

بررسی زیست‌پالایی علف‌کش نیکوسولفورون توسط قارچ *Aspergillus niger*

آنه‌بی بی‌احمدی^۱

زیبا اورسجی^{۲*}

avarseji@gonbad.ac.ir

ابراهیم غلامعلی پور علمداری^۲

فاختک طلیعی^۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۲/۳۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۹/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: علف‌کش‌های خانواده سولفونیل اوره، با مهار استولاکتات سنتاز، در رشد گیاهان حساس اختلال ایجاد می‌کنند. به دلیل سمیت گیاهی بالای آن‌ها نسبت به محصولات حساس و احتمال انتقال آن‌ها در رواناب سطحی، سرنوشت و تأثیر آن‌ها بر اکوسیستم‌های آبی نگران‌کننده است. در این مطالعه، توانایی تجزیه نیکوسولفورون توسط قارچ *Aspergillus niger* مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و سه تیمار شامل غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۴ و ۰/۸ میلی گرم بر لیتر علف‌کش نیکوسولفورون در سال ۱۳۹۶ انجام شد. به این منظور از جدایه قارچ *A. niger* استفاده شد. نمونه‌ها در انکوباتور با دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ روز نگهداری شدند. تکثیر جدایه‌ها بر روی محیط کشت PDA (۲۰۰ گرم سبب زمینی، ۲۰ گرم دکستروز و ۲۰ گرم آگار) در شرایط استریل انجام شد و نمونه‌ها در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های قارچی به‌منظور تهیه‌ی کشت جوان و تازه‌ی قارچ هرچند روز یک‌بار تجدید کشت شدند. پارامترهای هدایت الکتریکی، کدورت، اکسیژن محلول در آب و مجموع جامدات محلول اندازه‌گیری شدند و برای اندازه‌گیری غلظت باقی‌مانده علفکش از HPLC استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که در هر سه غلظت صفر، ۰/۴ و ۰/۸ در طول زمان، کدورت افزایش و اکسیژن محلول کاهش یافته است. بیشترین میزان اکسیژن محلول در تمام غلظت‌ها، پنج روز پس از مایه‌زنی توسط قارچ *A. niger* ۷/۹ میلی گرم و کمترین مقدار آن بیست و پنج روز پس از مایه‌زنی معادل ۱/۲ میلی گرم ثبت شد. کمترین مقدار هدایت الکتریکی از دز صفر و بیشترین از دز ۰/۸ به‌دست آمد. مجموع جامدات قابل حل با افزایش غلظت، زیاد شد. بیشترین مجموع جامدات قابل حل در غلظت ۰/۸ در قارچ *A. niger* معادل ۱۹۵۹/۳ میلی گرم و کمترین آن در دز صفر معادل ۹۰۳ میلی گرم به‌دست آمد. نتایج حاصل از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نشان داد

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم علف‌های هرز، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس، ایران.

۲- دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران. * (مسئول مکاتبات)

۳- دانشیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران.

که در نمونه‌ی تلقیح شده با *A. niger* غلظت نیکوسولفورون از ۲۰ ppm به ۰/۴۵۷ ppm رسید که بیانگر تجزیه آن توسط قارچ مورد نظر می‌باشد. افزایش میزان کدورت محیط کشت، نشان دهنده رشد قارچ *A. niger* است.

بحث و نتیجه‌گیری: افزایش میزان کدورت محیط کشت، نشان دهنده رشد قارچ *A. niger* است. با گذشت زمان، قارچ موردنظر با کسب توانایی تجزیه و استفاده از علف‌کش به‌عنوان منبع غذایی، توانایی رشد و تولیدمثل یافتند. پارامتر هدایت الکتریکی نشانگر خوبی در مورد کل مواد حل‌شده در آب به شمار می‌آید زیرا افزایش آن احتمالاً می‌تواند بیانگر تجزیه زیستی نیکوسولفورون و تولید یون‌های معدنی و آلی باشد. ممکن است توانایی قارچ در شکستن علف‌کش به اجزا تشکیل‌دهنده آن، سبب افزایش مجموع جامدات محلول در محیط کشت شده است. علف‌کش نیکوسولفورون متعلق به خانواده سولفونیل اوره می‌باشد که در شرایط اسیدی، هیدرولیز می‌شوند. تجزیه گلوکز موجود در محیط کشت و تولید استیک اسید سبب کاهش pH می‌گردد که به هیدرولیز این علف‌کش کمک می‌کند. در نتیجه هیدرولیز نیکوسولفورون، مواد حد واسطی تولید می‌گردد که به‌وسیله قارچ‌های مورد نظر تجزیه و مورد استفاده قرار گرفتند. از این رو به نظر می‌رسد که وجود گلوکز در محیط کشت، جهت تسریع فرایند تجزیه زیستی لازم است.

واژه‌های کلیدی: اکسیژن محلول، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، مجموع جامدات محلول، هیدرولیز

Monitoring the Bioremediation of Nicosulfuron Herbicide by *Aspergillus niger*

Anne bibi Ahmadi¹

Ziba Avarseji^{2*}

avarseji@gonbad.ac.ir

Ebrahim Gholamalipuor Alamdari²

Fakhtak Taliei³

Date of Acceptance: May 21, 2025

Date of Submission: December 3, 2024

Abstract

Background and objective: Sulfonylurea family herbicides, by inhibiting stolactate synthase, cause disturbances in the growth of sensitive plants. Due to their high phytotoxicity to sensitive crops and the possibility of their transfer in surface runoff, their fate and impact on aquatic ecosystems is a concern. In this study, the ability to degrade nicosulfuron by *Aspergillus niger* was investigated.

Materials and Methods: This research was conducted based on a completely random design with 3 replications. The propagation of the isolates was done on PDA medium (200 g potato, 20 g dextrose and 20 g agar) in sterile conditions and the samples were kept in an incubator at a temperature of 25C. Amounts of zero, 0.4 and 0.8 mg.L⁻¹ of herbicide were added to PDB liquid culture medium modified with the combination of 100 grams of potato, 10 grams of dextrose/liter of medium. The containers were kept at 25C for 30 days. At intervals of 5 days, electrical conductivity, turbidity, amount of dissolved oxygen and total dissolved solids were measured. Also, the concentration of nicosulfuron was measured by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Findings: The results showed that turbidity increased in all three concentrations of zero, 0.4 and 0.8 over time. 25 days after inoculation, dissolved oxygen in the medium was reduced by *A. niger* fungi. The highest amount of dissolved oxygen in all concentrations, five days after inoculation by *A. niger* was 7.9 mg.L⁻¹, and the lowest amount was 1.2 mg.L⁻¹ recorded twenty-five days after inoculation. The lowest value of electrical conductivity was obtained from zero dose and the highest from 0.8 ml dose. Total dissolved solids increased with increasing concentration. The highest amount of soluble solids at 0.8 ml concentration were 1959.3 mg.L⁻¹, and the lowest at zero dose was 903 mg.L⁻¹. Based on HPLC results the inoculated sample with *A. niger*, the nicosulfuron concentration reached from 20 ppm to 0.457 ppm, which indicates its decomposition.

