



Research Article
Vol. 36, No. 1, Spring 2022, p. 97-108



Determination of Nicosulfuron Persistence in Soil using Bioassay and Analytical Methods

E. Mamnoie¹, E. Izadi-Darbandi^{2*}, M. Rastgoo³, M.A. Baghestani⁴, M. Hasanzade Khayyat⁵

Received: 01-09-2020

Revised: 20-02-2021

Accepted: 27-02-2021

Available Online: 20-06-2022

How to cite this article:

Mamnoie, E., Izadi-Darbandi, E., Rastgoo, M., Baghestani, M.A., & Hasanzade Khayyat M. (2022). Determination of Nicosulfuron Persistence in Soil using Bioassay and Analytical Methods. *Journal of Iranian Plant Protection Research* 36(1): 97-108. (In Persian with English abstract)

DOI: [10.22067/JPP.2021.32817.0](https://doi.org/10.22067/JPP.2021.32817.0)

Introduction

Widespread application of herbicides to control weeds during the past few decades has resulted in serious ecological and environmental problems, such as resistance and shifts in weed populations. Sulfonylurea herbicides are acetoacetate synthase inhibitors. These herbicides will be used effectively to control a wide range of grassy and broad leaf weeds. Nicosulfuron is one of the main ALS inhibitors that was registered for corn in Iran. Under certain conditions some sulfonylurea herbicides can persist at phytotoxic concentrations in soils long enough to affect sensitive crops in the following season. There are many factors affecting persistence of herbicides, included soil type, soil organic matter, soil pH, soil temperature and moisture. Bioassay and HPLC methods are the most common methods for determining herbicide residues in soil. HPLC methods is a time-consuming, costly, and expensive. But bioassay method is a simple, fast, and inexpensive that uses sensitive plants to detect low concentrations of residual in the soil. Several bioassay methods for sulfonylurea herbicides have been reported using lentil (*Lens culinaris* L.), lettuce (*Lactuca sativa* L.), sunflower (*Helianthus annuus* L.), corn (*Zea mays* L.) pea (*pisum sativum* L.), and lupin (*Lupinus angustifolius* L.). This study was aimed to understanding the nicosulfuron persistence in soil using HPLC and bioassay methods.

Materials and Methods

In order to study the soil persistence of nicosulfuron using bioassay and HPLC, an experiment was carried out as a factorial arrangement based on completely randomized block design with three replications in Research Field of Ferdowsi University of Mashhad during 2014-2015. Treatments included of the application of organic and bio-fertilizers in four different levels of cow manure (40 t ha⁻¹), vermicompost (10 t ha⁻¹), mycorrhiza (2.5 t ha⁻¹) fertilizers and control as first factor. The second factor was nicosulfuron doses (40 and 80 g a.i ha⁻¹), and the third factor was the application of nicosulfuron with and without of Hydromax adjuvant. The herbicide was applied at four leaf stages using an overhead trolley sprayer equipped with an 8002 flat fan nozzle tip delivering 200 L ha⁻¹ at 2 bar spray pressure. To determine nicosulfuron residue in soil sampling was performed at different periods of 0, 2, 5, 8, 16, 30, 60, 90 days after spraying from 0-15 cm depth of soil. The herbicide residue was determined using HPLC and bioassay methods. Garden cress (*Lepidium sativum* L.) was the bio-indicator in bioassay method.

Results and Discussion

Results showed by increasing of nicosulfuron dose, it's soil residue increased, however; nicosulfuron half

1- Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Iran

2 and 3- Professors, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

(*- Corresponding Author Email: e-izadi@um.ac.ir)

4- Researcher Professor, Iranian Plant Protection Research Institute

5- Professor, Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences

time (DT_{50}) was not affected. Application of Hydromax decreased nicosulfuron degradation rate (K) and increased its half-life of nicosulfuron. However, the application of organic and biological fertilizers increased degradation rate and decreased its half-life of nicosulfuron. So that the highest nicosulfuron degradation rate was indicated (0.066 and $0.073 \mu\text{g kg}^{-1}$ soil) and the lowest DT_{50} (10.5 and 9.50 days) were indicated in HPLC and bioassay methods respectively, when nicosulfuron applied in the dose of 40 g a.i ha^{-1} + cow manure mixed in soil. Based on the results, significant positive correlation ($r^2 = 0.97$) was observed between HPLC and bioassay methods in degradation rates and half-life of nicosulfuron herbicide. According to bioassay method, garden cress is high sensitive to nicosulfuron residue in soil. Therefore, garden cress especially its root bioassay is recommended as an acceptable method for nicosulfuron soil residue detection and can be used as desirable bio-indicator for tracing of nicosulfuron persistence and soil residue.

Conclusion

The application Hydromax decreased nicosulfuron degradation rate and increased DT_{50} of nicosulfuron. But organic fertilizers increased nicosulfuron degradation rate and decreased DT_{50} . Based on this study results garden cress is desirable bio-indicator for tracing of nicosulfuron persistence in soil.

Keywords: Cow manure, Degradation rates, Garden cress, Half-life, Persistence

مقاله پژوهشی

جلد ۳۶، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، ص ۹۷-۱۰۸

تعیین ماندگاری نیکوسولفورون در خاک با آزمون زیست‌سنجی و آنالیز دستگاهی

ابراهیم ممنوعی^۱ - ابراهیم ایزدی دربندی^{۲*} - مهدی راستگو^۳ - محمد علی باغستانی^۴ - محمد حسن حسن زاده خیاط^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۰۹

چکیده

به منظور بررسی ماندگاری نیکوسولفورون در خاک با استفاده از آزمون زیست‌سنجی و آنالیز دستگاهی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. فاکتور اول شامل کاربرد کود در چهار سطح کود گاوی، کود ورمی‌کمپوست، مایکوریزا به همراه شاهد (بدون کود آلی)، فاکتور دوم شامل کاربرد نیکوسولفورون در دو سطح ۴۰ و ۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار و فاکتور سوم کاربرد و عدم کاربرد ماده افزودنی هیدرومکس بودند. برای تعیین باقیمانده نیکوسولفورون در خاک در بازه‌های زمانی صفر، ۲، ۵، ۸، ۱۶، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از سم‌پاشی از عمق‌های صفر تا ۱۵ سانتی‌متری خاک نمونه‌گیری انجام شد. سپس مقدار باقیمانده علف‌کش با روش آنالیز دستگاهی (HPLC) و زیست‌سنجی با استفاده از گیاه شاخص شاهی (*Lepidium sativum* (L.) Fourr.) تعیین شد. نتایج نشان داد با کاربرد هیدرومکس سرعت تجزیه نیکوسولفورون در خاک کاهش و نیمه عمر آن افزایش یافت. برعکس، کاربرد کودهای آلی و زیستی توانستند سرعت تجزیه علف‌کش را افزایش و نیمه عمر آن را کاهش دهند. به طوری که بیشترین سرعت تجزیه در روش آنالیز دستگاهی و زیست‌سنجی به ترتیب ۰/۰۶۶ و ۰/۰۷۳ میکروگرم در کیلوگرم خاک و کمترین نیمه عمر نیز به ترتیب ۱۰/۵ و ۹/۵۰ روز از تیمار کاربرد کود گاوی و در مقدار کاربرد ۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار نیکوسولفورون مشاهده شد. بر اساس نتایج آزمایش، همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r^2 = ۰/۹۷$) بین ضرایب تجزیه و نیمه عمر علف‌کش در دو روش آنالیز دستگاهی و زیست‌سنجی وجود داشت. لذا، گیاه شاخص شاهی می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی مطلوب در ردیابی بقایای و نیکوسولفورون در خاک می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: سرعت تجزیه، شاهی، کود گاوی، ماندگاری، نیمه عمر

