

بررسی نقش باکتری‌های محرک رشد گیاه بر ویژگی‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و جذب برخی عناصر غذایی گیاه پونه‌سای بینالودی (*Nepeta binaludensis* Jamzad)

فاطمه جعفری^۱، علی گنجعلی^۱ و الهام امجدی^۱

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران ۱

مسئول مکاتبات: علی گنجعلی، ganjeali@um.ac.ir

چکیده. پونه‌سای بینالودی (*Nepeta binaludensis* Jamzad) به عنوان گیاه دارویی ارزشمند به علت برداشت بی‌رویه و تخریب رویشگاه‌ها به شدت در معرض خطر انقراض است. در این راستا با هدف ارزیابی صفات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و ارزیابی محتوای ریزمغذی‌های بخش هوایی آزمایشی با چهار ترکیب تیماری شامل: ۱- تلقیح گیاه با باکتری *Azotobacter chroococcum*، ۲- تلقیح توام باکتری‌های *Bacillus cereus* و *Pseudomonas putida*، ۳- تلقیح توام سه گونه باکتری شامل (*A. chroococcum* + *B. cereus* + *P. putida*) و ۴- شاهد (بدون تلقیح باکتری) در دو مرحله رشد رویشی ۱۰ و ۲۰ هفته‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد کاربرد باکتری‌های محرک رشد کلیه ویژگی‌های مورفولوژیکی گیاه شامل طول اندام هوایی، وزن خشک بخش هوایی، مجموع سطح برگ و مجموع طول ریشه‌ها را در مقایسه با گیاهان شاهد به صورت معنی‌داری در هر دو مرحله مورد بررسی افزایش داد. بررسی‌های بیوشیمیایی نشان داد که در هر دو مرحله رشد ۱۰ و ۲۰ هفته‌ای، کاربرد باکتری‌های محرک رشد موجب افزایش ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه شد. علاوه بر این، جذب برخی عناصر غذایی از قبیل کلسیم، پتاسیم، فسفر، آهن و منیزیم نیز در نتیجه کاربرد باکتری‌های محرک رشد افزایش یافت. از آنجا که میکروارگانیسم‌ها سبب بهبود رشد و افزایش ترکیبات موثره گیاه پونه‌سای بینالودی می‌شوند می‌توان از آن‌ها به عنوان کود زیستی و جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی. پونه‌سای بینالودی، ریزمغذی‌ها، متابولیت‌های دارویی، میکروارگانیسم، میکروبیوم

Investigating the effect of inoculation with plant growth promoting bacteria on the morphological, biochemical and nutrient absorption characteristics of *Nepeta binaludensis* Jamzad

Fatemeh Jafari¹, Ali Ganjeali¹ & Elham Amjadi¹

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Corresponding author: Ali Ganjeali, ganjeali@um.ac.ir

Abstract. *Nepeta binaludensis* jamzad, as a medicinal plant, which is at risk of extinction due to irregular harvesting and damage of its habitat. Four treatments including: 1- inoculation with *Azotobacter chroococcum*, 2- inoculation with *Bacillus cereus* and *Pseudomonas putida*, 3- inoculation with a mix of three bacteria (*A. chroococcum* + *B. cereus* + *P. putida*) and 4 controls (without inoculation), in the form of a completely randomized design with 3 replications in two vegetative growth stages (ten and twenty weeks after sowing). Plant growth-promoting bacteria (PGPB) improved all the evaluated morphological characteristics, including the length and dry weight of the aerial part, total leaf area and root length compared to the control. Also, the results of biochemical investigations showed that in 10- and 20-weeks old plants, the application of PGPB could increase the phenolic and flavonoid compounds and also antioxidant activity. The absorption of some elements such as calcium, potassium, phosphorus, iron and magnesium also increased as a result of inoculation with PGPB. Since the PGPB improved the growth and also increased the effective compounds of *N. binaludensis* plants, they can be introduced as useful bio fertilizers and considered as a good alternative to chemical fertilizers.

