Eco–phytochemical of Medicinal Plants
Print ISSN: 2322-3235
Online ISSN: 2783-4697
Islamic Azad University Gorgan Branch
Iranian Society of Medical Plants

The Effect of Fluorescent Pseudomonads on the Phytochemical Characteristics of Reshingari savory (*Satureja rechingeri* Jamzad) under field Conditions

Samaneh Samavat[1*], Mahdiyeh Salehi Vozhdehnazari[2], Fatemeh Sefidkon[2]

[1] Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, Email: samaneh.samavat@rifr-ac.ir, samaneh.samavat@gmail.com

[2] Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Article type:
Research article

Article history
Received: 2024-7-6
Revised: 2024-7-20
Accepted: 2024-07-21

Keywords
Essential Oil
Medicinal Plant
Reshingari Savory
Field
PGPR
Pseudomonas fluorescens

Abstract

In recent years, the use of indigenous isolates of fluorescent pseudomonads to improve essential oils (EOs)' quantity and quality of various medicinal plants has been considered. In present study, samples were taken from the rhizosphere of *Satureja rechingeri* plants located in the habitats of Ilam province, Iran. By producing fluorescent green pigment in King's B medium, fluorescent pseudomonads were screened. From the total of 22 isolates, PF4, PF11, and PF19 were recognized as the superior isolates due to producing the highest amount of pigment and were identified with the help of biochemical tests. The 16-leaf seedlings of savory were transferred to the field two months after planting the seeds in the greenhouse. Each of the two-year-old plants was treated with a suspension (10^7 CFU/ml) of the superior isolate, by adding it to the soil in a randomized complete block design (n=3). Seven months after applying the treatments, which coincided with full flowering stage in the third year of planting, EO was extracted from the flowering branches by water distillation method. The main components of the EOs were identified with the GC-FID set. The percentage yield of the EO was calculated based on the plant dry weight. According to the results, PF4, PF11, and PF19 belonged to biovars II, III, and V of *Pseudomonas fluorescens*, respectively. Based on GC-FID analysis, several compounds such as carvacrol, alpha-thogen, alpha-pinene, myrcene, para-cymene, gamma-terpinene, terpinolene, linalool, trans-caryophyllene, beta-bisabolene, and spatholenol were detected in Reshingari's EO. The carvacrol amount as the main component of EO increased from 82.8% in control to 91.7% in PF11 treatment. The percentage of plants' EO yield increased from 3.02% in the control to 4.4% in the PF11 treatment, significantly (P<0.05). Therefore, the application of the indigenous and compatible *Ps. fluorescens* isolate PF11 is recommended to improve the phytochemical yield of Reshingari savory under field conditions.

Cite this article as: Samavat, S., Salehi Vozhdehnazari, M., Sefidkon, F. (2024). The Effect of Fluorescent Pseudomonads on the Phytochemical Characteristics of Reshingari savory (*Satureja rechingeri* Jamzad) under field Conditions. *Eco-phytochemical of Medicinal Plants*, 12(2): 111-124.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch

اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی
شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۳۲۳۵
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۹۷
دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
انجمن گیاهان دارویی ایران ثبت ۱۸۹۶۳

اثر سودوموناده‌ای فلورسنت بر خصوصیات فیتوشیمیایی مرزه رشینگری (*Satureja rechingeri* Jamzad.) تحت شرایط مزرعه

سمانه سماوات[1*]، مهدیه صالحی وژده نظری[2]، فاطمه سفیدکن[2]

[1] مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، رایانامه: samaneh.samavat@rifr-ac.ir
samaneh.samavat@gmail.com

[2] مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۱۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۵/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۳۱

واژه‌های کلیدی:
اسانس
گیاه دارویی
مرزه رشینگری
مزرعه
PGPR
Pseudomonas fluorescens

چکیده

در سال‌های اخیر، کاربرد جدایه‌های بومی از سودوموناده‌ای فلورسنت برای بهبود کمیت و کیفیت اسانس انواعی از گیاهان دارویی مورد توجه قرار گرفته است. در پژوهش حاضر، از ریزوسفر بوته‌های مرزه رشینگری (*Satureja rechingeri*) مستقر در رویشگاه‌های استان ایلام نمونه‌برداری شد. با تولید رنگدانه سبز فلورسنت در محیط King's B، سودوموناده‌ای فلورسنت غربالگری شدند. از مجموع ۲۲ جدایه، جدایه‌های PF4، PF11 و PF19 به سبب تولید بیشترین میزان رنگدانه، به عنوان جدایه‌های برتر شناخته شدند و به کمک آزمون‌های بیوشیمیایی شناسایی شدند. گیاهچه‌های ۱۶ برگی مرزه دو ماه پس از کاشت بذور در گلخانه، به مزرعه منتقل شدند. هر یک از بوته‌های دو ساله مرزه با سوسپانسیونی (10^7 سلول در میلی‌لیتر) از جدایه برتر، به روش افزودن به خاک در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار، تیمار شدند. هفت ماه پس از اعمال تیمارها که مصادف با مرحله گل‌دهی کامل در سال سوم کاشت بود، از سرشاخه‌های گلدار، به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد و با دستگاه GC-FID، اجزای اصلی تشکیل‌دهنده اسانس شناسایی شد و درصد بازده اسانس بر حسب وزن خشک گیاه محاسبه شد. بر طبق نتایج، جدایه‌های PF4، PF11 و PF19 به ترتیب متعلق به بیووارهای II، III و V از *Pseudomonas fluorescens*، بودند. بر طبق نتایج آنالیز GC-FID، ترکیبات متعددی نظیر کارواکرول، آلفا-توژن، آلفا-پینن، میرسن، پارا-سیمن، گاما-ترپینن، ترپینولن، لینالول، ترانس-کاریوفیلن، بتا-بیسابولن و اسپاتولنول در اسانس مرزه رشینگری ردیابی شد. مقدار کارواکرول به عنوان ترکیب عمده اسانس، از ۸۲/۸ درصد در شاهد به ۹۱/۷ درصد در تیمار PF11 رسید. درصد بازده اسانس گیاهان در تیمار با جدایه باکتریایی PF11 به طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که از ۳/۰۲ درصد در شاهد به ٤/٤ درصد رسید($P<0.05$). بنابراین، به‌کارگیری جدایه بومی و سازگار PF11 *P. fluorescens* در مزارع تحت کشت مرزه رشینگری به منظور بهبود عملکرد فیتوشیمیایی آن توصیه می‌گردد.

