تقييم كفاءة *Trichoderma harzianum* و *Azotobacter chroococcum* في التحطيم الاحيائي لمبيد الكلايفوسيت وقياس اثرة المتبقي في التربة باستخدام HPLC

وسن صاحب الثرواني مشتاق طالب محمد علي استبرق محمد عبد الرضا
جامعة كربلاء – كلية الزراعة
Orcid.org/0000-0002-8724-2189
wasan.s@s.uokerbala.edu.iq

ISSN (Paper) 1994-697X
Online 2706 -722X
https://doi.org/10.54633/2333-022-047-004

المستخلص : Abstract

نفذت هذه الدراسة في المختبرات والمحطة الزراعية التابعة لكلية الزراعة – جامعة كربلاء لغرض تقييم كفاءة الفطر *Trichoderma harzianum* و البكتريا *Azotobacter chroococcum* في تحطيم مبيد الكلايفوسيت و قياس اثره المتبقي في التربة باستخدام جهاز HPLC . تم استخدام ثلاث تراكيز الموصى بها من قبل الشركة و اخذت عينات التربة بعد المعاملة مباشرة و بعد 3 ، 7 ، 10 و15 يوم من المعاملة .بينت النتائج ان التراكيز الثلاثة المستخدمة 10 ، 15 و 20 مل / لتر ماء سجلت 1552 ، 2235 ، 3096 و 1132 ، 1955 ، 2626 ملغم لتر$^{-1}$ لكل من معاملة الفطر والبكتريا على التوالي بعد المعاملة 3 ايام مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت 3104 ، 4840 ، 5582 ملغم لتر$^{-1}$ ، عند 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$^{-1}$. اوضحت نتائج الدراسة قدرة الفطر *T. harzianum* والبكتريا *A. chroococcum* تحطيم و تلاشي المبيد بعد 10 يوم من المعاملة وبدون اثر متبقي لمبيد الكلايفوسيت 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 .

كلمات مفتاحية keyword : كلايفوسيت ، *Trichoderma* ، *Azotobacter* ،التحطيم الحيوي ، تلاشي المبيد في التربة ، HPLC .

المقدمة : Introducation

الاستخدام المفرط لمبيدات الادغال احدث اضراراً بالنظام البيئي وخلق تهديداً لاستدامة النظام الزراعي، (Abbas et al., 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 (AL–Safor , 2012) , مبيد الادغال Glyphosate ، (*N*–(phosphonomethyl)glycine) ، هو مركب حيوي ذو نشاط واسع النطاق تم إدخاله لمكافحة الحشائش في حقول الإنتاج الزراعي في (Benbrook1974، 2016). في العراق اجريت العديد من الدراسات حول تقدير أثر المتبقيات للمبيدات و السبل الكفيلة للتقليل من استخدامها و الحد من التلوث البيئي (Abu Dakka and Muhammad Ali ، 2021 ; Al–Maksousi and Muhammad Ali ، 2021) .

أدى زيادة استخدام الكلايفوسيت بشكل متكرر وغالباً بجرعات أعلى من الموصي بها الى تراكم كميات كبيرة وزائدة في التربة وبالتالي وصوله الى المياه الجوفية ومياه المبازل عن طريق غسل التربة بالأمطار (2014 , Jayasumaua). لذلك فأن تلوث مياه الشرب بهذا المبيد أمر محتمل ويجب الحذر منه . كشفت العديد من الدراسات عن القدرة الميكروبية 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 والحيوية ، 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 et al. , 2020) . هدفت هذه الدراسة الى تقييم كفاءة الفطر *Trichoderma harzianum* و البكتريا *Azotobacter chroococcum* في تلاشي مبيد الكلايفوسيت عند التراكيز الموصى بها في التربة.

مواد وطرائق العمل : Material and Method

مبيد الكلايفوسيت و الفطر والبكتريا الاحيائية :

تم الحصول على مبيد Tiller 48% SL من الاسواق المحلية و المنتج من قبل شركة Astrachem المملكة العربية السعودية و المسجل لدى وزارة الزراعة العراقية كما تم الحصول على عزلة الفطر *Trichoderma harzianum* من مختبرات كلية الزراعة جامعة كربلاء و البكتريا *Azotobacter chroococcum* من مختبرات وزارة العلوم والتكنلوجيا / بغداد .

