بررسی تأثیر باکتری محرک رشد *Pseudomonas putida* بر تغییرات اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) تحت آبیاری پساب تصفیه‌شده شهری

رضا دهقانی بیدگلی[1*]، مونا غیاثی یکتا[2]

۱- گروه مرتع و آبخیزداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین، دانشگاه کاشان، کاشان، ایران
۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران
*آدرس مکاتبه: کاشان، بلوار قطب راوندی، دانشگاه کاشان، دانشکده منابع طبیعی و علوم زمین،
کدپستی: ۸۷۳۱۷۵۳۱۵۳
تلفن: ۰۹۱۳۳۶۴۰۲۶۳
پست الکترونیک: dehghanir@kashanu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۳/۲۹ **تاریخ پذیرش:** ۹۸/۶/۳۰ doi: 10.29252/jmp.4.72.S12.212

چکیده

مقدمه: عوامل محیطی و تنظیم‌کننده‌های زیستی بر صفات مرفوفیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاهان تأثیر دارند.

هدف: هدف از این مطالعه، بررسی رشد و عملکرد گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) در همزیستی با ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) تحت آبیاری با فاضلاب تصفیه شده شهری بود.

روش بررسی: این مطالعه در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه کاشان بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (RCBD) با سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل القای باکتری (PGPR (*Pseudomonas putida* Strain R112 در دو سطح تلقیح و عدم تلقیح و همچنین تصفیه فاضلاب تصفیه شده شهری در پنج سطح صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد در دقیقه بود.

نتایج: بیشترین میزان وزن تر و خشک اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تیمار شاهد آبیاری و نیز کمترین مقادیر آن در گیاهان تلقیح نشده و آبیاری با ۱۰۰ درصد پساب تصفیه شده حاصل شد. چنان که وزن تر و خشک اندام هوایی به ترتیب به میزان ۵۳/۴۴ و ۷۱/۳۵ درصد نسبت به گیاهان تلقیح شده با باکتری و عدم استفاده از پساب تصفیه شده کاهش یافت. همچنین بالاترین درصد اسانس رزماری در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تیمار ۵۰ درصد پساب شهری حاصل شد.

نتیجه‌گیری: رشد و عملکرد رزماری با افزایش درصد فاضلاب افزایش یافت و تلقیح باکتری‌های تقویت کننده گیاه باعث افزایش تحمل گیاه شد.

گل‌واژگان: رزماری، آبیاری، اسانس، باکتری محرک رشد، پساب تصفیه شده شهری

مقدمه

در حال حاضر در بسیاری از مناطق خشک و کم آب دنیا از فاضلاب‌های تصفیه شده شهری و صنعتی در کشاورزی استفاده مجدد می‌شود بنابراین با توجه به محدود بودن منابع آب شیرین در کشور و محدودیت روزافزون آن و با توجه به افزایش تدریجی فاضلاب شهری، جایگزینی آب مورد نیاز کشاورزی با فاضلاب، تا حدودی می‌تواند از مشکلات این بخش بکاهد. یکی از ارکان اصلی در نظام‌های مبتنی بر کشاورزی پایدار، استفاده از کودهای زیستی در اکوسیستم‌های کشاورزی با هدف کاهش قابل ملاحظه در مصرف نهاده‌های شیمیایی است [۱]. به علاوه، استفاده مجدد از فاضلاب‌های تصفیه شده در کشاورزی باعث بهینه‌سازی و حفظ موجودیت منابع آب از طریق برگشت دادن جریان‌های فاضلاب به زمین، صرفه‌جویی در هزینه مصرف کودهای شیمیایی، بهبود وضعیت شهرها، گستردگی فضای سبز و مناطق زیبا، کنترل بیابان‌زایی، حفاظت خاک و بهبود کیفیت آن از طریق رشد گیاهان و جلوگیری از فرسایش خاک خواهد شد [۲].

از انواع کودهای زیستی که امروزه کاربرد فراوانی در سیستم‌های کشاورزی پایدار به منظور دستیابی به افزایش کیفیت و پایداری عملکرد محصولات زراعی و باغی بویژه در گیاهان دارویی دارند، می‌توان به باکتری‌های محرک رشد اشاره کرد. باکتری‌های محرک رشد به عنوان یکی از مفیدترین میکروارگانیسم‌های خاک، دارای رابطه همزیستی با ریشه اغلب گیاهان هستند و از طریق جذب عناصر غذایی از جمله فسفر و عناصر کم مصرف، افزایش جذب آب، تولید هورمون‌های گیاهی، افزایش مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و کاهش اثرات منفی ناشی از تنش‌های محیطی از جمله تنش فلزات سنگین، سبب بهبود رشد و عملکرد کمی و کیفی گیاهان بویژه در گیاهان دارویی می‌شوند [۴، ۳].

یکی از مواردی که می‌تواند باعث افزایش مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های گوناگون شود کاربرد باکتری محرک رشد می‌باشد. باکتری‌های محرک رشد تحمل گیاهان را در محدوده وسیعی از تنش‌های محیطی از قبیل: خشکی، شوری و گرما افزایش می‌دهند. رشد و تولید روغن‌های فرار گیاهان دارویی می‌تواند تحت تأثیر استفاده از مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی قرار بگیرد [۶، ۵].

گیاه دارویی اکلیل کوهی با نام عمومی رزماری و نام علمی *Rosmarinus officinalis* L. از تیره نعنائیان می‌باشد. این گیاه علفی، پایا، دارای ساقه‌ای چوبی به ارتفاع نیم تا یک متر با برگ‌های سبز دائمی و بسیار معطر با آرایش متقابل با کناره‌ی برگشته، باریک، دراز و نوک‌تیز. سطح فوقانی برگ آن به رنگ سبز و سطح تحتانی به علت وجود کرک‌های سبز مایل به سفید است. اهمیت گونه گیاهی رزماری بیشتر به خاطر اسانس موجود در آن می‌باشد که تقریباً در تمام اندام‌های آن با میزان‌های متفاوت وجود دارد. با توجه به ضرورت استفاده از پساب‌های شهری و صنعتی در تولید محصولات کشاورزی بدلیل کمبود آب‌های سطحی [۸، ۷]، در این تحقیق تأثیر آبیاری با پساب تصفیه شده بر رشد، عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی رزماری در همزیستی با باکتری محرک رشد مورد ارزیابی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۷ بر اساس یک آزمایش گلدانی در گلخانه دانشکده منابع طبیعی دانشگاه کاشان به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل باکتری محرک رشد *Pseudomonas putida* (سویه R112) در دو سطح تلقیح و عدم تلقیح و نیز پساب تصفیه شده شهری در پنج سطح شاهد (صفر درصد پساب)، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ درصد پساب تصفیه شده شهری بودند.

در این تحقیق پساب تصفیه شده فاضلاب از تصفیه خانه لجن فعال دانشگاه علوم پزشکی کاشان مورد استفاده قرار گرفت که نتایج آنالیز پساب مورد استفاده در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

آزمایش خاک: خاک مورد استفاده در گلدان‌ها مخلوطی از خاک مزرعه، خاکبرگ و ماسه بود که پس از عبور از مش ۴ میلی متری با نسبت‌های مساوی (۱:۱:۱) مخلوط شدند و یک نمونه از مخلوط خاک نهایی مورد استفاده در آزمایش، به آزمایشگاه خاکشناسی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه کاشان جهت تجزیه ارسال شد. نتایج حاصل از تجزیه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

جدول شماره ۱- آنالیز شیمیایی پساب مورد استفاده

پارامتر	واحد	آب	پساب	استاندارد آب آبیاری* IRNDOE
هدایت الکتریکی	cm.µs	۲۳۴۱	۱۸۵۳	–
سختی کل	Mg/L $CaCo_3$	۶۱۶	۵۶۴	–
کلراید (Cl^-)	mg/L	۵۱۴/۲	۲۶۹/۴	۶۰۰
نیترات (NO_3^-)	mg/L	۵/۱	۷/۶	–
فسفات ($PO4^{-3}$)	mg/L	۰/۵	۶/۳	–
کلسیم (Ca)	mg/L	۲۳۵/۲	۱۹۰/۴	–
منیزیم (Mg)	mg/L	۶/۸	۲۱/۴	۱۰۰
سدیم (Na)	mg/L	۳۱۸/۹	۱۹۶/۲	–
پتاسیم (K)	mg/L	۱۱/۷	۱۶/۳	–
ازت کل	mg/L	۵/۳۵	۸/۹	–
بور (B)	mg/L	۰/۹۱	۰/۶۹	۱
TSS[1]	mg/L	۸	۴۴	۱۰۰
BOD[2]	mg/L	۰/۵۷	۵۳/۴	۱۰۰
COD[3]	mg/L	صفر	۹۲	۲۰۰