Key words. Drug metabolites, microbium, microorganisms, micronutrients, *Nepeta binaludensis*

Received 06.10.2022/ Revised 13.09.2023/ Accepted 25.09.2023/ Published 20.12.2023

دریافت: ۱۴۰۱/۱۰/۱۴؛ اصلاح: ۱۴۰۲/۰۶/۲۲؛ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۳؛ انتشار: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

مقدمه

جنس *Nepeta* متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) شامل بیش از ۲۵۰ گونه که ۶۹ گونه آن در ایران یافت شده است. (Motaghdad et al., 2022) گونه پونه‌سای بینالودی (*Nepeta binaludensis* Jamzad) گیاهی چند ساله و بومی شمال شرق ایران است که در کوه‌های بینالود واقع در استان خراسان رضوی یافت می‌شود. این گونه در نقاطی با ارتفاع بین ۲۷۰۰-۲۳۰۰ متر از سطح دریا با میزان بارندگی سالانه ۳۷۰-۳۵۰ میلی‌متر و میانگین دمای سالانه در محدوده ۷-۶ درجه سانتی‌گراد رشد می‌کند. (Hashemi moghaddam et al., 2020) پونه‌سای بینالودی در طب سنتی به منظور درمان سردرد، میگرن، اختلالات گوارشی، روماتیسم، آسم و ناراحتی‌های قلبی عروقی مورد توجه می‌باشد (Khaladgi et al., 2018). همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد باکتریایی آن مورد تایید قرار گرفته است (Azimi Mahalleh et al., 2020; Hashemi moghaddam et al., 2020; Khaladgi et al., 2018). Mahalleh و همکاران (۲۰۲۰) خواص آنتی‌اکسیدانی پونه‌سای بینالودی را به حضور ترکیبات فنلی از قبیل روتین، کافئیک اسید و رزمارینیک اسید نسبت داده‌اند.

پراکنش محدود، برداشت بی‌رویه و چرای بیش از حد در عرصه، این گیاه را در معرض خطر انقراض قرار داده است. در این راستا بهره‌برداری از میکروبیوم‌های گیاهی به منظور استقرار بهتر گیاه و نیز بهبود رشد و تولید بیشتر متابولیت‌های دارویی در محیط‌های کنترل شده و نیز اکوسیستم‌های زراعی بیش از پیش مورد توجه است. در بین میکروبیوم‌های گیاهی، ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (plant growth-promoting rhizobacteria) از قابلیت‌های سودمندی در ریزوسفرهای گیاهی از جمله محلول سازی مواد مغذی تا سرکوب بیماری‌های گیاهی، همچنین تثبیت نیتروژن و بهبود سنتز ترکیبات فیتوشیمیایی برخوردارند (Aloo et al., 2022). در بررسی‌های متعدد نقش مثبت PGRP‌ها در افزایش ارتفاع گیاه، طول ریشه، بهبود جذب آب و مواد مغذی، کیفیت میوه و بهره‌وری بیشتر از منابع موجود تایید شده است (Zapata-Sifuentes et al., 2022). در یک آزمایش Chiappero و همکاران (۲۰۱۹) دریافتند که گیاهان نعناع فلفلی در مواجهه با تنش خشکی وقتی با PGRP تیمار شدند، رشد و محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنلی گیاه به صورت معنی‌داری افزایش یافت. همچنین در پژوهش‌های دیگر به نقش PGRP به عنوان کودهای زیستی در محلول سازی پتاسیم و فسفات و بهبود دهنده رشد گندم، ذرت و