مقدمه

کاربرد بی‌رویه علف‌کش‌ها در مزارع کشاورزی سبب بروز اثرات نامطلوب زیست محیطی، مقاوم شدن علف‌های هرز و تغییر فلور آنها می‌گردد (Mueller and Senseman, 2015). همچنین پسماند و متابولیت‌های حاصل از تجزیه علف‌کش‌ها در خاک قادرند محدودیت

تناوبی ایجاد کنند (Mueller and Senseman, 2015). علف‌کش‌های گروه سولفونیل اوره پسماند فعالی در خاک دارند و به محصولات حساس در تناوب‌های زراعی خسارت ایجاد می‌کنند (Izadi et al., 2013). در این ارتباط اثر خسارت‌زایی بقایای نیکوسولفورون بر کلزاء، جو، گندم^۶ (Mamnoie et al., 2018)، خردل^۷، شاهی^۸ و یولاف^۹ (Ghassam et al., 2010) و ریم‌سولفورون بر عدس، کلزاء، چغندر^{۱۰} (Shahbazi et al., 2015)

۱- استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، ایران
۲ و ۳- استادان گروه اگروتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۴- استاد موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور
۵- استاد دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
* - نویسنده مسئول

(Email: e-izadi@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/JPP.2021.32817.0

5- *Brassica napus* L.

- 6- *Brassica napus* L.
7- *Hordeum vulgare* L.
8- *Triticum aestivum* L.
9- *Brassica alba* L.
10- *Lepidium sativum* L.
11- *Avena fatua* L.
12- *Beta vulgaris* L.

پسماند علف‌کش‌ها در خاک است. به طوری که امروزه استفاده از مقادیر کاهش علف‌کش مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است. با این وجود، کاربرد مقادیر کاهش یافته علف‌کش ممکن است با کاهش کارایی کنترل علف‌های هرز توأم شود. لذا در این شرایط استفاده از ماده افزودنی برای حفظ اثر بخشی علف‌کش ضروری به نظر می‌رسد. مواد افزودنی با تأثیر بر جذب علف‌کش و کاهش آیشویی در خاک بر ماندگاری علف‌کش مؤثر هستند (Maheswari *et al.*, 2007). به طوری که گزارش شده است که با کاربرد ماده افزودنی المیکس^۲ (روغن معدنی)، ترند (مویان) و بکرو^۳ (مویان غیر یونی) با علف‌کش کلریدازن^۴ سرعت تجزیه کاهش و ماندگاری افزایش یافت (Kucharski *et al.*, 2012).

هدف از اجرای این آزمایش ارزیابی دو روش زیست‌سنجی و آنالیز دستگاهی در تعیین ماندگاری نیکوسولفورون و بررسی نقش تاثیر کودهای آلی و زیستی و ماده افزودنی هیدرومکس بر ماندگاری آن در خاک بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش برای تعیین ماندگاری علف‌کش نیکوسولفورون با استفاده از دو روش آنالیز دستگاهی (HPLC) و زیست‌سنجی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال‌های زراعی ۹۵-۱۳۹۴ انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل کاربرد کودهای آلی و زیستی در چهار سطح کود گاوی (۴۰ تن در هکتار)، کود ورمی‌کمپوست (۱۰ تن در هکتار)، کود بیولوژیک مایکوریزا (۲/۵ تن در هکتار) و شاهد بدون کاربرد کود آلی، فاکتور دوم مقادیر کاربرد علف‌کش نیکوسولفورون (۴ درصد سوسپانسیون غلیظ^۵) به مقدار ۴۰ و ۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار (شرکت بسترفلد آلمان)، و فاکتور سوم شامل کاربرد و عدم کاربرد ماده افزودنی هیدرومکس (۹۰ درصد عصاره یوکا، دو درصد اسید هیومیک، ۵ درصد مویان (گرت پرُدکت^۶، امریکا) به مقدار نیم درصد حجمی بودند. انتخاب مقادیر کاربرد کودهای گاوی و ورمی‌کمپوست بر اساس آزمون خاک و مقادیر کاربرد کود بیولوژیک مایکوریزا بر اساس توصیه کارشناس شرکت تولید کننده کود (شرکت زیست فناور سبز) انجام شد.

آماده سازی بستر کشت شامل شخم، دیسک و تسطیح بود. تیمارهای کودهای آلی و زیستی به صورت یکنواخت در کرت‌ها

و تری‌بنورون بر چغندر قند، عدس^۱ و کلزا (Izadi *et al.*, 2013)، گزارش شده است.

تعیین بقایای علف‌کش‌ها جهت مدیریت پسماند و کاهش ماندگاری آنها برای جلوگیری از خسارت گیاهان زراعی در برنامه‌های تناوب زراعی ضروری است (Barzoei *et al.*, 2016). متداول‌ترین روش‌ها برای تعیین بقایای علف‌کش‌ها در خاک از طریق آنالیز دستگاهی و زیست‌سنجی می‌باشد. روش آنالیز دستگاهی روشی زمان‌بر، هزینه‌بر و نیازمند دستگاه دقیق با حلال‌های گرانیقیمت است. در حالی که روش زیست‌سنجی، روشی ساده، سریع و کم‌هزینه است که با استفاده از گیاه حساس می‌توان مقادیر اندک باقیمانده علف‌کش‌ها در خاک ردیابی کرد (Ritz and Streibig, 2005). به طوری که با این روش می‌توان باقیمانده علف‌کش را ۱/۸ میکروگرم در کیلوگرم خاک را ردیابی نمود (Hollaway *et al.*, 1999). از گیاهان حساس استفاده شده در روش زیست‌سنجی می‌توان به چغندر قند، عدس، کلزا (Izadi *et al.*, 2013) و شاهی اشاره کرد (Fakhrerad *et al.*, 2013). برای این منظور از شاهی برای ردیابی کلروسولفورون (Yaghoubi *et al.*, 2014) و نیکوسولفورون (Vicari *et al.*, 1998) و عدس برای نیکوسولفورون + ریم‌سولفورون (Shahbazi *et al.*, 2015) استفاده می‌شود.

از مهمترین روش‌های تجزیه علف‌کش‌ها در خاک می‌توان به تجزیه زیستی (Rathod *et al.*, 2010) و تجزیه شیمیایی (Maheswari *et al.*, 2007) اشاره کرد. فرایند تجزیه شیمیایی و زیستی در خاک تابع ماده آلی خاک، دما، رطوبت، اسیدیته، تغذیه و جمعیت میکروبی است (Rathod *et al.*, 2007). بر این اساس نیمه عمر نیکوسولفورون بسته به شرایط محیطی ۶ روز (Chery *et al.*, 2002)، ۱۳ روز (Wu *et al.*, 2010) و ۶۰ روز (Sabaie, 2002) گزارش شده است.

