به زراعی کشاورزی
دوره ۲۳ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۴۰۰
صفحه‌های ۵۲۰-۵۰۳

مقاله پژوهشی:

پیامد شیوه‌های کاربرد پادزیست‌های پرکاربرد در کشاورزی بر شمار باکتری‌ها و قارچ‌های پیرامون ریشه، شناسه‌های رشدی و شمار گره بر ریشه‌های گیاه نخود

مهدی رشتبری[1*]، علی اکبر صفری سنجانی[2]
۱. دانش‌آموخته دکتری، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
۲. استاد، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۵/۰۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۷/۱۳

چکیده
در این پژوهش پیامد شیوه‌های گوناگون کاربرد پادزیست‌های پرکاربرد در کشاورزی (جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین) در میزان‌های گوناگون بر شناسه‌های رشد اندام هوایی و ریشه‌ای گیاه نخود (*Cicer arientum* L.)، و شمار گره ریزوبیومی و فراوانی همه باکتری‌ها، همه قارچ‌ها و باکتری‌های روده‌ای در خاک پیرامون ریشه گیاه پس از ٦٠- روز رشد در گلخانه با طرح اسپلیت-پلات ارزیابی شد. کاربرد پادزیست‌ها، حتی جنتامایسین مایه افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه در برابر گواه شد و کم‌ترین میزان برابر ۰/۹۸ گرم در گلدان در تیمار بدون پادزیست دیده شد. وزن خشک ریشه در کاربرد پنی‌سیلین به‌ویژه در میزان بالا بیش‌ترین بود (۱/۱ گرم در گلدان) و در کاربرد جنتامایسین به‌ویژه به شیوه بذرمال کم‌ترین (۰/٤٨ گرم در گلدان) بود. به‌طورکلی، کاربرد پادزیست‌ها مایه کاهش نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی در برابر گواه آزمایش شد. کاربرد همه پادزیست ها در برابر گواه مایه افزایش شمار باکتری‌های خاک گلدان پس از ٦٠ روز شد. افزایش میزان کاربرد پادزیست‌های جنتامایسین و پنی‌سیلین شمار گره ریشه نخود را به‌دنبال هم به میزان ۷۸/۸ و ۵۹/۷ درصد کاهش داد. کاربرد پادزیست‌ها به گونه بذرمال بیش‌ترین پیامد بد بر شناسه‌های رشدی گیاه نخود و هم‌چنین شمار گره‌های ریزوبیومی در ریشه گیاه داشت. به‌طورکلی، پیامدهای پادزیست‌ها بر فراوانی ریزجانداران خاک و رشد گیاه به گونه پادزیست و شیوه کاربرد آن بستگی دارد.

کلیدواژه‌ها: اکسی‌تتراسایکلین، بذرمال، برگ‌پاشی، پنی‌سیلین، جنتامایسین، ریزجانداران خاک.

The Effect of Application of Mostly Applied Antibiotics in Agriculture on Soil Bacteria and Fungi Count in Rhizosphere Soil, Growth Indices, and Nodule Number of Chickpea Roots

Mehdi Rashtbari[1*], Ali Akbar Safari Sinegani[2]
1. Former Ph.D. Student, Department of Soil Science and Engineering, College of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.
2. Professor. Department of Soil Science and Engineering, College of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran.
Received: July 22, 2020 Accepted: October 4, 2020

Abstract
The present study evaluates the effect of various application methods of mostly applied antibiotics in agriculture (gentamicin, oxytetracycline, penicillin) at different concentrations on root and shoot growth indices and number of rhizobial nodules of chickpea plant and the count of total bacteria, fungi, and coliforms in the soil around the plant root after a growth period of 60 days in greenhouse as a split-plot design. Application of antibiotics, even gentamicin, raises plant shoot dry weight, compared to the control, with the lowest weight of 0.98 g/pot observed in the control (without antibiotic). Root dry weight in penicillin-applied treatments, especially at higher concentrations has been the highest (1.1 g/pot), and the lowest in gentamicin-applied treatments, especially when applied as seed coating (0.48 g/pot). In total, antibiotic application decreases the root to shoot ratio compared to the control. Application of all antibiotics increase soil bacterial count in the pots after 60 days in comparison with the control. Also, increasing the concentration of gentamicin and penicillin, decreases plant root nodule number by 78.8% and 59.7%, respectively. Overall, the effect of antibiotics on soil microbial count and plant growth depends on antibiotic type and application method.

Keywords: Foliar application, gentamicin, oxytetracycline, penicillin, seed coating, soil microorganisms.

* نویسنده مسئول
Email: M.rashtbari94@basu.ac.ir

۱. مقدمه

پادزیست‌ها به‌طور گسترده برای درمان بیماری‌های آدمی و دام‌ها با کشتن باکتری‌ها یا بازدارندگی از رشد آن‌ها به‌کار می‌روند (Kirchhelle, 2018; Minden *et al*., 2017). بهره‌گیری از پادزیست‌ها بخش جدایی‌ناپذیری از کار دامپروری شده که تنها ۸۴۸۱ گونه پادزیست دامپزشکی در سال ۲۰۱۱ در کشورهای اتحادیه اروپا فروخته شده است (Agency, 2017). پادزیست‌های بهره‌گیری‌شده در دام‌ها تا میزانی در روده جذب می‌شوند ولی گاهی تا ۹۰ درصد برخی پادزیست‌ها از روده گذشته و در پیخال دام‌ها رها می‌شوند (Kumar *et al*., 2005). این پادزیست‌ها می‌توانند با جانوران یا کود جانوری در زیست‌پیرامون رها شوند (Martinez- Carballo, 2007). برخی پادزیست‌ها در کود جانوری و خاک بسیار پایدار هستند که پسمانده‌های آن‌ها حتی یک سال پس از کاربرد نیز در خاک دیده شده است (Thiele-Bruhn, 2005) که می‌توانند بر رشد گیاهان و ریزجانداران نشانه بگذارند.

پاسخ گیاهان به پادزیست‌ها می‌تواند وابسته به میزان کاربرد باشد، برای نمونه افزایش رشد گیاه در میزان‌های کم‌تر و پیامدهای سمی در میزان‌های بیش‌تر (با نام پاسخ‌های هورمتیک[1]) گزارش شده است (Migliore *et al*., 2010). پادزیست‌ها بیش‌تر بر ریشه‌ها پیامد دارند، زیرا این بخش‌ها بیش‌تر پادزیست‌ها را جذب می‌کنند (Migliore *et al*., 2010). نشان آن‌ها به گونه بد و بازدارنده بر رشد ریشه، دراز شدن ریشه و شمار ریشه‌های کناری گزارش شده که این نیز خود بر جذب آب در گیاه نشانه‌گذار خواهد بود (Michelini *et al*., 2012). پژوهش‌های دیگر نشان داده‌اند که پادزیست‌ها می‌توانند مایه دگرگونی ساخت زیست‌توده، شمار برگ‌ها، الگوهای شاخه‌دهی، درازی اندام هوایی، نسبت ریشه به اندام هوایی شوند (Michelini *et al*., 2012; Minden *et al*., 2017; Yang *et al*., 2010). Liu *et al*. (2009) بازدارندگی از جوانه‌زنی، کاهش رشد و جلوگیری از کارایی آنزیم فسفاتاز در گیاه یولاف شیرین[2] را گزارش دادند و Kumar *et al*. (2005) انباشتگی زیستی اکسی‌تتراسایکلین در بافت‌های گیاهی ذرت[3] و پیاز[4] را نشان دادند. پادزیست جنتامایسین هم‌چنین به گونه چشم‌گیری رشد گیاه هویج را کاهش داد (Bassil *et al*., 2013). هم‌چنین پژوهش‌گران گزارش دادند که اکسی‌تتراسایکلین به گونه چشم‌گیری مایه کاهش زیست‌توده و رشد اندام هوایی، کاهش تندی فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای و افزایش میزان دی‌اکسیدکربن در میان یاخته‌های گیاه گندم[5] شد (Li *et al*., 2011).

تاکنون بیش‌تر پژوهش‌ها درباره پیامد پادزیست‌ها بر فراوانی ریزجانداران خاک و پیامد جذب گیاه بر بهداشت آدمی بوده است (Grote *et al*., 2007; Kong *et al*., 2011) و پیامد پادزیست‌ها بر خود گیاهان کم‌تر بررسی شده است. برخی گزارش‌ها گواه بر پیامد چشم‌گیر پادزیست‌ها بر افزایش رشد و کارکرد گیاه داشته‌اند (Liu *et al*., 2013; Migliore *et al*., 2010). در پی افزایش کاربرد پادزیست‌ها در کشور (Ansari, 2001)، این پژوهش با هدف شناخت و ارزیابی پیامد کاربرد پادزیست‌های پرکاربرد در کشاورزی بر شناسه‌های رشدی ریشه و اندام هوایی گیاه نخود[6]، فراوانی قارچ‌ها، باکتری‌ها، کلیفرم‌ها و شمار گره‌های ریشه نخود انجام شده است. هم‌چنین در این پژوهش با کاربرد آن‌ها در سه شیوه کاربرد در خاک، بذرمال و برگ‌پاشی در گام پنج برگی گیاه (میانه گام رویشی گیاه بر پایه مقیاس استاندارد BBCH[7] (Lancashire *et al*., 1991) تلاش شده است تا

1. Hormetic Responses

2. *Avena sativa*
3. *Zea mays*
4. *Allium cepa*
5. *Triticum aestivum*
6. *Cicer arientum*
7. Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and

بزرگی پیامد این سه شیوه بر ویژگی‌های یاد شده بررسی و آزمون شود.

۲. مواد و روش‌ها

۲. ۱. پادزیست‌ها

پادزیست‌های جنتامایسین (از دسته آمینوگلیکوزیدها؛ شرکت رویان دارو)، اکسی‌تتراسایکلین (از دسته تتراسایکلین‌ها؛ شرکت تولید داروهای دامی ایران) و پنی‌سیلین (از دسته بتالاکتام‌ها؛ شرکت دارویی نصر) از داروخانه دامپزشکی مرتع در شهر همدان خریداری شد. این پادزیست‌ها از گروه پرکاربردترین آن‌ها در دامپروری و کشاورزی هستند. هم‌چنین همه مواد شیمیایی بهره‌گیری‌شده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان (Merck Co.) فراهم شد. کشتگاه‌های به‌کاررفته برای کشت باکتری‌ها و قارچ‌های خاک نیز از شرکت بایولب (BioLab) خریداری شد. خاک بهره‌گیری‌شده برای بخش آزمون گلخانه‌ای از کشت‌زارهای پشت دانشکده کشاورزی آماده شد. دانه‌های نخود، رقم عادل از سازمان پژوهش‌های نخود دیم کرمانشاه خرید شد.

