



## Hormetic behavior of chickpea bacterium *Mezorhizobium ciceri* to different concentrations of Imazethapyr and Trifluralin

Masoume Sadat Hoseini Tilan<sup>1</sup> | Zeinab Avarseji<sup>\*2</sup> | Fakhtak Taliei<sup>3</sup> |  
Ebrahim Gholamalipour Alamdari<sup>4</sup> | Masoume Naeemi<sup>5</sup>

1. M.Sc. Graduate of Weed Science, Dept. of Plant Production, University of Gonbad Kavous. E-mail: [sadathoseyny@yahoo.com](mailto:sadathoseyny@yahoo.com)
2. Corresponding Author, Assistant Prof., Dept. of Plant Production, University of Gonbad Kavous. E-mail: [avarseji@gonbad.ac.ir](mailto:avarseji@gonbad.ac.ir)
3. Assistant Prof., Dept. of Plant Production, University of Gonbad Kavous. E-mail: [taliei.fa@gmail.com](mailto:taliei.fa@gmail.com)
4. Assistant Prof., Dept. of Plant Production, University of Gonbad Kavous. E-mail: [eg.alamdari@gmail.com](mailto:eg.alamdari@gmail.com)
5. Assistant Prof., Dept. of Plant Production, University of Gonbad Kavous. E-mail: [naemi\\_701@yahoo.com](mailto:naemi_701@yahoo.com)

### Article Info

#### Article type:

Full Length Research Paper

#### Article history:

Received: 02.13.2021

Revised: 05.29.2021

Accepted: 06.08.2021

#### Keywords:

Brain-Cousense model,  
Growth stimulation,  
Logarithm Logistic model,  
Low dose

### ABSTRACT

**Background and Objectives:** *Rhizobium* is terrestrial bacteria that can coexist and form nodules in the leguminous family. The legume-rhizobia symbiosis results in great quantities of nitrogen fixation throughout the world. Rhizobial populations become non-target microbiomes for the herbicide applied in the field. Various herbicides such as Trifluralin and Imazethapyr can affect legume-rhizobia symbiosis negatively or in hermetic way. Hormesis is a dose-response relationship phenomenon characterized by a low-dose stimulation and a high-dose inhibition. This study aimed to investigate the effect of Imazethapyr and Trifluralin herbicides at two pH value (5.5 and 7) on the growth of *Mezorhizobium ciceri* at *in vitro* conditions.

**Materials and Methods:** To investigate the effect of Imazethapyr and Trifluralin herbicides on *M. ciceri* bacteria, an experiment was conducted as a completely randomized design in Gonbad Kavous University. *M. ciceri* strain were grown and maintained on yeast extract mannitol agar medium. Yeast extract manitol broth medium was used at two pH equal to 5.5 and 7. Moreover, Imazethapyr (0.021, 0.042, 0.084, 0.168, 0.336 and 0.672 g.L<sup>-1</sup>) and Trifluralin (0.337, 0.675, 1.35, 2.7, 5.4, and 10.8 g.L<sup>-1</sup>) herbicides accompanied with no-herbicide control added to the medium containing of 10<sup>5</sup> cell.ml<sup>-1</sup> of *M. ciceri* at *in vitro* condition and the measurement of bacterial population was calculated at 600<sup>nm</sup> light absorption, using spectrophotometer. The experiment was carried out with 4 replications and repeated two times. Population trends at different herbicide were fitted using three and four parameters logistic models and the Brain-Cousens equation was used when the hormesis response was observed.

**Results:** The bacterial population of *M. ciceri* affected by Imazethapyr and Trifluralin concentrations in pH=5.5 followed the three parameter logarithm logistic model and in pH=7 followed the five parameter Brain-Cousense model. The maximum bacterial populations in pH=5.5 and pH=7 were 22.8×10<sup>6</sup> from zero concentration and 378.5×10<sup>6</sup> from 0.021 dose of Imazethapyr, respectively. At 0.021 and 0.042 g.L<sup>-1</sup> of Imazethapyr doses, the bacterial population increased by 25.6% and 10.25%, respectively, compared to the control, which indicates the bacteria's hormetic behavior. The amount of hormesis in Trifluralin from doses (0.337 and 0.675 g.L<sup>-1</sup>)

---

was recorded equal to  $1.01 \times 10^8$  cell.mL<sup>-1</sup>. The increasing percentage of bacterial population from these doses compared to the control was 20.92 and 16.14, respectively. The value of “e” parameter, which indicates the amount of herbicide required for 50% reduction of the bacterial population, in pH=5.5 was obtained from Imazethapyr equivalent to  $1.03 \times 10^{-1}$  g.L<sup>-1</sup> and from Trifluralin equal to 2.93 g.L<sup>-1</sup>.

**Conclusion:** This study showed statistical evidence of *M. ciceri* growth stimulation against minimum doses of Imazethapyr and Trifluralin in neutral acidity as Hormesis. This bacterium's population growth reaction in both herbicides under acidic conditions followed the logarithmic logistic model, and no hormesis was observed. In general, with increasing the dose of herbicides used in this experiment, *M. ciceri* bacterial population growth decreased. However, depending on the culture medium's pH, the bacterial reaction process was different so that in neutral acidity and sub-lethal doses was accompanied by an increase in population growth and then as the doses increased the growth rate decreased.

---

Cite this article: Hoseini Tilan, Masoume Sadat, Avarseji, Zeinab, Taliei, Fakhtak, Gholamalipour Alamdari, Ebrahim, Naeemi, Masoume. 2022. Hormetic behavior of chickpea bacterium *Mezorhizobium ciceri* to different concentrations of Imazethapyr and Trifluralin. *Journal of Soil Management and Sustainable*, 11 (4), 161-175.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/ejsms.2022.18850.2013

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

---



## رفتار هورمتیک باکتری همزیست نخود زراعی *Mezorhizobium ciceri* در برابر غلظت‌های مختلف ایمازتاپیر و تری‌فلورالین

معصومه سادات حسینی طیلان<sup>۱</sup> | زینب اورسجی<sup>۲\*</sup> | فاختک طلیعی<sup>۳</sup> |  
ابراهیم غلامعلی پور علمداری<sup>۴</sup> | معصومه نعیمی<sup>۵</sup>

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد علوم علف‌های هرز، گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس. رایانامه: [sadathoseyny@yahoo.com](mailto:sadathoseyny@yahoo.com)
۲. نویسنده مسئول، استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس. رایانامه: [avarseji@gonbad.ac.ir](mailto:avarseji@gonbad.ac.ir)
۳. استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس. رایانامه: [taliey.fa@gmail.com](mailto:taliey.fa@gmail.com)
۴. استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس. رایانامه: [eg.alamdari@gmail.com](mailto:eg.alamdari@gmail.com)
۵. استادیار گروه تولیدات گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس. رایانامه: [naeemi\\_701@yahoo.com](mailto:naeemi_701@yahoo.com)