کودهای آلی و زیستی قادر هستند با تاثیر بر شرایط خاک (Rahman *et al.*, 2011) سرعت تجزیه علف‌کش را افزایش و ماندگاری آنها را کاهش می‌دهند (El-Barzoei *et al.*, 2019). در این ارتباط گزارش شده که کودهای گاوی، ورمی‌کمپوست و زیستی با بهبود تجزیه زیستی و شیمیایی، سرعت تجزیه متری بیوزین را ۳۷ درصد افزایش دادند (Shahgholi *et al.*, 2014). همچنین با کاربرد کودهای آلی و زیستی، سرعت تجزیه تری‌فلورالین (Barzoei *et al.*, 2016) و متری بیوزین (Fakhrerad *et al.*, 2013) در خاک افزایش و ماندگاری آنها کاهش یافت.

کاهش مصرف علف‌کش یکی از مهمترین روش‌های کاهش

2- Olemix 84 EC (mineral oil SAE 10/95)

3- BackRow

4- Chloridazon

5- Suspension concentrate (SC)

6- Growth Product

1- *Lens culinaris* L.

فشار ثابت، به نازل بادبزنی (۸۰۰۲) و فشار ثابت ۲۰۰ کیلو پاسکال انجام شد. بافت خاک محل آزمایش سیلتی لوم، وزن مخصوص ظاهری (۱/۵۷ گرم در سانتی متر مکعب)، سایر مشخصات خاک و کودهای آلی و زیستی در جدول ۱ نشان داده شده است.

پخش و با لایه سطحی در عمق ۵ تا ۱۰ سانتی‌متری با استفاده از شن کش با خاک مخلوط شدند. کرت‌های آزمایش دارای شش خط کاشت با تراکم ۷۱۰۰۰ بوته در هکتار ذرت (رقم ۷۰۴) با فواصل ۷۰ × ۲۰ سانتی‌متری کشت گردید. سم‌پاشی در مرحله سه تا چهار برگی علف‌های هرز معادل ۴ تا ۶ برگی ذرت با استفاده از سمپاش پشتی

جدول ۱- برخی ویژگی‌های کودهای آلی و زیستی آزمایش

Table 1- Some characteristics of organic and biological fertilizers of experiment

کود Fertilizers	نیتروژن N (mg/kg)	پتاسیم K ₂ O (mg/kg)	فسفر P ₂ O ₅ (mg/kg)	کربن آلی OC (%)	هدایت الکتریکی EC (dS/m ²)	اسیدیته pH
Cow manure کود گاوی	11375	410.4	7480	20	4.52	8.72
Vermicompost ورمی کمپوست	10033	2371	7820	15	5.81	8.44
Mycorrhiza مایکوریزا	6125	97	3680	10	2.46	8.12
Control (soil) کنترل	0.072	185	100	0.68	4.5	7.85

,Organic carbon (OC)

برای استخراج باقیمانده نیکوسولفورون از طریق آنالیز دستگاهی، ۱۰ گرم خاک مربوط هر تیمار را درون لوله‌های درب‌دار ۵۰ میلی‌لیتری انتقال داده و ۳۰ میلی‌لیتر مخلوط استونیتریل بعلاوه آب دیونیزه با نسبت ۳:۲ درصد حجمی اضافه و ۳۰ دقیقه شیک شد. برای تفکیک فاز مایع، نمونه‌ها با سانتریفیوژ ۴ هزار دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه انتقال داده شد. فاز مایع جدا شده را از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داد شد. برای تنظیم اسیدیته محلول (pH ≤ ۵) ۰/۵ میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک ۶ نرمال و ۶ گرم کلرید سدیم به آن اضافه و ۳۰ ثانیه شیک شد سپس ۱۵ میلی‌لیتر دی‌کلرومتان اضافه و مجدداً ۳۰ ثانیه شیک شد پس از آن ظرف به مدت ۵ دقیقه بی‌حرکت مانده تا فاز آلی از فاز آبی جدا گردد. مرحله افزودن ۱۵ میلی‌لیتر دی‌کلرومتان به باقی‌مانده عصاره تکرار شد تا باقیمانده فاز آلی جداسازی شود. تغلیظ محلول با دستگاه تبخیر چرخشی خلاء (روتاری اواپراتور) در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد حمام آب گرم انجام شد. سپس یک میلی‌لیتر استونیتریل به ظرف اضافه شد و پس از عبور از فیلتر آلی ۰/۴۵ میکرومتری به دستگاه HPLC تزریق گردید (Wu et al., 2010). لازم به ذکر است استونیتریل و دی‌کلرومتان با خلوص کروماتوگرافی و سایر مواد مورد استفاده در آزمایش با خلوص تجزیه‌ای^۲ از شرکت مرک^۳ استفاده شدند.

مدل دستگاه HPLC^۴ شیمادزو^۵ مجهز به آشکارساز اسپکتروفتومتریک یووی^۶ با ستون فاز معکوس C₁₈ از جنس بدنه

برای تعیین ماندگاری نیکوسولفورون، نمونه‌برداری از عمق صفر تا ۱۵ سانتی‌متری خاک با استفاده از مته‌ای به قطر هفت سانتی‌متر در فواصل زمانی صفر، ۲، ۵، ۸، ۱۶، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از سم‌پاشی انجام شد (Konda and Pasztor, 2001). پس از خشک شدن نمونه‌ها در دمای اتاق و عبور از الک، بخشی از نمونه برای آزمایش زیست‌سنجی، به گلدان‌هایی به قطر ۱۵ سانتی‌متر انتقال داده شد. بذر شاهی^۱ به عنوان گیاه محک در عمق یک سانتی‌متری کشت گردید و گلدان‌ها در دمای ۲۸ ± ۲ درجه سانتی‌گراد در گلخانه (تابستان و پاییز ۹۴) نگهداری شدند. برای بدست آوردن معادله استاندارد آزمون زیست‌سنجی، آزمایشی با مقادیر مشخص نیکوسولفورون در خاک به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تکرار اجرا شد. غلظت‌های شبیه‌سازی شده نیکوسولفورون در خاک شامل صفر (۰)، ۰/۰۰۰۵۴، ۰/۰۰۰۲۷، ۰/۰۰۰۵۴، ۰/۰۱۰۷، ۰/۰۲۱۴، ۰/۰۳۲، ۰/۰۴۲۷ و ۰/۰۵۳۴ میلی‌گرم ماده مؤثره در کیلوگرم خاک بودند که معادل صفر (۰)، ۰/۸، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۴۸، ۶۴، ۸۰ گرم ماده مؤثره نیکوسولفورون در هکتار است. وزن خشک ریشه پس از ۴۰ روز با دقت یک هزارم گرم تعیین شد و به معادلات لجستیکی ۴ و ۳ پارامتری (معادله ۱ و ۲) در نرم‌افزار R برازش داده شده (Nielsen et al., 2004) و پارامترهای D (حد بالا)، C (حد پایین)، b (شیب) و ED₅₀ تعیین شد. سپس با جایگزین کردن وزن خشک ریشه در تیمارهای مربوط به کاربرد نیکوسولفورون در آزمایش مزرعه‌ای (Y) در معادله مذکور باقیمانده نیکوسولفورون (X) بدست آمد.

$$Y = C + \frac{D-C}{1 + \exp\{b(\log(X) - \log(ED_{50}))\}} \quad (1) \text{ معادله}$$

$$Y = \frac{D}{1 + \exp\{b(\log(X) - \log(ED_{50}))\}} \quad (2) \text{ معادله}$$

1- *Lepidium sativum* L.