تحضير الاوساط الغذائية :

- **وسط البطاطا الغذائي (Potato Dextrose Agar)**

حضر الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة Liofilchem بإذابة 42 غم من الوسط الزرعي في 1000 مل من الماء المقطر في دورق زجاجي سعة 1000 مل وضع مضاد حيوي بعدها اغلقت فوهته بواسطة القطن وورق الالمنيوم عقم بجهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة ودرجة حرارة 121 °م وضغط 15 باوند / انج^{2} بعدها صب في اطباق بتري قطر 9 سم بمعدل 20 مل / طبق.

وسط المرق المغذي Nutrient Broth

حضر الوسط حسب تعليمات الشركة الأمريكية المصنعة Difco BD بإذابة 13 غم من المادة في 1000 مل من الماء المقطر ثم عقم بجهاز المؤصدة لمدة 20 دقيقة ودرجة حرارة 121 م°وضغط 15 باوند / انج^{2} وأستخدم هذا الوسط لتنشيط واكثار البكتريا المستخدمة في التجارب (Ravathie et al. , 2012).

تنمية عزلة الفطر *T. harzianum*

حضر وسط البطاطا الغذائي المعقم والحاوي على المضاد الحيوي وصب في اطباق بتري. اخذ جزء من المستعمرة النامية على الوسط اعلاه بواسطة الثاقب الفليني من حافة المستعمرة ووضعت وسط الطبق وضعت الاطباق بالحاضنة في درجة حرارة 25 ± 2 درجة مئوية لحين اكتمال النمو بعدها حفظت بالثلاجة بدرجة حرارة 4 م°.

ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X

تنمية عزلة البكتريا *A. chroococcum*

حضر الوسط الغذائي وعقم في جهاز Autoclave بعدها صب في أطباق بتري حتى تتصلب ثم لقحت بأنواع البكتريا قيد الدراسة ووضعت بالحاضنة في درجة حرارة 28 ± 2 م° لحين اكتمال النمو ومن ثم حفظت في الثلاجة بدرجة حرارة 4 م°.

تحضير و تعقيم التربة المستخدمة في التجربة الحقلية :

حضرت التربة واجريت لها التحاليل لمعرفة خواصها الفيزيائية و الكيميائية جدول ١ . تم تنظيفها من جميع الشوائب والأحجار وبعدها نقلت الى مختبر الدراسات العليا التابع لقسم وقاية النبات في كلية الزراعة اذ عقمت بجهاز المؤصدة تحت ضغط 15 باوند / انج ² ودرجة حرارة 121 °م لمده ساعة واحدة مرتين متتاليتين بفترة فاصلة يوم واحد.

جدول ١ : **بعض الخواص الفيزيائية والكيميائية للتربة المستعملة في الدراسة .**

نوع التربة	مستوى حامضية التربة	التوصيل الكهربائي	المادة العضوية %	الرمل %	الغرين %	الطين %
رملية مزيجيه	7.2	4.2	0.54	68.2	17.8	14

تحضير اللقاح البكتيري والفطري

حضر لقاح البكتريا *A. chroococcum* عن طريق تنميتها على الوسط الغذائي Nutrient Agar (NA) بوضع 28 غم من هذا الوسط في دورق زجاجي حجم ١٠٠٠ 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 . حضر لقاح الفطر *T. harzianum* عن طريق تنميته على وسط البطاطا السائل(PDA) Potato Dextrose Agar بوضع ٥٠ غم 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.

دراسة كفاءة *T. harzianum* و *A. chroococcum* في تحلل مبيد الكلايفوسيت في التربة حقلياً :

اخذ 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 وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز وللمقارنة ايضاً ثلاث مكررات لكل تركيز ، وحقنت السنادين باللقاح الفطري *T. harzianum* واللقاح البكتيري *A. chroococcum* ، اخذت القراءات بعد المعاملة مباشرة و بعد 3 و 7 و 10 و 15 يوما من المعاملة و حفظت العينات في اكياس بلاستيكية بالمجمدة عند درجة حرارة – 20 °م لحين اجراء تحليل النتائج بجهاز HPLC.