استناد: سماوات، سمانه؛ صالحی وژده نظری، مهدیه؛ سفیدکن، فاطمه (۱۴۰۳). اثر سودوموناده‌ای فلورسنت بر خصوصیات فیتوشیمیایی مرزه رشینگری (*Satureja rechingeri* Jamzad.) تحت شرایط مزرعه. *فصلنامه اکوفیتوشیمی گیاهان دارویی*، ۱۲ (۲)، ۱۲٤-۱۱۱.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

گیاه مرزه (*Satureja* L.) متعلق به خنواده نعنا (Lamiaceae) و دارای تعداد زیادی گونه و زیرگونه است. در ایران، برای این جنس ۱۵ گونه مختلف معرفی شده که از میان آنها گونه‌های *S. edmondi*، *S. kallarica*، *S. intermedia*، *S. bachtiarica*، *S. rechingeri*، *S. isophylla*، *S. sahendica*، *S. atropatanatana* و *S. khuzistanica*، *S. kermanshahensis*، بومی و انحصاری است (Shahnazi et al., 2008; Jamzad, 2010). گونه‌های انحصاری مذکور در بسیاری از مناطق کشور شامل استان‌های کرمانشاه، مازندران، چهارمحال و بختیاری، کردستان، آذربایجان، اصفهان، گیلان، فارس، کهکیلویه و بویراحمد، خراسان و لرستان می‌رویند. سایر گونه‌ها علاوه بر ایران در قفقاز، ترکمنستان، عراق، ماورای قفقاز و ترکیه نیز رویش دارند. از آنجایی که اسانس این گیاهان شامل مقادیر قابل توجهی از ماده مؤثره ارزشمندی چون کارواکرول است، در میان انواعی از گیاهان دارویی، از جایگاه ویژه‌ای برخوردارند (Sefidkon et al., 2016a).

از بین گونه‌های بومی فلور ایران، مرزه رشینگری (*S. rechingeri* Jamzad)، به عنوان گیاه دارویی چند ساله و معطر در مناطق آفتابی، خشک و خاک‌های آهکی و سنگلاخی جنوب غرب ایران می‌روید (Afzalifar et al., 2019). اسانس این گونه، غنی از ترکیب فنلی کارواکرول[1] و عصاره آن شامل اسیدهای فنلی آزاد بخصوص رزمارینیک اسید[2] است که منجر به فعالیت زیستی قابل ملاحظه آن شده است (Hadian et al., 2012). مرزه رشینگری در طب سنتی به عنوان آنتی‌اکسیدان، ضد التهاب، مسکن، تسهیل‌دهنده هضم، مدر، و ضدعفونی کننده و نیز به‌عنوان دمنوش و ادویه کاربرد دارد (Amiri and Ghasemi Ramadanabad, 2018).

به این ترتیب، با توجه به بازده بالای اسانس مرزه رشینگری و اثرات قوی ضدمیکروبی آن، توسعه کشت آن ضروری می‌نماید (Sefidkon et al., 2016b). از طرف دیگر، کشت و اهلی کردن گیاه دارویی همچون مرزه رشینگری ممکن است باعث تغییراتی در نوع و درصد اجزای تشکیل دهنده اسانس‌شان شود که این امر می‌تواند منجر به افت کمیت و کیفیت اسانس و حتی میزان رشد گیاه شود (Sefidkon et al., 2016b). اهمیت کاربرد کودهای زیستی به عنوان روش جایگزین برای کودهای شیمیایی، در رابطه با گیاهان دارویی که در ارتباط مستقیم با سلامتی انسان هستند، محرز است. در واقع در این قبیل کودهای زیستی از عوامل میکروبی مفیدی موسوم به ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR[3]) به منظور حفظ کیفیت مطلوب خاک و افزایش راندمان جذب عناصر غذایی توسط گیاه بهره برده می‌شود. این قبیل ریزوباکترها از طریق مکانیسم‌های مختلفی همچون تولید فیتوهورمون‌ها، ممانعت از تولید اتیلن، افزایش حلالیت فسفات مورد نیاز گیاه، تولید سیدروفورهای میکروبی، و تثبیت ازت، در بهبود رشد گیاه به لحاظ کمی و کیفی نقش دارند (Samavat et al., 2012). در این میان باکتری‌های متعلق به گروه سودوموناده‌ای فلورسنت از جایگاه ویژه‌ای برخوردار هستند. این باکتری‌ها در شرایط کمبود آهن، تولید سیدروفوری به رنگ سبز فلورسنت، موسوم به پایووردین می‌کنند (Bossis et al., 2000). سیدروفورها که از ترکیبات کلاته کننده آهن هستند و توسط این قبیل میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند، قابلیت دسترسی گیاه به آهن قابل جذب را در ریزوسفر افزایش می‌دهند و در پی آن در بهبود

[1] Carvacrol
[2] Rosmarinic acid
[3] Plant Growth Promoting Rhizobacteria

رشد گیاه به لحاظ کمی و کیفی نقش بسزایی ایفا می‌کنند (Hofte et al., 1991).

گروه سودوموناده‌ای فلورسنت، شامل گونه‌هایی چون *Pseudomonas fluorescens*، *P. aeruginosa*، *P. chlororaphis*، *P. syringae*، *P. putida* و غیره هستند. جنس *Pseudomonas* (زیرده گاماپروتئوباکترها[1])، گرم منفی، میله‌ای، متحرک و فاقد توانایی تولید اسپور هستند که از تنوع اکولوژیکی بالایی برخوردارند (Palleroni, 1993). توانایی برخی از اعضای این گروه از باکتری‌ها در تحریک رشد گیاهان به‌عنوان عوامل PGPR به اثبات رسیده است (Bossis et al., 2000).