Discussion and Conclusion: An increase in the turbidity of the medium indicates the growth of fungi. The amount of turbidity in the control without herbicide was higher, indicating the growth of this fungus without problems. As the fungi population, increased the amount of oxygen consumed by them increased too and as a result, the amount of dissolved oxygen decreased. The ability of the fungus to

1- Msc. graduated student of Weed Science, University of Gonbad Kavous.

2- Associate Prof. Dept. of Plant Production, University of Gonbad Kavous. *(Corresponding Author)

3- Associate Prof., Dept. of Plant Production, University of Gonbad Kavous.

break the herbicide into its constituent components causes an increase in total dissolved solids in the medium, therefore the lowest amount was obtained in the control medium without herbicide and the highest amount was obtained in the medium containing the herbicide nicosulfuron. The breakdown of glucose in the medium and the production of acetic acid causes a decrease in pH, which helps the hydrolysis of nicosulfuron and the intermediate substances are produced which were used by the desired fungi. Therefore, it seems that the presence of glucose in the medium is necessary to accelerate the biological decomposition process.

Keywords: Dissolved oxygen, High performance chromatography, Hydrolysis, Total dissolved solid.

مقدمه

کشت ذرت استفاده می‌شود (۷). حلالیت آن (۷/۵ گرم در لیتر) و ضریب جذب (۰/۱۴ تا ۲/۱۵ لیتر بر کیلوگرم با توجه به خصوصیات خاک) این ترکیب را نسبتاً متحرک، در خاک و آب می‌کند (۸). این ترکیب غیر فرار است (فشار بخار $> 10^{-10}$) و انتظار نمی‌رود که فتولیز آن مسیر اصلی تغییر شکل در خاک و آب باشد (۹).

با استفاده گسترده از نیکوسولفورون، مجموعه‌ای از مشکلات محیطی مانند آلودگی آب‌ها، آسیب به تناوب زراعی و تأثیر بر جمعیت میکروبی خاک پدیدار شده است (۱۰). تحقیقات نشان داده است که هیدرولیز شیمیایی و تجزیه زیستی، مهم‌ترین روش‌های حذف علف‌کش‌های گروه سولفونیل اوره از طبیعت می‌باشند (۱۱). در خصوص نیکوسولفورون، سبادی (۱۲) نشان داد که هیدرولیز این علف‌کش در شرایط اسیدی رخ می‌دهد در حالی که در شرایط قلیایی نسبتاً پایدار است. تجزیه نوری معمولاً برای حذف علف‌کش‌های سولفونیل اوره استفاده می‌شود. با این حال، واکنش آهسته و بازده پایین تجزیه نوری، سبب می‌شود که روش اصلی از بین رفتن علف‌کش‌های سولفونیل اوره در طبیعت نباشند (۳) علف‌کش‌های سولفونیل اوره تنها در سطح خاک در معرض این نوع تجزیه قرار می‌گیرند. این رو، تجزیه میکروبی در حذف سموم بسیار مهم است و به روشی رو به رشد برای حذف بقایای نیکوسولفورون از خاک تبدیل شده است (۱۳). اخیراً باکتری‌های متعددی توسط دانشمندان برای حذف بقایای علف‌کش‌های گروه سولفونیل اوره معرفی شده‌اند (۱۴-۱۷). همچنین تجزیه نیکوسولفورون بوسیله باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفته است (۱۸؛ ۱۹). اما مطالعات چندانی

علف‌کش‌های خانواده سولفونیل اوره، با مهار آنزیم استولاکتات سنتاز، که مسئول سنتز اسیدهای آمینه شاخه‌دار همچون والین، ایزولوسین و لوسین می‌باشد، در رشد گیاهان حساس اختلال ایجاد می‌کنند (۱). از زمان کشف آن‌ها در اواسط دهه ۷۰، چندین ماده فعال توسعه یافتند. این علف‌کش‌ها را می‌توان با توجه به جانشین‌های R_1 و R_2 روی پل سولفونیل اوره در سه گروه طبقه‌بندی کرد: (۱) R_1 = حلقه پیریدینیک و R_2 = حلقه پیریمیدینی (به‌عنوان مثال نیکوسولفورون، ریم سولفورون). (۲) R_1 = حلقه آروماتیک و R_2 = حلقه تریازینیک (به‌عنوان مثال تریبنورون-متیل، متسولفورون-متیل). (۳) که شامل بقیه علف‌کش‌های این خانواده می‌باشد. زمانی که سولفونیل اوره‌ها در دزهای پایین‌تر از ۲ تا ۷۵ گرم ماده مؤثره در هکتار استفاده شوند، دارای فعالیت علف‌کشی بالا، طیف اثر گسترده، خاصیت انتخابی خوب و سمیت کم برای پستانداران هستند (۲) که سبب شده به‌طور گسترده در کشاورزی مورد استفاده قرار بگیرند (۳). با وجود این، به دلیل سمیت گیاهی بالای آن‌ها نسبت به محصولات حساس (۴) و احتمال انتقال آن‌ها در رواناب سطحی و/یا انتقال به آب‌های زیرزمینی (۵)، سرنوشت و تأثیر بالقوه آن‌ها بر اکوسیستم‌های آبی نگران کننده است.

نیکوسولفورون (با نام تجاری کروز) اغلب به عنوان نماینده خانواده سولفونیل اوره در نظر گرفته می‌شود زیرا یکی از پرفروش‌ترین علف‌کش‌های این خانواده است (۶). این ترکیب یک علف‌کش پس‌رویشی است که معمولاً برای کنترل علف‌های هرز نازک‌برگ یک‌ساله و چندساله و تعدادی از پهن‌برگ‌ها، در

دادند که گونه *A. niger* توانایی بالاتری در زیست تخریبی این سم دارد. در این مطالعه، توانایی تجزیه زیستی نیکوسولفورون توسط قارچ *A. niger* در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و سه تیمار شامل غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر علف‌کش نیکوسولفورون ($C_{15}H_{18}N_6O_6S$) انجام شد. پس از تهیه جدایه‌ی خالص قارچ *A. niger* جهت تکثیر آن و تهیه مایه تلقیح قارچی، محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار^۱ (۲۰۰ گرم سیب زمینی، ۲۰ گرم دکستروز و ۲۰ گرم آگار) تهیه و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار بخار ۱/۵ اتمسفر با استفاده از اتوکلاو سترون گردید. نمونه‌ها در انکوباتور با دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ روز نگهداری شدند. سوسپانسیون اسپور قارچ، با شستشوی اسپورهای قارچی تشکیل شده بر روی پرگنه قارچی با استفاده از آب مقطر سترون و توپین ۲۰ تهیه شد و غلظت آن با استفاده از لام گلبول شمار برابر 10^6 اسپور بر میلی‌لیتر تنظیم گردید (۳۰).