www.misan-jas.com
ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X

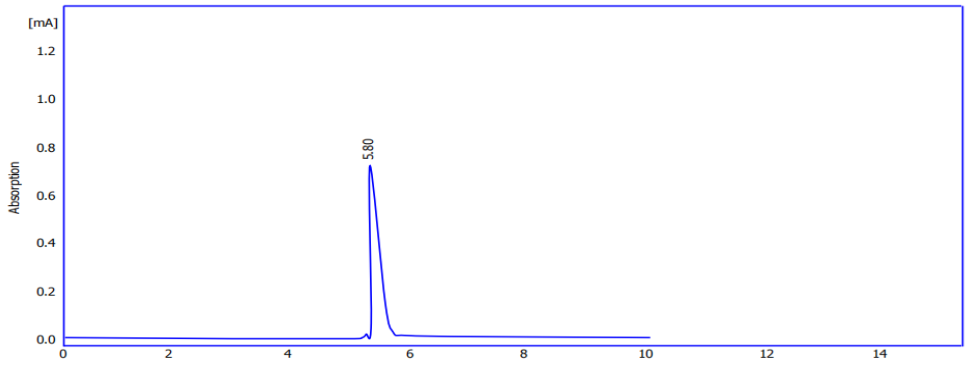
الاستخلاص لمتبقيات مبيد الكلايفوسيت :

اخذ 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 .

الكشف والتحليل :Detection And Analyses

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 SYKAMN) 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)

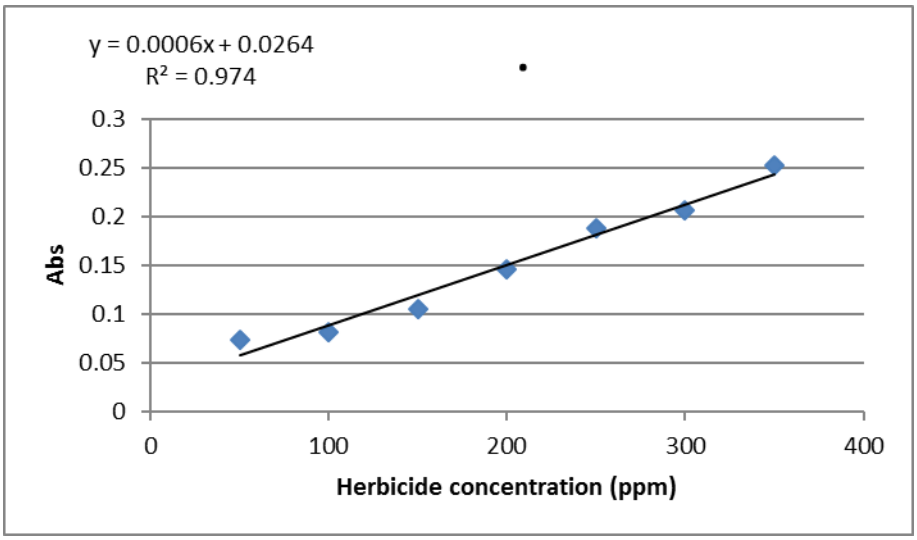
No	Reten. Time [min]	Area [mAU.s]	Height [mAU]	Area [%]	Height [%]	W 05 [min]	Compound Name
1	5.80	3220.98	985.49	100.00	100.00	0.25	
	Total	3220.98	985.49	100.00	100.00		

شكل (1) منحني المادة القياسية للمبيد كلايفوسيت .

المنحنى القياسي:

حضر المنحنى القياسي لتقدير تركيز مبيد Glyphosate وذلك بتحضير تراكيز مختلفة منه 5 , 10 , 20 , 25 , 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 تركت لتبرد بحرارة الغرفة ومن بعدها تم قراءة الامتصاصية بجهاز المطياف الضوئي EMC-11-UV عند 570 نانوميتر .

ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X

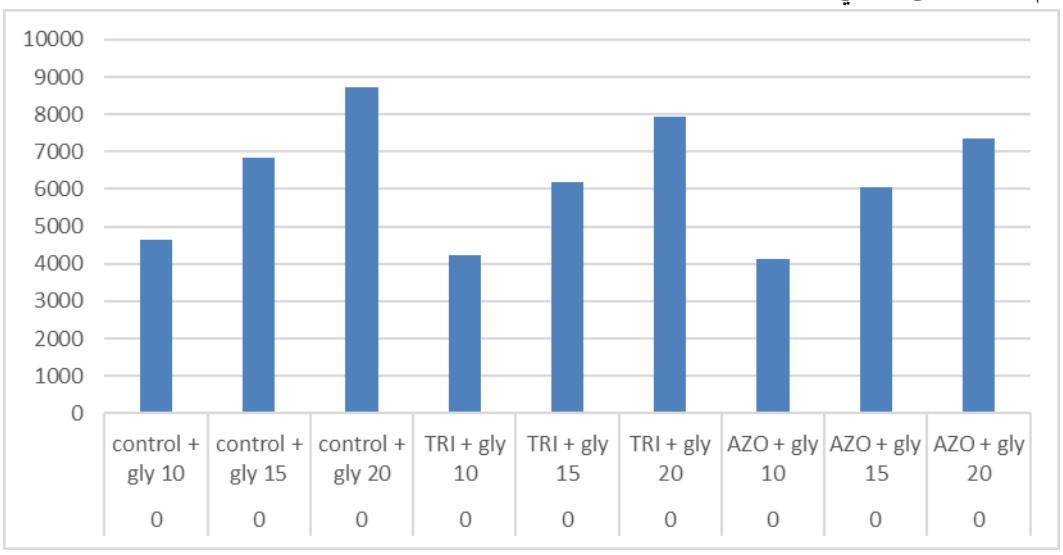


شكل(2) المنحنى القياسي لمبيد الكلايفوسيت .

النتائج و المناقشة :

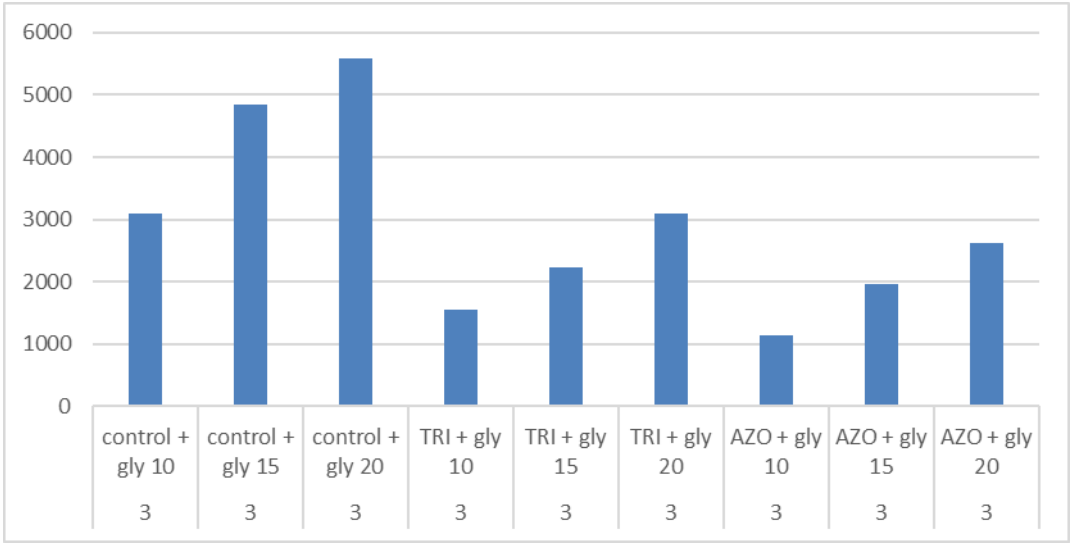
تقييم كفاءة *T. harzianum* و *A. chroococcum* في تلاشي مبيد الكلايفوسيت في التربة

اظهرت نتائج دراسة تقييم الفطر والبكتريا في تلاشي مبيد الكلايفوسيت في التربة شكل (3) ان التراكيز الثلاثة المستخدمة 10 , 15 و 20 مل / لتر ماء سجلت 3238 , 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 و 8725 ملغم لتر$^{-1}$ ، ثم بدا تركيز المبيد بالانخفاض بعد 3 يوم من المعاملة شكل (4) مسجلا 1552 , 2235 , 3096 و 1132 , 1955 و 2626 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي .



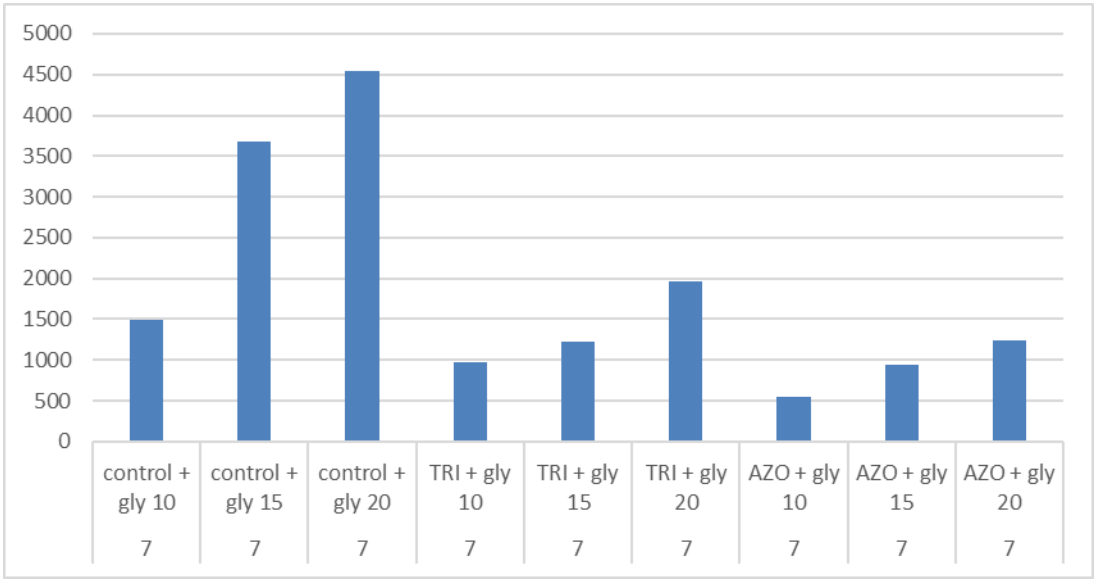
شكل (3) تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد المعاملة مباشرة

ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X



شكل (4) تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد ٣ يوم من المعاملة.

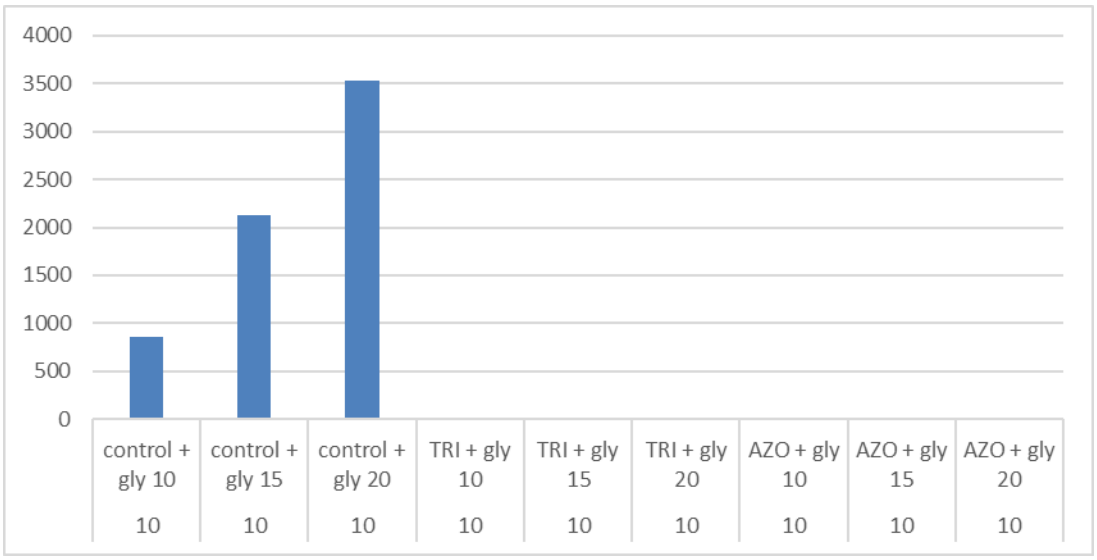
كما يلاحظ من الشكل (5) ان التراكيز انخفضت في اليوم السابع مسجلة 975 , 1227 , 1970 و 541 , 942 , 1242 ملغم لتر$^{-1}$ على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة التي سجلت 1493 ,3675 و 4536 ملغم لتر$^{-1}$.