گوجه‌فرنگی اشاره شده است (Laxita & Shruti, 2020; Imran et al., 2020; Raji & Thangavelu, 2021). تحقیقات حاکی از آن است که ریزوباکتری‌ها، با بهبود جوانه‌زنی، جذب ریزمغذی، رشد و عملکرد محصول را از طریق بهبود دسترسی عناصر غذایی مانند پتاسیم و فسفات افزایش می‌دهند (Aloo et al., 2022. Maung). و همکاران (۲۰۲۲) بیان داشتند که تلقیح گیاهان *Cucumis sativus* با *Bacillus velezensis* آرایش ریشه را بهبود و متعاقب آن توان جذب آب و مواد مغذی و فتوسنتز گیاه را افزایش چشمگیر داد. در آزمایش دیگر محققان بهبود ساختار ریشه را به فیتوهورمون ایندول استیک اسید ترشح شده توسط باکتری‌های *Sinorhizobium meliloti* *Acinetobacter radioresistens* و *Pseudomonas paralactis* نسبت داده‌اند (Zapata-Sifuentes et al., 2022). با توجه به این که استفاده از کودهای زیستی به عنوان محرک رشد، می‌تواند اثرات قابل توجهی در کاهش اثرات مخرب ناشی از کودهای شیمیایی داشته باشند این پژوهش با هدف بررسی اثر ۴ ترکیب تیماری از باکتریایی محرک رشد بر خصوصیات رشدی، ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه پونه‌سای بینالودی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر ویژگی‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و جذب برخی عناصر غذایی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۳۹۶ در فیتوترون تحقیقاتی دانشکده علوم پایه انجام شد. در این آزمایش تاثیر تلقیح باکتری‌های محرک رشد شامل ۴ تیمار: ۱- تلقیح با *Azotobacter choorocum*، ۲- تلقیح توام *Bacillus putida* و *cereus*، ۳- تلقیح همزمان *A. choorocum* + *B. putida* و *cereus*، و ۴- شاهد (بدون تلقیح) مورد بررسی قرار گرفت. باکتری‌های لیوفیلیزه (PTCC1247) *B. cereus* و *P. putida* (KT2440) از بخش میکروبیولوژی دانشکده علوم و باکتری (ATCC7498) *A. choorocum* از بخش میکروبیولوژی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه و پس از دو بار کشت متوالی در محیط نوترینت آگار (گرماگذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت) به حالت فعال تبدیل گردید. به منظور تلقیح بذرها با تیمارهای مذکور، ابتدا منحنی رشد باکتری‌های مورد نظر ترسیم و پس از تعیین بهترین زمان برای تلقیح، بذرها توسط

باکتری ها با رقت ۰/۵ مک فارلند $10^8 \times 1$ (CFU /mL) تلقیح شدند.

پیش از این بذرهای گیاه پونه ساي بينالودي (کد هربایومی *Nepeta binaloudiensis* 45493 FUMH) که از ارتفاعات بینالود (ارتفاع حدود ۲۴۰۰-۲۱۰۰ متر از سطح دریا) شهرستان مشهد جمع آوری شده بودند توسط آب جاری شسته و جهت ضد عفونی سطحی از هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۱ دقیقه استفاده شد. در ادامه بذرها در چهار پتری مجزا با یک میلی لیتر مایه تلقیح باکتری مورد نظر مخلوط شدند (در تیمار شاهد بذرها بدون باکتری داخل پتری قرار گرفتند) و پس از گذشت یک ساعت و خشک شدن، در گلدان های یک کیلو گرمی با نسبت خاک ۲:۱ ماسه نرم و خاک باغچه در عمق یک سانتی متری کاشته و پس از آن مخلوطی از کوکوپیت و پرلیت به ارتفاع ۳ سانتی متر روی بستر اضافه شد.

قبل از کاشت بذور، آزمون خاک جهت تعیین میزان برخی عناصر غذایی موجود در خاک انجام شد (جدول ۱). گلدان ها در اتاقک رشد با دمای 25 ± 2 درجه سانتی گراد، فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به مدت ۱۰ و ۲۰ هفته به ترتیب در آزمایش اول و دوم و با حفظ رطوبت گلدان ها در محدوده ۸۰-۹۰ درصد ظرفیت زراعی رشد کردند. گیاهان در دو مرحله رشدی شامل ۱۰ و ۲۰ هفته ای از گلدان خارج و بخش هوایی و ریشه از یکدیگر تفکیک شدند. صفات مورفولوژیکی گیاه مانند ارتفاع بخش هوایی به وسیله خط کش، مجموع سطح برگ ها به وسیله دستگاه اندازه گیری سطح برگ (Leaf area meter) و مجموع طول، سطح و قطر ریشه ها با استفاده از دستگاه اسکنر متصل به کامپیوتر اسکن و سپس با استفاده از نرم افزار Root Edge اندازه گیری شدند. به منظور تعیین وزن خشک بخش هوایی و ریشه ها، نمونه های مورد نظر در آون ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفتند سپس با ترازو (دقت ۰/۰۰۱ گرم) وزن شدند.