بنابراین با توجه به اهمیت توسعه کشت گیاه دارویی مرزه رشینگری، تلاش در جهت بهبود رشد گیاه، کیفیت و کمیت اسانس این گونه گیاهی و لزوم مدیریت اکولوژیک آن، تحقیق حاضر به منظور غربالگری، جداسازی و شناسایی سودوموناده‌ای فلورسنت موجود در ریزوسفر مرزه رشینگری از رویشگاه‌های طبیعی، و بررسی اثرات آن‌ها بر کمیت و کیفیت اسانس بوته‌های مرزه تحت شرایط مزرعه انجام گردید.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط کاشت: بذور مرزه رشینگری از رویشگاه‌های منطقه مهران واقع در استان ایلام (٣٣ درجه و ٧ دقیقه و ١٥ ثانیه عرض شمالی و ٤٦ درجه و ٩ دقیقه و ٥١ ثانیه طول شرقی) جمع‌آوری شد و پس از شناسایی علمی براساس صفات ریخت‌شناختی (دارای برگ‌های نقره‌ای مایل به خاکستری و گلهایی زرد کمرنگ است)، در اوایل اسفند سال ١٣٩٩ در سینی نشاء (حاوی درصد٨٠ پیت‌ماس و ٢٠ درصد پرلیت) در گلخانه پژوهشی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور کاشته شد. نشاءها به‌صورت یک روز در میان آبیاری شدند. پس از رسیدن نشاءها به ارتفاع حدود ١٠ سانتی‌متر، در اواخر فروردین که مصادف با مرحله ١٦ برگی بود، به مزرعه پژوهشی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور واقع در استان تهران منتقل شدند. مختصات جغرافیایی محل کشت شامل عرض جغرافیایی ٣٥ درجه و ٤١ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ٥١ درجه و ١٩ دقیقه شرقی، در ارتفاع ١٣٢٠ متری از سطح دریا، با شیب اصلی ٢/٦ درصد (شمال به جنوب) و شیب فرعی ١/٩ درصد (غرب به شرق) است. در سیستم طبقه‌بندی آمبرژه از آب و هوای خشک و سرد با میانگین درجه حرارت سالانه ١٧/٢ درجه سانتی‌گراد برخوردار است. حداکثر دمای سالانه ٤٣ درجه سانتی‌گراد در تیرماه و حداقل آن ١٥- درجه سانتی‌گراد در دی‌ماه با متوسط بارندگی سالانه ٢٣٠/٥ میلی‌متر است. انتخاب تکرارها (سه عدد) به‌طور تصادفی و از سه بلوک با حداقل ١٠ بوته، انجام شد. کرت‌ها در ابعاد ٢×٢ متر و با فاصله ٢ متر از هم و فاصله بین بلوک‌ها ٣ متر بود. آبیاری به‌صورت قطره‌ای انجام شد که در ابتدای رشد گیاهچه‌ها، دو نوبت در هفته و پس از استقرار گیاه، به یک نوبت در هفته در روزهای خنک و یک روز در میان در روزهای گرم رسید. کنترل علف‌های هرز هم به روش دستی انجام شد. برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه، در جدول (١) آورده شده است.

جداسازی و خالص‌سازی سودوموناده‌ای فلورسنت: تعداد ٢٢ جدایه متعلق به سودوموناده‌ای فلورسنت از سه نمونه خاک ریزوسفری و ریشه گرفته شده از بوته‌های مختلف مرزه رشینگری مستقر در رویشگاه‌های استان ایلام غربالگری و خالص‌سازی شدند. برای این منظور، از روش پورپلیت و کشت باکتری‌ها بر روی محیط کشت افتراقی King's B

[1] Gammaproteobacteria

استفاده شد. به‌منظور ممانعت از رشد قارچ‌ها، آنتی‌بیوتیک سیکلوهگزمید به نسبت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به محیط‌کشت اضافه شد. پس از کشت، باکتری‌ها به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای ۲±۲۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار داده شدند. سپس اقدام به جداسازی پرگنه‌هایی شد که در برابر لامپ UV بیشترین خاصیت فلورسنس را نشان دادند (Rasouli Sedghiani et al., 2006).

شناسایی سودوموناد‌های فلورسنت: شناسایی سه جدایه باکتریایی برتر (PF4, PF11, PF19)، به کمک روش‌های بیوشیمیایی و مطابق با روش‌های استاندارد انجام گرفت. برای این منظور آزمون حساسیت به KOH سه درصد مطابق روش Suslow و همکاران (۱۹۸۲)، آزمون فوق حساسیت در توتون بر اساس Klement و همکاران (١٩٦٤)، تولید لوان در محیط کشت دارای سوکروز پنج درصد و احیای نیترات به روش Lelliot و همکاران (١٩٨٤)، آزمون هوازی یا بی‌هوازی بودن (O/F) طبق روش Hugh و Leifson (۱۹۵۳)، هیدرولیز آرژنین مطابق Thornley (۱۹۶۰)، آزمون اکسیداز به روش Kovacs (١٩٥٦)، آزمون‌های کاتالاز، گرم، تولید آنزیم‌های پکتیناز، لهاندن سیب زمینی، تحمل نمک طعام پنج درصد، رشد در دمای ٤ و ٤١ درجه سانتی‌گراد و تولید رنگ فلورسنت در محیط کشت King's B مطابق روش Schaad و همکاران (۲۰۰۱)، آزمون‌های لستیناز و ذوب ژلاتین به روش Mac Faddin (۱۹۸۰) و هیدرولیز نشاسته مطابق Graham و Hodgkiss (١٩٦٧) انجام شد.

در بررسی جدایه‌ها به لحاظ تولید قند از کربوهیدرات‌های گلوکز، فروکتوز، گالاکتوز، سوکروز، ترهالوز، زایلوز، آرابینوز، سوربیتول، آدونیتول، مزو-اینوزیتول، اتانول و گلیسرول و استفاده آن‌ها از اسیدهای آمینه و اسیدهای آلی شامل نیکوتینات، سیترات، مالات، تریپتوفان و آرژنین از محیط پایه Ayer (Ayer et al., 1919)، استفاده شد. تمامی اسیدهای آمینه، قندها و اسیدهای آلی پس از تندال شدن[1] با غلظت نهایی ۰/۲ درصد به محیط پایه Ayer که حاوی ۱/۲ درصد آگارز بود اضافه شدند.

تیمار بوته‌های مرزه رشینگری با سوسپانسیون جدایه‌های باکتریایی برتر: از کشت ٤٨ ساعته هریک از سه جدایه باکتریایی برتر(PF4, PF11, PF19) از گونه *P. fluorescens*، در محیط کشت King's B، به کمک آب مقطر استریل، سوسپانسیونی با جمعیت 10^7 کلنی در میلی‌لیتر بر اساس روش طیف‌سنجی نوری تهیه شد. در اواسط اردیبهشت، ۲۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر یک از جدایه‌های باکتریایی به روش افزودن به خاک به هر یک از بوته‌های دو ساله مرزه رشینگری کاشته شده در شرایط مزرعه، افزوده شد (شکل ۱). به تیمار شاهد در شرایط مشابه فقط آب مقطر داده شد (Bashan, 1998).