2- Analytical grade

3 Merck

4 High performance liquid chromatography

5 Shimadzu SCL- 10AVP

6- UV- Vis

با افزایش مقدار کاربرد نیکوسولفورون در شرایط بدون کاربرد کود آلی و ماده افزودنی (تیمار شاهد) سرعت تجزیه نیکوسولفورون کاهش و نیمه عمر آن (بدون اختلاف معنی‌داری) افزایش یافت (جدول ۲ و ۳). سرعت تجزیه نیکوسولفورون در تیمارهای کاربرد ۴۰ و ۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار در شرایط بدون کاربرد کودهای آلی و ماده افزودنی (تیمار شاهد) در روش آنالیز دستگاهی به ترتیب ۰/۰۳۹ و ۰/۰۳۷ میکروگرم در کیلوگرم در روز و در روش زیست‌سنجی به ترتیب ۰/۰۴ و ۰/۰۳۹ میکروگرم در کیلوگرم در روز بود (جدول ۲ و ۳). از سوی دیگر مدت زمان لازم برای کاهش ۵۰ درصد باقیمانده نیکوسولفورون (نیمه عمر) در تیمارهای کاربرد ۴۰ و ۸۰ گرم در هکتار در تیمار شاهد (بدون کاربرد کودهای آلی و ماده افزودنی) در روش آنالیز دستگاهی ۱۷/۷۷ و ۱۸/۷۳ روز و در روش زیست‌سنجی به ترتیب ۱۷/۳۳ و ۱۷/۷۷ روز بود (جدول ۲ و ۳). بر اساس گزارش‌های موجود، در مقادیر بیش از مقدار معمول کاربرد آترازین و توفوردی (Nosrati et al., 2007)، تریفلورالین (Tiryaki and Temut, 2010) و آترازین (Izadi et al., 2011) سرعت تجزیه علف‌کش کاهش و ماندگاری آنها در خاک افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد افزایش ماندگاری علف‌کش‌ها به تأثیر سمی علف‌کش بر میکروارگانیسم‌ها مرتبط باشد که سبب کاهش فعالیت آنها می‌گردد (Gupta et al., 2002) همچنین نامساعد بودن شرایط محیطی سبب کاهش واکنش‌های شیمیایی و تجزیه علف‌کش در خاک می‌گردد (Chowdhury et al., 2008).

کاربرد ماده افزودنی هیدرومکس به همراه نیکوسولفورون توانست سرعت تجزیه آن در هر دو روش زیست‌سنجی و آنالیز دستگاهی به طور معنی‌داری کاهش دهد (جدول ۲ و ۳). به طوری که سرعت تجزیه در تیمار کاربرد ۸۰ گرم ماده مؤثره علف‌کش در هکتار با و بدون هیدرومکس در شرایط بدون کاربرد کود آلی (شاهد) در روش زیست‌سنجی به ترتیب ۰/۰۳۸ و ۰/۰۳۹ میکروگرم در کیلوگرم خاک در روز و در روش آنالیز دستگاهی ۰/۰۳۴ و ۰/۰۳۷ میکروگرم در کیلوگرم خاک در روز بود (جدول ۲ و ۳). از سوی دیگر کاربرد ماده افزودنی هیدرومکس به همراه نیکوسولفورون سبب افزایش نیمه‌عمر علف‌کش (DT₅₀) و (DT₉₀) در مقادیر کاربرد ۴۰ و ۸۰ گرم ماده مؤثره در هکتار گردید. بر اساس نتایج آزمایش، نیمه‌عمر نیکوسولفورون (DT₅₀) در مقدار کاربرد ۸۰ گرم در هکتار با و بدون هیدرومکس در تیمار شاهد بدون کود آلی در روش زیست‌سنجی ۱۸/۲۴ و ۱۷/۷۷ روز و آنالیز دستگاهی ۲۰/۳۹ و ۱۸/۷۳ روز حاصل شد (جدول ۲ و ۳).

استیل به طول ۲۵۰ میلی‌متر و قطر خارجی ۴۵ میلی‌متر انجام گرفت. فاز متحرک مورد استفاده شامل آب دیونیزه: استونیتریل: استیک اسید به ترتیب با نسبت حجمی ۳۰:۷۰:۰/۲ درصد بود. سرعت جریان عبور فاز متحرک ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه و حجم تزریق ۲۵ میکرولیتر بود، که از یک فیلتر آلی ۰/۴۵ میکرومتری عبور داده شد. طول موج حداکثر جذب برای نیکوسولفورون با دستگاه اسپکتروفوتومتر ۲۳۸ نانومتر تعیین شد. خلوص محلول استاندارد با ۹۹/۶ درصد و زمان بازداری نیکوسولفورون (۱۶/۱۹ دقیقه) مشخص شد. حد تشخیص^۱ (LOD) دستگاه با استفاده روش سیگنال- نویز^۲ ($\frac{3S}{N}$) ۰/۰۱ میکروگرم در کیلوگرم تعیین شد (Shrivastava and Gupta, 2011).

سرعت تجزیه نیکوسولفورون از معادله سه و زمان لازم برای کاهش ۵۰ و ۹۰ درصد نیکوسولفورون از معادله چهار و پنج تعیین گردید (Muller et al., 2003). در معادله سه، C_t غلظت نیکوسولفورون در زمان t، C₀ غلظت اولیه نیکوسولفورون (میکروگرم در کیلوگرم خاک) و k سرعت تجزیه (میکروگرم در کیلوگرم خاک در روز) و t زمان (روز) می‌باشد. در معادله‌های چهار و پنج، DT₅₀ و DT₉₀ زمان لازم برای تجزیه ۵۰ و ۹۰ درصد از باقیمانده نیکوسولفورون، k ضریب تجزیه علف‌کش است. مقایسه شیب خطوط و سایر پارامترهای آماری از معادله شش انجام شد (Soltani, 2014). در معادله شش، آماره شامل پارامترهای اندازه‌گیری شده ضریب تجزیه علف‌کش (k) و شیب خط (b) و اشتباه معیار آماره نیز همان خطای استاندارد است. سپس از طریق مقایسه دامنه پارامترهای آماری از طریق همپوشانی یا عدم همپوشانی گروه‌بندی پارامترها انجام شد (Soltani, 2014).

$$C_t = C_0 \exp(-kt) \quad \text{معادله (۳)}$$

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad \text{معادله (۴)}$$

$$DT_{90} = \frac{\ln 10}{k} \quad \text{معادله (۵)}$$

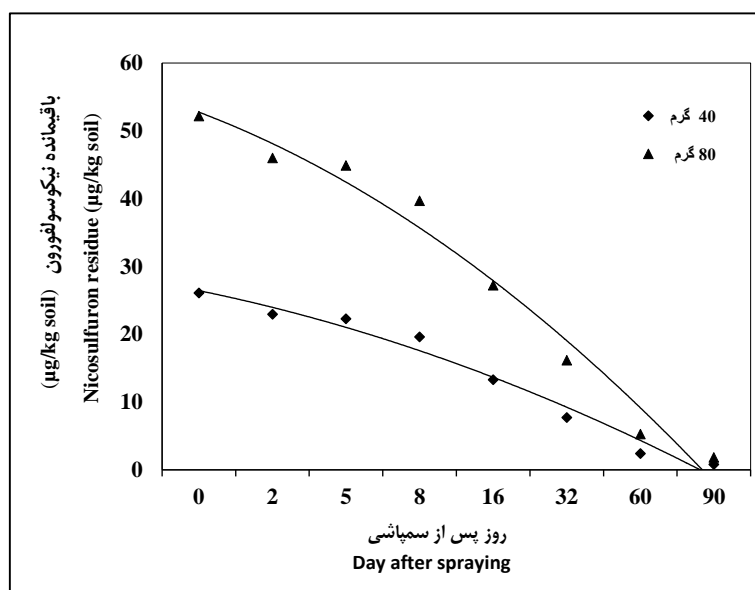
(معادله ۶) (اشتباه معیار آماره) $(t_{0.05, dfe}) \pm$ آماره = حدود اطمینان

نتایج و بحث

روند تغییرات باقیمانده نیکوسولفورون در خاک در طول زمان در دو روش زیست‌سنجی و آنالیز دستگاهی از معادله سینتیکی درجه اول پیروی نمود (شکل ۱ و جدول ۲) و با افزایش مقدار کاربرد نیکوسولفورون باقیمانده علف‌کش در خاک (C₀) افزایش یافت (شکل ۱). روند تغییرات نیکوسولفورون در خاک با سایر گزارش‌ها مطابقت دارد (Rathod et al., 2010 Barzoei et al., 2016).