* استاندارد آب آبیاری ارائه شده توسط اداره استاندارد سازمان حفاظت محیط زیست (NOAA, 2006)

1-Total suspended solids
2-Biochemical Oxygen Demand
3-Chemical Oxygen Demand

جدول شماره ۲ - نتایج حاصل از تجزیه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

ویژگی‌های فیزیکی (٪)					ویژگی‌های شیمیایی				
شن	سیلت	رس	بافت	کربن آلی (٪)	هدایت الکتریکی dS/m	اسیدته	نیتروژن (٪)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)
۶۸	۱۵	۱۷	لومی- شنی	۱/۷	۳/۶۶	۸	۰/۰۸۳	۱۴/۴	۱۵۷

کشت گیاه و اعمال تیمار

جهت اعمال تیمارها ابتدا، قلمه‌هایی از پایه‌های مادری گیاه رزماری واقع در گلخانه دانشگاه کاشان به طول ۲۰-۱۵ و قطر ۰/۵ سانتی‌متر تهیه شد و در گلخانه، بستر ماسه و در زیر سیستم مه افشان جهت ریشه‌زایی کشت شدند. پس از اتمام دوره گرماگذاری (انکوباسیون) حدود ۱۰۰ روز، قلمه‌های ریشه‌دار شده رزماری تا حد امکان یکنواخت انتخاب شدند. عملیات کشت گیاهچه‌ها در تاریخ اول تیرماه ۱۳۹۷ در گلدان‌های ۱/۵ کیلوگرمی با ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر و قطر دهانه ۱۷ سانتی‌متر صورت گرفت و در هر گلدان یک گیاه کاشته شد.

القای محرک رشد شامل افزودن سویه باکتری محرک رشد *Pseudomonas putida* (سویه R112) در دو سطح شامل شاهد (صفر) و $۱۰^{-۱۰}$ میلی‌مولار بود. سویه باکتری محرک رشد *Pseudomonas putida* (سویه R112) در آزمایشگاه خاک‌شناسی پردیس کشاورزی دانشگاه تهران واقع در کرج تهیه شد. برای کشت باکتری از محیط کشت مایع Tryptic Soybean Broth (TSB) استفاده شد محیط کشت ترپتیک سوی براث (TSB) محیطی مغذی برای رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. همچنین به نام Soybean-Casein Diges نیز شناخته می‌شود. مواد تشکیل‌دهنده‌ی این محیط

کشت عبارتند از: Tryptone, Soy, NaCl, dipotassium phosphate (K_2HPO_4), distilled water سویه باکتری مورد استفاده به مدت ۴۸ ساعت درون محیط کشت (TSB) قرار داده شد و پس از آماده‌سازی به خاک گلدان‌ها به صورت محلول قبل از آبیاری با پساب اضافه شد. جهت اعمال تیمار باکتری محرک رشد، مقدار 10^{-10} میلی‌مولار در اطراف ریشه نشاها پخش و روی آنها با خاک پوشانیده شد. با توجه به نتایج آنالیز خاک گلدان‌ها هیچ‌گونه کود دیگری به گلدان‌ها اضافه نشد. قبل از شروع تیمار پساب، همه گیاهان رزماری به طور منظم در حد ظرفیت مزرعه‌ای آبیاری شدند. در طول مدت آزمایش، گلدان‌ها در دمای گلخانه (۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

در طول عملیات داشت، روزانه دما و نور گلخانه کنترل شد. آبیاری روزانه گلدان‌ها با آب مقطر به صورت وزنی صورت گرفت و رطوبت در حد ظرفیت زراعی برای گلدان‌ها اعمال همچنین در طول این دوره گیاهان از نظر آفات و بیماری‌های گیاهی کنترل شدند. پس از دوره‌ی هفت ماهه کشت رزماری، اندام هوایی بوته‌های رزماری از محل یقه برداشت شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه، صفاتی از قبیل ارتفاع بوته، تعداد ساقه فرعی در بوته، طول ساقه فرعی، تعداد برگ در بوته، سطح برگ، قطر یقه، وزن تر و خشک اندام هوایی، اندازه‌گیری شدند.

اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب: بوته‌های تازه برداشت شده جهت تعیین میزان اسانس در سایه و در دمای اتاق خشک شدند. به مقدار ۱۰۰ گرم از گیاه رزماری توزین و خرد شد. گیاه خردشده داخل بالن ۱ لیتری ریخته آب مقطر اضافه شد. پس از نصب دستگاه کلونجر بر روی بالن، دمای هیتر در ابتدا به گونه‌ای تنظیم شد که آب درون بالن به نقطه جوش برسد. سپس درجه هیتر به اندازه‌ای پایین آمد که محتویات درون بالن بواسطه فشار بخار زیاد ایجاد شده به درون سیستم کلونجر نفوذ پیدا کند. از لحظه شروع به جوش آمدن آب درون بالن، اسانس‌گیری به مدت ۳ تا ۴ ساعت ادامه داشت. سپس میزان اسانس به صورت حجمی وزنی، بر حسب میلی‌لیتر در گرم گیاه خشک رزماری محاسبه شد.

شرایط دستگاهی کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی

دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع BPX5 بود. برای شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، نمونه که توسط هگزان رقیق شده بود به مقدار ۱ میکرولیتر به دستگاه GC/MS تزریق شد. برنامه دمایی ستون به صورت ذیل تنظیم شد: دمای ابتدایی آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سانتی‌گراد در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد و سپس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتاقک تزریق ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد به صورت split ۱ به ۳۵ بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. محدوده اسکن گراف‌ها از ۴۰ تا ۵۰۰ تنظیم شد. نرم‌افزار مورد استفاده chemstation بود. شناسایی دقیق‌تر ترکیبات با مقایسه عدد کواتس محاسبه شده پس از تزریق آلکان‌های نرمال و اعداد گزارش شده در منابع، انجام شد [۹].

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از این تحقیق بر اساس طرح آماری بلوک کامل تصادفی، با نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ٪۵ انجام گرفت. رسم نمودارها و جداول و برخی از محاسبات نیز، با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اغلب صفات رشدی رزماری به طور معنی‌داری تحت تأثیر باکتری محرک رشد، آبیاری با پساب تصفیه شده قرار گرفتند ($P\leq$ ۰/۰۱) اما اثر متقابل بین آنها بر صفات طول ساقه فرعی و قطر یقه معنی‌داری نبود (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳- نتایج تجزیه واریانس برخی صفات ارزیابی شده در رزماری تحت تأثیر باکتری محرک رشد و آبیاری با پساب تصفیه شده

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع بوته	تعداد ساقه فرعی	طول ساقه فرعی	تعداد برگ در بوته	سطح برگ	قطر یقه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی
تکرار	۳	۲/۵۰۱	۲/۲۱۸	۰/۱۰۶	۲۲۰/۹۱	۴۹/۲۱۰	۰/۰۰۴	۰/۲۵۱	۰/۰۸۹۶
باکتری	۱	۲۵۶/۷۱**	۲۲۰/۵۱**	۱۷/۱۰۱**	۴۴۱۲۳۰/۰**	۱۲۱۸۰/۶**	۵/۷۲۰**	۹۱/۶۸۰**	۲۶/۰۷۱**
پساب	۱	۲۳۹/۶۰**	۲۲۰/۴۱**	۵۴/۲۴۰**	۴۱۸۲۰/۰**	۱۶۴۴۰/۱**	۳/۴۳۱**	۱۴۹/۷۸۰**	۳۶/۵۵۱**
باکتری* پساب	۴	۱۱/۷۱**	۰/۵۹۱ns	۰/۵۹۱ns	۸۹۱/۸۱**	۷۵/۱۳۵*	۰/۱۲۰ns	۲/۸۹۱**	۰/۷۴۱**
خطای آزمایش	۱۷	۰/۷۴۹	۱/۷۸۸	۰/۲۷۱	۱۳۱/۲۰۹	۲۵/۲۹۰	۰/۰۶۹	۰/۲۴۱	۰/۱۱۲**
ضریب تغییرات	-	۲/۵۸	۹/۳۱	۷/۹۳	۴/۱۸	۳/۸۰	۷/۷۱	۴/۵۶	۶/۷۹