۲. ۲. نمونه‌برداری خاک و بررسی ویژگی‌های آن

برای انجام این پژوهش از لایه رویین (۱۰-۰ سانتی‌متر) خاک یک کشت‌زار در پشت ساختمان نوین دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان نمونه‌برداری شد. در پنج سال گذشته کودهای دامی دارای پادزیست و هیچ‌گونه پادزیست دیگری در این خاک به‌کار نرفته است. نمونه خاک برای انجام آزمایش‌ها از الک دو میلی‌متری گذرانده شدند. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بر پایه دستور کارهای استاندارد بررسی شدند (جدول ۱) (Safari Sinegani *et al*., 2010; Sparks *et al*., 1996).

بافت خاک به‌روش هیدرومتری میزان‌گیری شد. از ویژگی‌های شیمیایی pH خاک با دستگاه pHسنج (مدل متراهم[1]-۷٤٤؛ سوئیس)، رسانندگی الکتریکی (EC) با رسانندگی‌سنج الکتریکی (مدل دبلیو تی دبلیو[2] ۷۲۰؛ آلمان) هر دو در نسبت ۱ به ۲ خاک به آب، درصد کربن آلی به‌روش اکسایش تر (Walkley & Black, 1934) میزان گیری شد. از ویژگی‌های زیستی شمار همه باکتری‌ها به‌روش پرگنه (کلنی) شماری و تنفس پایه خاک به‌روش بدام انداختن دی‌اکسیدکربن خاک در سود و سپس تیتراسیون آن، میزان‌گیری شد (Safari Sinegani *et al*., 2010).

۲. ۳. آماده‌سازی گلدان‌ها و کاربرد تیمارها

در این گام گیاه نخود در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان، در همان خاک با نمناکی نزدیک گنجایش کشاورزی با تیمارهای کاربرد پادزیست‌های گوناگون (جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین)، با میزان‌های گوناگون پادزیست، با سه شیوه کاربرد گوناگون (کاربرد در خاک، بذرمال و برگ پاشی در گام رشد رویشی گیاه (پنج برگی)) کشت شده و پس از رسیدن به گام گلدهی برداشت شدند. یادآور می‌شود که پیش از کشت گلخانه‌ای، آزمون جوانه‌زنی بذر نخود برای ارزیابی بیشینه میزان پادزیست که دانه نخود توانایی جوانه‌زنی در آن را دارد، انجام شد. در کاربرد پادزیست‌های اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین به شیوه بذرمال، پیامد بازدارنده‌ای از این پادزیست‌ها بر جوانه‌زنی دیده نشد و همان بیشینه میزان کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک به‌کاررفت.

1. Metrohm
2. WTW

Chemical industry

جدول ۱. برخی از ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک به‌کاررفته

بافت خاک	گنجایش کشاورزی	شمار همه باکتری‌ها	شمار همه قارچ‌ها	تنفس پایه	pH	رسانندگی الکتریکی	کربن آلی	آهک معادل
	(%)	(Log CFU/gr soil)		(mg C_O2/g soil/day)		(dS/m)	(%)	
لوم	۲۶/۶۱	۷/۸۸	۵/۷۱	۰/۰۶	۶/۹۳	۰/۱۴	۰/۷۷	۹/۳

بنابراین میزان‌های به‌کاررفته آن‌ها در این پژوهش صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود. در آزمون پادزیست جنتامایسین، حتی میزان ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر پادزیست در آب نیز پیامد بازدارنده چشم‌گیری بر جوانه‌زنی بذر نخود داشت. از این‌روی، میزان‌های کاربردی آن در خاک کم‌تر و صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود.

برای کشت گیاهان، از گلدان‌هایی با بلندی ۲۵ و پهنای دهانه ۲۰ سانتی‌متر بهره‌گیری شد، که درون هرکدام از آن‌ها، گذشته از شن و سنگریزه ته آن، ۳ کیلوگرم خاک تیمارشده ریخته شد. در تیمارهای آمیختن پادزیست در خاک، پیش از ریختن خاک در گلدان، محلول‌های آبی پادزیست‌های جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین با آب مقطر آماده شد و به روی سه کیلوگرم خاک پاشیده شد. خاک به خوبی به هم زده شده و هم‌زمان با پاشش آب به نمونه‌های خاک نم آن به گنجایش کشاورزی رسید.

برای تیمار بذر با پادزیست‌ها، محلول‌های آبی پادزیست‌های جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین با میزان‌های گوناگون (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برای پادزیست‌های پنی‌سیلین و اکسی‌تتراسایکلین و صفر، ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر برای جنتامایسین) با آب مقطر آماده شد و بذرها به‌مدت ۱۲ ساعت در محلول‌های دارای پادزیست خیسانده شدند. برای کاربرد تیمار برگ‌پاشی نیز، محلول‌های آبی پادزیست با میزان‌های یاد شده آماده شد و در گام پنج برگی گیاهان نخود روی گیاهان به تعداد دو بار به فاصله یک هفته پاشیده شد.

۲. ٤. کشت گیاهان و میزان‌گیری فراسنجه‌های رشدی گیاه

برای این‌که بذرها مایه‌زنی خوبی داشته باشند، آن‌ها را برای ٤٨ ساعت در پارچه نمناک نگهداری کرده، سپس دانه‌ها (پنج بذر) به آرامی در درون گلدان‌های از پیش آماده‌شده، کاشته شدند. بوته‌ها پس از جوانه‌زنی و رشد آغازین تنک شدند و در هر گلدان یک بوته نگه‌داری شد و تا زمان رشد شایسته و برداشت روزانه آبیاری شدند، سپس خاک درون گلدان‌ها، ریشه و اندام هوایی گیاهان در آغاز گام گلدهی گیاه و پس از ٦٠ روز برداشت و برای انجام آزمایش به آزمایشگاه برده شدند. پس از برداشت، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه میزان‌گیری شد. هم‌چنین شمار همه گره‌های ریزوبیومی پدید آمده بر ریشه گیاه نخود شمارش شد. برای به‌دست‌آوردن وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان هرکدام به گونه جداگانه برای ٤٨ ساعت درآون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد خشک و وزن خشک آن‌ها میزان‌گیری شد.

۲. ۵. کشتگاه ریزجانداران و شمارش آن‌ها

برای کشت و شمارش قارچ‌ها از کشتگاه آماده PDA[1]، برای کشت و شمارش همه باکتری‌ها از کشتگاه آماده NA[2] و برای باکتری‌های روده‌ای از کشتگاه آماده EMB[3] بهره‌گیری شد. برای آماده‌سازی سوسپانسیون از خاک یک

1. Potato Dextrose Agar
2. Nutrient Agar
3. Eosin Methylene Blue

گرم آن را در ارلن دارای ۹۹ میلی‌لیتر آب سترون ریخته و ارلن برای ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه تکان داده شد و سری‌های رقت آماده شد. از هر رقت به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به‌کمک پیپت سترون برداشته و بر کشتگاه پخش شد. از هر رقت سه تکرار در سه پتری دیش مایه‌زنی شد. سپس پتری‌دیش‌ها را به گونه وارونه در گرمخانه در دمای ۲۸/۲ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. در این بررسی بهترین رقت‌ها برای شمارش قارچ‌ها 10^{-2}، همه باکتری‌ها 10^{-5}و برای باکتری‌های روده‌ای 10^{-4}بود. در کشتگاه EMB پرگنه‌های *اشریشیاکولی* که تخمیرکننده لاکتوز هستند به رنگ سبز با جلای فلزی، باکتری‌های ناتخمیری مانند *سالمونلا* و *شیگلا* بیرنگ و دیگر باکتری‌های لاکتوز مثبت ارغوانی دیده شدند (Safari Sinegani *et al*., 2010).

۲. ٦. تجزیه و تحلیل آماری

آزمون آماری به‌کاررفته، اسپلیت-پلات بود که تیمارهای شیوه کاربرد کرت اصلی (کاربرد در خاک، بذرمال و برگ‌پاشی در گام رشد رویشی گیاه (کد 1,5 مقیاس BBCH (Lancashire *et al*., 1991)) و گونه پادزیست در هفت سطح (پادزیست‌های جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین در میزان‌های کاربرد ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برای پادزیست‌های پنی‌سیلین و اکسی‌تتراسایکلین و ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر برای جنتامایسین به‌همراه گواه (بدون پادزیست)) کرت‌های فرعی بودند که در سه تکرار سر هم ٦۳ یگان آزمایشی بود. میانگین ویژگی‌های بررسی‌شده در تیمارهای به‌کاررفته با بهره‌گیری از آزمون کم‌ترین ناهمانندی چشم‌گیر (LSD) در پایه آماری یک درصد آزمون ($P<0/01$) شد. داده‌پردازی با نرم‌افزار اکسل و همه تجزیه و تحلیل‌های آماری با بهره‌گیری از برنامه آماری SAS (نسخه ۹/۱) انجام شد.

۳. نتایج

۳. ۱. نشان تیمارها بر فراسنجه‌های رشدی ریشه و اندام هوایی گیاه نخود

تجزیه واریانس داده‌های وزن خشک اندام هوایی میزان‌گیری شده نشان داد که پیامد تیمارهای شیوه کاربرد و هم‌چنین پیامد برهم‌کنش آن با گونه پادزیست از دیدگاه آماری بر این ویژگی گیاه چشم‌گیر نبود، ولی پیامد گونه پادزیست به‌کاررفته در میزان‌های گوناگون بر وزن خشک اندام هوایی گیاه نخود چشم‌گیر بود ($P<0/01$؛ جدول ۲). آزمون میانگین داده‌های وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای گونه پادزیست در میزان‌های به‌کاررفته در شکل (۱) نشان داده شده است. بیش‌ترین میزان وزن خشک اندام هوایی در تیمارهای پنی‌سیلین و اکسی‌تتراسایکلین در برابر پادزیست جنتامایسین و گواه دیده شد. در تیمارهای پادزیست جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین، افزایش میزان کاربرد پادزیست مایه کاهش میزان وزن خشک اندام هوایی گیاه نخود گردید، اگرچه کاهش میزان از دیدگاه آماری ناهمانندی چشم‌گیری نداشت. ولی در پادزیست پنی‌سیلین کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنی‌سیلین مایه افزایش ۱۱/٦ درصدی میزان وزن خشک اندام هوایی در برابر کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنی‌سیلین گردید. یافته‌ها نشان داد که حتی کاربرد پادزیست جنتامایسین نیز باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی گیاه در برابر گواه شد و کم‌ترین میزان برابر ۰/۹۸ گرم بر گلدان در تیمار گواه دیده شد (شکل ۱).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که پیامد شیوه کاربرد، گونه پادزیست و پیامد برهم‌کنش آن‌ها بر وزن خشک ریشه گیاه نخود از دیدگاه آماری چشم‌گیر بود ($P<0/01$؛ جدول ۲). برپایه یافته‌های گزارش شده در شکل (۲)، بیش‌ترین میزان وزن خشک ریشه گیاه در تیمارهای کاربرد در خاک دیده شدند و پس از آن تیمارهای برگ‌پاشی و بذرمال بودند.