1- Limit of detection

2- Signal-to-noise ratio



شکل ۱- روند تغییرات باقیمانده نیکوسولفورون در خاک تحت تاثیر مقدار کاربرد آن
Figure 1- Trend of nicosulfuron residue in soil affected by its dose

جدول ۲- اثر کود آلی، مقدار نیکوسولفورون و هیدرومکس بر سرعت تجزیه و طول عمر آن در روش زیست‌سنجی

Table 2- Effect of organic and bio-fertilizers, application rate of nicosulfuron and Hydromax on degradation rate and its half-life

ماده آلی Organic mater	نیکوسولفورون Nic. (g ai/ha)	هیدرومکس Hyd.	ضریب تجزیه K (µg/kg soil)	غلظت اولیه C ₀ (µg/kg soil)	زمان لازم برای تجزیه ۵۰ درصد DT ₅₀ (day)	زمان لازم برای تجزیه ۹۰ درصد DT ₉₀ (day)	R ²
کود گاوی CM	40	-	0.073(0.002) ^a	25 (0.48)	9.50	31.54	0.99
	80	Hyd.	0.071 (0.071) ^b	25 (0.47)	9.76	32.43	0.99
ورمی کمپوست Ver	40	-	0.071 (.001) ^c	50 (0.95)	9.76	32.43	0.99
	80	Hyd.	0.069 (0.001) ^d	50 (0.94)	10.05	33.37	0.99
مایکوریزا Myc	40	-	0.066 (.001) ^{cd}	25 (0.47)	10.50	34.89	0.99
	80	Hyd.	0.064 (0.011) ^{de}	25 (0.46)	10.83	35.98	0.99
شاهد Con	40	-	0.063 (0.001) ^e	50 (0.94)	11.00	36.55	0.99
	80	Hyd.	0.061 (0.001) ^f	50 (0.94)	11.36	37.75	0.99
	40	-	0.06 (0.001) ^e	25 (0.46)	11.55	38.38	0.99
	80	Hyd.	0.059 (0.001) ^f	24 (0.45)	11.75	39.03	0.99
	40	-	0.058 (0.001) ^f	50 (0.93)	11.95	39.70	0.99
	80	Hyd.	0.056 (.001) ^g	50 (0.94)	12.38	41.12	0.99
	40	-	0.04 (.0009) ^h	25 (0.46)	17.33	57.56	0.99
	80	Hyd.	^h 0.039 (0.0009)	25 (0.45)	17.77	59.04	0.99
	40	-	0.039 (0.0009) ^h	50 (0.90)	17.77	59.05	0.99
	80	Hyd.	0.038 (.0009) ⁱ	49 (0.90)	18.24	60.59	0.99

DT₅₀ و DT₉₀ به ترتیب مدت زمان لازم برای تجزیه ۵۰ و ۹۰ درصد علف‌کش، k ضریب تجزیه، C₀ غلظت اولیه علف‌کش، اعداد داخل پرانتز نشانگر خطای استاندارد است، حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

DT₅₀ and DT₉₀ are half time and the time that required for 90% degradation in of herbicide residue, K, coefficient of degradation, and C₀ initial concentration, the numbers in parentheses indicate a standard error, means with the same letters in the same column are not significantly different (P<0.05).

جدول ۳- اثر کود آلی، مقدار نیکوسولفورون و هیدرومکس بر سرعت تجزیه و طول عمر آن در روش آنالیز دستگامی

Table 3- Effect of organic and bio-fertilizers, application rate of nicosulfuron and Hydromax on degradation rate and its half-life

ماده آلی Organic mater	نیکوسولفورون Nic. (g ai/ha)	هیدرومکس Hyd.	ضریب تجزیه K (µg/kg soil)	غلظت اولیه C ₀ (µg/kg soil)	زمان لازم برای تجزیه ۵۰ درصد DT ₅₀ (day)	زمان لازم برای تجزیه ۹۰ درصد DT ₉₀ (day)	R ²
کود گاوی CM	40	-	0.066 (0.001) ^a	25.76 (0.26)	10.50	34.89	0.99
		Hyd.	0.062 (0.001) ^b	24.77 (0.25)	11.18	37.14	0.99
ورمی کمپوست Ver	80	-	0.061 (0.001) ^{bc}	49.54 (0.51)	11.36	37.75	0.99
		Hyd.	0.057 (0.001) ^c	49.47 (0.50)	12.16	40.39	0.99
مایکوریزا Myc	40	-	0.06 (0.001) ^c	24.77 (0.25)	11.55	38.38	0.99
		Hyd.	0.057 (0.001) ^d	24.78 (0.25)	12.16	40.40	0.99
شاهد Con	80	-	0.056 (0.001) ^{de}	49.57 (0.50)	12.38	41.12	0.99
		Hyd.	0.053 (0.0008) ^f	49.59 (0.49)	13.08	43.44	0.99
	40	-	0.055 (0.001) ^e	24.26 (0.24)	12.60	41.87	0.99
		Hyd.	0.052 (0.009) ^{fg}	24.27 (0.24)	13.33	44.28	0.99
	80	-	0.051 (0.009) ^g	48.55 (0.48)	13.59	45.15	0.99
		Hyd.	0.048 (0.007) ^h	48.57 (0.47)	14.44	47.97	0.99
	40	-	0.039 (0.001) ⁱ	25.95 (0.45)	17.77	59.05	0.99
		Hyd.	0.036 (0.001) ^j	25.96 (0.95)	19.25	63.96	0.99
	80	-	0.037 (0.001) ⁱ	51.90 (0.91)	18.73	62.23	0.99
		Hyd.	0.034 (0.0004) ^k	52.02 (0.10)	20.39	67.72	0.99

DT₅₀ و DT₉₀ به ترتیب مدت زمان لازم برای تجزیه ۵۰ و ۹۰ درصد علف‌کش، k ضریب تجزیه، C₀ غلظت اولیه علف‌کش، اعداد داخل پرانتز نشانگر خطای استاندارد است، حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد است.

DT₅₀ and DT₉₀ are half time and the time that required for 90% degradation in of herbicide residue, K, coefficient of degradation, and C₀ initial concentration, the numbers in parentheses indicate a standard error, means with the same letters in the same column are not significantly different (P<0.05).