۱- تجزیه زیستی علف‌کش نیکوسولفورون با استفاده از

جدایه‌های قارچی

آزمون تجزیه زیستی با استفاده از محیط کشت مایع PDB تغییر یافته (۱۰۰ گرم سیب زمینی، ۱۰ گرم دکستروز بر لیتر)، در فلاسک‌های شیشه‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری انجام شد. علف‌کش نیکوسولفورون با نام تجاری کرواز از شرکت آریاشیمی (۴٪ OD) تهیه و از فیلتر میکروبیولوژی (۰/۲۲ میکرومتر) عبور داده شد. سپس مقادیر ۰/۴ (۵۰٪ دز توصیه شده) و ۰/۸ (دز توصیه شده) میلی‌گرم در لیتر از علف‌کش نیکوسولفورون به محیط کشت مایع اضافه شد. فلاسک‌های فاقد علف‌کش به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شدند. سپس سوسپانسیون اسپوری قارچ به میزان یک سی‌سی به هر فلاسک حاوی محیط کشت اضافه شد. فلاسک‌های شیشه‌ای حاوی مخلوط علف‌کش

در خصوص تجزیه میکروبی نیکوسولفورون با استفاده از قارچ‌ها انجام نشده است. بنابراین، توسعه روش‌های مؤثر برای حذف باقی‌مانده‌های نیکوسولفورون از محیط بسیار ضروری است.

تجزیه میکروبی به‌عنوان یک سازوکار با کارایی بالا، ایمن و کم‌هزینه، برای تصفیه آلاینده‌های بالقوه علف‌کش‌های سولفونیل اوره در طبیعت، شناخته شده است (۱۸). با این حال، نیکوسولفورون می‌تواند از طریق فعالیت‌های میکروبی و هیدرولیز شیمیایی تغییر شکل یابد (۱۱). برخی از گونه‌های باکتریایی و قارچی استخراج شده‌اند، که تنها با یک منبع کربن اضافی به‌صورت کومتابولیسم قادر به تغییر زیستی نیکوسولفورون هستند، (۲۰). از جمله گونه‌های تجزیه‌کننده علف‌کش سولفونیل اوره که تاکنون گزارش شده‌اند می‌توان به

Alcaligenes faecalis، (۲۱)، *Bacillus subtilis*

(۲۲)، *Klebsiella* sp.، (۱۸)، *Kurthia* sp.، (۲)

Pseudomonas sp.، (۱۹)، *Oceanisphaera*

psychrotolerans، (۴)، *B. megaterium*، (۲۳) و

Serratia marcescens (۲۰) اشاره کرد. همچنین

گزارش‌های موفقی در ارتباط با کارایی تجزیه علف‌کش‌های

مختلفی مانند تریفلورالین توسط باکتری *Pseudomonas*

fluorescens (۲۴) و علف‌کش پندی‌متالین به‌وسیله

باکتری‌های *B. subtilis*، *Escherichia coli* و *P.*

fluorescens (۲۵) ارائه شده است. گونه‌ی *Aspergillus*

niger از جمله قارچ‌های ساپروفیت خاک‌زی هستند که در

اغلب خاک‌ها یافت شده و مقاوم به آلودگی‌های آب و خاک به

اغلب قارچ‌کش‌ها و علف‌کش‌ها می‌باشند (۲۶؛ ۲۷). این قارچ‌ها

در اغلب مناطق دنیا اعم از اقلیم‌های گرم و معتدل جهان

معمول بوده و از بسترهای مختلف شامل آب و خاک و در

اعماق مختلف قابل جداسازی می‌باشند. بر اساس تحقیقات

شارما و همکاران (۲۸) از بین سه جنس قارچی مورد مطالعه،

گونه *Aspergillus niger* قادر است در شرایط محیط کشت

حاوی گلوکز، غلظت علف‌کش کلرومینورون-اتیل را کاهش

دهد. همچنین ایمور و همکاران (۲۹) با بررسی قابلیت تخریب

زیستی مانکوزب توسط دو گونه *A. niger* و *A. flavus* نشان

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه داده‌ها در نرم‌افزار SAS (9.1) و رسم نمودارها و برازش رگرسیون‌ها در نرم‌افزار اکسل انجام شد. برای مقایسه داده‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ استفاده شد.

یافته‌ها

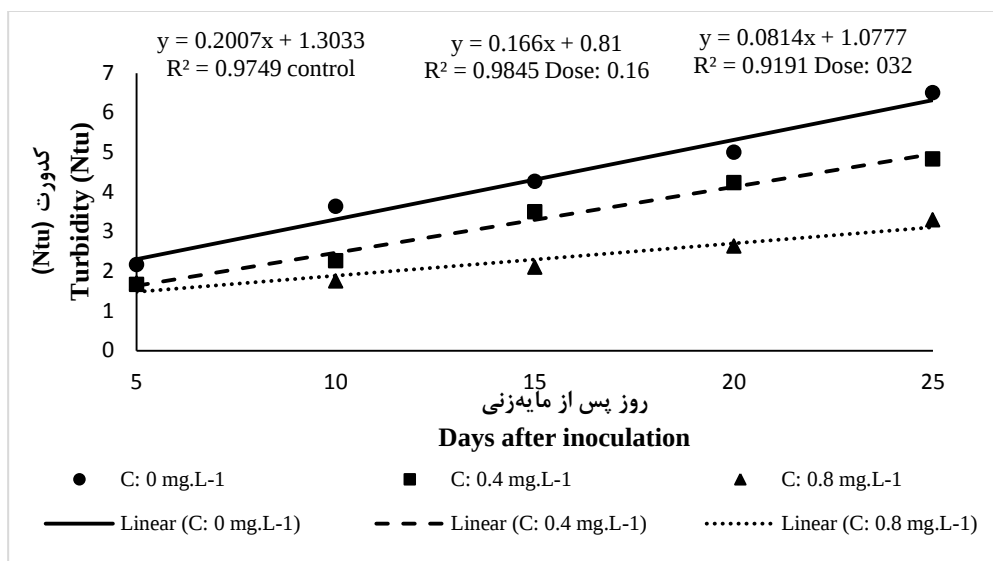
کدورت

تغییرات کدورت محیط کشت حاوی غلظت‌های مختلف علف‌کش نیکوسولفورون که توسط قارچ *A. niger* مایه‌زنی شده‌اند در شکل (۱) ملاحظه می‌شود. در هر سه غلظت صفر، ۰/۴ و ۰/۸ در طول زمان، کدورت افزایش یافت. خطوط برازش داده شده به دزهای مختلف نشان می‌دهد که صفت کدورت در طول زمان در نمونه شاهد با شیب بیشتری افزایش یافت. شیب خط مربوط به شاهد معادل ۰/۲ است که دو برابر شیب خط مربوط به دز ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر است. این مقدار در دز ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر حدود ۰/۸ بود. افزایش میزان کدورت محیط کشت نشان از رشد قارچ دارد. همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود مقدار کدورت در شاهد بدون علف‌کش، از بقیه بیشتر بود که حاکی از رشد بدون مشکل این قارچ داشت. در محیط کشت‌های حاوی علف‌کش مقدار کدورت از شاهد کمتر بود که طبیعتاً به تأثیر منفی این علف‌کش روی رشد قارچ برمی‌گردد؛ اگرچه که با گذشت زمان، قارچ موردنظر احتمالاً با کسب توانایی تجزیه و استفاده از علف‌کش یا استفاده از گلوکز محیط کشت به‌عنوان منبع غذایی توانایی تولیدمثل و افزایش رشد جمعیت یافتند و سبب افزایش کدورت محیط کشت شدند. بیشترین میزان کدورت محیط کشت در تمام غلظت‌ها، بیست و پنج روز پس از مایه‌زنی توسط قارچ *A. niger* به ترتیب ۶/۵ میلی‌گرم و کمترین مقدار آن به ترتیب معادل ۱/۶ میلی‌گرم پنج روز پس از مایه‌زنی ثبت شد.