جدول ۱ - نتایج آزمون خاک

Table 1. soil test results

Concentration (ppm)				pH	EC (ds m ⁻¹)
K ⁺	Na ⁺	P ⁺	Ca ⁺⁺	7.1	0.79
106.62 2	445.46 5	309.71 2	340.82 5		

استخراج عصاره

جهت استخراج عصاره طبق روش Ozkan و همکاران (۲۰۰۷)، ۰/۲۵ گرم از پودر خشک بخش هوایی گیاهان با ۵ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد به روش اولتراسونیک عصاره گیری و سپس با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ و در پتری خشک شدند.

سنجش فنل کل

بر اساس روش فولین سیوکالتو (Folin Ciocalteu's) به منظور سنجش فنل کل، ۱۰۰ میکرو لیتر از عصاره متانولی نمونه ها با ۲۰۰ میکرو لیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰٪ (حجمی/حجمی)، ۵۰۰ میکرو لیتر آب مقطر و ۸۰۰ میکرو لیتر کربنات سدیم ۷٪ (وزنی/حجمی) با هم ترکیب و جذب نمونه ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. برای شاهد از همان مخلوط ولی بدون نمونه استفاده شد. منحنی استاندارد با غلظت های مختلف گالیک اسید ترسیم و غلظت های فنل کل نمونه ها بر حسب واحد میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم بافت خشک گیاه بیان شد (Khalighi Sigarudi et al., 2012).

سنجش فلاوونوئیدها

مطابق روش Chang و همکاران (۲۰۰۲) جهت سنجش فلاوونوئید، ۲ میلی گرم عصاره خشک در متانول خالص به حجم ۲ میلی لیتر حل و پس از آن ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره گیاهی با ۱/۵ میلی لیتر از حلال استخراج (متانول خالص) مخلوط گردید. در ادامه ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلرید (وزنی/حجمی) ۱۰٪ با ۰/۱ میلی لیتر پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و نهایتاً حجم مخلوط واکنش به ۵ میلی لیتر رسانده شد و پس از گذشت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب نوری توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. منحنی استاندارد با غلظت های مختلف کوئرستین ترسیم و محتوی فلاوونوئید نمونه ها بر حسب واحد میلی گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم بافت خشک گیاه بیان گردید.

سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی

در این روش رادیکال های آزاد بنفش رنگ و پایدار DPPH با قرار گیری در معرض مواد آنتی اکسیدان و پس از احیا شدن، زرد

دقت بسیار بالا و بر حسب میلی گرم در لیتر، سنجش می‌نماید، استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 19 و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ($P \leq 0.05$) استفاده شد. نمودارهای مربوطه به وسیله نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج

بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد بر صفات مرفولوژیکی گیاه در مرحله ۱۰ هفته‌ای رشد