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۵</p> <p>تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۸</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۸</p> <p>واژه‌های کلیدی: تحریک رشد، غلظت‌های حداقل، مدل برین-کوزنس، مدل لگاریتم لجستیک</p>	<p><b>سابقه و هدف:</b> ریزوبیوم‌ها باکتری‌های خاکری هستند که قادر به همزیستی با ریشه گیاهان لگومینوز می‌باشند. همزیستی حبوبات و ریزوبیوم‌ها سبب تثبیت مقادیر بالایی نیتروژن در سراسر جهان می‌شود. این باکتری‌ها به‌عنوان کود بیولوژیکی در مزارع حبوبات استفاده می‌گردند و هر عاملی که اثر سوء بر ریزوبیوم‌ها داشته باشد سبب کاهش نرخ تثبیت بیولوژیکی نیتروژن خواهد شد. ریزوبیوم‌ها، میکروبیوم‌های غیر هدف برای علف‌کش‌ها می‌باشند. علف‌کش‌های مختلفی مانند ایمازتاپیر و تری‌فلورالین می‌توانند بر همزیستی حبوبات و ریزوبیوم‌ها تأثیر منفی یا هورمتیک بگذارند. هورمسیس یک پدیده غلظت-پاسخ است که با تحریک رشد در غلظت کم و مهار رشد در غلظت بالا مشخص می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی تأثیر علف‌کش‌های ایمازتاپیر و تری‌فلورالین در دو pH (۵/۵ و ۷) بر رشد <i>Mezorhizobium ciceri</i> در شرایط <i>in vitro</i> انجام شد.</p> <p><b>مواد و روش‌ها:</b> برای بررسی تأثیر علف‌کش‌های ایمازتاپیر و تری‌فلورالین بر باکتری <i>M. ciceri</i> آزمایشی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در دانشگاه گنبدکاووس انجام شد. سویه <i>M. ciceri</i> روی عصاره مخمر مانیتول آگار کشت و نگهداری شد. از محیط کشت مایع عصاره مخمر مانیتول در دو pH برابر ۵/۵ و ۷ استفاده گردید. علف‌کش‌های ایمازتاپیر (۰/۰۲۱، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴، ۰/۱۶۸، ۰/۳۳۶، ۰/۶۷۲) (g.L<sup>-1</sup>) ماده مؤثره و تری‌فلورالین (۰/۳۳۷، ۰/۶۷۵، ۱/۳۵، ۲/۷، ۵/۴، ۱۰/۸) (g.L<sup>-1</sup>) ماده مؤثره به همراه شاهد بدون علف‌کش به محیط کشت حاوی ۱۰<sup>۵</sup> سلول باکتری بر میلی‌لیتر اضافه و تغییرات جمعیت باکتری در طول موج ۶۰۰<sup>nm</sup> محاسبه گردید. این آزمایش با ۴ تکرار انجام و برای هر کدام از علف‌کش‌ها دوبار تکرار گردید. روند جمعیت در</p>

هر علف‌کش توسط مدل لگاریتم لجستیک سه و چهار پارامتری و هنگام مشاهده پاسخ هورمسیس از معادله Brain-Cousens استفاده شد.

**یافته‌ها:** جمعیت باکتری *M. ciceri* تحت تأثیر غلظت‌های علف‌کش ایمازتاپیر و تری‌فلورالین در اسیدیته ۵/۵ از منحنی لگاریتم لجستیک سه پارامتری و در اسیدیته ۷ از منحنی برین-کوزنس ۵ پارامتری تبعیت کردند. حداکثر جمعیت باکتری در اسیدیته ۵/۵ و ۷ به ترتیب معادل  $22/8 \times 10^6$ ، از غلظت صفر و معادل  $378/5 \times 10^6$  و از غلظت  $0/21$  ایمازتاپیر به دست آمد. در غلظت‌های  $0/21 \text{ g.L}^{-1}$  و  $0/42$  ایمازتاپیر، جمعیت باکتری  $25/6$  و  $10/25$  درصد نسبت به شاهد افزایش یافت که بیانگر رفتار هورمیتیک باکتری می‌باشد. مقدار هورمسیس در تری‌فلورالین از غلظت‌های ( $0/337 \text{ g.L}^{-1}$  و  $0/675$ ) معادل  $1/01 \times 10^6$  سلول بر میلی‌لیتر ثبت شد. درصد افزایش جمعیت باکتری این غلظت‌ها، نسبت به شاهد به ترتیب  $20/92$  و  $16/14$  به دست آمد. مقدار پارامتر  $e$  در اسیدیته ۵/۵ از ایمازتاپیر معادل  $1/03 \times 10^{-1} \text{ g.L}^{-1}$  و از تری‌فلورالین معادل  $2/93 \text{ g.L}^{-1}$  به دست آمد که نشانگر مقدار علف‌کش لازم جهت ۵۰٪ کاهش جمعیت باکتری می‌باشد. حداکثر جمعیت باکتری در اسیدیته ۵/۵ معادل  $40/4 \times 10^6$  از تیمار شاهد و در اسیدیته ۷ از غلظت  $0/337$  معادل  $47/4 \times 10^6$  به دست آمد.

**نتیجه‌گیری:** این پژوهش شواهد آماری مبنی بر تحریک رشد *M. ciceri* در برابر غلظت‌های حداقلی ایمازتاپیر و تری‌فلورالین در شرایط خنثی را به صورت هورمسیس نشان داد اما در هر دو علف‌کش در شرایط اسیدی از مدل لگاریتم لجستیک پیروی کرد و در آن هورمسیس مشاهده نشد. به طور کلی با افزایش غلظت علف‌کش‌های به کار برده شده در این آزمایش، رشد جمعیت باکتری *M. ciceri* کاهش یافت اما بسته به pH محیط کشت، روند واکنش باکتری متفاوت بود به طوری که در اسیدیته خنثی در غلظت‌های زیر غلظت کشنده، افزایش رشد جمعیت و پس از آن کاهش رشد اتفاق افتاد.

**استناد:** حسینی طیلان، معصومه سادات، اورسجی، زینب، طلایی، فاختک، غلامعلی پور علمداری، ابراهیم، نعیمی، معصومه (۱۴۰۰). رفتار هورمیتیک باکتری همزیست نخود زراعی *Mezorhizobium ciceri* در برابر غلظت‌های مختلف ایمازتاپیر و تری‌فلورالین.

نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار، ۱۱ (۴)، ۱۷۵-۱۶۱.

DOI: 10.22069/ejsms.2022.18850.2013



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

## مقدمه

ریزوبیوم‌ها باکتری‌های خاکزی هستند که قادر به همزیستی و ایجاد گره در ریشه گیاهان خانواده لگومینوز می‌باشند. نیتروژن تثبیت شده توسط این سیستم همزیستی می‌تواند تمام یا بخشی از نیاز گیاه به کودهای نیتروژن‌دار را تامین نماید (۲۲). روابط بین لگوم‌ها و ریزوبیوم‌ها اغلب اختصاصی است (۲۹) اما در برخی موارد چندین جنس یا چندین گونه از یک جنس، توانایی همزیستی با یک میزبان را دارند (۲۴). در این بین گیاه نخود با باکتری *Mesorhizobium* رابطه همزیستی برقرار می‌کند (۲۵). اگرچه دو گونه *M. ciceri* و *M. mediterraneum* همزیست‌های اصلی نخود هستند (۳۰)، ولی به دلیل انتقال ژن‌های مرتبط با گره‌سازی بین ریزوبیوم‌های نخود، تنوع فیلوژنتیکی بسیاری بین آن‌ها وجود دارد (۳۶). براساس گزارش‌های موجود، شرایط محیطی و اقلیمی نامناسب و استفاده از سموم و علف‌کش‌ها، جمعیت باکتری‌های ریزوسفری از جمله ریزوبیوم‌ها را کاهش داده است (۲). از آنجایی که اکثر گیاهان زراعی به دلیل سرعت رشد و استقرار اولیه ضعیف و گسترش اندک عمق ریشه، رقیب ضعیفی در برابر علف‌های هرز هستند؛ وجود علف‌های هرز موجب رقابت شدید بر سر منابع محیطی خواهد شد (۱۹، ۱۳، ۲۸) از این رو کشاورزان برای بالا بردن قدرت رقابتی نخود زراعی در جهت مبارزه با علف‌های هرز از علف‌کش‌های پیش‌رویشی مانند تری‌فلورالین و ایمازتاپیر استفاده می‌کنند (۱). علف‌کش‌ها به چندین روش می‌توانند همزیستی لگوم-ریزوبیوم را تحت‌تأثیر قرار دهند. آفت‌کش‌ها با تأثیر مستقیم بر رشد گیاه، تثبیت نیتروژن را متأثر می‌سازند و یا از طریق اثر بر بقاء و رشد ریزوبیوم‌ها، توانایی آن‌ها را برای همزیستی با گیاهان میزبان کاهش می‌دهند (۳) نتایج پژوهش‌های مختلف نشان از تأثیر منفی

علف‌کش‌هایی مانند پندی‌متالین (۴۰) پرومترین و بنتازون (۴۱) ایمازاکوبین، کلومازون و سولفن‌ترازون (۴) تری‌فلورالین (۲۳)، کلرموران، کوئیزالوفوپ و اکسی‌فلورفن (۳۲)، تری‌فلورالین، نپتالام و بروموکسینیل (۳۴) بر گره‌زایی و تثبیت نیتروژن در لگوم‌ها دارد.