** در سطح ۱٪، * در سطح ۵٪ معنی‌دار، ns: عدم معنی‌داری

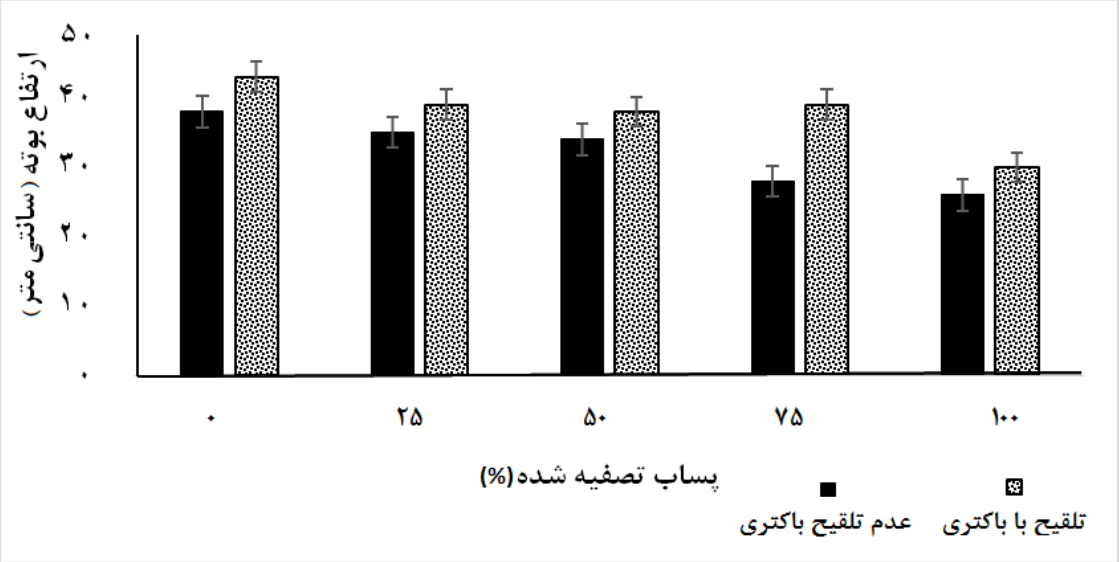
ارتفاع، تعداد ساقه فرعی و طول ساقه فرعی در بوته

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول شماره ۳)، ارتفاع بوته در گیاه رزماری به طور معنی‌داری تحت تأثیر باکتری محرک رشد، پساب تصفیه شده و اثر متقابل بین آنها قرار گرفت. بیشترین ارتفاع بوته در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تیمار شاهد آبیاری (صفر درصد پساب) مشاهده شد که به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. ارتفاع بوته در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تحت تیمار پساب ۲۵ و ۵۰ درصد معنی‌دار نشد ولی به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار پساب ۲۵ و ۵۰ درصد بود. همچنین کمترین ارتفاع بوته در گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تیمار پساب ۱۰۰ درصد مشاهده شد که ۴۳/۶۲ درصد نسبت به گیاهان تلقیح شده با باکتری و تیمار شاهد آبیاری (صفر درصد پساب) کاهش پیدا کرد (شکل شماره ۱).

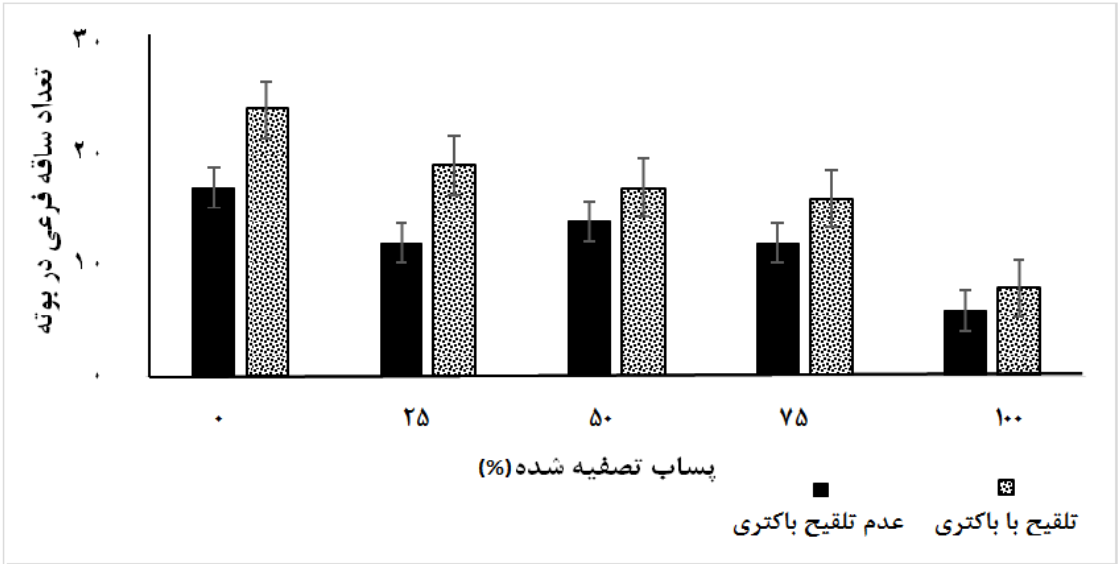
همان‌گونه که در جدول شماره ۳ مشاهده می‌شود، تأثیر باکتری محرک رشد و پساب تصفیه شده و اثر متقابل بین آنها بر تعداد ساقه فرعی در رزماری معنی‌دار شد. گیاهان تلقیح شده با باکتری و تحت تیمار شاهد دارای بیشترین تعداد ساقه فرعی بودند که به میزان ۳۷۵/۱۴ درصد، نسبت به گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار پساب ۱۰۰ درصد (کمترین تعداد ساقه فرعی)بیشتر بود. تعداد ساقه فرعی در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تحت تیمارهای ۲۵ و ۵۰ درصد پساب، تفاوت معنی‌داری نداشت ولی نسبت به گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمارهای ۲۵ و ۵۰ درصد پساب به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل شماره ۲).

باکتری محرک رشد و آبیاری با پساب تصفیه شده بر طول ساقه فرعی رزماری تأثیر معنی‌داری داشتند ($P\leq$ ۰/۰۱) اما اثر متقابل بین آنها روی این صفت معنی‌دار نبود (جدول شماره ۳).

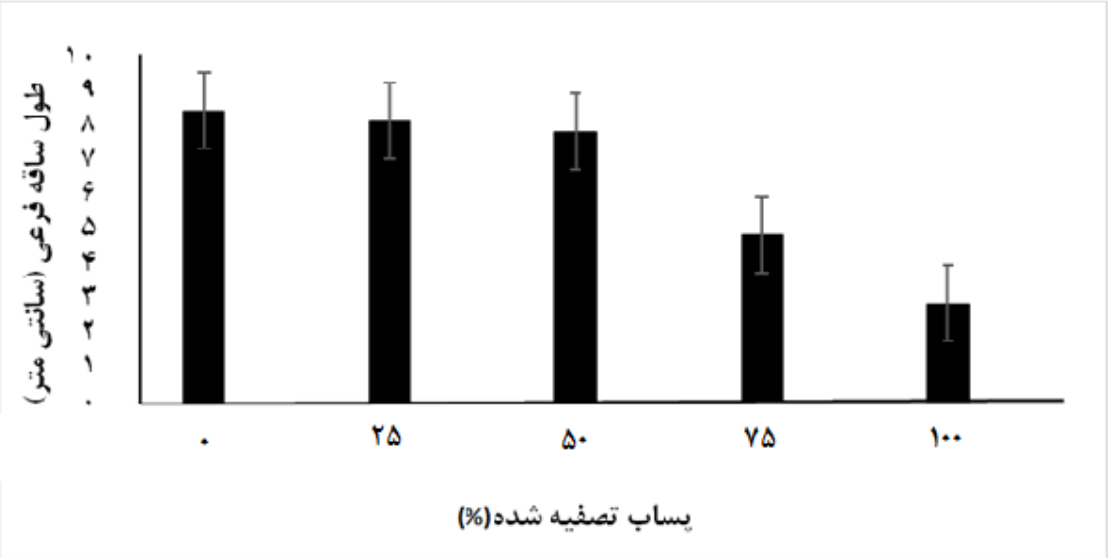
با افزایش درصد پساب در آب آبیاری ازطول ساقه فرعی رزماری کاسته شد به طوریکه کمترین طول ساقه فرعی در گیاهان رشد یافته در تیمار پساب ۱۰۰درصد به دست آمد که به میزان ۷۰/۴۱ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش پیدا کرد (شکل شماره ۳ الف). گیاهان تلقیح شده با باکتری به طور معنی‌داری دارای طول ساقه فرعی بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده با باکتری بودند به طوری که این صفت ۲۳/۲۱ درصد نسبت به گیاهان تلقیح نشده افزایش یافت (شکل شماره ۳ ب).