و محیط کشت به مدت ۲۵ روز در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در فواصل زمانی ۵ روزه، در شرایط سترون ۲۰ میلی‌لیتر از محلول برداشته و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی، کدورت، اکسیژن محلول در آب و مجموع جامدات محلول از الکتروود غشایی دستگاه مولتی پارامتر دو کاناله (HACH/HQ40D/کمپانی آمریکا) استفاده شد. قبل از هر اندازه‌گیری الکتروود غشایی با آب مقطر شستشو داده شد. همچنین غلظت نیکوسولفورون توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۱ HPLC سنجیده شد.

اندازه‌گیری غلظت علف‌کش نیکوسولفورون توسط HPLC

غلظت باقی‌مانده نیکوسولفورون در محیط کشت با استفاده از دستگاه HPLC (KNAUER, Pump 1000, UV 2600) با ستون Eurospher 100-5 C₁₈ تعیین شد. نمونه استاندارد علف‌کش نیکوسولفورون (سیگما-آلد ریچ) با غلظت ۹۹/۱ درصد تهیه شد. ابتدا نمونه استاندارد پس از عبور از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتری، در غلظت‌های ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر به دستگاه تزریق شد و منحنی کالیبراسیون ترسیم و طول موج بهینه تعیین گردید. در مرحله‌ی بعد، نمونه‌های محیط کشت پس از عبور از کاغذ صافی، با استفاده از اتیل استات عصاره‌گیری شدند. عصاره‌های به دست آمده پس از افزودن سولفات سدیم، تحت خلا و در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد آب‌گیری شدند. نمونه به دست آمده با متانول (۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر) محلول شده و خوانش باقی‌مانده علف‌کش با استفاده از HPLC انجام شد. نمونه‌ها با استفاده از ستون C₁₈ (۲۵۰ میلی‌متر × ۴/۶ میلی‌متر) و دمای ستون ۳۰ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۲۲۹ نانومتر با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه اندازه‌گیری شدند. فاز متحرک استونیتریل و آب مقطر (۶۰:۴۰ W/W) و حجم تزریق ۶۰ میکرولیتر برای هر نمونه بود.



شکل ۱- کدورت محلول، در روزهای پس از مایه‌زنی قارچ *A. niger* در غلظت‌های مختلف نیکوسولفورون. مقادیر

LSD برای دزهای صفر، ۰/۴ و ۰/۸ mg.L^{-1} در قارچ *A. niger* به ترتیب ۰/۵۳، ۰/۵۸، ۰/۴۰ می‌باشند.

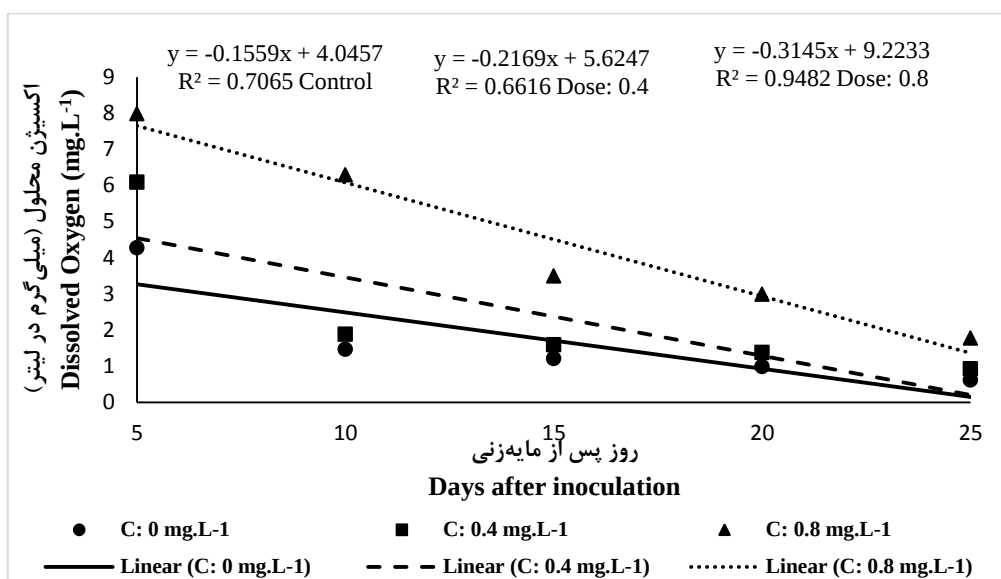
Figure 1. Solution turbidity, days after inoculation of *A. niger* in different concentrations of nicosulfuron. LSD values for *A. niger*, doses of 0, 0.4, 0.8 mg.L^{-1} were 0.57, 0.65, 2.2 respectively.

اکسیژن محلول

موردنظر در حضور علف‌کش نیکوسولفورون می‌باشد. رشد این قارچ‌ها می‌تواند در نتیجه سازگاری با این علف‌کش و به دست آوردن توانایی تجزیه و استفاده از آن به‌عنوان منبع غذایی و یا مصرف گلوکز محیط کشت باشد که همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود با افزایش زمان، مقدار اکسیژن محلول، کاهش نشان داد که تأییدی بر افزایش قابلیت سازگاری قارچ *A. niger* با محیط کشت حاوی علف‌کش می‌باشد.

جیلانی (۲۴) گزارش کرد که در دمای ۲۸-۳۰ درجه سانتی‌گراد و مقدار ۸-۹ میلی‌گرم در لیتر اکسیژن محلول، بیشتر از ۸۵٪ تجزیه سیپرترین با غلظت اولیه ۸۰ میلی‌گرم در لیتر، بعد از ۴۸ ساعت حاصل شد؛ در مقابل وقتی میزان اکسیژن محلول به ۵-۶ میلی‌گرم در لیتر رسید؛ فقط ۳۸٪ تجزیه اتفاق افتاد. با افزایش غلظت اکسیژن محلول به بیشتر از ۹-۱۲ میلی‌گرم در لیتر تأثیر قابل‌ملاحظه‌ای در کاهش سیپرترین مشاهده نشد. پریچ و همکاران (۳۱) بیان کردند که مصرف اکسیژن در طول زمان، شاخص مناسبی برای شدت نیاز اکسیژنی در دوره رشد نمایی جمعیت میکروارگانیسم‌ها می‌باشد.