نزدیک ۳۰٪ از زمین‌های کره خاکی اسیدی هستند ( $\text{pH} < 5/5$ ) که ۴۰٪ آن شامل زمین‌های زراعی می‌باشد و فراهمی مواد غذایی و رشد ریشه و همین‌طور مسمویت  $\text{Al}^{3+}$  را افزایش می‌دهد که در نهایت سبب کاهش عملکرد گیاه زراعی می‌شود (۳۱). به علاوه بررسی تأثیر  $\text{pH}$  در محدوده ۴، ۵/۵ و ۷ بر واکنش تثبیت نیتروژن در شرایط گلخانه، نشان داد که تعداد گره‌ها و تثبیت نیتروژن در شرایط اسیدی افزایش یافت، اما فعالیت نیتروژناز به شدت در  $\text{pH}=7$  کاهش نشان داد؛ هم‌چنین در  $\text{pH}=4$  و  $\text{pH}=5/5$  میزان پروتئین، اسیدهای آمینه، اورهید کل، آلانتوات و آلانتوئین در برگ‌ها و گره‌ها کاهش یافت، اما در  $\text{pH}=5/5$  فقط محتوای پروتئین کاهش نشان داد (۱۵).

اثر تحریک‌کننده غلظت‌های کم مواد شیمیایی سمی بر موجودات زنده، هورمیسس<sup>۱</sup> نامیده می‌شود (۱۸) به عبارت دیگر هورمیسس، یک واکنش غلظت پاسخ دو فازی<sup>۲</sup> با اثر تحریک‌کنندگی در غلظت‌های حداقل و اثر بازدارندگی در غلظت‌های بالا می‌باشد (۱۰) که اخیراً مورد توجه رشته‌های مختلف، به‌خصوص در زمینه "ارزیابی خطر" مواد شیمیایی و پرتوی قرار گرفته است (۳۸). براساس نتایج استیگ (۱۹۸۷، ۱۹۸۸) عامل کلیدی در هورمیسس، ماده شیمیایی نیست بلکه موجود زنده است. به عبارت دیگر واکنش هورمیتیک ناشی از فرایند "جبران بیش از

1- Hormesis

2- Biphasic

(K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 g yeast extract, and 15 g agar تهیه شده به روش سوماسگاران و هوبن (۴۳) کشت داده و به مدت پنج روز در انکوباتور با دمای ۲۸±۱ درجه نگهداری شد. برای تهیه زادمایه باکتری از محیط کشت مخمر مانیتول برات (YMB) استفاده شد و سوسپانسیونی با غلظت ۱۰<sup>۰</sup> عدد باکتری بر میلی‌لیتر تهیه گردید. جمعیت باکتری به روش شمارش کلنی<sup>۳</sup> و بر روی محیط کشت YMA حاوی یک میلی‌لیتر کنگورد<sup>۴</sup> ۲/۵ درصد انجام شد (۲۰). به منظور بررسی تأثیر علف‌کش‌های ایمازتاپیر (۱۰٪ SL با غلظت توصیه شده یک لیتر در هکتار) و تری‌فلورالین (۴۸٪ EC با غلظت توصیه شده دو لیتر در هکتار) بر باکتری مزوریزوبیوم در اسیدپته‌های ۵/۵ و ۷، فرییرا و همکاران (۱۵) آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار برای هر تیمار، در آزمایشگاه مرکزی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. به این منظور از محیط کشت YMB، در دو pH معادل ۵/۵ و ۷ استفاده گردید (۱۵). ظروف ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری، حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت، در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. سپس غلظت‌های مختلف علف‌کش‌ها شامل ایمازتاپیر (۰/۰۲۱، ۰/۰۴۲، ۰/۰۸۴، ۰/۱۶۸، ۰/۳۳۶، ۰/۶۷۲ گرم در لیتر ماده مؤثره و شاهد بدون علف‌کش) و تری‌فلورالین (۰/۳۳۷، ۰/۶۷۵، ۱/۳۵، ۲/۷، ۵/۴، ۱۰/۸ گرم در لیتر ماده مؤثره و شاهد بدون علف‌کش) پس از سترون‌سازی با استفاده از فیلتر میکروبیولوژی ۰/۲۲ میکرومتر، به ظروف ارلن حاوی محیط کشت اضافه شدند. به هر یک از ارلن‌ها، مقدار یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری با غلظت ۱۰<sup>۰</sup> سلول بر میلی‌لیتر اضافه گردید. ظروف ارلن در

حد<sup>۱</sup> موجود زنده به شکستن "تعادل"<sup>۲</sup> می‌باشد. در این صورت هر ماده‌ای که تعادل را برهم بزند (مانند سمیت) می‌تواند به القا واکنش هورمیتیک نسبت به آسیب وارده در موجود زنده منجر شود (۴۵، ۴۶). یکی از میکروارگانسیم‌های خاک که توسط کاربرد علف‌کش‌های خاک-مصرف می‌تواند تحت تأثیر قرار بگیرد ریزوبیوم‌ها می‌باشند. باکتری‌های همزیست نخود زراعی به تنش‌های محیطی و کاربرد سموم شیمیایی حساسیت بالایی دارند. با توجه به امکان تأثیر منفی علف‌کش‌ها بر همزیستی لگوم-ریزوبیوم، بررسی اثر علف‌کش‌ها بر ریزوبیوم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است به گونه‌ای که برای کنترل علف‌های هرز از مواد شیمیایی با کم‌ترین آسیب به باکتری‌های همزیست ریشه استفاده می‌شود. از آنجایی که شرایط متفاوت اسیدی بر رفتار رشدی میکروارگانسیم‌ها تأثیر می‌گذارد و در این راستا تأثیر شرایط خنثی بر رشد باکتری ریزوبیوم مثبت ارزیابی شده و همین‌طور براساس بعضی گزارش‌های دیگر این باکتری در شرایط اسیدی نیز توانایی خوبی برای رشد از خود نشان داده است (۱۵) بنابراین این پژوهش با هدف بررسی تأثیر دو علف‌کش ایمازتاپیر و تری‌فلورالین، بر رشد باکتری *M. ciceri*، در شرایط آزمایشگاهی و در اسیدپته‌های مختلف خنثی و اسیدی بررسی و رفتار هورمیتیک آن پایش شد.

### مواد و روش‌ها

باکتری مورد استفاده در این پژوهش، سویه بومی خالص‌سازی شده *M. ciceri* SWRI 14 بود که از مؤسسه تحقیقات خاک و آب ایران تهیه گردید. به منظور تکثیر سویه مورد نظر، کلنی باکتری در محیط کشت مخمر مانیتول آگار (YMA): 10 g mannitol, 0.2 g MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.2 g NaCl, 0.5 g

3- Plate count  
4- Congo red

1- Overcompensation  
2- Homeostasis

مدل برین-کوزنس (۹) یکی از مدل‌های غلظت-پاسخ شناخته شده برای هورمیسس و ارزیابی اهمیت آن می‌باشد که اجزاء آن به شرح زیر می‌باشد؛  $C =$  واکنش باکتری در غلظت‌های بالا  $d =$  میانگین واکنش باکتری در تیمار شاهد بدون علف‌کش  $f =$  نرخ افزایش جمعیت باکتری در غلظت‌های نزدیک به صفر (پارامتر لازم برای وجود هورمیسس می‌باشد)  $b$  و  $e =$  معانی بیولوژیک مستقیمی ندارند (۹). تجزیه داده‌ها و رسم گراف‌ها در نرم‌افزار R ورژن 4.0.2 انجام شد.