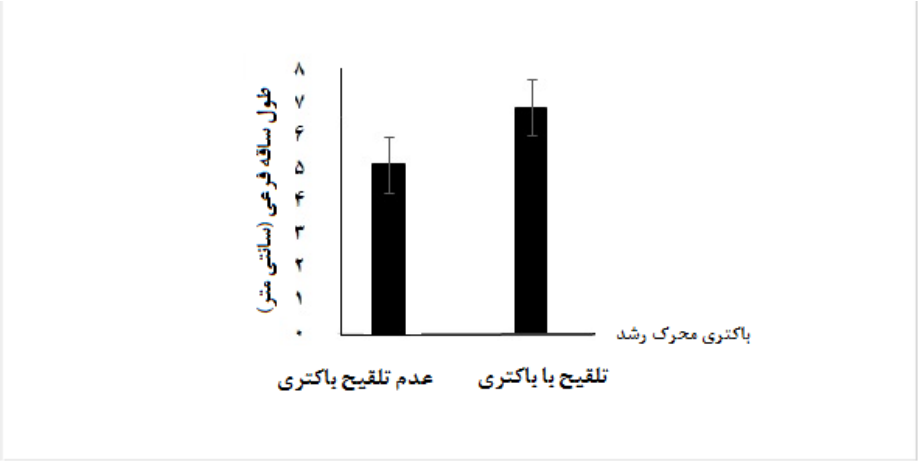
شکل شماره ۱ - میانگین ارتفاع بوته رزماری(سانتی‌متر) تحت تأثیر باکتری محرک رشد و پساب تصفیه شده شهری



شکل شماره ۲ - تعداد ساقه‌های فرعی در بوته رزماری تحت تأثیر باکتری محرک رشد و پساب تصفیه شده شهری



شکل شماره ۳ – طول ساقه‌های فرعی در بوته رزماری بوته رزماری تحت تأثیر پساب تصفیه شده شهری



شکل شماره ۳ – طول ساقه‌های فرعی (سانتی متر) در بوته رزماری تحت تأثیر باکتری محرک رشد

تعداد برگ، سطح برگ و قطر یقه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس(جدول شماره ۳)، تأثیر باکتری محرک رشد، آبیاری با پساب تصفیه شده و اثر متقابل آنها بر تعداد برگ رزماری معنی‌دار شد ($P\leq$ ۰/۰۱).

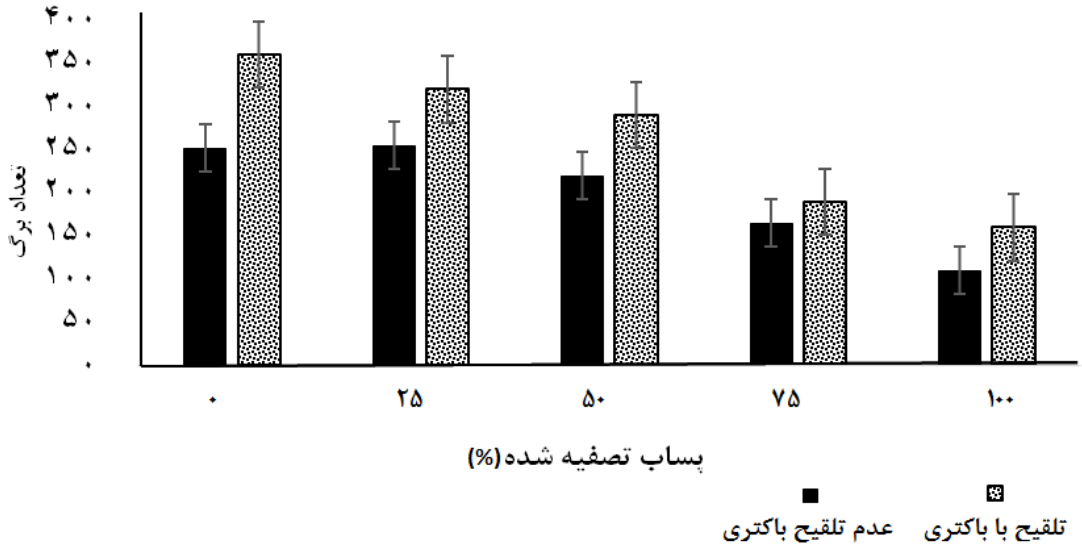
بیشترین تعداد برگ در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تیمار شاهد آبیاری (پساب صفر درصد) مشاهده شد که به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود. تعداد برگ در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تحت تیمار ۲۵ و ۵۰ درصد پساب به طور معنی داری بیشتر از تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار ۲۵ و ۵۰ درصد پساب بود. همچنین کمترین تعداد برگ در گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار پساب ۱۰۰ درصد مشاهده شد که به میزان ۷۳/۱۶ درصد نسبت به گیاهان تلقیح شده و تیمار شاهد آبیاری کاهش پیدا کرد (شکل شماره ۴).

سطح برگ رزماری به طور معنی‌داری تحت تأثیر باکتری محرک رشد و آبیاری با پساب تصفیه شده ($P\leq$ ۰/۰۱) و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول شماره ۳). بیشترین سطح برگ در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تیمار شاهد آبیاری (صفر درصد پساب) مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها به طور معنی‌داری بیشتر بود. کمترین میزان سطح برگ در گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار پساب ۱۰۰ درصد حاصل شد که به میزان ۸۲/۶۰ درصد نسبت به گیاهان تلقیح شده با باکتری و تیمار شاهد آبیاری (صفر درصد پساب) کاهش یافت. همچنین میزان سطح برگ در گیاهان گیاهان تلقیح شده با باکتری و تحت تیمار ۲۵ و ۵۰ درصد پساب به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار ۲۵ و ۵۰ درصد پساب بود (شکل شماره ۵).

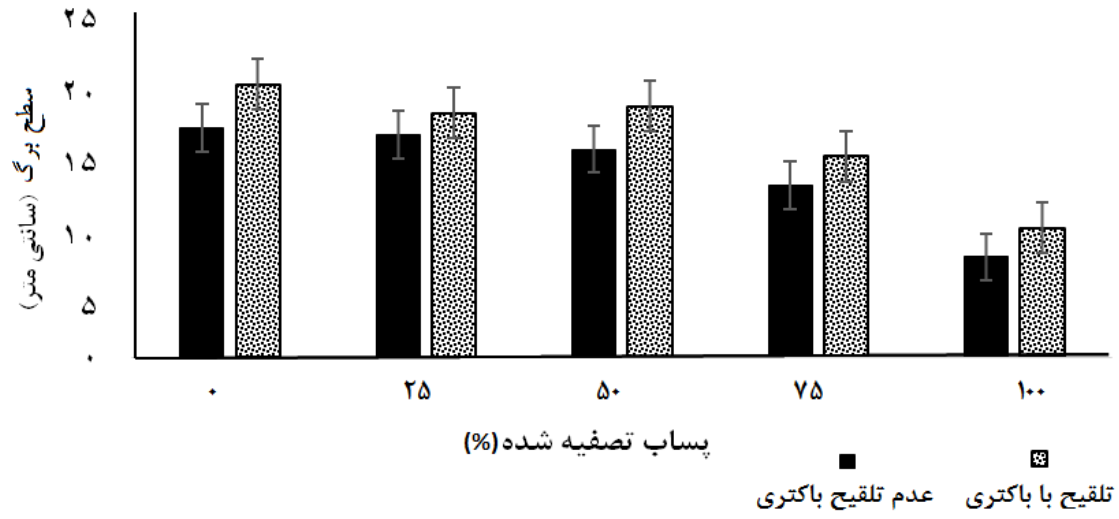
باکتری محرک رشد و پساب تصفیه شده تأثیر معنی‌داری بر قطر یقه رزماری داشتند ($P\leq$ ۰/۰۱) اما اثرات متقابل آنها بر قطر یقه معنی‌دار نبود (جدول شماره ۳). با افزایش درصد پساب آب آبیاری قطر یقه کاهش پیدا کرد و کمترین میزان آن در تیمار پساب ۱۰۰ درصد مشاهده شد اما تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای ۲۵ و ۵۰ درصد پساب مشاهده نشد (شکل شماره ۶ الف). قطر یقه در گیاهان تلقیح شده با باکتری به میزان ۲۶/۸۰ درصد بیشتر از گیاهان تلقیح نشده با باکتری بود (شکل شماره ۶ ب).