بررسی‌های فیتوشیمیایی: پس از گذشت هفت ماه از زمان اعمال تیمارها که مصادف با مرحله گل‌دهی کامل در سال سوم کاشت بود، از گل و سر شاخه گلدار گیاه در مرحله گل‌دهی کامل، برداشت شد (شکل ۲). پس از خشک شدن نمونه‌ها در شرایط سایه و دمای ۲±۳۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۰۰ گرم از نمونه خشک شده توسط آسیاب برقی پودر شدند. اسانس‌گیری توسط دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب و در طی مدت سه ساعت انجام شد. رطوبت احتمالی اسانس‌ها با پودر سولفات سدیم بی آب (Na_2SO_4) به‌عنوان ماده جاذب رطوبت، حذف شد. اسانس‌های به دست آمده تا زمان تزریق به‌دستگاه گاز کروماتوگرافی در یخچال (دمای٤ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. بازده اسانس براساس وزن خشک سرشاخه مطابق فرمول زیر محاسبه شد.

درصد بازده اسانس= وزن اسانس (گرم) /وزن خشک سرشاخه گلدار اولیه (گرم) × ۱۰۰

1 Tyndallization

شکل ۱: اعمال تیمارهای باکتریایی به بوته‌های مرزه رشینگری در شرایط مزرعه (عکس از نگارنده)

شکل ۲: گل و سرشاخه‌های گلدار بوته‌های تیمار شده مرزه رشینگری با جدایه *P. fluorescens* (PF11) (عکس از نگارنده)

شکل ۳: اسانس‌گیری از سرشاخه گلدار مرزه رشینگری با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب (عکس از نگارنده)

کروماتوگرافی گازی فوق سریع (GC-FID): به‌منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس بوته‌های تیمار شده مرزه رشینگری، نمونه‌های اسانس به دستگاه کروماتوگراف گازی فوق سریع (Thermo-

UFM) مجهز به آشکارساز یونیزاسیون شعله (FID) و داده پرداز با نرم‌افزار Chrom-Card 2006 مورد استفاده قرار گرفت. دستگاه دارای ستون DB-5 نیمه قطبی (به طول ١٠ متر، قطر داخلی ٠/١ میلی‌متر و ضخامت لایه فاز ساکن برابر ٠/٤ میکرومتر) بود. گاز حامل، هلیوم و فشار آن در ابتدای ستون برابر سه کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع، دمای قسمت تزریق ٢٨٠ درجه سانتی‌گراد و دمای آشکارساز ٢٨٠ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود. به این ترتیب طیف‌های جرمی و کروماتوگرام‌های مربوطه بدست آمد و سپس با استفاده از زمان بازداری، شاخص بازداری کواتس، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم‌افزار مربوطه، ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های مورد بررسی، مورد شناسایی کمی و کیفی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری

کشت گیاهان در شرایط مزرعه در قالب طرح بلوک کامل تصادفی و با سه تکرار به ازای هر تیمار انجام شد. داده‌های حاصل از بررسی بازده اسانس در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی و با سه تکرار مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (IBM SPSS Statistics V 26) انجام شد.

نتایج

آنالیز خاک مزرعه: براساس آنالیز انجام گرفته، خاک منطقه دارای بافت لومی شنی و اسیدیته ٧/٨ بود. دیگر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه محل اجرای پروژه شامل: ازت کل: ٠/٠٦ درصد، کربن آلی: ٠/٤٩ درصد، پتاسیم قابل جذب: ١٧/ ٤٣ پی‌پی‌ام، فسفر قابل جذب: ٤/٣ پی‌پی‌ام، شوری: ١/٢٩ دسی‌زیمنس بر متر، رطوبت اشباع: ٢٥/٦١ درصد، آهک: ٥/٥ درصد، گچ: ناچیز، آهن: ٧/٧ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کربنات محلول: ٤/٨ میلی‌اکی‌والان بر لیتر، بی کربنات محلول: ١٢ میلی‌اکی‌والان بر لیتر، منیزیوم: ٤/٤٨ میلی‌اکی‌والان بر لیتر، کلسیم: ٢/١٦ میلی‌اکی‌والان بر لیتر و سدیم: ٤٨/٦٤ میلی‌اکی‌والان بر لیتر بود.

شناسایی سودوموناده‌ای فلورسنت: شناسایی سه جدایه باکتریایی برتر (PF4, PF11, PF19) با تکیه بر روش‌های بیوشیمیایی انجام گرفت (جدول ١). بر اساس نتایج به‌دست آمده جدایه PF4 متعلق به *P. fluorescens* bv. II، جدایه PF11 متعلق به *P. fluorescens* bv. III و جدایه PF19 متعلق به *P. fluorescens* bv. V تشخیص داده شدند.

بررسی‌های فیتوشیمیایی

آنالیز GC-FID: نتایج مربوط به آنالیز GC-FID مربوط به اسانس بوته‌های مرزه رشینگری تیمار شده با جدایه‌های باکتریایی برتر در جدول (٢) نشان داده شده است. از مجموع یازده ترکیب مختلف شناسایی شده در اسانس مرزه رشینگری، بیشترین مقدار (درصد) در تمام تیمارهای مورد مطالعه مربوط به کارواکرول بود. همچنین بر طبق نتایج، مقدار آن در تیمارهای باکتریایی در قیاس با شاهد افزایش نشان داد. به طوری که از میزان ٨٢/٨ درصد در تیمار شاهد به ٩١/٧ درصد در تیمار بوته‌های مرزه رشینگری با جدایه PF11 رسید.