جدول ۲. تجزیه واریانس ویژگی‌های رشدی، لگاریتم فراوانی ریزجانداران شمارش‌شده و هم‌زیستی گیاه نخود با ریزوبیوم در تیمارهای گونه پادزیست، میزان و شیوه کاربرد آن

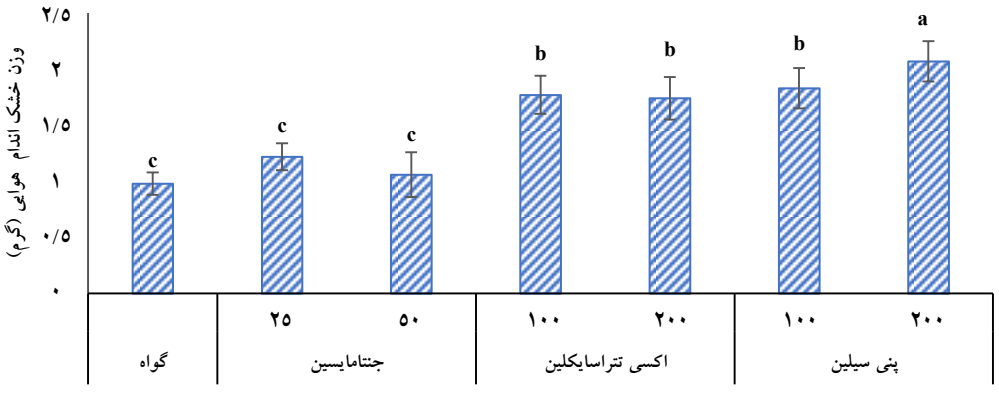
منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی	درازی ریشه
بلوک (R)	۲	۰/۱۱ns	۰/۰۰۱ns	۰/۰۲۱ns	۱/٤۸ns
شیوه کاربرد (A)	۲	۰/۰۷ns	۰/۰۹٦**	۰/۰۵۸*	۲۰٤/۳٦**
R*A	٤	۰/۰۰۱ns	۰/۰۰۰۷ns	۰/۰۰۰۸ns	۳/۰۷ns
گونه پادزیست (B)	٦	۱/٦۵**	۰/۳٤۲**	۰/۲۰۸**	۵۸/۸۰**
A*B	۱۲	۰/۰۲ns	۰/۰٦۰**	۰/۰٤٤**	۲۹/۵٤**
خطا	۳٦	۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۱۱	٤/۸٦
ضریب تغییرات	–	۱۰/۳	۱۱/۰۳	۱۷/۱۱	۱۱/٤٤

* و ** به ترتیب نشان‌دهنده پیامد چشم‌گیر تیمارها از دیدگاه آماری در پایه پنج درصد، یک درصد و ns بدون پیامد چشم‌گیر تیمارها است.

جدول ۲. تجزیه واریانس ویژگی‌های رشدی، لگاریتم فراوانی ریزجانداران شمارش‌شده و هم‌زیستی گیاه نخود با ریزوبیوم در تیمارهای گونه پادزیست، میزان و شیوه کاربرد آن

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		همه باکتری‌ها	همه قارچ‌ها	نسبت باکتری به قارچ	باکتری های روده ای	شمار گره ریشه
بلوک (R)	۲	۰/۰۰۲ns	۰/۰۰۷ns	۰/۰۰۰۷ns	۰/۰۸۸ns	۳٦/۳۳ns
شیوه کاربرد (A)	۲	۰/۰۲۲**	۰/۰۳۳**	۰/۰۰۵**	۰/۰۱٦**	۲۲۹/٤۷*
R*A	٤	۰/۰۰۰۲ns	۰/۰۰۱ns	۰/۰۰۰۹ns	۰/۰۰۲ns	۷۵/۵۲ns
گونه پادزیست (B)	٦	۰/۰۳۱**	۰/۰۵۲**	۰/۰۰٤۳**	۰/۰۵٤**	۱٤۷/٤۰ns
A*B	۱۲	۰/۰۰۷**	۰/۰۱۱**	۰/۰۰۰۹**	۰/۰۱۲**	۱۷۳/٦۲**
خطا	۳٦	۰/۰۰۰٤	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۲	٦۳/۷۰
ضریب تغییرات	–	۰/۲٤	۰/۸۵	۰/۸۹	۰/٦۳	۹/۲٦

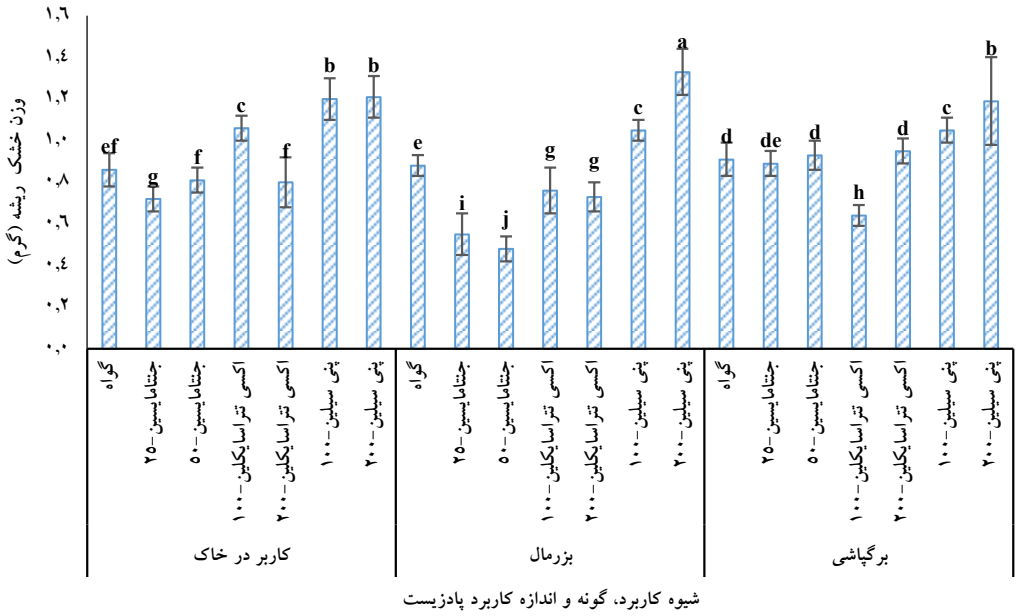
* و ** به ترتیب نشان‌دهنده پیامد چشم‌گیر تیمارها از دیدگاه آماری در پایه پنج درصد، یک درصد و ns بدون پیامد چشم‌گیر تیمارها است.



شکل ۱. آزمون میانگین وزن خشک اندام هوایی گیاه نخود در تیمارهای گونه پادزیست و میزان به‌کاررفته آن در خاک. (میانگین‌های دارای واژه‌های یکسان در هر ستون ناهمانندی چشم‌گیری در پایه آماری یک درصد ندارند.)

اگرچه ناهمانندی میان تیمارهای کاربرد پادزیست پنی‌سیلین در کاربرد در خاک از دیدگاه آماری چشم‌گیر نبود، ولی در کاربرد آن به گونه بذرمال و برگ‌پاشی، افزایش میزان کاربرد آن از ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مایه افزایش به‌دنبال هم ۲۱/۰۵ و ۱۱/۷۶ درصدی وزن خشک ریشه شد. پادزیست اکسی‌تتراسایکلین رفتار ناهمگونی در تیمارهای میزان کاربرد داشت، به گونه‌ای که در کاربرد در خاک، میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اکسی‌تتراسایکلین باعث کاهش ۲٤/۵۲ درصدی وزن خشک ریشه در برابر ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آن شد. در کاربرد به گونه بذرمال ناهمانندی چشم‌گیری میان دو میزان پادزیست اکسی‌تتراسایکلین به‌کاررفته دیده نشد (در پی هم ۰/۷۶ و ۰/۷۳ گرم بر گلدان) و در تیمار برگ‌پاشی نیز افزایش میزان کاربرد پادزیست مایه افزایش ۳۲/۶۳ درصدی وزن خشک ریشه شد. با این‌که کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پادزیست جنتامایسین در کاربرد در خاک مایه افزایش وزن خشک ریشه در برابر کاربرد ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم شد (۱۱/۱ درصد)، در تیمارهای بذرمال و برگ‌پاشی پادزیست، افزایش میزان کاربرد پادزیست باعث کاهش این فراسنجه گیاهی شد. یافته قابل‌ذکر دیگر این است که در همه تیمارهای شیوه کاربرد پادزیست، کم‌ترین میزان وزن خشک ریشه در تیمارهای کاربرد جنتامایسین به‌دست آمد که میزان آن در این تیمارها حتی کم‌تر از تیمار گواه بود (شکل ۲).

یافته‌های تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که پیامد گونه پادزیست و پیامد برهم‌کنش شیوه کاربرد و گونه پادزیست بر نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی گیاه نخود در پایه آماری یک درصد چشم‌گیر بود (جدول ۲).



شکل ۲. آزمون میانگین وزن خشک ریشه گیاه نخود در تیمارهای شیوه کاربرد، گونه پادزیست و میزان به‌کاررفته آن در خاک در شکل میزان‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ نشان‌دهنده میزان‌های کاربرد ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک یا در لیتر است. میانگین‌های دارای واژه‌های یکسان در هر ستون ناهمانندی چشم‌گیری در پایه آماری یک درصد ندارند.

یافته‌های آزمون میانگین‌ها نشان داد که در همه تیمارهای شیوه کاربرد، تیمار گواه دارای بیش‌ترین میزان نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی بود و کاربرد پادزیست‌های گوناگون مایه کاهش این نسبت در گیاهان شدند (جدول ۳). هنگام کاربرد پادزیست‌ها در خاک، با این که افزایش میزان کاربرد پادزیست جنتامایسین مایه افزایش این نسبت شد، افزایش میزان کاربرد دو پادزیست دیگر مایه کاهش این نسبت شدند و بیش‌ترین میزان نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی (۰/۸٦۱) در کاربرد جنتامایسین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک دیده شد که ناهمانندی چشم‌گیری با دیگر تیمارها داشت.

در تیمار شیوه کاربرد به گونه بذرمال، افزایش میزان کاربرد همه پادزیست‌ها مایه افزایش نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی گردید که بیش‌ترین میزان افزایش در پادزیست پنی‌سیلین به میزان ۱۸/۳۵ درصد دیده شد.