وزن تر و خشک اندام هوایی

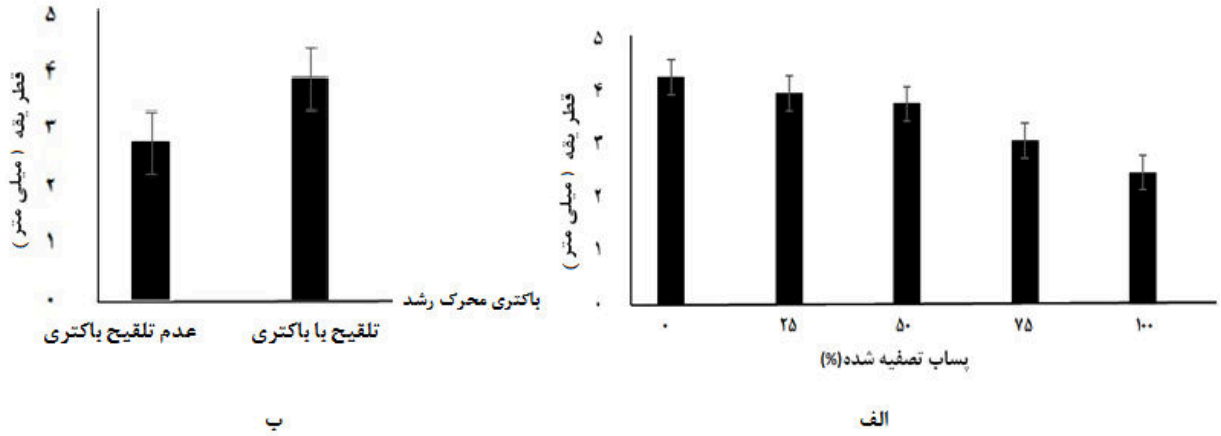
وزن تر و وزن خشک اندام هوایی رزماری به طور معنی داری تحت تأثیر باکتری محرک رشد، پساب تصفیه شده و اثرات متقابل بین آنها قرار گرفت (جدول شماره ۴). گیاهان تلقیح شده با باکتری و تیمار شاهد آبیاری (صفر درصد پساب) دارای بیشترین وزن تر اندام هوایی بودند که به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. وزن تر اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تحت تیمارهای پساب، به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان تلقیح نشده با باکتری در همان تیمار پساب بود. وزن تر اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تحت تیمار ۷۵ و ۱۰۰ درصد پساب به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار ۷۵ و ۱۰۰ درصد پساب بود.



شکل شماره ۴- میانگین تعداد برگ در بوته رزماری تحت باکتری محرک رشد و پساب تصفیه شده



شکل شماره ۵- میانگین سطح برگ در بوته رزماری تحت باکتری محرک رشد و پساب تصفیه شده



شکل شماره ۶- قطر یقه (میلی متر) بوته رزماری تحت تأثیر پساب تصفیه شده (الف) و باکتری محرک رشد (ب)

وزن تر و خشک اندام هوایی

وزن تر و وزن خشک اندام هوایی رزماری به طور معنی‌داری تحت تأثیر باکتری محرک رشد، پساب تصفیه شده و اثرات متقابل بین آنها قرار گرفت ($P\leq$ ۰/۰۱). گیاهان تلقیح شده با باکتری و تیمار شاهد آبیاری (صفر درصد پساب) دارای بیشترین وزن تر اندام هوایی بودند که به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (جدول شماره ۴). وزن تر اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تحت همه تیمارهای پساب، به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان تلقیح نشده با باکتری در همان تیمار پساب بود. وزن تر اندام هوایی در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تحت تیمار ۷۵ و ۱۰۰ درصد پساب به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار ۷۵ و ۱۰۰ درصد پساب بود.

کمترین میزان وزن تر اندام هوایی در گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار ۱۰۰ درصد پساب مشاهده شد که به میزان ۷۷/۰۶ درصد نسبت به تلقیح شده با باکتری و تیمار شاهد آبیاری (صفر درصد پساب) کاهش پیدا کرد (جدول شماره ۴). همان طور که در جدول شماره ۴ نشان داده شده است تلقیح گیاهان با باکتری محرک رشد همراه با عدم استفاده از پساب، بیشترین وزن خشک اندام هوایی را به دنبال داشت به طوری که نسبت به گیاهان تلقیح نشده با باکتری در تلفیق با تیمار پساب درصد ۱۰۰ (کمترین مقدار وزن خشک اندام هوایی) منجر به ۵۳/۷۸ درصد افزایش در وزن خشک اندام هوایی رزماری شد. همچنین وزن خشک اندام هوایی رزماری در گیاهان تلقیح شده با باکتری و تحت تیمار ۷۵ و ۱۰۰ درصد پساب به ترتیب ۳۲/۸۴ و ۲۶/۲۹ درصد نسبت گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار ۷۵ و ۱۰۰ درصد پساب افزایش یافت.

میزان اسانس رزماری

باکتری محرک رشد و پساب تصفیه شده تأثیر معنی‌داری بر میزان (درصد) اسانس رزماری داشتند (جدول شماره ۵).

بیشترین درصد اسانس رزماری در گیاهان تلقیح نشده با باکتری و تحت تیمار ۵۰ درصد پساب حاصل شد که به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل شماره ۷). در تیمار ۱۰۰ درصد پساب بر خلاف سایر تیمارهای پساب، گیاهان تلقیح شده با باکتری به طور معنی‌داری دارای درصد اسانس بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده با باکتری بودند. کمترین میزان اسانس نیز در گیاهان تلقیح نشده با باکتری تیمار ۱۰۰ درصد پساب مشاهده شد.

درصد ترکیبات اسانس رزماری

در این تحقیق، ۳۰ ترکیب فیتوشیمیایی اسانس گیاه رزماری شناسایی شدند که ۹۹/۵ درصد اسانس را شامل می‌شد. همان‌طوری که جدول شماره ۶ نشان می‌دهد در همه تیمارها میزان آلفا پینن بالای ۱۰ درصد، وربنن بالای ۵ درصد، ۱،۸ سینئول بالای ۷ درصد، آلفا ترپینیل استات، بورنیل استات و کامفور بالای ۴ درصد و وربنون بالای ۱۱ درصد بود و اصلی‌ترین ترکیبات اسانس رزماری را تشکیل داده‌اند. بررسی درصد ترپن‌ها (مونوترپن اکسیژنه، هیدروژنه و سزکویی‌ترپن اکسیژنه و هیدروژنه) نشان داد (جدول شماره ۶) که بیشترین ترکیبات اسانس از گروه مونوترپن‌ها بود.

جدول شماره ۴- میانگین صفات اندازه‌گیری شده در رزماری تحت تأثیر باکتری محرک رشد و پساب تصفیه شده

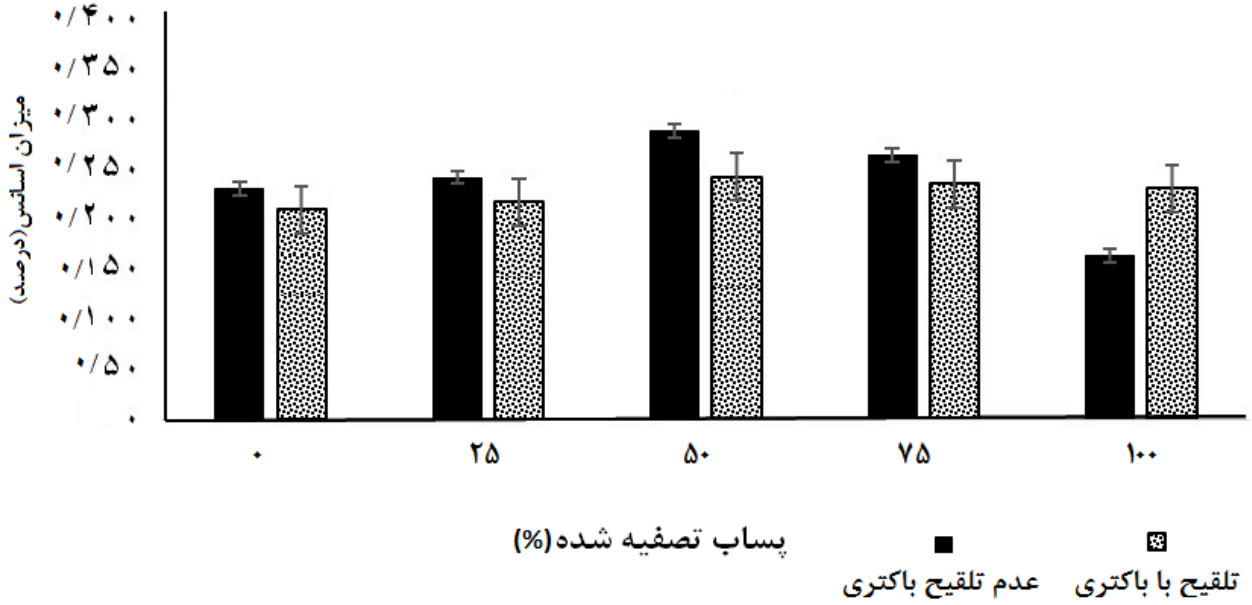
باکتری محرک رشد	درصد پساب تصفیه شده	وزن تر اندام هوایی بوته (g)	وزن خشک اندام هوایی بوته (g)
عدم تلقیح با باکتری	شاهد	۱۲/۵۰ ^{c}	۵/۷۵۰ ^{c}
	۲۵	۱۲/۱۰ ^{d}	۴/۶۳ ^{d}
	۵۰	۱۰/۵۰^{e}	۴/۰۳ ^{e}
	۷۵	۶/۶۲ ^{g}	۲/۳۳ ^{g}
	۱۰۰	۳/۸۵^{i}	۱/۱۷ ^{h}
تلقیح با باکتری	شاهد	۱۷/۳۵^{a}	۷/۶۱ ^{b}
	۲۵	۱۶/۱۲^{b}	۷/۱۵ ^{c}
	۵۰	۱۳/۴۰ ^{c}	۵/۶۵ ^{f}
	۷۵	۸/۶۶ ^{f}	۳/۳۰ ^{g}
	۱۰۰	۶/۶۲ ^{h}	۲/۱۹ ^{c}