### نتایج و بحث

با توجه به این‌که هر آزمایش دو بار تکرار شد؛ تخمین پارامترهای حاصل از برازش مدل‌های هر تکرار به صورت جداگانه و به همراه پارامترهای مربوط به میانگین دو تکرار آورده شد (جدول‌های ۱ و ۲) و از آنجایی‌که پارامترها در دو تکرار اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (خطای استاندارد مربوط به هر پارامتر در پراتنز آورده شده است) شکل‌ها بر اساس میانگین داده‌های دو تکرار پژوهش رسم شدند.

تأثیر غلظت‌های مختلف ایمازتاپیر بر پاسخ منحنی رشد جمعیت باکتری *M. Ciceri*: همان‌طور که در شکل و جدول ۱ دیده می‌شود داده‌های جمعیت باکتری *M. ciceri* در محیط کشت YMB تحت تأثیر غلظت‌های مختلف علف‌کش ایمازتاپیر در اسیدیتته ۵/۵ از منحنی لگاریتم لجستیک سه پارامتری و در اسیدیتته ۷ از منحنی برین-کوزنس ۵ پارامتری تبعیت کردند که ضرایب هر کدام از منحنی‌های برازش داده شده به همراه خطای استاندارد آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

دستگاه شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای  $28 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. میزان جذب نوری هر نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Model 6300 Jenway-UK)، در طول موج ۶۰۰ نانومتر ( $OD_{600}$ ) اندازه‌گیری گردید (۱۴). در نهایت پژوهش حاضر، برای هر کدام از علف‌کش‌ها دوبار تکرار گردید.

**تجزیه داده‌ها:** تجزیه رگرسیونی داده‌ها و رسم شکل‌ها توسط نرم‌افزار R با استفاده از بسته *drc* انجام شد (۳۶). در تجزیه رگرسیونی داده‌ها، غلظت‌های علف‌کش برای ۵۰ درصد بازدارندگی جمعیت باکتری با استفاده از رابطه ۱ معادله لگاریتم لجستیک ۴ پارامتری و رابطه ۲ معادله لگاریتم لجستیک ۳ پارامتری (۴۱) و هر جا که هورمیسس اتفاق افتاد از رابطه ۳ (معادله برین-کوزنس) استفاده شد. اجزای رابطه ۱ و ۲ شامل:  $U_i =$  واکنش باکتری،  $Z =$  مقدار علف‌کش،  $D$  و  $C =$  مجانب منحنی در کم‌ترین و بیش‌ترین مقدار علف‌کش،  $ED_{50i} =$  مقدار علف‌کش که باعث ۵۰ درصد کاهش رشد جمعیت می‌شود،  $b_i =$  شیب خط در محدوده  $ED_{50i}$ ،  $i =$  تیمار علف‌کشی  $ED_{50}$  که می‌تواند با هر  $ED_x$  دیگری جایگزین شود. لازم به ذکر است، چنان‌چه در برخی شرایط  $C = 0$  شد از معادله سه پارامتری (رابطه ۲) استفاده گردید.

$$U_i = \frac{D-C}{1+\exp[2bi(\log(ED50i)-\log(z))]} + C \quad (1)$$

$$U_i = \frac{D}{1+\exp[2bi(\log ED50i) + \frac{1.099}{bi} - \log(z)]} \quad (2)$$

$$E[y][X] = c + \frac{d-c+fx}{1+\exp[bln(\frac{x}{e})]} \quad (3)$$

طبق منحنی لگاریتم لجستیک سه پارامتری کاهش یافت اما در اسیدیته خشی و در دو غلظت حداقل، جمعیت باکتری نسبت به شاهد افزایش و پس از آن با بیش تر شدن غلظت علف‌کش، رشد جمعیت باکتری روند کاهشی نشان داد. ژو و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که فرایند هورمسیس می‌تواند توسط فاکتورهای مختلفی مانند pH تحت تأثیر قرار گیرد (۴۹). نتایج پژوهش‌گران نشان داد که *Vibrio qinghaiensis* به آسکوربیک اسید-۲-گلوکز، ۲-فنوکسی اتانول، لینالول، لاکتیک اسید، ۱، ۲ اکتانیدول و کوکوگلوکوزید در pHهای متفاوت ۶/۵، ۷/۵، ۸/۵، ۹/۵ و ۱۰/۵ واکنش هورمستیک نشان داد زیرا pH نقش مهمی در سمیت مواد شیمیایی دارد و بر میزان جذب یون‌ها از غشاهای سلولی و مقدار هیدرولیز ترکیبات شیمیایی مؤثر است (۸، ۵۰). از سوی دیگر مقدار pH تحت تأثیر ترکیبات معدنی متفاوت و ترکیبات یونی که از میکروارگانیسم‌ها و ریشه گیاهان خارج می‌شوند، فرق می‌کند (۴۷). به عنوان مثال pH در آب به دلیل فتوسنتز و تنفس پروتون و تخلیه یون‌های هیدروکسید، بین حالت اسیدی (pH < ۶) تا بازی (pH > ۹) متغیر است (۵۱). نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که LC<sub>50</sub> داروهای اسیدی بر ماهی *Danio rerio*، با اسیدی شدن pH کاهش یافته که تأکیدی بر اهمیت اسیدیته در جذب مواد شیمیایی دارد (۷). بررسی اثر pH بر واکنش غلظت-پاسخ مواد شیمیایی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. و ارزیابی خطرات زیست‌محیطی با در نظر گرفتن سطوح pH می‌تواند به صورت قابل‌توجهی بهبود پیدا کند. در همین راستا فولادوزا و همکاران (۲۰۰۷a) رابطه قوی بین مقدار pH و میزان سمیت مواد مورد آزمایش بر باکتری *Vibrio fischeri* یافتند (۱۷).

حداکثر جمعیت باکتری *M. ciceri* در اسیدیته ۵/۵ معادل  $22/8 \times 10^6$  cell.mL<sup>-1</sup> از غلظت صفر علف‌کش و در اسیدیته ۷ معادل  $378/5 \times 10^6$  cell.mL<sup>-1</sup> از غلظت ۰/۲۱ به دست آمد. در شرایط اسیدی (pH=۵/۵) جمعیت این باکتری با افزایش غلظت ایمازتاپیر کاهش یافت به طوری که در حداکثر غلظت استفاده شده (۰/۶۷۲ گرم ماده مؤثره در لیتر) جمعیت باکتری به کم‌ترین میزان خود رسید اما واکنش باکتری در شرایط خشی (pH=۷) متفاوت بود و در غلظت‌های کم‌تر از غلظت کشنده<sup>۱</sup> افزایش جمعیت این باکتری مشاهده شد به گونه‌ای که در غلظت‌های ۰/۲۱ و ۰/۴۲ گرم ماده مؤثره در لیتر از علف‌کش ایمازتاپیر، جمعیت آن ۲۵/۶ و ۱۰/۲۵ درصد نسبت به شاهد بدون علف‌کش، افزایش نشان داد که بیانگر وجود رفتار هورمستیک این باکتری می‌باشد و همان‌طور که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود مقدار پارامتر F حاصل از میانگین دو تکرار که شرط لازم برای وجود هورمسیس می‌باشد معادل  $20/8 \times 10^6$  cell.mL<sup>-1</sup> ثبت شد. هر چقدر مقدار F بیش‌تر باشد بیانگر شدت بیش‌تر هورمسیس است. در غلظت‌های بیش‌تر از ۰/۴۲ گرم ماده مؤثره در لیتر، پاسخ جمعیت، به افزایش غلظت منفی شد و روند آن کاهش یافت (شکل ۱).