(Sadowski, 2006) و المیکس^۷ (روغن معدنی)، آکتیروب^۸ (اسید چرب متبله شده روغن کلزا) و بریک‌ترو^۹ (مویان، کیلمر پلی‌متیل‌سیکلوهگزان) (Kucharski, 2007) ماندگاری فن‌مدیفام^{۱۰}، دس‌مدیفام^{۱۱} و اتوفومسات^{۱۲} در خاک و ریشه چغندر قند افزایش می‌یابد. افزایش ماندگاری علف‌کش با کاربرد مواد افزودنی در علف‌کش تریفلورالین، آترازین، لینورون (Rodriguezcruz et al., 2007)، فن‌مدیفام، دس‌مدیفام و اتوفومسات (Kucharski, 2007) نیز گزارش شده است.

با کاربرد کودهای آلی سرعت تجزیه علف‌کش در هر دو روش زیست‌سنجی و آنالیز دستگامی به طور معنی‌دار افزایش و ماندگاری آن کاهش یافت (جدول ۲ و ۳). به طوری که سرعت تجزیه نیکوسولفورون (در شرایط بدون کاربرد هیدرومکس) در تیمارهای کاربرد کودهای آلی به ترتیب کود گاوی < ورمی کمپوست < مایکوریزا < شاهد بدون کود بودند. سرعت تجزیه نیکوسولفورون در تیمارهای کاربرد کود گاوی، ورمی کمپوست، مایکوریزا و شاهد (بدون کود آلی)

مطالعات نشان داده‌اند که مواد افزودنی با تأثیر بر روند تجزیه علف‌کش، بر ماندگاری علف‌کش مؤثر است (Kucharski, 2007). از آنجا که آفت‌کش‌ها مواد زیست‌بیگانه^۱ با ساختار مولکولی پیچیده‌ای هستند، میکروارگانیسم‌ها تمایل کمتری برای استفاده آنها به عنوان منبع کربن برای تغذیه دارند (Cobb and Reade, 2010)، در مقابل، مواد افزودنی که دارای ساختار مولکولی ساده‌تری هستند (Kucharski and Sadowski, 2006)، بیشتر مورد تمایل میکروارگانیسم‌ها جهت تجزیه می‌باشند. در همین ارتباط گزارش‌های متعددی نشان داده است که کاربرد موارد افزودنی ماندگاری علف‌کش‌ها را افزایش می‌دهد (Kucharski, 2007). به طوری که با کاربرد ماده افزودنی البراس^۲ (روغن کلزای میتله شده) و ترند^۳ ۹۰ سرعت تجزیه اتوفومسات در خاک کاهش و نیمه عمر آن ۸ روز افزایش یافت (Kucharski and Sadowski, 2009). در گزارشی دیگری مشخص شد با کاربرد ماده افزودنی آپلوس^۴ (روغن پارافین)، آدیپروس^۵ (اسید چرب تصفیه شده) و ترند^۵ (مویان^۶) (Kucharski and

- 7- Olemix 84 EC
- 8- Actirot 842 EC
- 9- Break Thru S-240
- 10- Phenmedipham
- 11- Desmedipham
- 12- Ethofumesate

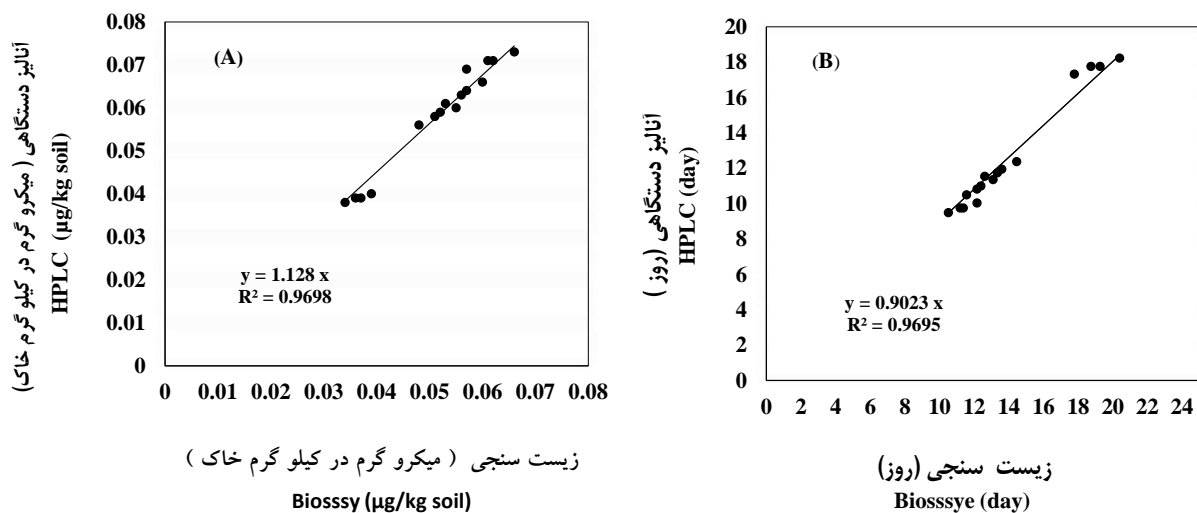
- 1- Xenobiotic
- 2- Olbras® 88 EC
- 3- Atplus 60 EC
- 4- Adpros 85 SL (post- refined fatty acid)
- 5- Trend 90 EC
- 6- Ethoxylated isodecyl alcohol -surfactant

کیلوگرم در روز بود (جداول ۲ و ۳). به نظر می‌رسد کودهای آلی قادرند سرعت تجزیه نیکوسولفورون مخلوط با هیدرومکس را افزایش و مقدار باقیمانده علف‌کش در خاک را به طور معنی‌دار کاهش دهند. به طوری که نیمه عمر نیکوسولفورون (DT₅₀) در تیمارهای کاربرد کودهای گاوی، ورمی‌کمپوست، مایکوریزا و شاهد در دز ۴۰ گرم نیکوسولفورون در هکتار به همراه هیدرومکس حاصل از روش زیست‌سنجی به ترتیب ۹/۷۶، ۱۰/۸۳، ۱۱/۷۵، ۱۷/۷۷ روز و در روش آنالیز دستگاهی به ترتیب ۱۱/۱۸، ۱۲/۱۶ و ۱۳/۳۳ و ۱۹/۲۵ روز بود (جداول ۲ و ۳).

منابع کودهای آلی عمدتاً از ترکیبات پیتیدها، آمینه‌اسیدها، کربوهیدرات‌ها و لیپیدها تشکیل شده است که با اضافه شدن به خاک قادرند به منبع تأمین انرژی برای میکروارگانیسم خاک‌ها عمل کنند (Tejada et al., 2010). کودهای آلی با افزایش فعالیت میکروبی، آنزیمی و بیولوژیک خاک (Tejada et al., 2010) سرعت تجزیه علف‌کش در خاک را افزایش و ماندگاری علف‌کش‌ها را کاهش می‌دهند (Rathod et al., 2010; Rahman et al., 2011). در این ارتباط گزارش شده که کاربرد ماده آلی قادر است سرعت تجزیه علف‌کش افزایش دهد و نیمه عمر و ماندگاری پرمترین (El-Ibrahim et al., 2016)، متری‌بیوزین (Fakhred et al., 2013)، تری‌فلورالین (Barzoei et al., 2016; Barzoei et al., 2013)؛ مت‌سولفورون متیل (Wang et al., 2008)، آترازین (Janaki et al., 2015)، آمیتروپ (Forouzangohar et al., 2005) و آترازین (Izadi et al., 2011) را کاهش دهد.