**: حروف (a, b, c...) نشان‌دهنده قرارگیری تیمارها در گروه‌های مختلف آماری است.

جدول شماره ۵- میانگین مربعات درصد اسانس گیاه رزماری تحت تأثیر باکتری محرک رشد و پساب تصفیه شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	میزان اسانس
تکرار	۳	۰/۰۰۰۱
باکتری محرک رشد	۱	۰/۰۰۰۱**
پساب	۴	۰/۰۱۲۴**
باکتری×پساب	۴	۰/۰۹۹۱**
خطای آزمایش	۲۷	۰/۰۵۰۸**
ضریب تغییرات(٪)	-	۵/۹۱

** در سطح ۱٪ معنی‌دار



شکل شماره ۷- درصد اسانس رزماری تحت تأثیر باکتری محرک رشد و پساب تصفیه شده

جدول شماره ۶- میزان ترکیبات اسانس رزماری تحت تأثیر تیمارهای مختلف پساب در حالت تلقیح و عدم تلقیح باکتری محرک رشد

ردیف	نام ترکیب	نوع ترپن	ضریب کواتس محاسبه شده	درصد ترکیب در اسانس								
				شاهد	عدم تلقیح با باکتری				تلقیح با باکتری			
					تیمار پساب تصفیه شده				تیمار پساب تصفیه شده			
				۰	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰
۱	Tricyclene	MH	۹۲۷	۳/۲۵	۳/۶۰	۳/۶۸	۳/۷۳	۳/۷۸	۳/۸۲	۳/۸۶	۳/۹۲	۴/۰۱
۲	α-Pinene	MH	۹۳۱	۱۰/۴۲	۱۰/۴۸	۱۰/۵۳	۱۰/۶۰	۱۰/۶۳	۱۰/۶۶	۱۰/۶۹	۱۰/۷۴	۱۰/۸۱
۳	Camphene	MH	۹۳۳	۲/۴۰	۲/۴۴	۲/۴۸	۲/۷۳	۲/۷۹	۲/۸۴	۲/۸۹	۲/۹۲	۳/۰۳
۴	Verbenene	MH	۹۳۵	۵/۴۵	۵/۶۲	۵/۶۹	۵/۷۵	۵/۷۸	۵/۸۳	۵/۸۹	۵/۹۶	۵/۱۲

ادامه جدول شماره ۶-

ردیف	نام ترکیب	نوع ترپن	ضریب کواتس محاسبه شده	درصد ترکیب در اسانس								
				شاهد	عدم تلقیح با باکتری				تلقیح با باکتری			
					تیمار پساب تصفیه شده				تیمار پساب تصفیه شده			
				۰	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰
۵	Octen-3-ol	Other	۹۴۰	۴/۲۸	۴/۶۲	۴/۶۹	۴/۷۳	۴/۷۸	۴/۸۳	۴/۸۹	۵/۱۲	۵/۲۵
۶	3-Octanone	Other	۹۴۲	۰/۲۵	۰/۶۰	۰/۶۸	۰/۷۳	۰/۷۸	۰/۸۲	۰/۸۶	۰/۹۲	۱/۰۸
۷	Myrcene	MH	۹۴۶	۱/۲۸	۱/۶۶	۱/۶۸	۱/۷۶	۱/۸۲	۱/۸۹	۱/۹۳	۱/۹۸	۲/۲۳
۸	α-Phellandrene	MH	۹۴۸	۰/۳۳	۰/۳۸	۰/۴۲	۰/۵۶	۰/۶۸	۰/۹۲	۰/۹۸	۱/۱۰	۱/۴۶
۹	α-Terpinene	MH	۹۵۲	۰/۲۸	۰/۳۵	۰/۴۷	۰/۵۹	۰/۶۳	۰/۷۸	۰/۸۲	۰/۹۹	۱/۵۲
۱۰	p-Cymene	MH	۹۵۴	۰/۸۹	۰/۹۳	۰/۹۶	۱/۲۲	۱/۵۴	۱/۶۳	۱/۸۶	۱/۹۰	۲/۲۰
۱۱	Limonene	MH	۹۶۳	۲/۵۶	۲/۶۹	۲/۷۸	۲/۸۷	۲/۹۶	۳/۰۳	۳/۱۲	۳/۲۳	۳/۷۹
۱۲	1,8-Cineole	MO	۹۷۲	۷/۵۶	۷/۶۳	۷/۷۳	۷/۸۱	۷/۹۲	۷/۹۶	۸/۰۲	۸/۱۲	۸/۲۳
۱۳	(E)-β-Ocimene	MH	۹۷۵	۰/۰۸	۰/۰۸۳	۰/۰۹۶	۰/۰۹۹	۰/۱۲	۰/۱۵	۰/۱۷	۱/۱۰	۱/۴۶
۱۴	γ-Terpinene	MH	۹۸۷	۰/۴۹	۰/۶۰	۰/۶۹	۰/۷۳	۰/۷۸	۰/۸۹	۰/۹۱	۰/۹۲	۱/۲۰
۱۵	Linalool	MO	۹۹۳	۱/۲۴	۱/۵۹	۱/۸۹	۱/۷۶	۱/۸۲	۱/۳۸	۱/۹۱	۱/۹۸	۲/۵۳
۱۶	2,6-Dimethyl phenol	Other	۱۰۰۲	۰/۰۹	۰/۰۹۸	۰/۱۳۰	۰/۱۴۵	۰/۱۶۵	۰/۱۸۶	۰/۱۹۱	۱/۰۲۰	۱/۰۴۶
۱۷	(E)-Verbenol	MO	۱۱۲۰	۱/۳۷	۱/۵۶	۱/۶۰	۱/۷۵	۱/۸۴	۱/۹۳	۱/۹۶	۱/۹۸	۲/۱۴
۱۸	Camphore	MO	۱۱۳۰	۴/۳۲	۴/۵۲	۴/۷۰	۴/۷۳	۴/۹۸	۵/۰۸۹	۵/۰۹۰	۵/۱۲	۵/۳۰
۱۹	(E)-Pinocamphone	MO	۱۱۵۰	۰/۵۶	۰/۶۰	۰/۶۹	۰/۷۳	۰/۷۸	۰/۹۰	۰/۹۴	۰/۹۸	۱/۲۰
۲۰	Borneol	MO	۱۱۹۰	۰/۳۶	۰/۶۲	۰/۷۲	۰/۷۳	۰/۷۸	۰/۹۰	۰/۹۱	۱/۰۳	۱/۴۲
۲۱	Terpinen-4-ol	MO	۱۲۱۰	۰/۷۱	۰/۶۰	۰/۶۹	۰/۷۹	۰/۸۳	۰/۸۹	۰/۹۲	۰/۹۴	۱/۲۳
۲۲	α-Terpineol	MO	۱۲۵۳	۰/۴۹	۰/۶۶	۰/۶۹	۰/۷۳	۰/۷۸	۰/۹۱	۰/۹۱	۰/۹۶	۱/۷۶
۲۳	Verbenone	MO	۱۲۸۶	۱۱/۳۵	۱۱/۸۶	۱۱/۹۵	۱۱/۹۸	۱۲/۰۰	۱۲/۳۵	۱۲/۵۲	۱۲/۶۳	۱۲/۸۹
۲۴	Linalyl acetate	MO	۱۳۲۰	۰/۰۹	۰/۰۹۳	۰/۰۹۶	۰/۰۹۹	۰/۱۳	۰/۱۸	۰/۲۱	۱/۲۴	۱/۶۳
۲۵	Bornyl acetate	Other	۱۳۷۰	۴/۳۲	۴/۵۲	۴/۷۵	۴/۷۵	۴/۹۰	۵/۰۸۹	۵/۰۹۰	۵/۱۲	۵/۶۹
۲۶	α-Terpinyl acetate	MO	۱۴۰۰	۴/۳۶	۴/۶۲	۴/۶۹	۴/۷۳	۴/۸۲	۴/۸۳	۴/۹۰	۵/۱۲	۵/۳۹
۲۷	neoiso-Dihydro carveol acetate	Other	۱۴۲۰	۰/۷۱	۰/۷۳	۰/۷۹	۰/۸۰	۰/۸۳	۰/۸۹	۰/۹۲	۰/۹۶	۱/۷۵
۲۸	(E)-Caryophyllene	SH	۱۴۲۸	۰/۳۳	۰/۳۸	۰/۴۲	۰/۵۶	۰/۶۸	۰/۹۲	۰/۹۸	۱/۱۰	۱/۴۶
۲۹	Neryl acetone	MO	۱۴۴۰	۰/۳۵	۰/۳۹	۰/۴۶	۰/۵۲	۰/۷۶	۰/۹۶	۰/۹۸	۱/۱۰	۱/۸۹
۳۰	α-Humulene	SH	۱۴۴۵	۱/۳۸	۱/۵۲	۱/۸۹	۱/۸۲	۱/۹۶	۲/۳۸	۲/۵۹	۲/۹۰	۳/۱۲