پارامتر e در مدل لگاریتم لجستیک، نشان‌دهنده مقداری از علف‌کش ایمازتاپیر می‌باشد که سبب کاهش ۵۰٪ جمعیت باکتری *M. ciceri* می‌شود که در اسیدیته ۵/۵ مقدار آن  $1/03 \times 10^{-1}$  گرم ماده مؤثره در لیتر به دست آمد و در اسیدیته ۷ که حاصل از برآزش مدل برین-کوزنس می‌باشد این پارامتر معنی بیولوژیک مستقیمی ندارد (۹) (جدول ۱).

با توجه به نتایج ملاحظه می‌شود که در شرایط اسیدی با افزایش غلظت علف‌کش، جمعیت باکتری،



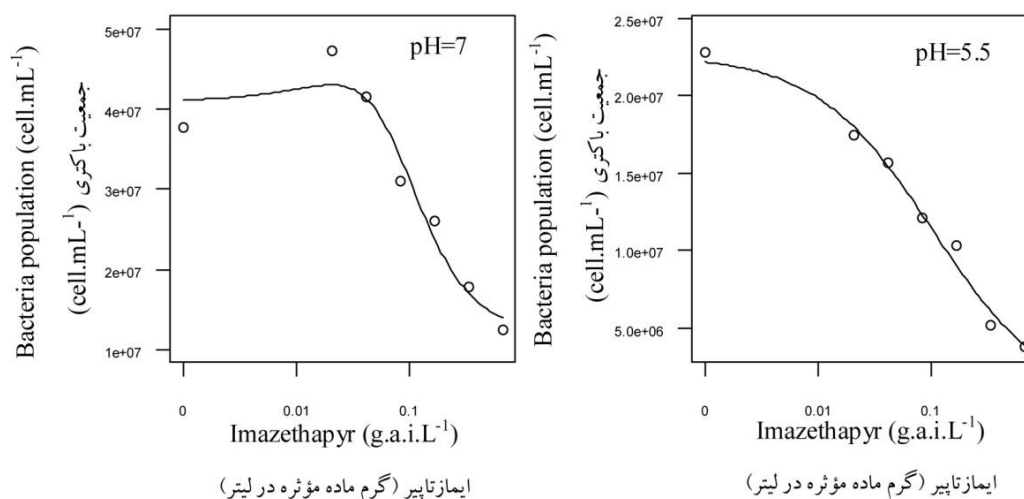
جدول ۱- مقادیر برآورد شده پارامترهای مدل لگاریتم لجستیک ۳ پارامتری برای جمعیت باکتری *M. ciceri* در pH=5/5 و مدل برین-کوزنس ۵ پارامتری در pH=7 تحت تأثیر غلظت‌های مختلف علف‌کش ایمازتاپیر.

**Table 1. Estimated parameters of 3 parameter Logarithm Logistic Model fitted to *M. ciceri* population at pH=5.5 and Brain-Cousens Model at pH=7 under different doses of Imazethapyr.**

	b	c	d	e	f	
pH=5.5	تکرار اول آزمایش Experiment first replication	8.41×10 <sup>-1</sup> (3.44×10 <sup>-2</sup> )	-	2.24×10 <sup>7</sup> (3.37×10 <sup>5</sup> )	1.06×10 <sup>-1</sup> (5.98×10 <sup>-3</sup> )	-
	تکرار دوم آزمایش Experiment second replication	8.42×10 <sup>-1</sup> (3.96×10 <sup>-2</sup> )	-	2.28×10 <sup>7</sup> (3.97×10 <sup>5</sup> )	1.01×10 <sup>-1</sup> (6.55×10 <sup>-3</sup> )	-
	میانگین دو تکرار Means of two replications	8.42×10 <sup>-1</sup> (2.57×10 <sup>-2</sup> )	-	2.26×10 <sup>7</sup> (2.55×10 <sup>5</sup> )	1.03×10 <sup>-1</sup> (4.36×10 <sup>-3</sup> )	-
pH=7	تکرار اول آزمایش Experiment first replication	2.007 (8.32×10 <sup>-2</sup> )	1.45×10 <sup>7</sup> (1×10 <sup>1</sup> )	3.92×10 <sup>7</sup> (1×10 <sup>1</sup> )	5.78×10 <sup>-2</sup> (1.82×10 <sup>-3</sup> )	3.98×10 <sup>8</sup> (1×10 <sup>1</sup> )
	تکرار دوم آزمایش Experiment second replication	1.84 (9.38×10 <sup>-2</sup> )	7.28×10 <sup>6</sup> (1×10 <sup>1</sup> )	4.08×10 <sup>7</sup> (1×10 <sup>1</sup> )	7.76×10 <sup>-2</sup> (3.33×10 <sup>-3</sup> )	2.87×10 <sup>8</sup> (1×10 <sup>1</sup> )
	میانگین دو تکرار Means of two replications	1.94 (8.61×10 <sup>-2</sup> )	1.12×10 <sup>7</sup> (1×10 <sup>1</sup> )	4.09×10 <sup>7</sup> (1×10 <sup>1</sup> )	8.08×10 <sup>-2</sup> (2.76×10 <sup>-3</sup> )	2.08×10 <sup>8</sup> (1×10 <sup>1</sup> )

اعداد داخل پرانتز مقادیر خطای استاندارد می‌باشد.

The values in parenthesis are the standard error.



شکل ۱- پاسخ جمعیت باکتری *M. ciceri* به غلظت‌های مختلف ایمازتاپیر در اسیدیته‌های ۵/۵ و ۷ (هر نقطه میانگین ۸ داده حاصل از دو تکرار آزمایش می‌باشد).

**Figure 1. Population response *M. ciceri* to different doses of Imazethapyr at pH 5.5 and 7 (Each dot is the mean of 8 data from tow replicates of experiment).**

حالی که در غلظت‌های بیش‌تر از ۱/۳۵ گرم ماده مؤثره در لیتر، جمعیت باکتری کاهش یافت. جمعیت باکتری *M. ciceri* در اسیدیته ۵/۵ از منحنی لگاریتم لجستیک ۳ پارامتری تبعیت کرد. همان‌طور که در شکل ۲ دیده می‌شود مقدار ۲/۹۳ گرم ماده مؤثره در لیتر از علف‌کش تری‌فلورالین جهت ۵۰٪ کاهش جمعیت باکتری در اسیدیته ۵/۵ لازم است (پارامتر e). حداکثر جمعیت باکتری در اسیدیته ۵/۵ معادل  $4.0/4 \times 10^6$  از تیمار شاهد بدون علف‌کش و در اسیدیته ۷ از غلظت ۰/۳۳۷ معادل  $4.7/4 \times 10^6$  به‌دست آمد.