جدول ۳. آزمون میانگین نسبت وزن خشک اندام هوایی به ریشه و درازی ریشه گیاه نخود در تیمارهای شیوه کاربرد، گونه پادزیست و میزان به‌کاررفته آن در شیوه‌های کاربرد در خاک، بذرمال و برگ‌پاشی

شیوه کاربرد	گونه پادزیست	میزان کاربرد		نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی	درازی ریشه (cm)
کاربرد در خاک	گواه			۰/۸٦۷ ± ۰/۰۹۷c	۲۲/۰۰ ± ۱/۰۰c
	جنتامایسین	۲۵	mg/kg	۰/٦۰۸ ± ۰/۰۹۷h	۱۸/٦٦ ± ۰/۵۷g
		۵۰		۰/۸٦۱ ± ۰/۱۳۰c	۲۰/۰۰ ± ۱/۷۳e
	اکسی‌تتراسایکلین	۱۰۰		۰/٦۱٤ ± ۰/۰۳٤h	۲۲/۸۳ ± ۲/۰۲ab
		۲۰۰		۰/٤٤۷ ± ۰/۰۵۵n	۲۱/٦٦ ± ٤/۷۲d
	پنی‌سیلین	۱۰۰		۰/۷۰۷ ± ۰/۰۳۵f	۲۳/۰۰ ± ۱/۷۳a
		۲۰۰		۰/۵۹۲ ± ۰/۰۵۷i	۲۲/٦٦ ± ۰/۵۷b
بذرمال	گواه			۰/۹۱۹ ± ۰/۲٤۸b	۲۱/۳۳ ± ۲/۸۸d
	جنتامایسین	۲۵	mg/L	۰/٤٤۱ ± ۰/۰٦۲no	۹/۰۰ ± ۱/۰۰j
		۵۰		۰/٤۵۹ ± ۰/۱۱۱n	۷/٦٦ ± ۱/۵۲k
	اکسی‌تتراسایکلین	۱۰۰		۰/٤۵۲ ± ۰/۰۳۹n	۱۷/۱٦ ± ۳/٦۱h
		۲۰۰		۰/٤۷۰ ± ۰/۰۹٦m	۱۳/٦٦ ± ۱/۵۲i
	پنی‌سیلین	۱۰۰		۰/۵۵٦ ± ۰/۰۳۲j	۱۸/۳۳ ± ۰/۵۷g
		۲۰۰		۰/٦۸۱ ± ۰/۰۵۳g	۲۲/۸۳ ± ۲/۹۲ab
برگ‌پاشی	گواه			۰/۹۵۵ ± ۰/۱۵۳a	۲۱/۰۰ ± ۱/۰۰d
	جنتامایسین	۲۵	mg/L	۰/۷۵۳ ± ۰/۰٦۹e	۱۹/۱٦ ± ۲/۲۵f
		۵۰		۰/۸۲۷ ± ۰/۲۱٤d	۲۱/۳۳ ± ۱/۵۲d
	اکسی‌تتراسایکلین	۱۰۰		۰/۳٤۳ ± ۰/۰۵۷p	۲۰/۰۰ ± ۱/۰۰e
		۲۰۰		۰/۵۱٦ ± ۰/۰۸۳l	۲۱/٦٦ ± ۱/۵۲d
	پنی‌سیلین	۱۰۰		۰/۵۵۵ ± ۰/۰٤۹j	۲۰/٦٦ ± ۳/۲۱de
		۲۰۰		۰/۵٤۰ ± ۰/۰۷۱jk	۲۰/۰۰ ± ۱/۷۳e

میانگین‌های دارای واژه‌های یکسان در هر ستون ناهمانندی چشم‌گیری در پایه آماری یک درصد ندارند.

در تیمار شیوه کاربرد به گونه برگ‌پاشی نیز، کاربرد میزان ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر جنتامایسین و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اکسی‌تتراسایکلین باعث افزایش به‌دنبال هم ۸/۹٤ و ۳۳/۵۲ درصدی در برابر میزان‌های ۲۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آن‌ها شد. به هر گونه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پنی‌سیلین مایه کاهش ۲/۷ درصدی نسبت وزن خشک ریشه به اندام هوایی در برابر کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر شد، اگرچه این کاهش از دیدگاه آماری چشم‌گیر نبود (جدول ۳).

هم‌چنین یافته‌های پژوهش نشان داد که پیامد همه تیمارهای به‌کار رفته و پیامد برهم‌کنش‌های آن‌ها بر درازی ریشه گیاه نخود از دیدگاه آماری چشم‌گیر بود (P<۰/۰۱؛ جدول ۲). آزمون میانگین درازی ریشه در تیمارهای برهم‌کنش شیوه کاربرد و گونه و میزان کاربرد پادزیست نشان داد که کاربرد هر دو میزان پادزیست جنتامایسین مایه کاهش درازی ریشه گیاه نخود در برابر گواه شدند که میزان کاهش در تیمار ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیش‌تر بود. بالاتررفتن میزان کاربرد پادزیست اکسی‌تتراسایکلین نیز باعث کاهش درازی ریشه در برابر گواه شد. به هر گونه کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پادزیست‌های اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین باعث افزایش درازی ریشه به میزان ۰/۸۳ و ۱/۰۰ سانتی‌متر در برابر گواه شد.

در تیمار بذرمال پادزیست، کاربرد پادزیست جنتامایسین در هر دو میزان کاربرد به گونه چشم‌گیری درازی ریشه نخود را کاهش داد که میزان کاهش برای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر جنتامایسین به‌دنبال هم ۵۷/۸ و ٦٤/۰۸ درصد بود. کاهش درازی ریشه در کاربرد پادزیست اکسی‌تتراسایکلین نیز دیده شد که کاهش میزان درازی ریشه برای میزان‌های کاربرد ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در پی هم ۱۹/٥٤ و ۳٥/۹٥ درصد بود. ولی کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر پادزیست پنی‌سیلین به گونه بذرمال باعث افزایش درازی ریشه به میزان ۰/٥۰ سانتی‌متر شد. در کاربرد پادزیست‌ها به شیوه برگ‌پاشی، افزایش میزان کاربرد پادزیست‌های جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین باعث افزایش درازی ریشه در برابر میزان کاربرد پایین‌تر شد، ولی در تیمار پادزیست پنی‌سیلین، درازی ریشه با افزایش میزان کاربرد پنی‌سیلین کاهش یافت، اگرچه این افزایش از دیدگاه آماری چشم‌گیر نبود (جدول ۳).

۳. ۲. نشان تیمارها بر لگاریتم فراوانی همه باکتری‌ها، همه قارچ‌ها و همه باکتری‌های روده‌ای خاک

برپایه یافته‌های تجزیه واریانس داده‌ها، پیامد تیمارهای شیوه کاربرد، گونه پادزیست و هم‌چنین پیامد برهم‌کنش همه تیمارهای به‌کاررفته بر لگاریتم فراوانی همه باکتری‌های خاک از دیدگاه آماری چشم‌گیر بود (جدول ۲؛ P<۰/۰۱). در تیمارهای کاربرد پادزیست در خاک و کاربرد به گونه برگ‌پاشی، آزمون میانگین لگاریتم فراوانی همه باکتری‌های خاک نشان داد که در همه تیمارها افزایش میزان کاربرد پادزیست موجب افزایش لگاریتم فراوانی در برابر تیمار گواه شد. تنها در تیمار میزان بالای پادزیست_جنتامایسین که موجب کاهش فراوانی شمار همه باکتری‌ها در برابر میزان کاربرد ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم شد (جدول ٤). در کاربرد پادزیست به گونه بذرمال، همه تیمارهای گونه پادزیست و میزان کاربرد باعث افزایش فراوانی همه باکتری‌ها در برابر گواه بدون پادزیست شد. هم‌چنین یافته‌ها نشان داد که کاربرد میزان بالاتر پادزیست‌ها در تیمار شیوه کاربرد بذرمال مایه افزایش لگاریتم فراوانی در برابر میزان کم‌تر پادزیست شد. بیش‌ترین میزان لگاریتم فراوانی همه باکتری‌های خاک در کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اکسی‌تتراسایکلین به گونه بذرمال به میزان ۸/۱۹ دیده شد (جدول ٤).

جدول ٤. آزمون میانگین لگاریتم فراوانی همه باکتری‌ها، همه قارچ‌ها و باکتری‌های روده‌ای و نسبت لگاریتم فراوانی همه باکتری‌ها به همه قارچ‌ها در خاک ریشه سپهر گیاه نخود در تیمارهای شیوه کاربرد، گونه پادزیست و میزان به‌کاررفته