با گذشت ۲۵ روز پس از مایه‌زنی، اکسیژن محلول محیط کشت، توسط قارچ *A. niger* کاهش یافت (شکل ۲). بیشترین میزان اکسیژن محلول در تمام غلظت‌ها، پنج روز پس از مایه‌زنی توسط قارچ‌های *A. niger* به مقدار ۷/۹ میلی‌گرم و کمترین مقدار آن بیست و پنج روز پس از مایه‌زنی به ترتیب معادل ۱/۲ میلی‌گرم ثبت شد. به عبارت دیگر با افزایش جمعیت قارچ، مقدار اکسیژن مصرف‌شده توسط آن‌ها افزایش و در نتیجه میزان اکسیژن محلول کاهش یافت. خطوط برازش داده شده به دزهای مختلف نشان می‌دهد که صفت اکسیژن محلول در طول زمان در نمونه شاهد با شیب ۰/۱۵ کاهش یافت اما شیب کاهش اکسیژن محلول در دزهای ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب ۰/۲ و ۰/۳ به دست آمد که بیانگر کاهش سریع‌تر این صفت در دزهای بالای این علف‌کش است. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود مقدار اکسیژن محلول در محیط کشت فاقد علف‌کش نسبت به دو دز دیگر کمتر بود که نشان از رشد بیشتر قارچ در شرایط فقدان علف‌کش دارد. اگرچه که در دز ۰/۴ و ۰/۸ میلی‌گرم نیز با گذشت زمان پس از مایه‌زنی، اکسیژن محلول کاهش نشان داد که بیانگر رشد قارچ‌های



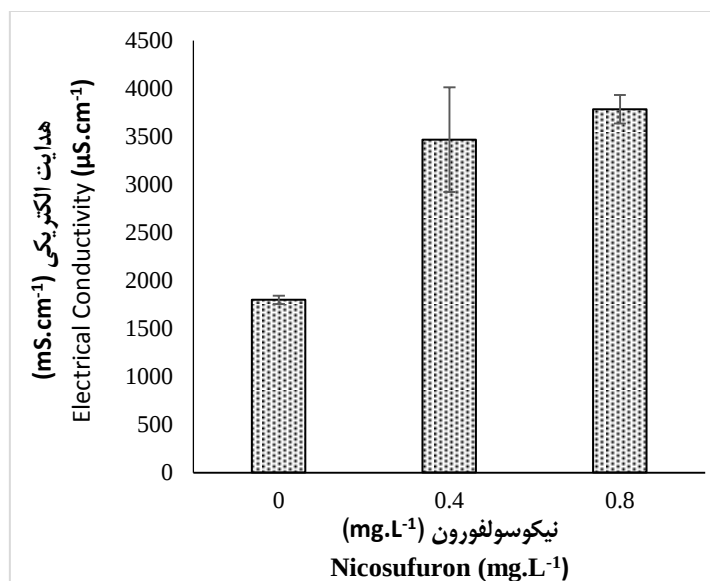
شکل ۲- اکسیژن محلول در روزهای پس از مایه زنی قارچ *A. niger* در غلظت‌های مختلف نیکوسولفورون. مقادیر LSD برای دزهای صفر، ۰/۴ و ۰/۸ mg.L⁻¹ در قارچ *A. niger* به ترتیب ۰/۵۷، ۰/۶۵، ۰/۷۲ می‌باشند.

Figure 2. Dissolved oxygen, days after inoculation of *A. niger* in different concentrations of nicosulfuron. LSD values for *A. niger*, doses of 0, 0.4, 0.8 mg.L⁻¹ were 0.57, 0.65, 2.2 respectively.

هدایت الکتریکی

کسیدی و همکاران (۳۲) گزارش کرد که افزایش غلظت یون‌های محلول به همراه مواد معدنی باعث زیاد شدن مقدار هدایت الکتریکی در محیط کشت مایع می‌شود. همچنین نتایج آتکونا و همکاران (۳۳) نشان دادند که فرایندهای زمین‌زیست‌شیمیایی به همراه فرایندهای زیست‌پالایی می‌تواند به صورت بالقوه باعث تغییر خصوصیات هدایت الکتریکی محیط کشت شود.

روند تغییرات مقدار هدایت الکتریکی محیط کشت حاوی *A. niger* در شکل ۳ نشان داده شده است. کمترین مقدار هدایت الکتریکی از دز صفر و بیشترین از دز ۰/۸ به دست آمد. هدایت الکتریکی معیاری جهت سنجش توانایی آب برای انتقال جریان الکتریسیته است، از آنجایی که این توانایی، تابعی از حضور یون‌های موجود در یک محلول می‌باشد، اندازه‌گیری این پارامتر نشانگر خوبی در مورد کل مواد حل شده در آب به شمار می‌آید. بالاتر بودن هدایت الکتریکی در دز ۰/۸ علف‌کش، نشان‌دهنده میزان بالای املاح محلول وارد شده به محیط کشت می‌باشد.



شکل ۳- هدایت الکتریکی در بیست و پنج روز پس از مایه‌زنی قارچ *A. niger* در غلظت‌های مختلف نیکوسولفورون.

$$LSD = 1132.7$$

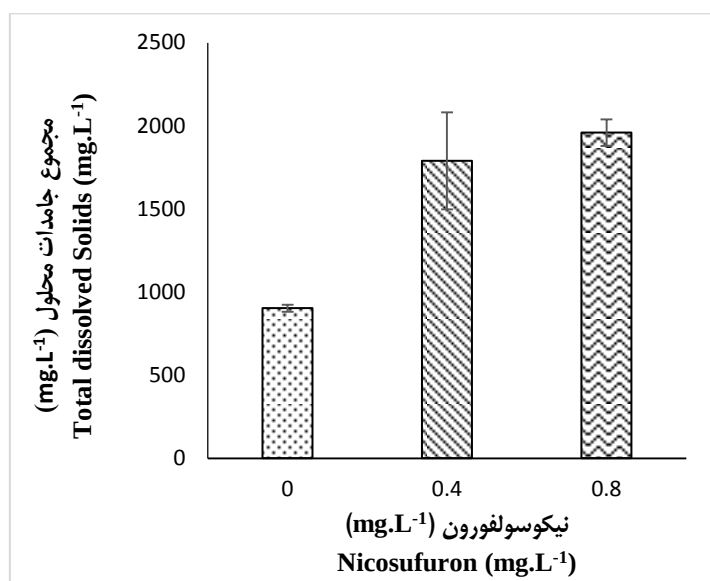
Figure 3. Electrical conductivity twenty-five days after inoculation of *A. niger* in different concentrations of nicosulfuron. LSD value= 1132.7.

مجموع جامدات محلول

می‌باشد (۲۸). مواد محلول در آب ممکن است از نظر ماهیت آلی یا معدنی باشند (۳۴). دال و همکاران (۳۵) نشان دادند که با استفاده از باکتری‌هایی از جنس *Bacillus*، *Pseudomonas* و *Brevibacterium* برای تخریب زیستی فاضلاب، میزان کل جامدات موجود پس از ۳۲ ساعت، حدود ۹۰ میلی‌گرم بر لیتر کاهش می‌یابد که نشان‌دهنده تجزیه زیستی فاضلاب می‌باشد. ال-بستوی و همکاران (۳۶) نشان دادند که در نتیجه زیست‌پالایی ترکیبات پیچیده و تبدیل آن‌ها به مواد جامد محلول ساده، مجموع جامدات محلول افزایش یافت.

مجموع جامدات قابل حل با افزایش غلظت، زیاد شد (شکل ۴). بیشترین مجموع جامدات قابل حل در غلظت ۰/۸ در قارچ *A. niger* معادل ۱۹۵۹/۳ میلی‌گرم و کمترین آن در دز صفر معادل ۹۰۳ میلی‌گرم به‌دست آمد. مقدار غلظت علف‌کش، باعث تغییر مجموع جامدات قابل حل شد. احتمالاً توانایی قارچ در شکستن علف‌کش به اجزا تشکیل‌دهنده آن، سبب افزایش مجموع جامدات محلول در محیط کشت می‌شود از این‌رو کمترین مقدار در محیط کشت شاهد فاقد علف‌کش و بیشترین مقدار در محیط کشت حاوی علف‌کش نیکوسولفورون حاصل شد.