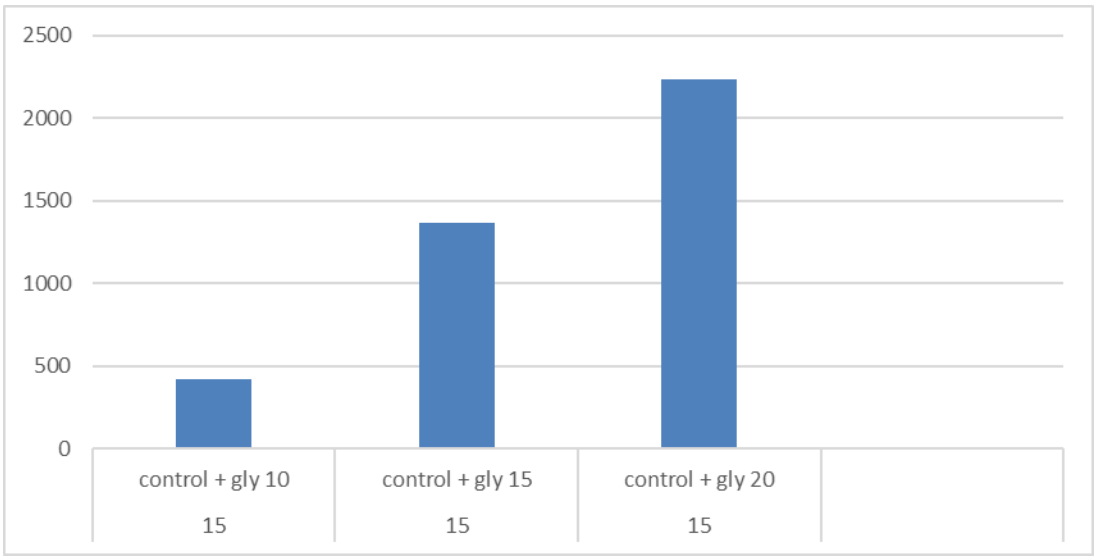
شكل (5) تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد ٧ يوم من المعاملة.

اشارت نتائج الدراسة ان الفطر *T. harzianum* والبكتريا *A. chroococcum* حققتا الكفاءة في تحطيم و تلاشي المبيد بعد 10 يوم من المعاملة شكل (6) 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 (7) .

ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X



شكل (6) تلاشي بقايا مبيد Glyphosate ملغم لتر$^{-1}$ في التربة بعد 10 يوم من المعاملة.



شكل (7) 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 . اشار Hove-Jensen واخرون (2014) في ان البكتريا الموجودة في التربة تقوم بعملية التحلل الايضي البيولوجي لمبيد الكلايفوسيت و بالتالي تقوم باستخدام نتائج التحلل كمصدر للكربون والنيتروجين والفوسفور . كما وضح Moneke واخرون (2010) في دراسة اجريت على خمسة انواع بكتيرية هي *Alcaligenes sp*, *Pseudomonas* sp., *Azotobacter* sp. , *Escherichia* sp., *Acetobacter* sp. التي عزلت من التربة وكانت لديها القدرة على تحمل تراكيز عالية من مبيد الكلايفوسيت 100 – 250 ملغم / مل وبالتالي ممكن استخدامها في تحطيم المبيدات الاخرى التابعة لمجموعة الفسفور العضوية .وجد Correa واخرون (٢٠٢١) من خلال دراسة اجريت على سلالات فطريات تابعة الى *Trichoderma* و *Aspergillus*

www.misan-jas.com ISSN (Paper)-1994-697X (Online)-2706-722X

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 للفطر هي 35 °م . 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 .

الاستنتاج: Conclusions

استنتج من هذه الدراسة أن الفطر *Trichoderma harzianum* والبكتريا *Azotobacter chroococcoccum* لهما قدرة عالية في تحطيم وتفكك مبيد الادغال الكلايفوسيت والتخلص من بقايا المبيد عن طريق عملية التحلل الايضي البيولوجي لمبيد الكلايفوسيت و بالتالي يقومان باستخدام نتائج التحلل الايضي كمصدر للكربون والنيتروجين والفوسفور، وكذلك استنتج ان البكتريا الاحيائية *A.chroococcu* كانت الاكثر كفاءة نسبيا من الفطر في تحطيم متبقيات مبيد الكلايفوسيت في التربة.