جدول ۱: ویژگی‌های فنوتیپی جدایه‌های باکتریایی برتر جداسازی شده از ریزوسفر مرزه رشینگری

آزمون	PF19	PF11	PF4
O/F	O	O	O
KOH ۳ درصد	+	+	+
کاتالاز	+	+	+
گرم	+	+	+
NaCl ۵ درصد	+	+	+
هیدرولیز نشاسته	-	-	-
رنگدانه فلورسنت	+	+	+
رنگدانه غیرفلورسنت	-	-	-
آرژنین دهیدرولاز	+	+	+
اکسیداز	+	+	+
احیای نیترات	-	+	+
لستیناز	+	+	-
لهیدگی سیب زمینی	-	-	-
فوق حساسیت (HR)	-	-	-
لوان	-	-	+
رشد در ٤٢ درجه سانتی‌گراد	-	-	-
رشد در ٤ درجه سانتی‌گراد	+	+	+
ذوب ژلاتین	+	+	+
استفاده از ال-آرابینوز	+	+	+
استفاده از دی-زایلوز	+	+	+
استفاده از ال- تارتاریک اسید	+	+	-
استفاده از دی- آلانین	+	+	+
استفاده از سوربیتول	+	+	+
استفاده از ترهالوز	-	+	+
استفاده از دی- گالاکتوز	+	+	+
استفاده از سوکروز	+	+	+
استفاده از مزو اینوزیتول	+	+	+
استفاده از آدونیتول	-	+	-
استفاده از اتانول	+	+	+
استفاده از ژرانیول	-	-	-
استفاده از بوتیرات	+	+	+
استفاده از والرات	+	+	+
استفاده از نیکوتینات	+	-	-
استفاده از فنیل استات	-	-	-

آزمون	PF19	PF11	PF4
استفاده از بوتیل آمین	+	+	-
استفاده از گلوکز	+	+	+
استفاده از فروکتوز	+	+	+
استفاده از گلیسرول	+	+	+
استفاده از سیترات	+	+	+
استفاده از مالات	+	+	+
استفاده از تریپتوفان	-	-	-
استفاده از آرژنین	+	+	+

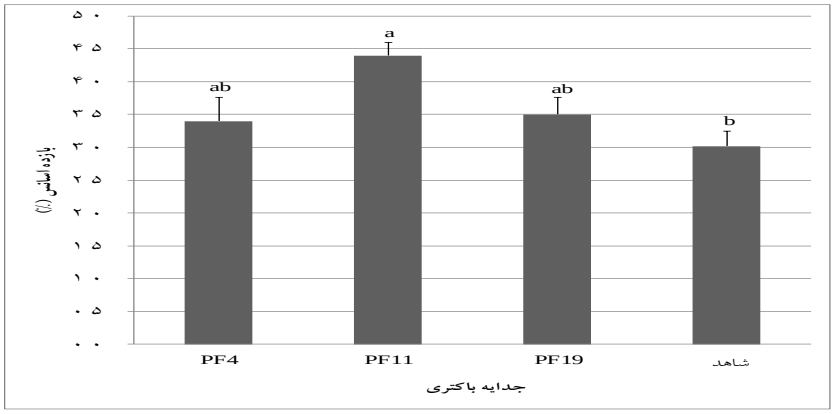
(-): واکنش منفی، (+): واکنش مثبت

جدول ۲: مقادیر اجزای اصلی اسانس بوته‌های تیمار شده مرزه رشینگری با جدایه‌های PF11، PF4، و PF19 از باکتری *P. fluorescens* در مقایسه با تیمار شاهد در آنالیز با دستگاه GC-FID

نام اجزا	شاخص بازداری (RI)	PF11	PF4	PF19	شاهد
		مقدار اجزا (درصد)			
آلفا-توژن	٩٢٤/٤	٠/٥	٠/٨	٠/٥	١/٤
آلفا-پینن	٩٣١/١	٠/٥	٠/٤	٠/٣	٠/٧
میرسن	٩٨٦/٥	–	١/٤	١/٥	٢/٣
پارا-سیمن	١٠١١/١	٠/٢	٢/٣	٢/٣	٤
گاما-ترپینن	١٠٤٩/٠	٠/٣	١/٥	٢/١	١/٦
ترپینولن	١٠٥٢/٩	٠/٣	٠/٥	٠/٨	٠/٧
لینالول	١٠٨٤/٤	٠/٣	٠/٧	٠/٨	٠/٩
کارواکرول	١٢٩٢/٣	٩١/٧	٨٨/٩	٨٧/٣	٨٢/٨
ترانس-کاریوفیلن	١٣٧٦/٠	٢	٠/٨	٠/٩	٠/٧
بتا-بیسابولن	١٤٩٣/٦	٣/٤	١/٤	١/٣	١/٩
اسپاتولنول	١٥٢٢/٦	١	–	٠/٢	٠/٣

درصد اجزای اسانس نشان داده شده در جدول حاصل تزریق نسبت مساوی از سه تکرار هر نمونه اسانس است.

بازده اسانس: بیشترین مقدار بازده اسانس در تیمار بوته‌های مرزه رشینگری با جدایه PF11 (٤/٤ درصد) مشاهده شد. تیمار با این جدایه منجر به اختلاف آماری معنی‌داری در قیاس با شاهد به لحاظ درصدازده اسانس شد ($P<0.01$) در مقایسه با شاهد، تیمار با جدایه‌های PF19 و PF4 نیز منجر به افزایش درصد بازده اسانس شد ولی اختلاف آماری معنی‌داری از این نظر نشان ندادند (شکل ٤). نتایج تجزیه واریانس مربوطه در جدول (٣) آورده شده است.



شکل ٤: اثر تیمار با جدایه‌های باکتریایی (PF4, PF11, PF19) بر میزان درصد بازده اسانس مرزه رشینگری (n=3). آزمون در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی انجام شده است. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری است ($P<0.01$).

جدول ٣: تجزیه واریانس درصد بازده اسانس بوته‌های مرزه رشینگری تیمار شده توسط جدایه‌های باکتریایی برتر متعلق به *P. fluorescens* (PF4, PF11, PF19) در قیاس با شاهد (n=3). آزمون در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی انجام شده است ($P<0.01$).

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	ارزش F	معنی‌داری
بین تیمارها	٣	٣/٠٧٤٤	١/٠٢٤٨	١٣/٩٨	٠/٠٠٢ **
خطا (درون تیمارها)	٨	٠/٥٨٦٤	٠/٠٧٣٣		
مجموع	١١	٣/٦٦٠٨			
درصد ضریب تغییرات	١٦/١١				