در مقدار کاربرد ۴۰ گرم در هکتار بدون هیدرومکس در روش زیست‌سنجی به ترتیب ۰/۰۷۳، ۰/۰۶۶، ۰/۰۶، ۰/۰۴ میکروگرم در کیلوگرم خاک و در روش آنالیز دستگاهی نیز به ترتیب ۰/۰۶۶، ۰/۰۶، ۰/۰۵۵، ۰/۰۳۹ میکروگرم در کیلوگرم خاک بود (جداول ۲ و ۳).

نیمه عمر (DT₅₀) و DT₉₀ نیکوسولفورون با کاربرد کودهای آلی کاهش یافت. بر این اساس نیمه عمر نیکوسولفورون (DT₅₀) در تیمارهای کاربرد کودهای آلی بصورت: گاوی > ورمی‌کمپوست > مایکوریزا > شاهد بدون کود، بود. به طوری که کمترین نیمه عمر نیکوسولفورون در روش زیست‌سنجی و آنالیز دستگاهی به ترتیب ۹/۵۰ و ۱۰/۵ روز در تیمار کاربرد کود گاوی در مقدار ۴۰ گرم در هکتار بدون هیدرومکس حاصل شد (جداول ۲ و ۳). همچنین روند مشابهی در تیمار کاربرد ۸۰ گرم ماده موثره نیکوسولفورون بدون هیدرومکس مشاهده شد. سایر مطالعات گزارش شده نیز مؤید آن است که ماندگاری علف‌کش با کاربرد ماده آلی کاهش می‌یابد (Fakhred et al., 2013; Barzoei et al., 2016; Barzoei et al., 2019). کاربرد هیدرومکس سرعت تجزیه را کاهش داد، اما اثر کودهای آلی در افزایش سرعت تجزیه نیکوسولفورون به مراتب بیشتر از تاثیر هیدرومکس در کاهش سرعت تجزیه بود. نتایج حاصل از روش‌های زیست‌سنجی و آنالیز دستگاهی مؤید این مطلب است (جداول ۲ و ۳). سرعت تجزیه نیکوسولفورون حاصل از روش زیست‌سنجی در تیمارهای کاربرد کودهای گاوی، ورمی‌کمپوست، مایکوریزا و شاهد (بدون کاربرد کود آلی) + نیکوسولفورون (۴۰ گرم ماده موثره در هکتار) + هیدرومکس به ترتیب ۰/۰۷۱، ۰/۰۶۴، ۰/۰۵۹، ۰/۰۳۹ میکروگرم در کیلوگرم خاک در روز و در روش آنالیز دستگاهی به ترتیب ۰/۰۶۲، ۰/۰۵۷، ۰/۰۵۲ و ۰/۰۳۶ میکروگرم در



شکل ۲- همبستگی ضرایب تجزیه (A) و نیمه عمر (B) نیکوسولفورون محاسبه شده با آنالیز دستگاهی و روش زیست‌سنجی

Figure 2- Correlation of decomposition coefficients (A) and half-life (B) of nicosulfuron calculated by instrumental analysis and bioassay method

قبیل نیکوسولفورون که مقدار مصرف و باقیمانده اندکی در خاک دارند و تشخیص آنها با استفاده از روش‌های آنالیز دستگاهی مشکل و پرهزینه است می‌تواند مورد توجه و کاربرد قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در مجموع نتایج نشان داد که اگر چه کاربرد ماده افزودنی هیدرومکس قادر است باقیمانده نیکوسولفورون در خاک را افزایش دهد اما با کاهش مصرف علف‌کش، می‌توان باقیمانده علف‌کش در خاک کاهش داد. همچنین با کاربرد کودهای آلی می‌توان سرعت تجزیه نیکوسولفورون در خاک افزایش و ماندگاری آن را در خاک کاهش و از خسارت‌های احتمالی آن در محصولات تناوب زراعی کاست. از سوی دیگر مشخص شد بین ضرایب تجزیه و نیمه عمر نیکوسولفورون حاصل از زیست‌سنجی شاهی با آنالیز دستگاهی همبستگی بالایی وجود داشت. لذا به نظر می‌رسد گیاه شاخص شاهی به عنوان یک نشانگر زیستی مناسب و قابل قبول در آزمایش‌های زیست‌سنجی می‌تواند در تعیین بقایای علف‌کش نیکوسولفورون در خاک مورد استفاده قرار گیرد.

بر اساس نتایج آزمایش، رابطه خطی با همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r^2 = 0.97$) بین ضرایب تجزیه نیکوسولفورون حاصل از روش آنالیز دستگاهی و آزمون زیست‌سنجی وجود داشت (شکل ۲). همچنین یک رابطه خطی با همبستگی مثبت و معنی‌داری ($r^2 = 0.97$) بین نیمه عمر نیکوسولفورون حاصل از روش آنالیز دستگاهی و آزمون زیست‌سنجی زیست مشاهده شد (شکل ۲). لذا با توجه به ضریب همبستگی بالایی که بین ضرایب تجزیه و نیمه عمر نیکوسولفورون حاصل از زیست‌سنجی شاهی با آنالیز دستگاهی وجود داشت، به نظر می‌رسد استفاده از آزمون زیست‌سنجی با استفاده از نشانگر زیستی شاهی می‌تواند به عنوان یک روش ساده و کم هزینه و کم خطر برای تشخیص باقیمانده نیکوسولفورون پیشنهاد شود. در همین راستا گزارش شده بین ضریب تجزیه تریفلورالین و نیمه عمر آن با استفاده از آنالیز دستگاهی و زیست‌سنجی همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد (Barzoei et al., 2019; Barzoei et al., 2016). همچنین در گزارشی با بررسی ماندگاری برخی علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره با آنالیز دستگاهی و زیست‌سنجی مشخص شد این دو روش مکمل یکدیگر هستند (Hollaway et al., 1999). این مهم بخصوص برای علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره از

منابع

1. Barzoei, M., Izadi-Darbandi, E., Rashed-Mohassel, M., Rastgoo, M., & Hassanzadeh, M. (2019). The effect of organic and biological fertilizers on persistence of Trifluralin herbicide in soil using gas chromatography method. *Journal of Plant Protection* 30: 289-299. (In Persian with English abstract)
2. Barzoei, M., Izadi-Darbandi, E., Rashed-Mohassel, M., Rastgoo, M., & Hassanzadeh, M. (2016). Estimate of Trifluralin half-life in soil by bioassay experiment. *Journal of Plant Protection* 30: 177-178. (In Persian with English abstract)
3. Chery, A.P., Robert, M.H., & Thomas, C.M. (2002). Dissipation of Nicosulfuron and Rimsulfuron in surface soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 4581-4585.
4. Chowdhury, A., Pradhan, S., Saha, M., & Sanyal, N. (2008). Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Indian Journal of Microbiolog* 48: 114-127.
5. Cobb, A.H., & Reade J.P.H. (2010). The Inhibition of Amino Acid biosynthesis. 176-199. *Herbicides and Plant Physiology*. 2th eds. UK: Wiley-Blackwell, 296 Pp.
6. El-Ibrahim, M.T., & Mahdizadeh, M. (2016). Assessing the effect of Prometryn soil residue on soil microbial biomass and different crops using bioassay test, *Journal of Plant Protection* 30: 337-346. (In Persian with English abstract)
7. Fakhrerad, S.F., Izadi Darbandi, E., Rashed-Mohassel, M.H., Hassanzadeh-Khayyat, M., & Nassirli, H. (2013). Investigation of Metribuzin degradation in soil and the effect of organic manure on its degradation and half-life. *Journal of Plant Protection* 26: 467-476. (In Persian with English abstract)
8. Forouzangohar, N., Hagnia, G.H., & Koocheki, A. (2005). Organic amendment to enhance Atrazine and Metamitron degradation in two contaminated soils with contrasting textures. *Soil and Sediment Contamination* 14: 245- 355.
9. Ghassam, A.H., Alizadeh, M., Bihamta, R., & Ashrafi, Y. (2010). Bioassay to use herbicide residue in corn using cress (*Lepidium sativum*) as sensitive plant. *3rd Iranian Weed Science Congress*. 17-18 February, Babolsar, Iran.
10. Gupta, S., & Gajbhiye V.T. (2002). Effect of concentration, moisture and soil type on the dissipation of flufenacet form soil. *Chemospher* 47: 901-906.
11. Hollaway, K.L., Kookan, D.J., McQuin, D.J., Moerkerk, M.R., Noy, D.M., & Smal, M.A. (1999). Comparison of Sulfonylurea herbicide residue detection in soil by bioassay enzyme-linked immunosorbent assay and HPLC.