منظور از مجموع جامدات محلول، کل مواد جامد محلول در آب است که برابر مجموع غلظت همه یون‌های موجود در آب



شکل ۴- مجموع جامدات محلول در بیست و پنج روز پس از مایه‌زنی قارچ *A. niger* در غلظت‌های مختلف

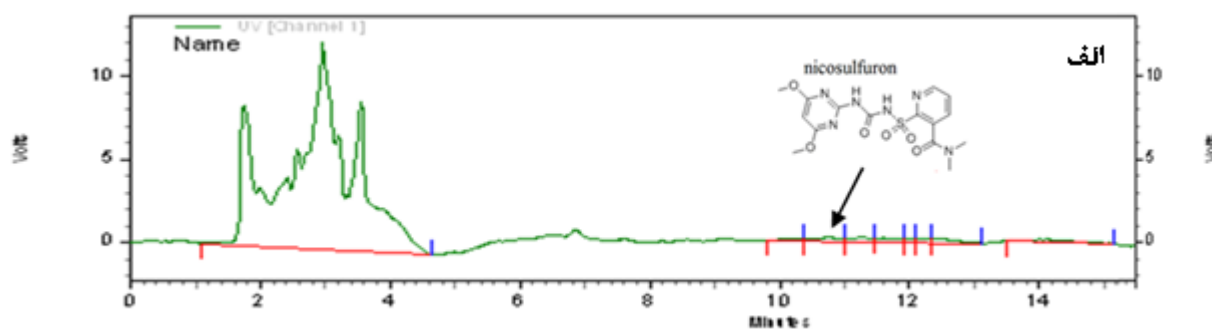
نیکوسولفورون. $LSD = 605.74$

Figure 4. Electrical conductivity twenty-five days after inoculation of *A. niger* in different concentrations of nicosulfuron. $LSD = 605.74$.

تعیین غلظت نیکوسولفورون توسط HPLC

۲۰ ppm به ۰/۴۵۷ ppm رسید که بیانگر تجزیه آن می‌باشد (جدول ۱). به نظر می‌رسد که قارچ *A. niger* احتمالاً قادر است با آماده‌سازی شرایط محیط کشت و اسیدی کردن آن از طریق تجزیه گلوکز به تجزیه علف‌کش موجود در نمونه کمک نماید.

تجزیه و مصرف نیکوسولفورون توسط قارچ *A. niger* بر اساس میزان کاهش علف‌کش نسبت به منحنی استاندارد تعیین شد. براساس نتایج پیک خروجی در زمان ۱۱/۰۸۳-۱۰/۷۳۳ دقیقه متعلق به غلظت نیکوسولفورون بود. دو پیک قبل از دقیقه‌ی ۴ ظاهر شده است که نشان دهنده‌ی پیک حلال است (شکل ۵). در نمونه‌ی تلقیح شده با *A. niger* غلظت نیکوسولفورون از



شکل ۵- کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق نمونه محیط کشت حاوی علف‌کش نیکوسولفورون تیمار شده با *A. niger* پیک خارج شده در زمان ۱۰/۷۳۳ دقیقه به دستگاه HPLC.

Figure 5. Chromatograms obtained by injecting contained- nicosulfuron medium treated with *A. niger*, the peak appeared at 10.733 minutes, into the HPLC device.

جدول ۱- میزان غلظت و زمان بازداری علف‌کش نیکوسولفورون در محیط کشت‌های تیمار شده با قارچ *A. niger*Table 1. Concentration and retention time of nicosulfuron in medium treated with *A. niger*

غلظت (ppm)	سطح زیر منحنی	زمان بازداری (دقیقه)	قارچ
۰/۴۵۷	۵۹۲۷	۱۰/۷۳۳	<i>Aspergillus niger</i>

بحث و نتیجه‌گیری

نیکوسولفورون ($C_{15}H_{18}N_6O_6S$) یکی از مهم‌ترین علف‌کش‌های گروه سولفونیل اوره است که برای کنترل طیف وسیعی از علف‌های هرز به کار می‌رود (۳۷). اگرچه نیکوسولفورون برای انسان و سایر جانوران سمیت پایینی دارد اما به دلیل تحرک‌پذیری بالا سبب آلودگی منابع آبی می‌گردد (۳۸). خصوصیتی مانند فراریت پایین و تخریب نوری و همچنین دوام طولانی آن در خاک، سبب شده تا اخیراً وجود بقایای آن در خاک مورد توجه زیادی قرار گیرد (۳۹). بنابراین توسعه استراتژی‌هایی برای حذف بقایای آن از محیط زیست ضروری به نظر می‌رسد.

در این تحقیق از محیط PDB به همراه غلظت‌های مختلف علف‌کش نیکوسولفورون برای بررسی امکان تجزیه زیستی آن با استفاده از قارچ *Aspergillus* استفاده شد. در طبیعت مواد آسان- تجزیه پذیر برای تجزیه‌زیستی به عنوان منابع کربن و انرژی نسبت به علف‌کش‌های سمی در اولویت قرار دارند که این مساله سبب تجزیه‌ی متابولیکی همزمان علف‌کش‌ها نیز می‌گردد (۴۰).

با توجه به بررسی صفاتی مانند اکسیژن محلول، کدورت، هدایت الکتریکی و کل جامدات محلول، به نظر می‌رسد که صفات کدورت و اکسیژن محلول در این قارچ، واکنش مشخص، یکنواخت و قابل پایشی ارائه دادند؛ به گونه‌ای که صفت کدورت در طول روزهای پس از مایه‌زنی و در غلظت‌های مختلف همواره افزایش نشان داد اما اکسیژن محلول کاهش یافت. قارچ‌ها جهت تجزیه زیستی به اکسیژن نیاز دارند؛ بنابراین بررسی میزان اکسیژن محلول در آب می‌تواند یکی از شاخص‌های مناسب جهت فعالیت تجزیه زیستی قارچ مورد نظر باشد به عبارت دیگر، کاهش مقدار اکسیژن محلول موجود در آب نشان دهنده فعالیت زیست‌پالایی در قارچ می‌باشد. مقدار

کدورت در واقع شاخصی از مقدار نور موجود در محیط می‌باشد. زیاد شدن کدورت می‌تواند ناشی از وجود میکروارگانیسم‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و فیتوپلانکتون‌ها باشد. در این پژوهش افزایش مقدار کدورت محیط کشت می‌تواند ناشی از رشد اسپوره‌های قارچ مورد نظر باشد این قارچ احتمالاً یا با مصرف علف‌کش به عنوان منبع کربن مورد نیاز خود، رشد و تولیدمثل می‌کند یا با استفاده از گلوکز موجود در محیط کشت سبب کاهش اسیدیته و کمک به هیدرولیز نیکوسولفورون می‌شود که باز هم سبب پراکنش جمعیت آن‌ها در محیط کشت مایع مورد نظر و در نتیجه افزایش کدورت محیط کشت می‌گردد.

