growth of biological factors in culture media treated with different concentrations of pesticides. Field studies assessed the role of biological factors in biodegradation and measurement of Glyphosate weed pesticide residues at concentrations of 10, 15 and 20 ml/liter of water in soil and water using HPLC. Nano-silica has also been used as an adsorption agent to remove pesticides from water.

It is noted from the laboratory study of the treatment of agricultural media with three concentrations of 10, 15, 20 and 25 ml/liter of Glyphosate pesticide that the *A.chroococcum* showed a remarkable response in its ability to grow and tolerate the concentrations of the pesticide used, as it recorded a growth rate of 7.20 cm in diameter and did not differ significantly from the treatment of the *T. harzianum*, which recorded a growth rate of 6.00 cm in diameter. However, the lowest growth rate was 4.60 cm for the *P. fluorescens*, which differed significantly from other treatments. Concentrations 10 and 15 ml/L was the best form of extension and growth for *A. chroococcum*, *B. subtilis* and *T. harzianum*, recording growths of 9, 8, 7, 5 and 7.5 cm, respectively, compared to the control treatment that achieved 9 cm. In contrast, the bacteria *P. fluorescens* achieved a growth extension of 6 and 4 cm, respectively.

The results of inhibition of the bacteria *A.chroococcum* and the fungus *T. harzianum* showed that the highest percentage of inhibition by the use of Glyphosate was for the bacteria at the concentration of the pesticide 20 ml / L, with 58.30%, and with significant differences from the treatment of the fungus *T. harzianum*, which recorded a percentage of inhibition of 66.70% at the same concentration. The 10 ml/liter concentration recorded the lowest inhibition rates of 18.90 and 55.60% for bacteria and fungi, respectively. In light of the obtained results, three concentrations were chosen, namely 10, 15 and 20 ml/liter, with the selection of the bacteria *A. chroococcum* and the fungus *T. harzianum* for field experiments.

The results of the study of fungus and bacteria evaluation of the biodegradation of Glyphosate in the soil showed that the three concentrations used 10, 15 and 20 ml /

Ministry of Higher Education and Scientific Research University of Karbala

College of Agriculture

Department of Plant Protection

Effect of some biological agents, silica and silver nanoparticles on pesticide degradation

Clayphosate bushes in the soil

Thesis submitted to

The Council of the College of Agriculture / University of Karbala as Partial Fulfillment of the Requirement for

Degree of Master of Sciences in Agriculture – Plant Protection

BY

Wasan Sahib Eatia

Supervised by

Asst.prof. Dr . Mushtak Talib Muhammadali

The second supervisor

Asst.prof. Dr. Astabriq Muhammad Abd al-Ridha

1444 A.H **2023 A.D**