[a] MH: Monoterpene Hydrocarbons
[b] MO: Oxygenated Monoterpenes
[c] SH: Sesquiterpene Hydrocarbons
[d] SO: Oxygenated Sesquiterpenes

بحث

نتایج بررسی صفات رشدی و عملکرد رزماری در سطوح مختلف پساب و تلقیح باکتری محرک رشد نشان داد که با افزایش درصد پساب، صفات رشدی و عملکرد رزماری کاهش یافته و افزایش درصد پساب تأثیر منفی بر این صفات داشته است. بهرحال تغییر کلروپلاست در گیاهان رشد یافته در شرایط آبیاری با پساب [۱۰]، کاهش جذب عناصر غذایی و تنش فلزات سنگین ممکن است سیستم فعالیتی آنتی‌اکسیدانی را تضعیف کرده و درنهایت رشد گیاه را کاهش دهد [۱۲، ۱۱]. همچنین تأثیر مستقیم فلزات سنگین در متابولیسم سلولی اندام هوایی، ممکن است منجر به کاهش ارتفاع بوته و سایر صفات رشدی در گیاهان شود [۱۳].

در این پژوهش با افزایش درصد پساب برخی شاخص‌های رشدی و عملکرد گیاه رزماری، نظیر زیست توده، ارتفاع بوته، سطح برگ و دیگر صفات رشدی به طور معنی‌داری کاهش یافت اما تلقیح گیاهان مورد بررسی با باکتری محرک رشد در شرایط آبیاری با پساب، منجر به افزایش این صفات در مقایسه با شاهد بدون تلقیح باکتری شد [۱۴]. افزایش وزن خشک اندام هوایی و دیگر صفات رشدی، با جذب بالای فسفر در گیاه و پتانسل کلونیزاسیون مطلوب ریشه و به تبع آن رشد میسیلیوم‌های خارجی و گسترش سیستم ریشه‌ای گیاه مرتبط است. همچنین بیشتر محققان بر این عقیده‌اند که باکتری محرک رشد با ایجاد تغییرات هورمونی و فعال‌سازی مریستم ریشه باعث تحریک ریشه‌زایی می‌شود [۱۶، ۱۵].

در تحقیقی بـر روی گونه (*Cannabis sativa*) عنوان شد که باکتری *Pseudomonas putida* (سویه R112) در خاک آلوده، غلظـت سـه فلـز کـروم، نیکل و کادمیوم را در اندام هوایی گیاه افزایش داد و می‌توانـد در گیاه‌پالایی اهمیت بالایی داشته باشد [۱۱].

درصد اسانس رزماری در گیاهان تلقیح شده با باکتری کمتر از گیاهان تلقیح نشده با باکتری بود (شکل شماره ۷)). البته به دلیل عملکرد بالاتر پیکر رویشی، گیاهان تلقیح شده با باکتری عملکرد اسانس بیشتری از گیاهان تلقیح نشده با باکتری هستند. اثرات مثبت باکتری محرک رشد بر گیاهان حاوی اسانس مانند ریحان (*Ocimum basilicum*) نیز گزارش شده است. نتایج این تحقیق نشان داد که سویه‌های باکتری محرک رشد می‌توانند اثرات متفاوتی را در گیاهان یکسان القا کند و عملکرد اسانس می‌تواند بر اساس سویه‌های باکتری محرک رشد متفاوت باشد. همچنین کاراجینادس و همکاران اثر معنی‌دار باکتری محرک رشد را بر میزان اسانس دو گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare*) و نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) گزارش کردند [۱۷].

نتایج حاصل نشان داد همچنانکه گیاهان تلقیح شده با باکتری دارای میزان اسانس بالاتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده با باکتری بودند، ترکیبات اسانس در گیاهان تلقیح شده با باکتری نسبت به تلقیح نشده با باکتری متفاوت بود. همزیستی باکتری محرک رشد با گیاهان دارویی نه تنها رشد آنها را بهبود می‌بخشد، بلکه تولید ترکیبات دارویی آنها را نیز افزایش می‌دهد. بنابراین نیاز است که تحقیقات بیشتری درباره بهبود کیفیت و کمیت گیاهان دارویی با کاربرد باکتری‌های محرک رشد انجام شود [۱۷].

در تحقیقی اثر باکتری محرک رشد سودوموناس سویه R52 روی ترکیبات فیتوشیمیایی و تجمع فلـزات در ریحان بررسی شد و نتایج نشان داد که عملکرد انـدام هـوایی، میـزان اسـانس و وزن خشک ریشه ریحان، در غلظت کم کادمیوم، سرب و نیکـل در مقایسه با شاهد افزایش پیدا کـرده است [۱۸]. بررسی-ها نشان داده که استفاده از آب فاضلاب شهری سبب افزایش معنی‌دار در رشد درختان کاج الدار (*Pinus eldarica*) شده است (ارزانی و همکاران، ۱۳۸۵). در ارزیابی اثر آبیاری با فاضلاب تصفیه شده بر خصوصیات خاک منطقه جنگل‌کاری شده با کاج تهران نتایج نشان داد که مواد آلی، SAR و شوری در مناطق متأثر از پساب به ترتیب حدود ۰/۴۵، ۱۲/۸۰ و ۶/۲۵ درصد کمتر از منطقه شاهد بود، اما غلظت پتاسیم، فسفر، ازت و اسیدیته خاک در مناطق متأثر از پساب به ترتیب حدود ppm ۱۲۲، ۸۳/۱۲ ppm، ۰/۰۰۴ درصد بود [۱۹].

تحقیقات نشان داده که با کاربرد ترکیبات محرک رشد، رشد گیاه به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و با کاربرد میزان اندکی از این مواد در حد میکروگرم، محتوای اسانس به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد [۲۰]. تاررافس و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کرده اند که میزان اسانس گیاه رزماری با کاربرد تحریک‌کننده‌های رشد گیاهی بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد [۲۱].

اگرچه نتایج آزمایش حاضر نشان داد که افزایش غلظت پساب باعث کاهش معنی‌دار عملکرد اسانس گیاه رزماری شده است اما حسن‌پور و همکاران (۲۰۱۱) گزارش نمودند که افزایش غلظت فلزات سنگین تأثیر معنی‌داری بر میزان عملکرد اسانس در شرایط کشت بدون استفاده از باکتری‌های محرک رشد بر گیاه کاکوتی نداشت [۲۲] که این تفاوت ممکن است ناشی از اثر نوع گیاه و یا سایر شرایط کشت و تولید باشد.