تأثیر غلظت‌های مختلف تری‌فلورالین بر پاسخ منحنی رشد جمعیت باکتری *M. Ciceri* منحنی رشد باکتری *M. ciceri* در اسیدیته ۷ در حضور علف‌کش تری‌فلورالین از مدل برین-کوزنس ۵ پارامتری پیروی کرد (شکل ۲) تخمین ضرایب این منحنی در جدول ۲ نشان داده شده است. مقدار هورمسیس در این باکتری در دامنه غلظت‌های ۰/۳۳۷ و ۰/۶۷۵ گرم ماده مؤثره در لیتر معادل  $1.01 \times 10^6 \text{ cell.mL}^{-1}$  ثبت شد (جدول ۲) و درصد افزایش جمعیت باکتری در این دو غلظت، نسبت به شاهد به ترتیب ۲۰/۹۲ و ۱۶/۱۴ به‌دست آمد در

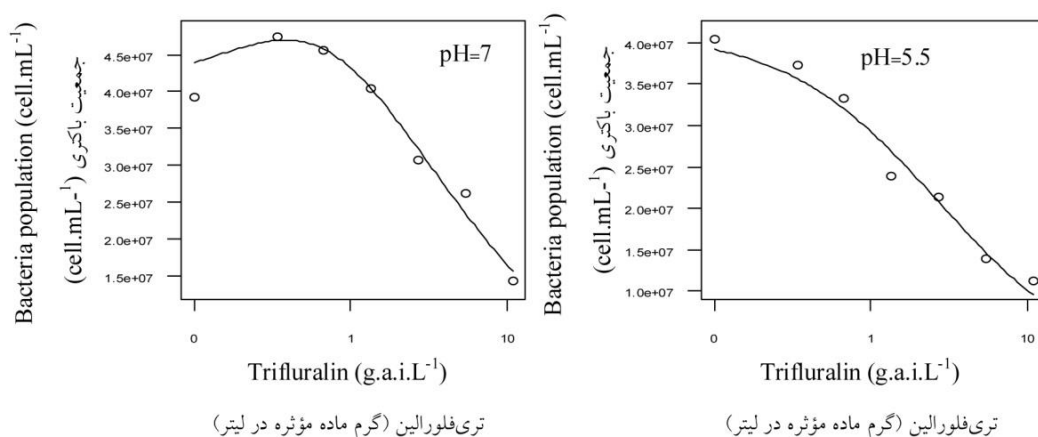
جدول ۲- مقادیر برآورد شده پارامترهای مدل لگاریتم لجستیک ۳ پارامتری برای جمعیت باکتری در  $\text{pH}=7$  و مدل برین-کوزنس ۵ پارامتری  $\text{pH}=5.5$  تحت تأثیر غلظت‌های مختلف علف‌کش تری‌فلورالین.

**Table 2. Estimated parameters of 3 parameter Logarithm Logistic Model fitted to *M. ciceri* population at  $\text{pH}=7$  and Brain-Cousens Model at  $\text{pH}=5.5$  under different doses of Trifluralin.**

	b	c	d	e	f	
pH=5.5	تکرار اول آزمایش Experiment first replication	$8.69 \times 10^{-1}$ ( $7.09 \times 10^{-2}$ )	-	$4.12 \times 10^7$ ( $1.12 \times 10^6$ )	2.93 ( $3.03 \times 10^{-1}$ )	-
	تکرار دوم آزمایش Experiment second replication	1.02 ( $1.00 \times 10^{-1}$ )	-	$3.34 \times 10^7$ ( $1.21 \times 10^6$ )	1.20 ( $1.38 \times 10^{-1}$ )	-
	میانگین دو تکرار Means of two replications	$8.79 \times 10^{-1}$ ( $3.85 \times 10^{-2}$ )		$4.13 \times 10^7$ ( $6.22 \times 10^5$ )	2.73 ( $1.54 \times 10^{-1}$ )	
pH=7	تکرار اول آزمایش Experiment first replication	1.52 ( $2.64 \times 10^{-2}$ )	$1.96 \times 10^6$ ( $1 \times 10^1$ )	$3.88 \times 10^7$ ( $1 \times 10^1$ )	1.14 ( $2.28 \times 10^{-2}$ )	$3.87 \times 10^7$ ( $1 \times 10^1$ )
	تکرار دوم آزمایش Experiment second replication	2.47 ( $1.07 \times 10^{-1}$ )	$9.82 \times 10^6$ ( $1.00 \times 10^1$ )	$3.90 \times 10^7$ ( $1.00 \times 10^1$ )	$7.94 \times 10^{-1}$ ( $1.78 \times 10^{-2}$ )	$2.43 \times 10^7$ ( $1.00 \times 10^1$ )
	میانگین دو تکرار Means of two replications	1.24 ( $5.46 \times 10^{-3}$ )	$-2.51 \times 10^7$ ( $1 \times 10^1$ )	$3.94 \times 10^7$ ( $1 \times 10^1$ )	$7.48 \times 10^{-1}$ ( $5.25 \times 10^{-3}$ )	$1.01 \times 10^8$ ( $1 \times 10^1$ )

اعداد داخل پرانتز مقادیر خطای استاندارد می‌باشد.

The values in parenthesis are the standard error.



شکل ۲- پاسخ جمعیت باکتری *M. ciceri* به غلظت‌های مختلف تری‌فلورالین در اسیدیته‌های ۵/۵ و ۷ (هر نقطه میانگین ۸ داده حاصل از دو تکرار آزمایش می‌باشد).

Figure 2. Population response of *M. ciceri* to different doses of Trifluralin at pH 5.5 and 7 (Each dot is the mean of 8 data from tow replications of experiment).

هورمیتیک رفتاری عمومی برای بیش‌تر سیستم‌های زنده از جمله باکتری‌ها می‌باشد (۲۷). از سوی دیگر واکنش هورمیتیک *Pythium aphanidermatum* با افزایش رشد شعاعی آن در غلظت‌های حداقل اتانول، سیازوفامید و پروپاموکارب نیز توسط فلورز و گارزن (۲۰۱۳) گزارش شده است و طبق نظر ایشان، پروتوکول‌های استانداردسازی و بهینه‌سازی جهت ارزیابی اثرات هورمیتیک غلظت‌های پایین قارچ‌کش‌ها برای به حداقل رساندن خطاهای آزمایشی لازم است تا تغییرات رشد شعاعی حاصل از غلظت‌های رقیق شده مواد شیمیایی قابل ارزیابی باشد (۱۶). بر اساس نتایج پژوهش‌گران دیگر، در خصوص سایر میکروارگانیسم‌ها نیز واکنش هورمیتیک در گونه‌های *Penicillium expansum* (۳۲)، *Phytophthora* (۶) و *Foma officinalis* (۴۵) مشاهده شد.

به‌نظر می‌رسد هورمیسس توسط فرایندهای فیزیولوژیکی سلولی متنوعی به همراه بهبود مقاومت به تنش و دیرپایی سلول عمل می‌کند؛ به‌عنوان مثال تنش گرما سبب افزایش بیان پروتئین‌های مربوط به مقاومت به تنش، شامل پروتئین‌های مقاومت به گرما

عوامل زیادی مانند pH، مواد غذایی خاک، نور و دما رشد باکتری‌های ریزوبیوم را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند (۱۲) به علاوه علف‌کش‌ها نیز ممکن است بر رشد این باکتری‌ها اثر منفی داشته باشند (۱۱) این در حالی است که گزارش حیان و همکاران (۲۰۱۸) نشان می‌دهد باکتری *Paracoccus* sp. توانایی تجزیه ۷۵ درصد علف‌کش پندی‌متالین ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) در دامنه ۶-۸ pH را داراست به عبارت دیگر این باکتری با تطبیق خود، از پندی‌متالین به عنوان منبع غذایی استفاده کرده و اثرات منفی پندی‌متالین را از طریق سازگاری کاهش داده است (۲۱). میگلپوره و همکاران (۲۰۱۳) نیز باکتری *Escherichia coli* را در معرض غلظتی کم‌تر از غلظت کشنده تتراسایکلین در محدوده  $0.03-0.15 \mu\text{g.mL}^{-1}$  قرار دادند و نتایج ایشان افزایش هورمیتیکی را در این دامنه از غلظت نشان داد به طوری که جمعیت باکتری به میزان ۱۴۱٪ و ۱۲۱٪ نسبت به شاهد افزایش یافت (۲۷). این پژوهش‌گران رفتار هورمیتیک *E. coli* به غلظت‌های کم تتراسایکلین را از طریق منحنی غلظت-پاسخ نشان دادند و بیان کردند که واکنش

و استفاده از آن به عنوان منبع غذایی مربوط دانست، اگرچه این شرایط در محیط مزرعه پیچیده‌تر است و عوامل مختلفی بر غلظت علف‌کش‌ها تأثیرگذارند.