تحقیقات وانگ و همکاران (۱۹) در مورد مکانیسم تجزیه زیستی نیکوسولفورون با استفاده از باکتری‌ها نشان داده است که در ابتدا به سبب آزادسازی گروه‌های استیک اسید حاصل از تجزیه گلوکز محیط، pH کاهش می‌یابد و پس از آن تجزیه علف‌کش به روش هیدرولیز شیمیایی (اسیدولیز) صورت می‌گیرد که در نتیجه آن ۲-دوآمینوسولفونیل-N و N-دی‌متیل‌نیکوتین‌آمید (پیریدیل‌سولفونامید) و ۲-آمینو-۴-دی‌متوکسی‌پیرامیدین (آمینوپیرامیدین) تولید می‌شود که ۲-آمینو-۴-دی‌متوکسی‌پیرامیدین تحت تأثیر تجزیه زیستی به NH_3 ، آب و CO_2 تبدیل می‌گردد. این نتایج توسط سبادی (۴۱) تأیید شده است. بنابراین تجزیه نیکوسولفورون تحت تأثیر فرایند هیدرولیز هم‌زمان با تجزیه زیستی صورت می‌گیرد و هیدرولیز شیمیایی نیز نقش مهمی در حذف این ماده در طبیعت ایفا می‌کند (۱۹).

نتایج حاصل از تجزیه HPLC نشان داد که میزان علف‌کش موجود در نمونه پس از تیمار با قارچ *A. niger* به میزان قابل قبولی کاهش می‌یابد. اگرچه در این آزمایش مواد حدواسط

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از زحمات کارشناسان دستگاه HPLC خانم محدثه پیری و آقای علی‌اصغر حسینی تشکر کنند.

References

1. Paporisch, A., Laor, Y., Rubin, B., and Eizenberg, H. 2020. Effect of repeated application of sulfonylurea herbicides on sulfosulfuron dissipation rate in soil. *Agronomy*, 10(11), 1724
2. Sarmah, A. K., and Sabadie, J. 2002. Hydrolysis of sulfonylurea herbicides in soils and aqueous solutions: a review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(22), 6253-6265.
3. Benzi, M., Robotti, E., and Gianotti, V. 2011. HPLC-DAD-MS n to investigate the photodegradation pathway of nicosulfuron in aqueous solution. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 399, 1705-1714.
4. Wang, H. Z., Gan, J., Zhang, J. B., Xu, J. M., Yates, S. R., Wu, J. J., and Ye, Q. F. 2009. Kinetic distribution of ¹⁴C-metsulfuron-methyl residues in paddy soils under different moisture conditions. *Journal of environmental quality*, 38 (1), 164-170.
5. de Lafontaine, Y., Beauvais, C., Cessna, A. J., Gagnon, P., Hudon, C., and Poissant, L. 2014. Sulfonylurea herbicides in an agricultural catchment basin and its adjacent wetland in the St. Lawrence River basin. *Science of the Total Environment*, 479, 1-10.
6. AGRESTE, Données de vente des produits phytosanitaires 2011-2014. <http://agreste.agriculture.gouv.fr/thematique-s-872/productions-vegetales-874/>

تولید شده به وسیله‌ی دستگاه GC-Mass مورد مطالعه قرار نگرفته است اما وانگ و همکاران (۱۹) نشان دادند که در شرایط محیط کشت، تجزیه ابتدایی گلوکز موجود در محیط توسط قارچ، با تولید استیک اسید سبب کاهش pH و اسیدی شدن محیط می‌گردد و پس از آن هیدرولیز شیمیایی نیکوسولفورون به دلیل ناپایدار بودن آن در شرایط اسیدی، تشدید شده و باندهای C-N موجود در علف‌کش شکسته شده و در نهایت تخریب زیستی، سبب تجزیه مواد حدواسط تولیدی می‌گردد. بنابراین وجود مقداری گلوکز در محیط کشت برای متابولیسم همزمان علف‌کش و گلوکز ضروری به نظر می‌رسد. نتایج مشابهی در خصوص مکانیسم تخریب زیستی نیکوسولفورون توسط قارچ *Penicillium oxalicum* گزارش شده است (۴۲).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری کدورت، اکسیژن محلول، هدایت الکتریکی، مجموع جامدات محلول و HPLC نشان داد که این قارچ احتمالاً توانایی تجزیه علف‌کش نیکوسولفورون را دارا می‌باشد. کاهش اکسیژن محلول و افزایش کدورت، نشان‌دهنده رشد قارچ و افزایش مقدار هدایت الکتریکی و مجموع جامدات محلول بیانگر افزایش فعالیت‌های متابولیکی جهت تجزیه علف‌کش می‌باشد. نتایج حاصل از HPLC نیز غلظت علف‌کش را در پایان آزمایش نشان داد و مشخص شد که احتمالاً قارچ *A. niger* دارای پتانسیل مناسبی در حذف آن می‌باشد. این علف‌کش متعلق به خانواده سولفونیل اوره می‌باشد که در شرایط اسیدی، هیدرولیز می‌شوند. تجزیه گلوکز موجود در محیط کشت و تولید استیک اسید سبب کاهش pH می‌گردد که به هیدرولیز این علف‌کش کمک می‌کند. در نتیجه هیدرولیز نیکوسولفورون، مواد حد واسطی تولید می‌گردد که بوسیله قارچ‌های مورد نظر تجزیه و مورد استفاده قرار گرفتند (۴۳). از این رو به نظر می‌رسد که وجود گلوکز در محیط کشت، جهت تسریع فرایند تجزیه زیستی لازم است.