** معنی‌دار در سطح احتمال ٩٩ درصد

بحث

کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاهان دارویی تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی (از قبیل نور، دما، اشعه ماورای بنفش و غیره)، مراحل فیزیولوژیکی رشد و نمو، زمان کاشت و برداشت، کوددهی، شرایط کشت، اندام مورد استفاده و عوامل میکروبی پیرامون گیاه است. اگرچه کنترل عوامل محیطی به صورت کامل میسر نبوده ولی می‌توان با توجه به ابزارها و شیوه‌های مؤثر مدیریتی اثرات آن را به گونه‌ای کنترل کرد که گیاه تحت آن شرایط قابلیت بالقوه خود را نشان دهد (Haj seyed hadi et al., 2002). در این راستا، کاربرد عوامل PGPR می‌تواند نقشی اساسی در حصول شرایط مناسب در طول دوره رشد و نمو گیاه داشته باشد. عوامل PGPR که غالباً متعلق به جنس‌های *Pseudomonas*، *Bacillus*، *Entrobacter*، *Azotobacter* و *Azospirillum* هستند. از طریق انواعی از مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم منجر به تحریک رشد گیاهان می‌شوند. مکانیسم‌های مستقیم آن‌ها شامل تولید انواعی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، تولید سیدروفورها، تثبیت نیتروژن، حل‌کنندگی فسفات معدنی و مکانیسم‌های غیرمستقیم شامل کنترل بیمارگرهای گیاهی از طریق القای مقاومت سیستمیک، تولید انواعی از آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌های هضم‌کننده سلولی، سیدروفورها، باکتریوسین‌ها و رقابت است (Panpatte et al., 2016). همچنین بر طبق گزارش محققین، در گیاهان دارویی مسیرهای خاص سنتز متابولیت‌های ثانویه می‌تواند تحت تأثیر میکروارگانیسم‌ها القا شود (Sanchez et al., 2004).

به‌عنوان مثال باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد با تولید تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (اکسین، سیتوکنین و جیبرلین) به‌عنوان محرک (الیسیتور) در سنتز تروپان آلکالوئیدهای گیاه بذرالبنج (*Hyoscyamus niger*) عمل کرده و متعاقباً منجر به افزایش محتوی و عملکرد هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه و شاخساره آن می‌شود (Ghorbanpour et al., 2011).

براساس یافته‌های پژوهش حاضر، مشخص شد که از بین ۲۲ جدایه به‌دست آمده از سودوموناداهای فلورسنت مستقر در ریزوسفر مرزه رشینگری، سه جدایه PF4، PF11 و PF19، که متعلق به گونه *P. fluorescens* بودند، از بیشترین قابلیت به لحاظ تولید سیدروفور برخوردار بودند. در ارزیابی فلور میکروبی ریزوسفر گونه‌های مختلف گیاهی، نیز مشخص شده است که به لحاظ تعداد، گروه سودوموناداهای فلورسنت از برتری بیشتری در مقایسه با سایر گروه‌های باکتریایی برخوردار هستند و جدایه‌ها و گونه‌های متنوع درون این گروه، از نظر توانایی در تولید انواع مختلف سیدروفور متنوع هستند (Rasouli Sedghiani et al., 2006).

کاربرد عوامل PGPR به صورت انواعی از کودهای بیولوژیکی به منظور بهبود عملکرد برخی محصولات کشاورزی اگرچه قدمت زیادی دارد ولی در حوزه گیاهان دارویی مطالعات معدودی در این زمینه انجام گرفته است. با توجه به مشکلات زیست‌محیطی متعددی که مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی به همراه داشته است، کاربرد کودهای بیولوژیکی در تولیدات محصولات مختلف زراعی، مجدداً مورد توجه بسیار قرار گرفته است. در این زمینه سعی بر آن است تا از پتانسیل میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی به منظور تولید حداکثر محصول و در عین حال ارتقای کیفیت خاک و رعایت بهداشت و ایمنی محیط زیست استفاده شود. امروزه کودهای بیولوژیکی به عنوان جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی (اعم از فسفات، ازت، گوگرد و آهن) با هدف افزایش باروری خاک و تولید محصولات در کشاورزی پایدار محسوب می‌شوند. کودهای بیولوژیکی در قیاس با کودهای شیمیایی مزیت‌های قابل توجهی دارند، از جمله این‌که در چرخه غذایی، تولید مواد سمی نمی‌کنند، قابلیت تکثیر خود به خودی دارند، باعث اصلاح خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک می‌شوند، از نظر اقتصادی مقرون به صرفه و سازگار با محیط‌زیست هستند (AghaAlikhani et al., 2013).

در مطالعه اثرات عوامل PGPR در تحریک‌کنندگی رشد گیاهان دارویی، علاوه بر شاخص‌های رویشی، بررسی فاکتورهای فیتوشیمیایی، به ویژه اجزای اصلی اسانس، نیز از اهمیت بسیاری برخوردار هستند. کارواکرول یک مونوترپن فنلی با فرمول بسته $C_{10}H_{14}O$ با بوی تند و گرم استوایی است که به طور طبیعی در برخی از گیاهان خانواده نعنا از جمله مرزنجوش (*Origamum*)، آویشن (*Thymus*) و مرزه (*Satureja*) وجود دارد (Mirza et al., 1996). این ترکیب دارای اثرات قوی ضدمیکروبی است و از آنجایی که سمیتی پایین همراه با طعم و رایحه مطبوع و خواص آنتی‌اکسیدانی دارد، به‌عنوان یک افزودنی نگهدارنده در صنایع غذایی مطرح است (Özkan et al., 2011). میزان کارواکرول به عنوان مهمترین ترکیب تعیین‌کننده ارزش دارویی اسانس مرزه رشینگری محسوب می‌شود. این میزان برای جمعیت‌های مختلف بوته‌های سه ساله مرزه رشینگری بین ۸۰ درصد تا ۸۷ درصد در روش تقطیر با بخار آب حاصل شده بود. در گیاهان دو ساله نیز بین ۸۲ درصد تا ۸۸ درصد اسانس را کارواکرول تشکیل داده بود (Sefidkon et al., 2007). گونه‌هایی که ترکیب کارواکرول، بیش از ۵۰ درصد اسانس آن‌ها را تشکیل

می‌دهد، مثل مرزه خوزستانی، مرزه رشینگری و مرزه بختیاری از نظر تجاری حائز اهمیت هستند و برای کشت و اهلی کردن و بهره‌برداری توصیه شده‌اند (Totonchian, 2011). برطبق نتایج به دست آمده در این پژوهش نیز مشخص شد که میزان کارواکرول از ۸۲/۸۲ درصد در تیمار شاهد به ۹۱/۷۱ درصد در تیمار با جدایه PF11 رسید. Haj Seyed Hadi و Darzi (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که احتمالاً کود زیستی نیتروژنه سوپرنیتروپلاس که محتوی باکتری‌هایی چون *P. fluorescens*، *Bacillus subtilis* و *Azospirillum lipoferum* است، از طریق تأثیرات افزایشی و تقویت کننده در رشد و نمو ریشه موجب افزایش مقدار کارواکرول در مرزه تابستانه نسبت به شاهد می‌شود.