شیوه کاربرد	گونه پادزیست	میزان کاربرد		همه باکتری‌ها	همه قارچ‌ها	باکتری‌های روده‌ای	نسبت باکتری به قارچ
				(Log CFU/g soil)			
کاربرد در خاک	گواه			٨/٠٠ ± ٠/٠١٥g	٥/٦٠ ± ٠/٠٩٠d	٦/٩٦ ± ٠/٠٣٥d	١/٤٣ ± ٠/٠٢٦d
	جنتامایسین	٢٥	mg/kg	٨/٠٤ ± ٠/٠١٠f	٥/٥٤ ± ٠/٠٦٤f	٦/٨١ ± ٠/٠٥٢h	١/٤٥ ± ٠/٠١٥c
		٥٠		٧/٩٨ ± ٠/٠٢٦g	٥/٦٧ ± ٠/٠٢٠c	٦/٧٢ ± ٠/٠٧٠i	١/٤١ ± ٠/٠١٠ef
	اکسی‌تتراسایکلین	١٠٠		٨/١٣ ± ٠/٠١٠c	٥/٦٧ ± ٠/٠٢٠c	٦/٨٨ ± ٠/١١٠f	١/٤٣ ± ٠/٠٠٥d
		٢٠٠		٨/٠٥ ± ٠/٠١٥f	٥/٦٢ ± ٠/٠٥٧d	٦/٩٠ ± ٠/٠٧٩e	١/٤٣ ± ٠/٠١١d
	پنی‌سیلین	١٠٠		٨/١٧ ± ٠/٠٠٥b	٥/٦٧ ± ٠/٠٣٠c	٧/٠٤ ± ٠/٠٨٣a	١/٤٤ ± ٠/٠١٠cd
		٢٠٠		٨/١٢ ± ٠/٠١٥c	٥/٤٨ ± ٠/٠٥٥g	٦/٩٩ ± ٠/٠٨٥c	١/٤٨ ± ٠/٠١١ab
بذرمال	گواه			٨/٠١ ± ٠/٠١١f	٥/٤٤ ± ٠/٠٤٦h	٦/٨٧ ± ٠/٠٣٠f	١/٤٧ ± ٠/٠١١b
	جنتامایسین	٢٥	mg/L	٨/٠٤ ± ٠/٠٣٥f	٥/٦١ ± ٠/٠٤٠d	٦/٨٥ ± ٠/٠٧٠g	١/٤٣ ± ٠/٠١٥d
		٥٠		٨/١٤ ± ٠/٠١٧c	٥/٥٦ ± ٠/٠٢٥ef	٦/٨٧ ± ٠/٠٨٠f	١/٤٦ ± ٠/٠٠٥b
	اکسی‌تتراسایکلین	١٠٠		٨/١٢ ± ٠/٠١٠c	٥/٦٢ ± ٠/٠٤٠d	٦/٩١ ± ٠/٠٨٥e	١/٤٤ ± ٠/٠١١cd
		٢٠٠		٨/١٩ ± ٠/٠١٥a	٥/٦٦ ± ٠/٠١١c	٦/٩٩ ± ٠/٠٧٥c	١/٤٤ ± ٠/٠٠٥cd
	پنی‌سیلین	١٠٠		٨/١٦ ± ٠/٠١٠b	٥/٦٣ ± ٠/٠٥١d	٦/٩٨ ± ٠/١٢٠c	١/٤٤ ± ٠/٠١٥cd
		٢٠٠		٨/١٧ ± ٠/٠٢٥b	٥/٤٧ ± ٠/٠٧٧gh	٧/٠٤ ± ٠/٠٦٠a	١/٤٩ ± ٠/٠٢٣a
برگ پاشی	گواه			٨/٠٠ ± ٠/٠٢٦g	٥/٥٩ ± ٠/٠٥٥d	٦/٩٠ ± ٠/٠٣٠e	١/٤٣ ± ٠/٠١٠d
	جنتامایسین	٢٥	mg/L	٨/١٠ ± ٠/٠١٠d	٥/٧٦ ± ٠/٠٧٥a	٦/٨٥ ± ٠/١٣٦g	١/٤٠ ± ٠/٠١٥ef
		٥٠		٧/٩١ ± ٠/٠٤١h	٥/٦٩ ± ٠/٠٢٠b	٦/٧٢ ± ٠/٠٨١i	١/٣٩ ± ٠/٠١٠ef
	اکسی‌تتراسایکلین	١٠٠		٨/٠٧ ± ٠/٠٣٠e	٥/٧٨ ± ٠/٠٤٧a	٦/٩١ ± ٠/٠٦٦e	١/٣٩ ± ٠/٠١٥ef
		٢٠٠		٨/٠٩ ± ٠/٠٢٠d	٥/٥٨ ± ٠/٠٤٠e	٦/٩١ ± ٠/٠٨٠e	١/٤٥ ± ٠/٠١٠c
	پنی‌سیلین	١٠٠		٨/١٣ ± ٠/٠١٠c	٥/٧٠ ± ٠/٠٤١b	٧/٠٢ ± ٠/٠٦١b	١/٤٢ ± ٠/٠١١de
		٢٠٠		٨/١٠ ± ٠/٠٣٦d	٥/٤٦ ± ٠/٠٣٥h	٦/٨١ ± ٠/٠٢٦h	١/٤٨ ± ٠/٠١٥ab

میانگین‌های دارای واژه‌های یکسان در هر ستون ناهمانندی چشم‌گیری در پایه آماری یک درصد ندارند.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد پس از دوره زمانی ٦٠ روز کشت گلخانه‌ای، تیمارهای شیوه کاربرد، گونه پادزیست و برهم‌کنش شیوه کاربرد و گونه پادزیست پیامد چشم‌گیری بر لگاریتم فراوانی همه قارچ‌های خاک و نسبت باکتری‌ها به قارچ‌ها داشتند (P<٠/٠١؛ جدول ٢). یافته‌های آزمون میانگین نشان داد که کاربرد میزان‌های بالای پادزیست‌های اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین در خاک مایه کاهش لگاریتم فراوانی قارچ‌ها در خاک پیرامون ریشه در برابر میزان کاربرد پایین آن‌ها شد، ولی ٥٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین در خاک لگاریتم فراوانی قارچ‌های خاک را در برابر ٢٥ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش داد. کاربرد پادزیست اکسی‌تتراسایکلین

به گونه بذرمال روندی همانند با جنتامایسین در کاربرد در خاک داشت و افزایش میزان کاربرد این پادزیست باعث افزایش لگاریتم فراوانی قارچ‌های خاک پیرامون ریشه شد، ولی دو پادزیست دیگر فراوانی قارچ‌های خاک را کاهش دادند (جدول ٤).

در تیمارهای برگ‌پاشی پادزیست‌ها، هر سه پادزیست در میزان‌های بالا مایه کاهش لگاریتم فراوانی قارچ‌ها در برابر میزان پایین کاربرد شدند که میزان کاهش برای پادزیست‌های جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین به‌دنبال هم ١/٢١، ٣/٤٦ و ٤/٢١ درصد بود (جدول ٤). هم‌چنین یافته‌های گزارش‌شده در جدول (٤) نشان داد که بیش‌ترین میزان نسبت باکتری به قارچ در همه تیمارهای شیوه کاربرد پادزیست در تیمار ٢٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم/ لیتر پنی‌سیلین دیده شد (<١/٤٨) و پادزیست جنتامایسین ٥٠ میلی‌گرم بر لیتر در تیمار برگ‌پاشی دارای کم‌ترین میزان نسبت باکتری به قارچ (١/٣٩) در خاک پیرامون ریشه بود (جدول ٤).

پیامد تیمارهای شیوه کاربرد و گونه پادزیست بر لگاریتم فراوانی همه باکتری‌های روده‌ای خاک از دیدگاه آماری چشم‌گیر بود و برهم‌کنش تیمارهای به‌کاررفته نیز پیامد چشم‌گیری بر لگاریتم فراوانی همه باکتری‌های روده‌ای خاک داشتند (P<٠/٠١؛ جدول ٢). کاربرد میزان بالای پادزیست اکسی‌تتراسایکلین در خاک لگاریتم فراوانی همه باکتری‌های روده‌ای خاک را در برابر میزان ١٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش داد. این در حالی است که افزایش میزان کاربرد پادزیست‌های جنتامایسین و پنی‌سیلین در خاک باعث کاهش لگاریتم فراوانی این گروه میکروبی در خاک شد و جنتامایسین در میزان کاربرد ٢٠٠ میلی‌گرم بر کیلوگرم در شیوه‌های کاربرد در خاک باعث کاهش ١١/٣٢ درصدی لگاریتم فراوانی همه باکتری‌های روده‌ای در خاک شد. در این تیمار شیوه کاربرد پادزیست، فراوانی باکتری‌های روده‌ای در هر دو میزان کاربرد پادزیست‌های جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین، کم‌تر از تیمار گواه بود (جدول ٤). در تیمارهای کاربرد پادزیست‌ها به گونه بذرمال، در برابر تیمارهای کاربرد در خاک، کاربرد ٢٠٠ میلی‌گرم بر لیتر پادزیست‌های اکسی‌تتراسایکلین و جنتامایسین، باعث افزایش لگاریتم فراوانی همه باکتری‌های روده‌ای خاک شد که میزان جمعیت این گروه میکروبی در تیمارهای اکسی‌تتراسایکلین بیش‌تر از تیمار گواه بود. با وجود این‌که میزان جمعیت باکتری‌های روده‌ای در تیمار کاربرد پادزیست پنی‌سیلین به گونه بذرمال بزرگ‌تر از گواه بود، ولی افزایش میزان کاربرد آن مایه کاهش جمعیت این باکتری‌ها در خاک پیرامون ریشه شد (جدول ٤).

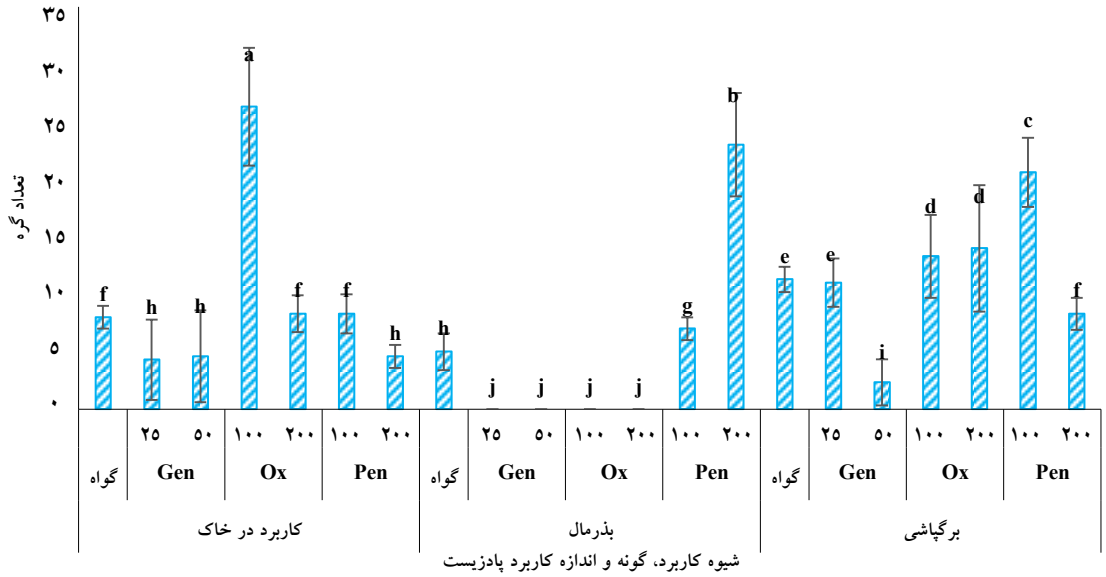
در تیمار کاربرد پادزیست‌ها به گونه برگ‌پاشی نیز، کاربرد ٥٠ میلی‌گرم بر لیتر جنتامایسین و ٢٠٠ میلی‌گرم بر لیتر پنی‌سیلین مایه کاهش به‌دنبال هم ١/٩ و ٣ درصدی لگاریتم فراوانی باکتری‌های روده‌ای خاک ریشه سپهر گیاه نخود در برابر ٢٥ و ١٠٠ میلی‌گرم بر لیتر جنتامایسین و پنی‌سیلین شد و کاربرد میزان بالاتر اکسی‌تتراسایکلین به گونه برگ‌پاشی پیامد چشم‌گیری بر شمار جمعیت باکتری های روده‌ای خاک نداشت. در این تیمار شیوه کاربرد، لگاریتم فراوانی جمعیت در تیمارهای جنتامایسین و ٢٠٠ میلی‌گرم بر لیتر پنی‌سیلین کم‌تر از تیمار گواه بود (جدول ٤).