تریلینی و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که میزان اسانس نعنا تحـت تأثیر مقـادیر افـزوده شـده عنصر کروم به محیط کشت قرار نگرفت ولی تحت تأثیر استفاده از پساب کامل واکنش معنی‌داری نشان داد [۲۵].

اگرچه اسکورا و چانگ (۲۰۰۸) تفاوت معنی‌داری در عملکرد اسانس نعنا کشت شده در ضایعات آلوده به عناصر سنگین مشاهده نکردند [۲۴] ولی تاپالوف و زلجازکو (۲۰۱۶) گزارش نمودند که عملکرد اسانس نعنا فلفلی کشت شده در کمپوست‌های آلوده به عناصر سنگین کاهش یافته است [۲۶]. بنابراین نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که پاسخ مرفوفیزیولوژیک گیاهان دارویی به آلودگی فلزات سنگین و همچنین پساب‌های شهری بسته به نوع گیاه و سایر شرایط کشت و پرورش ممکن است متفاوت باشد.

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر باکتری محرک رشد بر رشد و عملکرد کمی در گیاه دارویی رزماری در شرایط آبیاری با پساب تصفیه شده انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش درصد پساب میزان رشد و عملکرد در رزماری کاهش یافته ولی تلقیح گیاهان با باکتری محرک رشد باعث افزایش تحمل این گیاه شده و رشد و عملکرد را در چنین شرایطی بهبود بخشیده است. در آبیاری با پساب کامل، گیاهان تلقیح شده با باکتری به طور معنی‌داری دارای درصد اسانس بیشتری نسبت به گیاهان تلقیح نشده با باکتری بودند، بنابراین باکتری‌های محرک رشد سبب کاهش اثرات منفی پساب بر درصد اسانس بود. بهرحال وزن تر و وزن خشک اندام هوایی رزماری به طور معنی‌داری تحت تأثیر باکتری محرک رشد، پساب تصفیه شده و اثرات متقابل بین آنها قرار گرفت و سویه باکتری مورد استفاده به طور چشمگیری اثرات منفی پساب بر وزن تر و وزن خشک اندام هوایی رزماری را کاهش داد.

بطورکلی استفاده از میکروارگانیسم‌های مفید خاک مانند باکتری محرک رشد می‌تواند نقش بسیار مهمی در تحریک رشد گیاه در شرایط تنش‌های محیطی از جمله تنش فلزات سنگین و آبیاری با پساب تصفیه شده داشته باشد و تحقیقات بیشتر بر روی باکتری های محرک رشد در راستای تولید پایدار گیاهان دارویی در شرایط تنش‌های محیطی امری ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

1. Emami A, Rezvani Moghadam P and Hafezian A. Investigating the Effect of Different Ratio of Sewage Refined on Some Qualitative Characteristics of Three Forage Forests of Sorghum, Maize and Millet. *J. Iranian Crop Res*. 2007; 5 (2): 45-59.

2. Malekian R, Heidarpour M, Zadehfard M, Abedi B and Jahangir S. Effect of surface and Subsurface Irrigation with Treated Wastewater on Bermuda grass Characteristics. *J. Agr. Sci. and Natu. Res*, 2008; 15 (4): 44-57.

3. Dey SK, Dey J, Patra S and Pothal D. Changes in the antioxidative enzyme activities and lipid peroxidation in wheat seedlings exposed to cadmium and lead stress. *Brazilian J. Plant Physio*. 2007; 19: 53–60.

4. Garbisu C and Alkorta I. Phytoextraction: a Costeffective Plant-based Technology for the Removal of Metals from the Environment. *J. Biores. Tech*. 2001; 77: 229-236.

5. Brain KR and Turner TD. The Practical Evaluation of Phytopharmaceuticals. Bristol: Wright-Scientechnica. 1975, pp: 10-30.

6. Clouse S.D., Zurek D.M., McMorris T.C and Baker M.E. Effect of brassinolide on gene expression in elongating soybean epicotyls. *J. Plant Physio*. 1992; 100: 1377-1388.

7. Paliwal K.K. Karunaichamy T and Anonthavalli M. Effect of Sewage Water Irrigation on Growth Performance, Biomass and Nutrient Accumulation, in Hardwickia binata under nursery conditions. *J. Biores. Tech*. 1998; 66: 105-111.

8. Munir J.M and Rusan S. Hinnawi L and Rousan B. Long term Effect of Wastewater Irrigation of Forage Crops on Soil and Plant Quality Parameters. *J. Desalin*. 2007; 215: 143- 152.

9. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography / quadrupole

mass spectrometry. Allured Publishing Corporation. Carol Stream. 2004.

10. Swamy K, Ram N and Rao S. Influence of 28-homobrassinolid on Growth, Photosynthesis Metabolite and Essential oil of Geranium. *American J. Plant Physi*. 2008; 3 (4): 173-179.

11. Kamalpoor S. Study of the Effect of Biological Factors on Eucalyptus Phytoremediation Efficiency in a lead and Cadmium polluted soil. M.Sc. Thesis. University of Tehran. Karaj, Iran. 2013, P. 149. [In Persian].

12. Karagiannidis N, Thomidis T, Lazari D, Panou-Filotheou E and Karagiannidou C. Effect of three Greek arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of oregano and mint plants. *J. Scie. Hort*. 2011; 129 (2): 329-334.

13. Mozafarian V.A. 2014. Culture of Plants Name of Iran. Contemporary Culture, 435 p. (In Persian).

14. Benavides M P, Gallego S M and Tomaro M. L. Cadmium Toxicity in plants. Brazilian *J. Plant Physio.* 2005; 17 (1): 21-34.

15. Da Fonseca, A.F., Jose´ Melfi, A., Monteiro, F.A., Montes, C.R., de Almeida, V.V. and Herpin U. Treated sewage effluent as a source of water and nitrogen for Tifton 85 bermudagrass. *J. Agric. Water Manage*. 2007; 87: 328-336.

16. Gupta A.P, Dhar J.K, Sharma G, Ram G and Bedi Y.S. Volatile (As and Hg) and non-volatile (Pb and Cd) Toxic Heavy Metals analysis in Rhizome of *Zingiber officinale* Collected from Different Locations of North Western Himalayas by Atomic Absorption Spectroscopy. *J. Food Chem. Toxi*. 2010; 48 (10): 2966-2971.

17. Karagiannidis N, Thomidis T, Lazari D, and Karagiannidou C. Effect of three arbuscular mycorrhizal fungi in improving the growth, nutrient concentration, and production of essential oils of *Mentha piperita* L. *J. Scie. Hort*. 2016; 129 (2): 329-334.

18. AliKhasi M and Taminzadeh M. Effect of Irrigation with Refined Sewage on Cotton Properties. *Iranian J. Soil and Water Res*. 2010; 41 (2): 78-83.

19. Arzani H, Ahmadi A, Azarnivand H and Jafari A.A. Determination and Comparison of Forage Quality of Five Rangeland Species in Different Stages of Phenological Growth, *Iranian J. Agr. Scie*. 2006; 37 (2): 311-303.

20. Tabrizi L. Ecological characteristics of Khorasan Thyme (*Thymus transcaspicus* Klokov) in natural habitats and evaluation of possibility for domestication under low input cropping systems. Ph.D.: Agroecology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. 2007, P. 225. [In Persian].

21. Tarraf S and Ibrahim M.E. Physiological response of rosemary, *Rosmarinus officinalis* L. plant to brassinosteroid and uniconazole. *J. Med. & Arom Plants*, 1999; 7 (4): 230 p.

22. Hassanpouraghdam M, Gohari G, Tabatabaei S, Dadpour, M and Shirdel M. PGPR and Zn foliar application influence essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Acta Agriculturae Slovenica*. 2011; 97 (2): 93-98.

23. Czepak M.P. Produção de óleo bruto e mentol cristalizável em oito freqüências de colheita da menta (*Mentha arvensis* L.). *J. Botan. Scie.* 1998; (3) 2: 53-80.

24. Scora R.W, and Chang A.C. Essential oil quality and heavy metal concentrations of peppermint grown on a municipal sludge-amended soil. *J. Environtalal Quality* 2008; 26 (4): 975-979.

25. Tirillini B, Ricci A, Pintore G, Chessa M and Sighinolfi S. Induction of Hypericins in *Hypericum perforatum* in Response to Chromium. *J. Fitoterapia* 2006; 77: 164-70.

26. Topalov V and Zhelyazkov V. Effect of harvesting on the yield of fresh material, essential oil, and planting material from *Mentha piperita* L. and *Mentha arvensis* L. *J. Herb. Med.* 2016; 50: 60-67.

27. National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) Office of Response and Restoration, 2006. http://response.restoration.noaa.go