- Weed Research* 39:383-397.
12. Izadi, E., Rashed, M.H., & Zand, E. (2011). Evaluation of crops sensitivity to Atrazine soil residual. *Iranian Journal of Field Crops Research* 8: 995-1001.
 13. Izadi, E., Rashed-Mohassel, M.H., Mahmoudi, G., & Dehghan, M. (2013). Evaluation of some crops tolerance to Granstar (Tribenuron methyl) herbicide soil residual. *Journal of Plant Protection* 26: 362-369.
 14. Janaki, P., Sharma, N., Chinnusamy, C., Sakthive, N., & Nithya, C. (2015). Herbicide residues and their management strategies. *Indian Journal of Weed Science* 47(3): 329-344.
 15. Konda, L.N., & Pasztor, Z. (2001). Environmental distribution of cetochlor, Atrazine, Chlorpyrifos, and Propisochlor under field conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 3859-3863.
 16. Kucharski, M., & Sadowski, J. (2006). Effect of adjuvants on herbicide residues level in soil and plant. *Journal of Plant Disease and Protection* 20: 971-975.
 17. Kucharski, M., & Sadowski, J. (2009). Degradation of Ethofumesate in soil under laboratory conditions. *Polish Journal of Environmental Studies* 18: 243-247.
 18. Kucharski, M. (2007). Impact of adjuvants on, Phenmedipham, Desmedipham and Ethofumesate residues in soil and plant. *Pestycydy* 3-4: 53-59.
 19. Kucharski, M., Sadowski, J., & Domaradzki, K. (2012). Degradation rate of Chloridazon in soil as influenced by adjuvants. *Journal of Plant Protection Research* 52: 114-117.
 20. Maheswari, S.T., & Ramesh, A. (2007). Adsorption and degradation of Sulfosulfuron in soils. *Environmental Monitoring and Assessment* 127: 97-103.
 21. Mamnoie, E., Izadi-Darbandi, E., Rastgoo, M., Baghestani, M.A., & Hasanzade, M. (2018). Evaluating the effects of soil residue of Nicosulfuron herbicide on wheat (*Triticum aestivum*), barley (*Hordeum vulgare*) and rapeseed (*Brassica napus*). *Iranian Journal of Weed Science* 12 (1), 79-96. (In Persian with English abstract)
 22. Mueller, T.C., & Senseman, S.A. (2015). Methods related to herbicide dissipation or degradation under field or laboratory conditions. *Weed Science, Special Issue*: 133-139.
 23. Muller, K., Magesan, G.N., & Bolan, N.S. (2003). A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 120: 93-116.
 24. Nielsen, O.K., Ritz, C.H., & Streibig, J.C. (2004). Nonlinear mixed model regression to analyze herbicide dose-response relationships. *Weed Technology* 18: 30-37.
 25. Nosrati, A., Iranbakhsh, A.R., & Sabori, M.S. (2007). Investigation of degradation and shelf life of Atrazine and 2,4-D herbicides under field conditions. *Pajohesh-va-Sazandegi* 75: 86-96.
 26. Rahman, A., James, T.K., Trolove, M.R., & Dowsett, C. (2011). Factors affecting the persistence of some residual herbicides in maize silage fields. *New Zealand Plant Protection* 64: 125-132.
 27. Rathod, P.H., & Patel, R.B.A. I. (2010). Persistence and management of dinitroaniline herbicide residues in sandy loam soil. *International Journal of Environment and Sustainable Development* 9: 53- 57.
 28. Ritz, C., & Streibig, J.C. (2005). Bioassay analysis using R. *Journal of Statistical Software* 12:1-14.
 29. Rodriguezcruz, M.S., Sanchez-Martin, M.J., Andrades, M.S., & Sanchez-Camazano, M. (2007). Retention of pesticides in soil columns modified in Situ and Ex Situ with a Cationic surfactant. *Science of the Total Environment* 378, 1/2: 104-112.
 30. Sabaie, J. (2002). Nicosulfuron: Alcoholysis, chemical hydrolysis, and degradation on various minerals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 526-531.
 31. Shahbazi, S., Alizadeh, H., & Talebi-Jahromi, K. (2015). Study of Nicosulfuron+Rimsulfuron (Ultima) residues in maize filed by bioassay. *Iranian Journal of field Crop Science* 46: 15-24.
 32. Shahgholi, H., Makarian, H., Izadi-Darbandi, E., Darakhshan-Shadmehri, A., & Asghari, H.R. (2014). Evaluating the effect of biological and organic fertilizers on Metribuzin herbicide degradation and persistence in soil. *Journal of Soil Management and Sustainable Production* 4: 91-110. (In Persian with English abstract)
 33. Shrivastava, A., & Gupta, V.B. (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists*, 2: 21-25.
 34. Soltani, A. (2014). *Agricultural experiment analysis plan: (with SAS programs)*. Jahad-e- Daneshgahi, Ferdowsi University of Mashhad Press. 430 Pp. (In Persian with English abstract)
 35. Tejada, M., Garcia-Martinez, A.M., Gomez, I., & Parrado, J. (2010). Application of MCPA herbicide on soils amended with bio stimulants, short-time effects on soil biological properties. *Chemosphere* 80: 1088-1094.
 36. Tiryaki, O., & Temut, D. (2010). The fate of pesticide in the environment. *Journal of Environmental Science* 4: 29- 38.
 37. Vicari, A., Dinelli, G., & Catizone, P. (1998). Evaluation of the biological activity of 16 Sulfonylureas in soil by *Nasturtium officinale* R. Br. bioassay, *Agrochimica* 6:273-283.
 38. Wang, H., Wu, L., & Yates, S. (2008). Residues of 14c- Metsulfuron Methyl in Chinese paddy soil. *Pest*

- Management Soil* 64, 10:1074-1079.
39. Wu, Q., Chen, X., Xu, Y., & Han, L. (2010). Dissipation and residues of Nicosulfuron in corn and soil under field conditions. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 85(1): 79-82.
 40. Yaghoubi, A.Z, Beheshtian, M., Sadeghi, S., & Younesi, O. (2008). Bioassay of Chlorsulfuron residue in soil by using cress (*Lepidium sativum* L.) plant as an indicator. *Journal of Agricultural Science and Research* 2: 178-184.