### نتیجه‌گیری

این پژوهش، شواهد آماری مبنی بر تحریک رشد و افزایش جمعیت باکتری *M. ciceri* در شرایط آزمایشگاهی در برابر غلظت‌های کم‌تر از حد با‌دارنده علف‌کش‌های ایمازتاپیر و تری‌فلورالین را در شرایط خشتی نشان داد. واکنش رشد جمعیت این باکتری در هر دو علف‌کش در شرایط اسیدی از مدل لگاریتم لجستیک پیروی کرد و در آن هورمسیس مشاهده نشد. pH یکی از عواملی است که بر رشد میکروارگانیزم‌ها و توانایی آن‌ها برای تجزیه آفت‌کش‌ها مؤثر می‌باشد. به‌طورکلی با افزایش غلظت علف‌کش‌های به‌کار برده شده در این آزمایش، رشد جمعیت باکتری *M. ciceri* کاهش یافت اما بسته به میزان pH محیط کشت، روند واکنش باکتری متفاوت بود به طوری‌که در اسیدیته خشتی در غلظت‌های مورد بررسی، افزایش رشد و پس از آن کاهش رشد جمعیت اتفاق افتاد. از آنجایی‌که این آزمایش تحت شرایط کنترل شده آزمایشگاهی اجرا شد بررسی این نتایج در شرایط مزرعه‌ای پیشنهاد می‌شود تا واکنش این باکتری به علف‌کش‌ها در شرایط طبیعی نیز مورد ارزیابی واقع شود.

می‌شود که یک هفته پس از تیمار قابل تشخیص می‌باشند از سوی دیگر pH و دما جزء عواملی هستند که بر رشد میکروارگانیزم‌ها و توانایی آن‌ها برای تجزیه آفت‌کش‌ها مؤثر می‌باشند و مواجه شدن با سطوح ملایم عوامل خطرزا، سبب می‌شود که یک سلول یا یک موجود زنده، مکانیسم‌های مقاومتی را در برابر تنش‌ها فعال کند و در نتیجه توانایی‌های سلول، برای نگهداری و ترمیم، پرورش می‌یابد. بنابراین، این مواجهه دوره‌ای و ملایم (نه شدید و مزمن) در برابر شرایط مضر می‌تواند پتانسیل موجودات زنده را در سازگاری با شرایط بهبود دهد (۳۹). از آنجایی‌که باکتری‌ها ۶۵٪ بیوماس خاک را تشکیل می‌دهند بنابراین به‌طورکلی مسئول بیش‌تر فرایندهای تجزیه زیستی در خاک هستند (۲۶). شایان ذکر است که در pH های بالای ۵/۵ باکتری‌ها نقش اصلی تجزیه را بر عهده دارند در حالی‌که در خاک‌های اسیدی قارچ‌ها نقش پررنگ‌تری در تجزیه ایفا می‌کنند (۲۶). در استان گلستان هر ساله ده‌ها تن از علف‌کش تری‌فلورالین در محصولات مختلف استفاده می‌شود (۵) و از آنجایی‌که بقایای آن حدود ۱۲ ماه در خاک پایدار است (۳۴) استمرار تماس باکتری با علف‌کش و سرعت تکثیر بالای آن‌ها می‌تواند منجر به ظهور و ازدیاد جدایه‌هایی از باکتری شود که به تری‌فلورالین متحمل هستند (۵) از این‌رو می‌توان افزایش رشد باکتری *M. ciceri* در شرایط خشتی و در غلظت‌های حداقلی را به دلیل سازگاری آن به علف‌کش موردنظر

### منابع

1. Abbasian, A., and Rashed Mohasel, M.H. 2017. Community structure and Species diversity of Chickpea weeds in application of Imazethapyr and Trifluralin. Applied Agricultural Research, 29: 1. 39-45. (In Persian)
2. Ahemad, M., and Saghir Khan, M. 2010. Comparative toxicity of selected insecticides to Pea plants and growth promotion in response to insecticide-tolerant and plant growth promoting *Rhizobium leguminosarum*. Crop Protection, 29.4: 325-329.
3. Anderson, A., Baldock, J.A., Rogers, S.L., Bellotti, W., and Gill, G. 2004. Influence of Chlorsulfuron on rhizobial

- growth, nodule formation and nitrogen fixation with Chickpea. Australian Journal of Agricultural Research, 55: 1059-1070.
4. Arruda, J.S., Lopes, N.F., and Moura, A.B. 2001. Behavior of *Bradyrhizobium japonicum* strains under different herbicide concentrations. Planta Daninha, 19: 1. 111-117.
5. Bagherani, N., Galeshi, S., Zeinali, E., and Arzanesh, M.H. 2014. Evaluation of Trifluralin, Metribuzin and Imazethapyr herbicides effects on *Bradyrhizobium japonicum* isolates growth. Journal of Soil Management and Sustainable Production, 4: 3. 251-268. (In Persian with English abstract)
6. Baraldi, E., Mari, M., Chierici, E., Pondrelli, M., Bertolini, P., and Pratella, G.C. 2003. Studies on Thiabendazole resistance of *Penicillium expansum* of pears: pathogenic fitness and genetic characterization. Journal of Plant Pathology, 52: 362-370.
7. Bittner, L., Kluver, N., Henneberger, L., Muhlenbrink, M., Zarfl, C., and Escher, B.I. 2019. Combined ion-trapping and mass balance models to describe the pH-dependent uptake and toxicity of acidic and basic pharmaceuticals in zebrafish embryos (*Danio rerio*). Environmental Science and Technology, 53: 13. 7877-7886.
8. Bostrom, M.L., and Berglund, O. 2015. Influence of pH-dependent aquatic toxicity of ionizable pharmaceuticals on risk assessments over environmental pH ranges. Water Research Journal, 72: 154-161.
9. Brain, P., and Cousens, R. 1989. An equation to describe dose responses where there is stimulation of growth at low doses. Weed Research, 29: 93-96.
10. Calabrese, E.J. 2005. Paradigm lost, paradigm found: The reemergence of hormesis as a fundamental dose-response model in the toxicological sciences. Environmental Pollution, 138: 378-411.
11. Clark, S.A., and Mahanty, H.K. 1991. Influence of herbicides on growth and nodulation of White clover, *Trifolium repens*. Soil Biology and Biochemistry, 23: 725-730.
12. Dart, P. 1977. Infection and development of leguminous nodules. P 367-472. In R.W.F., Hardy, and W.S. Silver, A Treatise on Dinitrogen Fixation, Section III: Biology ed. New York John Wiley.
13. Dastorani, M., Gholamalalipour Alamdari, E., Biabani, A., Avarseji, Z., and Habibi, M. 2019. Study the several herbicides effect on weeds control and yield of Cumin (*Cuminum cyminum* L.). Iranian Journal of Weed Science, 14: 1. 83-95. (In Persian)
14. Druin, P., Sellmani, M., Prevost, D., Fortin, J., and Antoun, H. 2010. Tolerance to agricultural pesticides of strains belonging to four genera of Rhizobiaceae. Journal Environmental Science and Health, 45: 780-788.
15. Ferreira, T.C., Aguilar, J.V., Souza, L.A., Justino, G.C., Aguiar, L.F., and Camargos, L.S. 2016. pH effects on nodulation and biological nitrogen fixation in *Calopogonium mucunoides*. Brazilian Journal of Botany, 39: 4. 1015-1020.
16. Flores, F.J., and Garzon, C.D. 2013. Detection and assessment of chemical hormesis on the radial growth *in vitro* of Oomycetes and fungal plant pathogens. Dose-Response, 11: 361-373.
17. Fulladosa, E.A., Murat, J.C.B., Bollinger, J.C.C., and Villaescusa, I. 2007a. Adverse effects of organic arsenical compounds towards *Vibrio fischeri* bacteria. Science of the Total Environment, 377: 207-213.
18. Fulladosa, E.A., Villaescusa, I., Bollinger, J.C., and Murat, J.C. 2007b. Effect of arsenic compounds on *Vibrio fischeri* light emission and butyrylcholinesterase activity. Environmental Chemistry Letters, 5: 115-119.
19. Gholamalalipour Alamdari, E., and Deokule, S.S. 2009. Allelopathic effects of some weeds on growth and yield of paddy rice (*Tarom variety*) in northern Iran. Pakistan Journal of Weed Science Research, 15: 2. 123-129.