- systems. *Biochemical Engineering Journal*, 119, 92–100.
14. Peng, X., Huang, J., Liu, C., Xiang, Z., Zhou, J., and Zhong, G. 2012. Biodegradation of bensulphuron-methyl by a novel *Penicillium pinophilum* strain, BP-H-02. *Journal of hazardous materials*, 213, 216-221.
 15. Luo, W., Zhao, Y., Ding, H., Lin, X., and Zheng, H. 2008. Co-metabolic degradation of bensulfuron-methyl in laboratory conditions. *Journal of hazardous materials*, 158(1), 208-214.
 16. Xu, J., Li, X., Xu, Y., Qiu, L., and Pan, C. 2009. Biodegradation of pyrazosulfuron-ethyl by three strains of bacteria isolated from contaminated soils. *Chemosphere*, 74(5), 682-687.
 17. Wang, N. X., Tang, Q., Ai, G. M., Wang, Y. N., Wang, B. J., Zhao, Z. P., and Liu, S. J. 2012. Biodegradation of tribenuron methyl that is mediated by microbial acidohydrolysis at cell-soil interface. *Chemosphere*, 86(11), 1098-1105.
 18. Song, J., Gu, J., Zhai, Y., Wu, W., Wang, H., Ruan, Z., and Yan, Y. 2013. Biodegradation of nicosulfuron by a *Talaromyces flavus* LZM1. *Bioresource technology*, 140, 243-248.
 19. Wang, L., Zhang, X., and Li, Y. 2016. Degradation of nicosulfuron by a novel isolated bacterial strain *Klebsiella* sp. Y1: condition optimization, kinetics and degradation pathway. *Water Science and Technology*, 73(12), 2896-2903.
 20. Zhao, W., Wang, C., Xu, L., Zhao, C., Liang, H., and Qiu, L. 2015. Biodegradation of nicosulfuron by a novel *Alcaligenes faecalis* strain grandes-cultures fourrages-875, 2016 (accessed 5.05.16)
 7. Zhou, S., Song, J., Dong, W., Mu, Y., Zhang, Q., Fan, Z., and Ruan, Z. 2017. Nicosulfuron biodegradation by a novel cold-adapted strain *Oceanisphaera psychrotolerans* LAM-WHM-ZC. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(47), 10243-10249.
 8. Oliveira Jr, R. S., Koskinen, W. C., and Ferreira, F. A. 2001. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. *Weed Research*, 41(2), 97-110.
 9. EFSA 2007) Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance nicosulfuron, *EFSA Journal*, 120: 1–91
 10. Allievi, L., and Gigliotti, C. 2001. Response of the bacteria and fungi of two soils to the sulfonylurea herbicide cinosulfuron. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 36(2), 161-175.
 11. Berger, B. M., and Lee Wolfe, N. 1996. Hydrolysis and biodegradation of sulfonylurea herbicides in aqueous buffers and anaerobic water-sediment systems: assessing fate pathways using molecular descriptors. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 15(9), 1500-1507.
 12. Sabadie, J. 2002. Nicosulfuron: Alcoholysis, chemical hydrolysis, and degradation on various minerals. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(3), 526-531.
 13. Zeng, S.Q., Qin, X.L., and Xia, L.M. 2017. Degradation of the herbicide isoproturon by laccase-mediator

26. Domsch KH., Gams, and Anderson TH. 1980. Compendium of soil fungi, Vol.1 et 2, Academic Press, London.
27. Pitt JL. 1979. The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*, London, Academic Press, 320-328.
28. Sharma, S., Banerjee, K., and Choudhury, P. P. 2012. Degradation of chlorimuron-ethyl by *Aspergillus niger* isolated from agricultural soil. *FEMS microbiology letters*, 337(1), 18-24
29. Aimeur, N., Tahar, W., Meraghni, M., Meksem, N., and Bordjiba, O. 2016. Bioremediation of pesticide (mancozeb) by two *Aspergillus* species isolated from surface water contaminated by pesticides. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 9, 2668-2670.
30. Zanardini, E., Arnoldi, A., Boschin, G., D-Agostina, A., Negri, M., Sorlini, C. 2002. Degradation pathways of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Annals of Microbiology*, 52:25-37. <https://doi.org/10.1100/tsw.2002.281>
31. Prpich, G. P., and Daugulis, A. J. 2005. Enhanced biodegradation of phenol by a microbial consortium in a solid-liquid two phase partitioning bioreactor. *Biodegradation*, 16, 329-339.
32. Cassidy, D. P., Werkema Jr, D. D., Sauck, W., Atekwana, E., Rossbach, S., and Duris, J. 2001. The effects of LNAPL biodegradation products on electrical conductivity measurements. *Journal of Environmental and Engineering Geophysics*, 6(1), 47-52.
- ZWS11. *Journal of Environmental Sciences*, 35, 151-162.
21. Lu, X. H., Kang, Z. H., Tao, B., Wang, Y. N., Dong, J. G., and Zhang, J. L. 2012. Degradation of nicosulfuron by *Bacillus subtilis* YB1 and *Aspergillus niger* YF1. *Applied biochemistry and microbiology*, 48, 460-466.
22. Andersen, S. M., Hertz, P. B., Holst, T., Bossi, R., and Jacobsen, C. S. 2001. Mineralisation studies of 14C-labelled metsulfuron-methyl, tribenuron-methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron-methyl in one Danish soil and groundwater sediment profile. *Chemosphere*, 45(6-7), 775-782.
23. Zhang, H., Mu, W., Hou, Z., Wu, X., Zhao, W., Zhang, X., and Zhang, S. 2012. Biodegradation of nicosulfuron by the bacterium *Serratia marcescens* N80. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47(3), 153-160.
24. Faramarzi, M., Avarseji, Z., Gholamalipour Alamdari, E., and Taliei, F. 2023. Biodegradation of the trifluralin herbicide by *Pseudomonas fluorescens*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1-8.
25. Avarseji, Z., Talie, F., GholamaAlipour Alamdari, E., and Hoseini Tilan, M. S. 2021. Investigation of the biodegradability of pendimethalin by *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, and *Escherichia coli*. *Advances in Environmental Technology*, 7(4), 221-229.

- availability in aged soils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(14), 5801-5805
39. Si, Y., Zhou, J., Chen, H., and Zhou, D. 2004. Photostabilization of the herbicide bensulfuron-methyl by using organoclays. *Chemosphere*, 54(7), 943-950.
 40. Luo, W., Zhao, Y., Ding, H., Lin, X., and Zheng, H. 2008. Co-metabolic degradation of bensulfuron-methyl in laboratory conditions. *Journal of hazardous materials*, 158(1), 208-214.
 41. Sabadie, J. 2002. Nicosulfuron: Alcoholysis, chemical hydrolysis, and degradation on various minerals. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(3), 526-531.
 42. Feng, W., Wei, Zh., Song J., Qin Q., Yu K., Li G., Zhang J., Wu W., and Yan Y. 2016. Hydrolysis of nicosulfuron under acidic environment caused by oxalate secretion of a novel *Penicillium oxalicum* strain YC-WM1. *Scientific Reports* 7: 647. DOI:10.1038/s41598-017-00228-2 1.
 43. Zeinali Dizaj, S., Avarseji, Z., Mollashahi, M., Alamdari, E.G. and Taliei, F. 2023. Tribenuron-methyl herbicide bacterial decontamination via *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20(7), pp.7167-7176.
 33. Atekwana, E. A., Atekwana, E. A., Rowe, R. S., Werkema Jr, D. D., and Legall, F. D. 2004. The relationship of total dissolved solids measurements to bulk electrical conductivity in an aquifer contaminated with hydrocarbon. *Journal of Applied Geophysics*, 56(4), 281-294.
 34. Zhang, T., Ban, X., Wang, X., Cai, X., Li, E., Wang, Z., and Lu, X. 2017. Analysis of nutrient transport and ecological response in Honghu Lake, China by using a mathematical model. *Science of The Total Environment*, 575, 418-428.
 35. Dhall, P., Kumar, R., and Kumar, A. 2012. Biodegradation of sewage wastewater using autochthonous bacteria. *The Scientific World Journal*, 2012.
 36. El Bestawy, E., Ahmed, A. H., Amer, R., and Kashmeri, R. A. 2014. Decontamination of domestic wastewater using suspended individual and mixed bacteria in batch system. *Journal of Bioremediation and Biodegradation*, 5(5), 1.
 37. Peng, X., Huang, J., Liu, C., Xiang, Z., Zhou, J., and Zhong, G. 2012. Biodegradation of bensulphuron-methyl by a novel *Penicillium pinophilum* strain, BP-H-02. *Journal of hazardous materials*, 213, 216-221.
 38. Regitano, J. B., and Koskinen, W. C. 2008. Characterization of nicosulfuron