یافته‌های Sefidkon و همکاران (٢٠١٦a) نشان داد که به غیر از کارواکرول، در اسانس مرزه رشینگری ترکیبات دیگری نظیر پی-سیمن، گاما-ترپینن، تیمول، میرسن، ترپینولن، آلفا- پینن و غیره نیز ردیابی شده است. Mousavi (٢٠١٦) نیز گزارش کرد که مهمترین ترکیبات شیمیایی اسانس مرزه رشینگری شامل کارواکرول، پارا-سیمن، گاما-ترپینن، لیمونن، ١،٨- سینئول، اورژنول، میرسن و آلفا-توژن است. بر طبق یافته‌های پژوهش حاضر نیز ترکیباتی نظیر کارواکرول، آلفا-توژن، آلفا-پینن، میرسن، پارا-سیمن، گاما-ترپینن، ترپینولن، لینالول، ای-کاریوفیلن، بتا-بیسابولن و اسپاتولنول در اسانس مرزه رشینگری ردیابی شد. بر این اساس، این نتایج با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد.

بر طبق گزارش Sefidkon و همکاران (٢٠١٦a) میزان بازده اسانس مرزه رشینگری در جمعیت‌ها و سال‌های مختلف بین ۰/۷ درصد تا شش درصد متغیر است. Sefidkon و همکاران (۲۰۰۷) اظهار داشتند که بازده اسانس اندام‌های هوایی مرزه رشینگری جمع آوری شده از رویشگاه در ابتدای گلدهی، به روش تقطیر با آب ٤/٧٢ درصد می‌باشد. همچنین Sefidkon و همکاران (٢٠١٦a) نشان دادند که بازده اسانس و مقدار کارواکرول نمونه‌های کشت شده مرزه رشینگری نسبت به نمونه‌های خودرو بهبود یافته بود. بر این اساس، کشت و توسعه مرزه رشینگری را در شرایط زراعی مناسب توصیه کرده‌اند. نتایج حاصل از این پژوهش نیز حاکی از آن است که میزان بازده اسانس مرزه رشینگری کشت شده در شرایط مزرعه از ۳/۰۲ درصد در شاهد به ٤/٤ درصد در تیمار با جدایه باکتریایی PF11 رسید. به این ترتیب تیمار با جدایه‌های باکتریایی با قابلیت تولید سیدروفور از اثرات افزایشی بر میزان بازده اسانس مرزه رشینگری برخوردار بود. Zarehpour و همکاران (٢٠٢٤) نیز گزارش کردند که تیمار توأم بوته‌های بومادران با باکتری‌های *P. putida* و *Azotobacter chrococcum* تحت شرایط مزرعه، به‌ترتیب منجر به افزایش معنی‌دار ٣٦/١٨ و ١/٦٦درصدی میزان اسانس و بازده اسانس در قیاس با تیمار شاهد شد. Fallahi و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که تیمار بذور بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilela*) با کود زیستی نیتروژنه نیتروکسین که حاوی جدایه‌هایی از *Azotobacter* sp. و *Azospirillum* sp. است و نیز جدایه‌هایی از باکتری‌های حل‌کننده فسفات منجر به اثرات معنی‌دار مثبتی بر صفات کمی (تعداد شاخه اصلی، تعداد گل‌آذین در بوته، قطر گل، عملکرد گل تر و خشک، و عملکرد بذر) و کیفی (عملکرد اسانس و عملکرد کامازولن در هکتار) آن شده‌است.

نتیجه‌گیری نهایی

بر اساس نتایج به‌دست آمده از پژوهش حاضر می‌توان گفت که تیمار بوته‌های مرزه رشینگری تحت شرایط مزرعه با جدایه PF11 که متعلق به بیووار III

از باکتری *P. fluorescens* بود، منجر به افزایش درصد برخی اجزای اصلی اسانس آن، از جمله کارواکرول، ترانس-کاریوفیلن، بتا-بیسابولن، و اسپاتولنول شد. این جدایه درصد بازده اسانس بوته‌ها را نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت، به‌طوری‌که از ۳/۰۲ درصد در شاهد به ٤/٤ درصد رسید. همچنین مشخص شد که کارآمدی جدایه‌های متعلق به بیووارهای مختلف باکتری *P. fluorescens* برای بهبود خصوصیات فیتوشیمیایی مرزه رشینگری می‌تواند به طور معنی‌داری متفاوت از یکدیگر باشد. به این ترتیب، بکارگیری جدایه بومی و سازگار PF11 در مزارع تحت کشت مرزه رشینگری به منظور بهبود عملکرد اسانس آن توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاران محترم بخش گیاهان دارویی و معطر مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور که در انجام این پژوهش ما را یاری کردند، قدردانی می‌شود.

References

Afzalifar, M., Hadian, J., Mirjalili, M.H. and Enayati Shariatpanahi, M. (2019). Study of androgenesis of two medicinal plants *Satureja khuzistanica* Jamzad and *S. rechingeri* Jamzad. Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology). 31 (4): 458-470.

AghaAlikhani, M., Iranpour, A. and Naghdi Badi, H. (2013). Changes in agronomical and phytochemical yield of purple coneflower (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) under urea and three biofertilizers application. Journal of Medicinal Plants. 12 (46):121-136.

Amiri, H. and Ghasemi Ramadanabad, Z. (2018). The effects of salinity on chemical composition of essential oil of *Satureja rechingeri*. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 31(2): 248-257.

Ayer, S.H., Rupp, P. and Johnson, W.T. (1919). A study of alkali-forming bacteria in milk. U.S. Department of Agriculture, Bullock. 782.

Bashan, Y. (1998). Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. Biotechnology Advances. 16(4): 729-770.

Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. and Gardan, L. (2000). The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. Agronomie. 20: 51-63.

Fallahi, J., Koocheki, A. and Rezvani Moghaddam, P. (2009). Effects of bio-fertilizers on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria chamomilela*) as a medicinal plant. Iranian Journal of Field Crops Research. 7(1): 127-135.

Ghorbanpour, M., Majnoun Hoseini, N., Rezazadeh, S.H., Omidi, M., Khavazi, K. and Hatami, M. (2011). Variations of root and shoot tropane alkaloids production of *Hyoscyamus niger* under two rhizobacteria strains inoculation and water deficit stress. Journal of Medicinal Plants. 10 (40): 160-171.