20. György, E., Mara, G., Máthé, I., Laslo, E., Márialigeti, K., Albert, B., Oancea, F., and Lányi, S. 2010. Characterization and diversity of the nitrogen fixing microbiota from a specific grassland habitat in the *Ciuc Mountains*. *Romanian Biotechnological Letters*, 15: 4. 5474-5481.
21. Haiyan, N., Li, N., Qiu, J., Chen, Q., and He, J. 2018. Biodegradation of Pendimethalin by *Paracoccus* sp.13. *Current Microbiology*, 75: 1077-1083.
22. Herridge, D.F., Peoples, M.B., and Boddey, R.M. 2008. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems. *Plant and Soil*, 311: 1-18.
23. Kust, C.A., and Strockmeyer, E.B. 1971. Effects of Trifluralin on growth, nodulation and anatomy of soybeans. *Weed Science*, 19: 147-152.
24. Lambers, H., and Colmer, T. 2005. Root physiology- from gene to function. *Plant and Soil*, 274: 7-15.
25. Laranjo, M., Young, J.P.W., and Oliveira, S. 2012. Multilocus sequence analysis reveals multiple symbiovars within *Mesorhizobium* species. *Systematic and Applied Microbiology*, 35: 359-367.
26. Linde, C.D. 1994. Physico-chemical properties and environmental fate of pesticides. In *Environmental Hazards Assessment Program*. Environmental Protection Agency. Department of Pesticide Regulation and Pest Management. Environmental Monitoring and Pest Management Branch. California.
27. Migliore, L., Rotini, A., and Thaller, M.C. 2013. Low doses of Tetracycline trigger the *E. Cola* growth: A case of hormetic response. *Dose Response*, 11: 4. 550-557.
28. Miri, A.A., Avarseji, Z., Gholamalalipour Alamdari, E., and Nakhzari Moghaddam, A. 2020. Effect of pre-planting and post-vegetative herbicides and cultivars on yield and yield components of pea. *Journal of Crop Production*, 12: 4. 187-198. (In Persian)
29. Mousavi, S.K., Pezeshkpor, P., and Shahverdi, M. 2008. Response of weed population to planting date and chickpea cultivar (*Cicer aritinum*). *Journal of Agricultural Science and Technology and Natural Resources*, 40: 167-177. (In Persian)
30. Nour, S.M., Cleyet-Marel, J.C., Normand, P., and Fernandez, M.P. 1995. Genomic heterogeneity of strains nodulating chickpeas (*Cicer arietinum* L.) and description of *Rhizobium mediterraneum* sp. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 45: 640-648.
31. Lin, M., Gresshoff, P.M., and Ferguson, B.J. 2012. Systemic regulation of soybean nodulation by acidic growth conditions. *Plant Physiology*, 160: 2028-2039. doi:10.1104/ pp.112. 204149.
32. Parra, G., and Ristaino, J.B. 2001. Resistance to mefenoxam and metalaxyl among field isolates of *Phytophthora capsici* causing Phytophthora blight of bell pepper. *Plant Diseases Journal*, 85: 1069-1075.
33. Raghavendra, K.S., and Gundappagol, R.C. 2017. Effect of herbicides on soil microcosm, nodulation and yield in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6: 5. 1649-1655.
34. Rao, V.S. 2000. Principles of Weed Science. Science Publisher Inc. 555p.
35. Rensburg, H.J., and Strijdom, B.W. 1984. Effect of herbicides on survival of rhizobia and nodulation of peas, groundnuts and Lucerne. *South African Journal of Plant and Soil*, 1: 4. 135-138.
36. Ritz, C., and Streibig, J.C. 2005. Bioassay analyses using R. *Journal of Statistical Software*, 12: 1-22.
37. Rivas, R., Laranjo, M., Mateos, P.F., Oliveira, S., Molina, E.M., and Velazquez, E. 2007. Strains of *Mesorhizobium amorphae* and *Mesorhizobium tianshanense*, carrying symbiotic genes of common Chickpea endosymbiotic species, constitute a novel biovar (*ciceri*) capable of nodulating *Cicer arietinum*. *Letters in Applied Microbiology*, 44: 412-418.

38. Sanders, C.L. 2010. Radiation Hormesis and the Linear-No-Threshold Assumption. Springer, New York. 214p.
39. Sarup, P., Sorensen, P., and Loeschcke, V. 2014. The long-term effects of a life-prolonging heat treatment on the *Drosophila melanogaster* transcriptome suggest that heat shock proteins extend lifespan. *Experimental Gerontology Journal*, 50: 34-39.
40. Seefeldt, S.S., Jensen, J.E., and Furst, E.P. 1995. Log-logistic analysis of dose-response relationships. *Weed Technology*, 9: 218-227.
41. Sharma, J.P., and Khanna, V. 2011. In vitro sensitivity of rhizobium and phosphate solubilising bacteria to herbicides. *Indian Journal Microbiology*, 51: 2. 230-23.
42. Singh, G., and Wright, D. 2002. In vitro studies on the effects of herbicides on the growth of rhizobia. *Letters in Applied Microbiology*, 35: 12-16.
43. Somasegaran, P., and Hoben, H.J. 1994. Handbook for Rhizobia: Methods in legume-Rhizobium technology. NY. Springer-Verlag. 450p.
44. Southam, C.M., and Ehrlich, J. 1943. Effects of extract of western red-cedar heartwood on certain wood decaying fungi in culture. *Phytopathology Journal*, 33: 517-524.
45. Stebbing, A.R.D. 1987. Growth hormesis-A by-product of control. *Health Physics Journal*, 52: 543-547.
46. Stebbing, A.R.D. 1998. A theory for growth hormesis. *Mutation Research Journal*, 403: 249-258.
47. Temporetti, P., Beamud, G., Nichela, D., Baffico, G., and Pedrozo, F. 2019. The effect of pH on phosphorus sorbed from sediments in a river with a natural pH gradient. *Chemosphere*, 228: 287-299.
48. Wilson, R.G., and Lyon, D.J. 2005. Chemical weed control in dryland and irrigated chickpea. *Weed Technology*, 19: 959-965.
49. Xu, Y.Q., Liu, S.S. Ze, F., and Wang, J. 2020. pH affects the hormesis profiles of personal care product components on luminescence of the bacteria *Vibrio qinghaiensis* sp. -Q67. *Science of the Total Environment*, 713: 136656-136664.
50. Yao, L., Zhao, J.L., Liu, Y.S., Zhang, Q.Q., Jiang, Y.X., Liu, S., Liu, W.R., Yang, Y.Y., and Ying, G.G. 2018. Personal care products in wild fish in two main Chinese rivers: bioaccumulation potential and human health risks. *Science of the Total Environment*, 621: 1093-1102.
51. Yu, T., Zhang, Y., Wu, F., and Meng, W. 2013. Six-decade change in water chemistry of large freshwater Lake Tahu, China. *Environmental Science and Technology*, 47: 9093-9101.