٣. ٣. نشان تیمارها بر شمار گره ریشه

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد پس از دوره زمانی ٦٠ روز کشت گلخانه‌ای و ارزیابی ریشه گیاه نخود، تیمارهای شیوه کاربرد (P<٠/٠٥) و برهم‌کنش آن با تیمارهای گونه پادزیست (P<٠/٠١) پیامد چشم‌گیری بر شمار گره ریشه نخود داشتند و پیامد تیمارهای گونه و میزان کاربرد پادزیست به تنهایی از دیدگاه آماری چشم‌گیر نبود (جدول ٢). یافته-

های آزمون میانگین نشان داد که کم‌ترین شمار گره‌های ریزوبیومی ریشه گیاه نخود در تیمارهای شیوه کاربرد بذرمال و بیش‌ترین آن در تیمارهای کاربرد پادزیست به گونه برگ‌پاشی به‌دست آمد.

در تیمارهای کاربرد پادزیست در خاک، ناهمانندی چشم‌گیری میان تیمارهای ۲۵ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم برگ‌پاشی وجود نداشت و این دو تیمار باعث کاهش چشم‌گیر شمار گره در ریشه گیاه در برابر گواه آزمایش شدند. بیش‌ترین شمار گره (۲۶ گره بر گلدان) در ریشه در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اکسی‌تتراسایکلین دیده شد و افزایش میزان کاربرد پادزیست در خاک به ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش ۶۹/۲۳ درصدی شمار گره ریشه بر گلدان گردید. جای شگفتی است که شمار گره ریشه در کاربرد پنی‌سیلین در خاک اندک بود و افزایش میزان کاربرد آن در خاک مایه کاهش ۵۰ درصدی شمار گره در ریشه شد. کاربرد پادزیست‌های جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین به گونه بذرمال مایه به صفررسیدن شمار گره‌های ریشه در این تیمارها شدند، ولی کاربرد پادزیست پنی‌سیلین به شیوه بذرمال پیامدی مانند آن‌ها نداشت و در میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیش‌ترین شمار گره ریشه (۲۳ گره بر گلدان) را به‌دست داد. در کاربرد پادزیست‌ها به شیوه برگ‌پاشی، افزایش میزان کاربرد پادزیست‌های جنتامایسین و پنی‌سیلین شمار گره ریشه نخود را در برابر میزان پایین آن‌ها (۲۵ میلی‌گرم بر لیتر برای جنتامایسین و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برای پنی‌سیلین) به‌دنبال هم به‌میزان ۷۸/۸ و ۵۹/۷ درصد کاهش داد و ناهمانندی چشم‌گیری میان میزان‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اکسی‌تتراسایکلین و میان تیمارهای ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر جنتامایسین و گواه در کاربرد پادزیست به گونه برگ‌پاشی دیده نشد (شکل ۳).



شکل ۳. آزمون میانگین شمار گره ریزوبیومی ریشه گیاه نخود در تیمارهای شیوه کاربرد، گونه پادزیست و میزان به‌کاررفته آن در خاک. در شکل Gen: جنتامایسین، Ox: اکسی تتراسایکلین و Pen: پنی‌سیلین و میزان‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ نشان‌دهنده میزان‌های کاربرد ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک یا در لیتر است. میانگین‌های دارای واژه‌های یکسان در هر ستون ناهمانندی چشم‌گیری در پایه آماری یک درصد ندارند.

٤. بحث

یافته‌های پژوهش نشان داد که کاربرد پنی‌سیلین کم‌ترین پیامد بد بر شناسه‌های رشدی بررسی شده در گیاه نخود در کشت گلخانه‌ای داشت و بیش‌ترین پیامد بد نیز در پادزیست جنتامایسین دیده شد. Batchelder (1982) افزایش رشد ترب و گندم در تیمار کلرتتراسایکلین و اکسی‌تتراسایکلین را نشان داد ولی این پادزیست‌ها پیامدی بر رشد ذرت نداشتند. به هر گونه بخشی از پیامد سودمند پادزیست‌ها در گیاه می‌تواند وابسته به مهار بیماریزاها و کاهش پیامد بد آن‌ها بر گیاه باشد. نشان داده شده که کلرتتراسایکلین به گونه چشم‌گیری کارکرد آنزیم یا پروتئین تنش گیاهی گلوتاتیون S–ترانسفراز و پراکسیدازها در گیاهان ذرت را افزایش می‌دهند (Farkas *et al*., 2007).

انباشتگی زیستی پادزیست‌ها در گیاهان و پاسخ گیاهان به کاربرد پادزیست‌ها می‌تواند بسته به گونه گیاه و دسته پادزیست، گوناگون باشد (Chowdhury *et al*., 2015; Pan & Chu, 2016). یونیزاسیون و هم‌چنین ویژگی‌های جذبی و حلالیت پادزیست‌ها در آب می‌توانند بر جذب آن‌ها در گیاه پیامد داشته باشند (Herklotz *et al*., 2010; Zhang *et al*., 2017). Liu *et al*. (2009) در کاربرد تتراسایکین در گیاه برنج به میزان ٦٩ میلی‌گرم بر لیتر، در گیاه بادرنگ[1] به‌میزان ۲۰۳ میلی‌گرم بر لیتر و در گیاه کاسنی‌فرنگی[2] به میزان ۵۷ میلی‌گرم بر لیتر کاهش رشد ریشه را تا ۵۰ درصد گزارش نمودند. Migliore *et al*. (2010) دگرش چشم‌گیر رشد ریشه حتی در میزان‌های ۵ میلی‌گرم بر لیتر انروفلاکساسین در چهار گیاه کشاورزی را نشان دادند. Minden *et al*. (2017) نیز نشان دادند که پادزیست‌ها در میزان‌های همانند با میزان‌هایی که در خاک‌های کشاورزی یافت می‌شوند، پیامدهای چشم‌گیری بر جوانه‌زنی، شناسه‌های رشدی و کارکردی چهار گونه گیاهی گوناگون داشتند. پیامدهای بازدارنده جوانه‌زنی و رشد گیاه با پادزیست‌ها را دیگر پژوهش‌گران مانند Pan & Chu (2016) و Ziolkowska *et al*. (2015) نیز گزارش کرده‌اند. Griffin *et al*. (2016) نشان دادند که پیامد پادزیست‌های گسترده کارکرد[3] وابسته به گیاه میزبان است و به گونه چشم‌گیری رشد جوانه‌های سه تا پنج گونه از گیاهان را کاهش داد (٤٩–٣٦ درصد). Norman (1995) پیامد بازدارنده ۱۰–۵ میلی‌گرم بر لیتر اکسی‌تتراسایکلین در محلول را بر رشد ریشه چندین گیاه کشاورزی گزارش کرد. پیامدهای بازدارنده کم‌تر تتراسایکلین‌ها در خاک نسبت به محلول‌پاشی می‌توانند به جذب آن‌ها بر دانه‌های آلی و کانی خاک (رس و ماده آلی) نسبت داد (Pils & Laird, 2007; Liu *et al*., 2009).

در این پژوهش بیش‌ترین میزان شناسه‌های رشدی در تیمارهای کاربرد در خاک و سپس در تیمارهای کاربرد به گونه برگ‌پاشی به‌دست آمد و کم‌ترین میزان این شناسه‌ها در تیمارهای کاربرد پادزیست به گونه بذرمال دیده شد. این نشان از پیامد بد آن‌ها بر گیاه دارد. Timmerer *et al*. (2020) زهری‌بودن پادزیست‌ها را برای ریشه و کاهش رشد آن را تنها در میزان‌های کاربرد بالا را گزارش کردند. Teixidó *et al*. (2012) جذب رویه‌ای پادزیست‌ها بر دانه‌های کانی و آلی خاک را کاهش دهنده پیامد بد پادزیست‌ها بر گیاه در هنگام کاربرد آن‌ها در خاک گزارش کردند. Pan & Chu (2016) نبود پیامد بازدارنده پادزیست‌ها بر جوانه‌زنی، ولی کاهش درازی ریشه با افزایش میزان پادزیست‌ها را گزارش نمودند. آن‌ها پوسته بذر را سد میان جنین و پیرامون دانسته، که از فرورفتن پادزیست در تیمار بذرمال به دانه و از پیامد بد آن بر جنین جلوگیری می‌کند. به هر گونه ریشه‌های گیاه

1. *Cucumis sativus* L.
2. *Cichorium endivia* L.
3. Broad-spectrum antibiotics

پس از جوانه‌زنی، پادزیست‌ها را جذب می‌کند که می‌تواند بر رشد گیاه نشانه‌گذار باشند (Minden *et al*., 2017). گذشته از آن، رفتار پیچیده پادزیست‌ها بستگی به ویژگی خاک و زیستگاه گیاه مانند pH، آمیزه‌های آلی و کانی (محلول و دانه‌ای در خاک) دارد که هر یک بر ویژگی‌های پادزیست‌ها مانند کارایی، زهری‌بودن یا رفتار جذبی آن‌ها پیامد چشم‌گیری دارد (Kummerer, 2009; Carvalho *et al*., 2014).

هنوز روشن نشده است که پادزیست‌ها چگونه نشانه بد خود را بر گیاهان می‌گذارند. آن‌ها به گونه یک راست از راه جذب یا به گونه ناراست از راه پیامدهای بد بر ریزجانداران سودمند خاک (Carvalho *et al*., 2014; Pufal *et al*., 2019) می‌توانند باعث کاهش رشد گیاه شوند. پس گذشته از خود گیاه گاهی کاهش رشد گیاه در تیمارهای پادزیست می‌تواند وابسته به پیامد بد این پادزیست‌ها بر فراوانی ریزجانداران سودمند خاک باشد (Yang *et al*., 2009; Minden *et al*., 2017). آن‌ها می‌توانند بر فراوانی و کارکرد ریزجانداران افزاینده رشد گیاه (PGPRs)[1] نشان بد بگذارند.

در این پژوهش پس از ٦٠ روز از کاربرد پادزیست‌ها، به‌طورکلی فراوانی باکتری‌ها و قارچ‌های کشت‌شدنی خاک افزایش یافت و بیش‌ترین شمار همه باکتری‌ها و باکتری‌های روده‌ای در تیمارهای پادزیست اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین و بیش‌ترین شمار قارچ‌ها در تیمارهای پادزیست جنتامایسین دیده شد. به هر گونه، نشان پادزیست‌ها بر فراوانی باکتری‌های خاک (Rashtbari & Safari Sinegani, 2020a) و کارکرد ریزجانداران خاک (Rashtbari & Safari Sinegani, 2020b) به‌ویژه در روزهای آغازین تیمار آن‌ها بد و زیانبار است. Younessi *et al*. (2017) در بررسی پایداری پازیستی باکتری‌های کشت شدنی خاک گزارش کردند که ناکارآمدی پادزیست‌های بتالاکتامی (پنی‌سیلین‌ها و آموکسی‌سیلین‌ها) بر باکتری‌های جداشده از خاک وابسته به ژن بتالاکتاماز و کارایی این آنزیم در شکستن حلقه بتالاکتام این پادزیست‌ها است. Younessi *et al*. (2019) در بررسی برخی از ژن‌های پایداری پادزیستی (*blaTEM*, *vanA*, *tetB*, *strA*, & *aac* (3)-II) در باکتری‌های خاک گزارش کردند که فراوانی جدایه‌های دارای ژن بتالاکتاماز بیش‌ترین است. بنابراین شاید افزایش فراوانی باکتری‌ها و رشد بهتر گیاه در کاربرد پنی‌سیلین به پایداری پادزیستی باکتری‌های سودمند خاک وابسته باشد.