Graham, D.C. and Hodgkiss, W. (1967). Identification of gram negative, yellow pigmented, fermentative bacteria isolated from plants and animals. Journal of Applied Bacteriology. 30: 175-189.

Hadian, J., Akramian, M., Heydari, H., Mumivand, H. and Asghari, B. (2012). Composition and in vitro antibacterial activity of essential oils from four *Satureja* species growing in Iran. Natural Product Research. 26(2): 98-108.

Haj Seyed Hadi, M.R. and Darzi, M.T. (2017). Evaluation of biofertilizers effects on growth characteristics and yield of summer savory (*Satureja hortensis* L.). Iranian Journal of Field Crop Science (Iranian Journal of Agricultural Sciences). 48(1): 121-133.

Haj seyed hadi, S.M.R., KHodabande, N., Yasa. N. and Darzi, M.T. (2002). Effects of sowing date and plant density on flower yield and active substance in Chamomile. Agrobreed Journal. 4(3): 208-218.

Hofte, M., Seong, K.Y., Jurkevitch, E. and Verstraete, W. (1991). Pyoverdine production by the plant growth beneficial *Pseudomonas* strain 7SNK2: ecological significance in soil. Plant and Soil. 130: 249-257.

Hugh, R. and Leifson, E. (1953). Taxonomic significance of versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative bacteria. Journal of Bacteriology. 66: 24-26.

Jamzad, Z. (2010). A new species of *Satureja* (Lamiaceae) from Iran. The Iranian Journal of Botany. 16 (2): 213-217.

Klement, Z., Farkas, G.L. and Lovrekovich, H. (1964). Hypersensitivity reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. Phytopathology. 54: 474-477.

Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudomonas* pyocyanin by the oxidase reaction. Nature. 178: 703.

Lelliot, R.A. and Dickey, R.S. (1984). Genus VII *Erwinia*, In: Krieg, eds. N. R., Halt, J. G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams and Wilkins Co., The Baltimore Vol, 1, P. 469-476.

Mac Faddin, J.F. (1980). Biochemical test for identification of medical bacteria. Williams and Wilkins, Baltimore.

Mirza, M., Sefidkon, F. and Ahmadi, L. (1996). Natural essential oils, extraction, quantitative and qualitative analysis and application. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 205p.

Mousavi, Z. (2016). The effect of drought stress on physiological characteristics and changes in the quality and quantity of essential oil of *Satureja rechingeri*. M.Sc. Thesis. Lorestan University, Faculty of Science, Departmant of Biology.

Özkan, A. and Erdoğan, A. (2011). A comparative evaluation of antioxidant and anticancer activity of essential oil from *Origanum onites* (Lamiaceae) and its two major phenolic components. Turkish Journal of Biology. 35: 735-742.

Palleroni, N.J. (1993). *Pseudomonas* classification. Antonie van Leeuwenhoek. 64: 231-251.

Panpatte, D.G., Jhala, Y.K., Shelat, H.N. and Vyas, R.V. (2016). *Pseudomonas fluorescens*: a promising biocontrol agent and PGPR for sustainable agriculture in microbial inoculants in sustainable agricultural productivity. Eds. Singh D., Singh H. and Prabha R. 1: 257-270.

Rasouli Sedghiani, M.H., Khavazi, K., Rahimian, H., Malakouti, M.J. and Asadi Rahmani, H. (2006). An evaluation of the potentials of indigenous fluorescent pseudomonades of wheat rhizosphere for producing siderophore. Iranian Journal of Soil and Water Sciences. 20(1):133-143.

Samavat, S., Samavat, S., Mafakheri, S. and Shakouri, M.J. (2012). Promoting common bean growth and nitrogen fixation by the co-inoculation of *Rhizobium* and *Pseudomonas fluorescens* isolates. Bulgarian Journal of Agricultural Science. 18 (3): 387-395.

Sanchez, B.J., Trinitario, M., Ferradez, M., Angeles, M., Asuncio, M. and Juan, J.A. (2004). Variations in water status, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glomus deserticola* under drought conditions. Journal of Plant Physiology. 161: 675-682.

Schaad, N.W., Jones, J.B. and Chun, W. (2001). Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3rd ed. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 373 p.

Sefidkon, F., Abbasi, Kh., Jamzad, Z. and Ahmadi, Sh. (2007). The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* Jamzad. Food Chemistry. 100(3): 1054-1058.

Sefidkon, F., Tabaei Aghdaei, S.R., Lebaschi, M.H., Zaeazadeh, A., Noormand, F., Moayed, F., Hooshidari, Ahmadi, Sh., Najafi, A., Mirjani, L., Akbarinia, A., Abbaszadeh, B., Davazdahemami, S., Alizadeh, M.A., Jamzad, Z., Behrad, Z., Naderi, M. and Asadi Sanam, S. (2016a). Introduction of valuable *Satureja* species for cultivation in different ecologic regions of Iran for vast production (Step 1: adaptation). 9th Congress of Iranian Horticultural Science. 25-28: 1-8.

Sefidkon, F., Taebnia, R. and Mirza, M. (2016b). Study of essential oil content and composition of six populations of *Satureja rechingeri* Jamzad in farm condition. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 32(1): 1-13. doi: 10.22092/ijmapr.2016.106132

Shahnazi, S., Khalighi-Sigaroodi, F., Ajani, Y., Yazdani, D., Taghizad-Farid, R., Ahvazi, M et al. (2008). The chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Satureja intermedia* C.A. Mey. Journal of Medicinal Plants. 7 (25): 85-92.

Suslow, T.U., Schroth, M.N. and Isaka, M. (1982). Application of rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathology. 72: 917-918.

Thornley, M.J. (1960). The differentiation of *Pseudomonas* from other bacteria on the basis of arginine metabolism. Journal of Applied Bacteriology. 23: 37-52.

Totonchian, S. (2011). Qualitative and quantitative study of *Saturjea sahendica* Bornm. in cultivated condition. M.Sc. Thesis Plant science. Faculty of science, Department of Biology. Tehran Payame-Noor University.

Zarepour, M., Abdipour, M., Rahimi, M.M. and Kelidari, A.S. (2024). Effect of application of plant growth-promoting rhizobacteria and salicylic acid on agronomic properties and essential oil content of yarrow (*Achillea millefolium* L.) under drought stress conditions. Iranian Journal of Horticultural Science and Technology. 25 (1): 1-24.