Evaluation of the efficiency of *Trichoderma harzianum* and *Azotobacter chroococcum* in Biodegradation of Glyphosate and measurement of its residual in soil by using HPLC

Wasan Sahib Al-Tharwani[1] Mushtak Talib Mohammadali[1] Istabraq Muhammad Abd al-Ridha[1]
[1]College of Agriculture , Kerbala University
Orcid.org/0000-0002-8724-2189
Email : wasan.s@s.uokerbala.edu.iq

ABSTRACT

This study was carried out in the laboratories and the agricultural station of the College of Agriculture at the University of Karbala for the purpose of evaluating the efficiency of *Trichoderma harzianum* and *Azotobacter chroococcum* in the biodegradation of glyphosate and measuring its residual in the soil by using the HPLC. Three herbicide concentrations at the dosage rate recommended were used, and the soil samples were taken immediately after the treatment and after 3, 7, 10, and 15 days of the treatment. The results showed that the three concentrations used 10, 15 and 20 ml / liter of water achieved 1552, 2235, 3096 and 1132, 1955, 2626 mg L-^{1} for each fungus and bacteria, respectively, after 3 days of treatment, compared to the comparison treatment, which recorded 3104 and 4840 , 5582 mg L-1, and the control treatment, which recorded 3104, 4840, 5582 mg L-^{1}. On the 7th 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}.The results of the study showed the ability of the fungus *T. harzianum* and the bacteria *A. chroococcum* In the biodegradation of glyphosate, there were no residual herbicides at the concentrations used in the study after 10 days of treatment.

Keywords: Glyphosate, *Trichoderma*, *Azotobacter*, biodegradation , residue in soil , HPLC.

المصادر :

Abbas, Z. R., Abdul-Jabbar R. A., and Aboud Hadi M. (2015). The effect of the herbicide clifosate on populations of *Azotobacter chroococcum* and *Rhizobium leguminosarum*. Journal of the College of Basic Education, Volume 21, Issue 88.DOI: https://www.iasj.net/iasj/article/102211.

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 . DOI: 10.4172/2157-7471.1000349.

Abu Dakka, A. B. and Mohammadali M. T. (2021). Study of the residues of the two pesticides Thiamethoxam WG 25% and Acetamiprid SP 20% and their use in the control of the insect *Brevicoryne brassicae* (Homoptera: Aphididae) on the legume crop. Master Thesis . Karbala University.

Al-Maksousi, S. H. and Mohammadali M. T..(2021). Evaluation of the efficiency of some biopesticides against the two-spotted mite *Tetranychus urticae* Koch, with a study of the residual effect of Abamectin on cucumbers under protected cultivation conditions. Master's thesis. Karbala University.

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.DOI: 10.33899/RJS.2012.27952.

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. doi.org/10.1584/jpestics.D14-085.

Benbrook, C.M., (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. Environ. Sci. Eur. 28 (3). DOI: 10.1186/s12302-016-0070-0.

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. DOI: 10.1590/1519-6984.242830.

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. https://bio.au.dk/en/research/publications?tx_pure_pure5%5Basc%5D=1&tx_pure_pure5%5Bcontroller%5D=Publications&tx_pure_pure5%5Border%5D=authorLastName&tx_pure_pure5%5Bpointer%5D=382&cHash=af6a954165bb80ab5bf9ecc65dcd8f1a.

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. DOI: 10.3390/ijerph110202125.

Moneke AN, Okpala GN, Anyanwu CU .(2010). Biodegradation of glyphosate herbicide in vitro using bacterial isolates from four rice fields. Afr.J. Biotechnol9:4067–4074
https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/82570.

Ravathie A., Sevvel P., Nirmala R. and Kularajany N. 2012. Alternative culture media for bacterial growth using different formulation of protein sources . J. Nat. Prod. Plant Resour., 2012, 2 (6):697-700. (http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html) .

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. DOI: 10.3390/ijerph17207519.