نخستین‌بار Halleck & Coehane (1950) پیامد برگ‌پاشی زهرها را بر میکروفلور ریزوسفر گیاه بررسی نمودند. آن‌ها دگرش اندکی در ریزجانداران ریزوسفری در پی کاربرد قارچ‌کش‌ها در بخش‌های هوایی گیاهان را گزارش دادند. آن‌ها دریافتند که برگ‌پاشی می‌تواند برای مهار میکروفلور ریزوسفر یا برای ارزیابی تراوش‌های ریشه‌ای به‌کار گرفته شود. پیامد مواد بهره‌گیری‌شده به گونه برگ‌پاشی بر میکروفلور ریزوسفر می‌تواند هم وابسته به پیامد آن بر سوخت و ساز گیاهی و هم پیامد یک راست آن‌ها پس از رهاسازی از ریشه باشد (Vraný *et al*., 1962). بازدارندگی از کارکرد ریزجانداران خاک و ساخت زیست‌توده گیاهی را Wei *et al*. (2009) در آزمایش گلدانی با تتراسایکلین و علف چاودار[2] گزارش کرد. Vraný *et al*. (1962) گزارش کردند که کاربرد کلرامفنیکل در برگ‌های گندم میزان تراوش اسیدهای آمینه و قندها از ریشه ها را افزایش داد که باعث فراوانی کم‌تر باکتری‌ها و فراوانی بیش‌تر قارچ‌ها در ریزوسفر شد. Ramarao & Isaac (1980) افزایش شمار قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها در ریزوسفر و کاهش شمار باکتریایی را

1. Plant Growth Promoting Rhizobacteria

2. *Lolium perenne*

گزارش نمودند. Yang *et al.* (2010) نیز افزایش شمار قارچ‌ها و کاهش میزان باکتری‌ها در تیمار تتراسایکلین را گزارش دادند. در این پژوهش هم‌راستا با پژوهش‌های یادشده در شیوه کاربرد برگ‌پاشی جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین در برابر شیوه‌های دیگر کم‌ترین نسبت فراوانی باکتری به قارچ به‌دست آمد.

بیش‌ترین شمار گره ریشه در تیمارهای کاربرد در خاک و به گونه برگ‌پاشی دیده شد و در تیمار بذرمال، تیمارهای پادزیست‌های جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین بدون هیچ‌گونه گره در ریشه گیاه نخود بودند. دو پاسخ گیاه میزبان بر شمار گره بر ریشه آن پیامد بد دارد. یکم از راه سازوکار ساخت اتیلن است (Penmesta *et al.*, 2008) که شمار آلودگی‌های ریزوبیومی را کم می‌کند و دوم از راه پپتیدهای پیام‌رسانی وابسته به نیترات است (Reid *et al.*, 2013). گذشته از گیاه هم‌زیست، فراوانی و کارکرد ریزوبیوم‌ها می‌تواند بر گره‌زایی پیامد ویژه‌ای داشته باشد. پیامد بد پادزیست‌ها بر کارکردهای گره‌زایی ریشه‌ها را Ji *et al.* (2012) نیز گزارش داده‌اند. Nahar *et al.* (2017) نشان دادند که پادزیست‌های به‌کاررفته برای ریزوبیوم‌های پاسخ‌دهنده خاک کشنده است و پایداری و شمار سویه‌های ریزوبیومی در خاک در پی کاربرد پادزیست‌ها کاهش می‌یابد که به کاهش تثبیت نیتروژن می‌انجامد. Mihaylova *et al.* (2014) گزارش دادند که سویه‌های ریزوبیوم به پادزیست‌های جنتامایسین و پلی‌میکسین B پاسخ‌دهنده بوده ولی این سویه‌ها پایداری بالاتری در برابر پادزیست‌های بتالاکتام داشتند که با یافته‌های این پژوهش هم‌خوانی دارد. Saïdi *et al.* (2014) نیز پایداری سویه‌های ریزوبیوم به پادزیست‌های پنی‌سیلین و آمپی‌سیلین را گزارش نمودند. Nahar *et al.* (2017) نیز پایداری ۱۰۰ درصدی سویه‌های ریزوبیومی جداسازی شده از ریشه گیاه را گزارش نمودند و دیدند که این جدایه‌ها دارای آنزیم بتالاکتاماز می‌توانند باشند که در برابر پادزیست‌های پنی‌سیلین پایداری دارند. Safari Sinegani & Younessi (2017) در بررسی پایداری پادزیستی باکتری‌های خاک‌های آلوده به فلزهای سنگین گزارش کردند که باکتری‌های خاکزی بیش‌ترین پایداری را برابر بتالاکتام‌ها و کم‌ترین پایداری را در برابر جنتامایسین داشته‌اند. Arora *et al.* (2018) پاسخ بالای ۸۰ درصدی جدایه‌های توانمند در ایجاد گره در ریشه‌های ریزوبیومی به پادزیست‌های جنتامایسین را گزارش دادند. در این پژوهش همسو با آن‌ها گره‌زایی ریشه نخود کم‌ترین آسیب را در برابر پنی‌سیلین داشت به‌ویژه هنگامی‌که در خاک به‌کار برده شده بودند، پیامد بد پازیست‌ها بر آن‌ها کم‌تر نمایان شد. بیش‌ترین پیامد بد در کاربرد اکسی‌تتراسایکلین و به‌ویژه جنتامایسین در شیوه بذرمال دیده شد.

۵. نتیجه‌گیری

برپایه یافته‌های گزارش کاربرد پادزیست‌ها به گونه بذرمال بیش‌ترین پیامد بد بر شناسه‌های رشدی گیاه نخود و هم‌چنین شمار گره‌های ریزوبیومی در ریشه گیاه داشت و در میان پادزیست‌ها، جنتامایسین بدترین پیامد را بر این شناسه‌ها داشت. افزایش میزان پادزیست برای پادزیست‌های پنی‌سیلین و اکسی‌تتراسایکلین باعث افزایش شناسه‌های رشدی شد، ولی در پادزیست جنتامایسین مایه کاهش این شناسه‌ها شد. یافته‌ها نشان داد کاربرد پادزیست‌های جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین در میزان‌های بالا بیش‌ترین پیامد بد را فراسنجه‌های رشدی و به‌ویژه هم‌زیستی ریزوبیومی داشت و پس از آن کاربرد پادزیست در خاک و در پایان کاربرد به گونه برگ‌پاشی قرار داشت و پادزیست پنی‌سیلین در همه میزان‌ها و شیوه کاربرد پیامد اندکی بر ویژگی‌های گیاهی میزان‌گیری‌شده داشت. پیامد کوچک‌تر

پادزیست‌های پنی‌سیلین و اکسی‌تتراسایکلین می‌تواند به فراوانی بالاتر ژن‌های پایداری و سویه‌های پایدار در برابر این پادزیست‌ها در خاک و هم‌چنین رفتار جذبی این پادزیست‌ها در خاک و یا واکنش‌های ویژه آن در گیاه وابسته باشد. به‌طورکلی، کاربرد پادزیست‌ها در خاک پس از گذشت ۶۰ روز باعث افزایش فراوانی ریزجانداران سودمند در خاک و بهبود شناسه‌های رشدی گیاه نخود شدند که می‌تواند وابسته به پیامد بد بیماری‌زاها بر گیاه نیز باشد و این نیاز به بررسی ویژه‌ای دارد.

۵. تشکر و قدردانی

از دانشگاه بوعلی‌سینا برای فراهم‌کردن هزینه‌های پژوهش و از زحمات و یاری سرکار خانم عشرتی در انجام آزمایش‌ها، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۶. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع

Agency, E. M. (2017). Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2015. Trends from 2010 to 2015 .

Ansari, F. (2001). Use of systemic anti-infective agents in Iran during 1997-1998. *Eurasian Journal of Clinical Pharmacology*, *57*(6-7), 547-551. doi:10.1007/s002280100351

Arora, N. K., Khare, E., Singh, S., & Tewari, S. (2018). Phenetic, genetic diversity and symbiotic compatibility of rhizobial strains nodulating pigeon pea in Northern India. *Biotechnology*, *8*(1), 52-58. doi:10.1007/s13205-017-1074-1

Bassil, R. J., Bashour, I. I., Sleiman, F. T., & Abou-Jawdeh, Y. A. (2013). Antibiotic uptake by plants from manure-amended soils. *Journal of Environmental Science and Health B*, *48*(7), 570-574. doi:10.1080/03601234.2013.774898

Batchelder, A. R. (1982). Chlortetracycline and Oxytetracycline Effects on Plant Growth and Development in Soil Systems. *Journal of environmental quality*, *11*(4), 675-678. doi:10.2134/jeq1982.00472425001100040023x

Carvalho, P. N., Basto, M. C., Almeida, C. M., & Brix, H. (2014). A review of plant-pharmaceutical interactions: from uptake and effects in crop plants to phytoremediation in constructed wetlands. *Environmental Science and Pollutant Research International*, *21*(20), 11729-11763. doi:10.1007/s11356-014-2550-3

Chowdhury, F., Langenkämper, G., & Grote, M. (2015). Studies on uptake and distribution of antibiotics in red cabbage. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 11. doi:10.1007/s00003-015-1008-y

Farkas, M. H., Berry, J. O., & Aga, D. S. (2007). Chlortetracycline detoxification in maize via induction of glutathione S-transferases after antibiotic exposure. *Environmental Science and Technology*, *41*(4), 1450-1456. doi:10.1021/es061651j

Griffin, E. A., Traw, M. B., Morin, P. J., Pruitt, J. N., Wright, S. J., & Carson, W. P. (2016). Foliar bacteria and soil fertility mediate seedling performance: a new and cryptic dimension of niche differentiation. *Ecology*, *97*(11), 2998-3008. doi:10.1002/ecy.1537

Grote, M., Schwake-Anduschus, C., Michel, R., Stevens, H., Heyser, W., Lan-Genkämper, G., Freitag, M. (2007). Incorporation of veterinary antibiotics into crops from manured soil. *Freitag / Landbauforschung Völkenrode*, *1*, 25-32 .

Halleck, F. E., & Coehrane, V. W. (1950). The effect of fungistatic agents on the bacterial flora in the rhizosphere. *Phytopathology*, *40*, 715-720 .

Herklotz, P. A., Gurung, P., Vanden Heuvel, B., & Kinney, C. A. (2010). Uptake of human pharmaceuticals by plants grown under hydroponic conditions. *Chemosphere*, *78*(11), 1416-1421. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.12.048

Ji, X., Shen, Q., Liu, F., Ma, J., Xu, G., Wang, Y., & Wu, M. (2012). Antibiotic resistance gene abundances associated with antibiotics and heavy metals in animal manures and agricultural soils adjacent to feedlots in Shanghai; China. *Journal of Hazardous Materials*, *235-236*, 178-185. doi:https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.040

Kirchhelle, C. (2018). Pharming animals: a global history of antibiotics in food production (1935–2017). *Palgrave Communications*, *4*(1), 96-110. doi:10.1057/s41599-018-0152-2

Kong, W., Li, C., Dolhi, J. M., Li, S., He, J., & Qiao, M. (2012). Characteristics of oxytetracycline sorption and potential bioavailability in soils with various physical–chemical properties. *Chemosphere*, *87*(5), 542-548. doi:https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.062

Kumar, K., Gupta, S., Chander, Y., & Singh, A. (2005). Antibiotic Use in Agriculture and Its Impact on the Terrestrial Environment. *Advances in Agronomy*, 87, 1-54. doi:10.1016/S0065-2113(05)87001-4

Kümmerer, K. (2009). Antibiotics in the aquatic environment– A review– Part I. *Chemosphere*, *75*(4), 417-434. doi:https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086

Lancashire, P. D., Bleiholder, H., Van Den Boom, T., Langeluddeke, P., Stauss, R., Weber, E., & Witzenberger, A. (1991). A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Annals in Applied Biology*, *119*, 561-601.

Li, Z. J., Xie, X. Y., Zhang, S. Q., & Liang, Y. C. (2011). Wheat Growth and Photosynthesis as Affected by Oxytetracycline as a Soil Contaminant. *Pedosphere*, *21*(2), 244-250. doi:https://doi.org/10.1016/S1002-0160(11)60124-0

Liu, F., Ying, G. G., Tao, R., Zhao, J. L., Yang, J. F., & Zhao, L. F. (2009). Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities. *Environmental Pollution*, *157*(5), 1636-1642. doi:https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.12.021

Liu, L., Liu, Y. H., Liu, C. X., Wang, Z., Dong, J., Zhu, G. F., & Huang, X. (2013). Potential effect and accumulation of veterinary antibiotics in Phragmites australis under hydroponic conditions. *Ecological Engineering*, *53*, 138-143. doi:https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.12.033

Martínez-Carballo, E., González-Barreiro, C., Scharf, S., & Gans, O. (2007). Environmental monitoring study of selected veterinary antibiotics in animal manure and soils in Austria. *Environmental Pollution*, *148*(2), 570-579. doi:https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.11.035

Michelini, L., Meggio, F., La Rocca, N., Ferro, S., & Ghisi, R. (2012). Accumulation and effects of sulfadimethoxine in Salix fragilis L. plants: a preliminary study to phytoremediation purposes. *International Journal of Phytoremediation*, *14*(4), 388-402. doi:10.1080/15226514.2011.620654

Migliore, L., Rotini, A., Cerioli, N. L., Cozzolino, S., & Fiori, M. (2010). Phytotoxic antibiotic sulfadimethoxine elicits a complex hormetic response in the weed *lythrum salicaria* L. Dose-response. *International Hormesis Society*, *8*(4), 414-427. doi:10.2203/dose-response.09-033.Migliore

Mihaylova, S., Genov, N., & Moore, E. (2014). Susceptibility of Environmental Strains of Rhizobium radiobacter to Antimicrobial Agents. *World Applied Sciences Journal*, *31*, 859-862. doi:10.5829/idosi.wasj.2014.31.05.1851

Minden, V., Deloy, A., Volkert, A. M., Leonhardt, S. D., & Pufal, G. (2017). Antibiotics impact plant traits, even at small concentrations. *AoB Plants*, *9*(2), plx010-plx021. doi:10.1093/aobpla/plx010

Nahar, N., Rashid, R., Begum, A., & Akhter, H. (2017). African Journal of Agricultural Research Isolation, identification and molecular characterization of Rhizobium species from Sesbania bispinosa cultivated in Bangladesh. *African Journal of Agricultural Research*, *12*, 1874-1880. doi:10.5897/AJAR2017.12321

Norman, A. G. (1995). Terramycin and plant growth. *Agronomy Journal*, *47*, 585-587 .

Pan, M., & Chu, L. M. (2016). Phytotoxicity of veterinary antibiotics to seed germination and root elongation of crops. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *126*, 228-237. doi:10.1016/j.ecoenv.2015.12.027

Penmetsa, R. V., Uribe, P., Anderson, J., Lichtenzveig, J., Gish, J. C., Nam, Y. W., Cook, D. R. (2008). The Medicago truncatula ortholog of Arabidopsis EIN2, sickle, is a negative regulator of symbiotic and pathogenic microbial associations. *Plant Journal*, *55*(4), 580-595. doi:10.1111/j.1365-313X.2008.03531.x

Pils, J. R. V., & Laird, D. A. (2007). Sorption of Tetracycline and Chlortetracycline on K- and Ca-Saturated Soil Clays, Humic Substances, and Clay−Humic Complexes. *Environmental Science & Technology*, *41*(6), 1928-1933. doi:10.1021/es062316y

Pufal, G., Memmert, J., Leonhardt, S. D., & Minden, V. (2019). Negative bottom-up effects of sulfadiazine, but not penicillin and tetracycline, in soil substitute on plants and higher trophic levels. *Environmental Pollution*, *245*, 531-544. doi:10.1016/j.envpol.2018.11.008

Ramarao, P., & Isaac, I. (1980). Effect of foliar application of antibiotics and gibberellic acid on the rhizosphere microflora of pea, infected withVerticillium dahliae. *Folia Microbiologica*, *25*(4), 337-340. doi:10.1007/BF02876616

Rashtbari, M., & Safari Sinegani, A. A. (2020b). Resistance and Resilience of Total Fungi and Native Bacteria in Soils Treated by Organic and Mineral Conditioners against Antibiotics. *Journal of Soil Biology*, *8*(1), 73-88. (In Persian)

Rashtbari, M. & Safari Sinegani, A. A. (2020b). Efficiency of Soil Extracellular Enzymes

(Phosphatase and Urease) in Soils Treated by Organic and Mineral Conditioners Against Widely Used Veterinary Antibiotics (gentamicin, oxytetracycline and penicillin). *Journl of Soil Management and Sustainable Production*, *10*(3), 1-26. (In Persian)

Reid, D. E., Li, D., Ferguson, B. J., & Gresshoff, P. M. (2013). Structure-function analysis of the GmRIC1 signal peptide and CLE domain required for nodulation control in soybean. *Journal of Experimental Botany*, *64*(6), 1575-1585. doi:10.1093/jxb/ert008

Safari Sinegani, A. A., Sharifi, Z., & Safari Sinegani, M. (2010). *Applied methods in microbiology*. Bu Ali Sina University Press, pp 562. (In Persian)

Safari Sinegani, A. A., & Younessi, N. (2017). Antibiotic resistance of bacteria isolated from heavy metal-polluted soils with different land uses. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *10*, 247-255. doi:https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.05.012

Saïdi, S., Ramírez-Bahena, M. H., Santillana, N., Zúñiga, D., Álvarez-Martínez, E., Peix, A., & Velázquez, E. (2014). Rhizobium laguerreae sp. nov. nodulates Vicia faba on several continents. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *64*(Pt_1), 242-247. doi:https://doi.org/10.1099/ijs.0.052191-0

Sparks, D. L., Page, A. L., Helmke, P. A., & Leoppert, R. H. (1996). Methods of Soil Analysis Part 3-Chemical Methods (D. L. Sparks, A. L. Page, P. A. Helmke, & R. H. Loeppert Eds.). Madison, WI: Soil Science Society of America, American Society of Agronomy.

Teixidó, M., Granados, M., Prat, M. D., & Beltrán, J. L. (2012). Sorption of tetracyclines onto natural soils: data analysis and prediction. *Environmental Science and Pollution Research*, *19*(8), 3087-3095. doi:10.1007/s11356-012-0954-5

Thiele-Bruhn, S., & Beck, I.-C. (2005). Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass. *Chemosphere*, *59*(4), 457-465. doi:https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.01.023

Timmerer, U., Lehmann, L., Schnug, E., & Bloem, E. (2020). Toxic Effects of Single Antibiotics and Antibiotics in Combination on Germination and Growth of *Sinapis alba* L. *Plants (Basel)*, *9*(1). doi:10.3390/plants9010107

Vraný, J., Vančura, V., & Macura, J. (1962). The effect of Foliar application of some readily metabolized substances, growth regulators and antibiotics on Rhizosphere microflora. *Folia Microbiologica*, *7*(1), 61-69. doi:10.1007/BF02926332

Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of the method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, *37*(1), 29-38 .

Wei, X., Wu, S., Nie, X., Yediler, A., & Wong, M. (2009). The effects of residual tetracycline on soil enzymatic activities and plant growth. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes*, *44*, 461-471. doi:10.1080/03601230902935139

Yang, J. F., Ying, G. G., Zhou, L. J., Liu, S., & Zhao, J. L. (2009). Dissipation of oxytetracycline in soils under different redox conditions. *Environmental Pollution*, *157*(10), 2704-2709. doi:https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.04.031

Yang, Q., Zhang, J., Zhang, W., Wang, Z., Xie, Y., & Zhang, H. (2010). Influence of tetracycline exposure on the growth of wheat seedlings and the rhizosphere microbial community structure in hydroponic culture. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, *45*(3), 190-197. doi:10.1080/03601231003613492

Younessi, N., Safari Sinegani, A. A., & Khodakaramian, G. (2019). Detection of antibiotic resistance genes in culturable bacteria isolated from soils around mines in Hamedan, Iran. *International Journal of Environmental Science and Technology*, *16*(12), 7643-7652. doi:10.1007/s13762-018-02178-2

Younessi, N., Safari Sinegani, A. A., & Khodakaramian, Gh. (2017). Detection of beta lactamase gene in bacteria isolated from agriculturl, pasture and mining soils around Hamadan, Iran. *Journal of Soil Biology*, *23*, 35-48. (In Persian)

Zhang, H., Li, X., Yang, Q., Sun, L., Yang, X., Zhou, M., & Bi, L. (2017). Plant Growth, Antibiotic Uptake, and Prevalence of Antibiotic Resistance in an Endophytic System of Pakchoi under Antibiotic Exposure. *International journal of environmental research and public health*, *14*(11). doi:10.3390/ijerph14111336

Ziolkowska, A., Piotrowicz-Cieslak, A., Margas, M., Adomas, B., & Nalecz-Jawecki, G. (2015). Accumulation of tetracycline, oxytetracycline and chlortetracycline in pea (*Pisum sativum* L.). *Fresenius Environmental Bulletin*, *24*, 1386-1391.