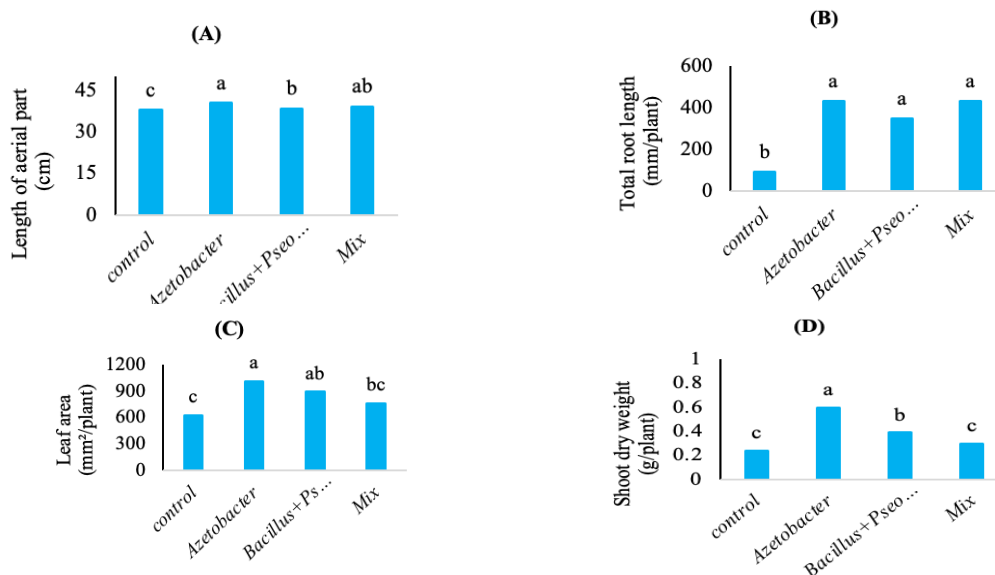
تلقیح پونه‌سای بینالودی با گونه *A. choorocum* و کاربرد توام گونه‌های باکتریایی *B. cereus* و *P. putida* سبب افزایش معنی‌دار کلیه صفات مرفولوژیکی گیاه در مقایسه با شاهد شد. تاثیر کاربرد مخلوط گونه‌های باکتریایی (*P. putida*، *A. choorocum*، *B. cereus*) در بهبود طول اندام‌هوایی، مجموع طول ریشه‌ها و مجموع سطح برگ در مقایسه با گیاه شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد ($P < 0.05$) (شکل ۱ و ۱A و ۱B). بیشترین میزان طول اندام‌هوایی (۴۰/۳۳ سانتی‌متر)، مجموع طول ریشه‌ها (۴۳۲/۲۹۰ سانتی‌متر)، مجموع سطح برگ‌ها (۱۰۱۰/۷۰ میلی‌متر مربع) و وزن خشک بخش‌هوایی (۰/۶ گرم) بود که به تیمار *A. choorocum* تعلق داشت.

رنگ می‌شود. این تغییر رنگ با اثر بر میزان جذب نوری در طول موج ۵۱۷ نانومتر می‌تواند معیاری مناسب از فعالیت آنتی‌اکسیدان باشد (Kulisic et al., 2004). به منظور سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطابق روش Yang و همکاران (۲۰۱۱)، ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره با آسکوربات به ۱۰۰ میکرولیتر محلول DPPH(W/V) 008/0 % اضافه و جذب آن پس از ۱۵ دقیقه در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار یا احیای DPPH توسط فرمول زیر محاسبه شد که در آن A0: جذب کنترل، A1: جذب نمونه مورد آزمایش، A2: جذب بلانک، است. غلظت عصاره‌ای که بتواند ۵۰ درصد رادیکال‌های آزاد را خنثی کند (IC_{50}) با استفاده از رسم مقادیر مختل RSA بر حسب غلظت‌های مختلف نمونه و محاسبه معادله خط رگرسیون به دست آمد.

$$RSA\% = [1 - (A1 - A2)/A0] \times 100 = \text{درصد ظرفیت روبش رادیکالی}$$

سنجش کلسیم، پتاسیم، فسفر و آهن بخش‌هوایی

سنجش عناصر کلسیم، پتاسیم، فسفر و آهن بخش‌هوایی تنها در گیاهان ۲۰ هفته‌ای به روش Karla (1998) انجام شد. به این منظور ابتدا خاکستر تر گیاه تهیه و برای سنجش غلظت عناصر از اسپکترومتری نشری پلاسمای جفت شده القایی Inductively Coupled Plasma-Optical (ICP-OES) Emission Spectroscopy که میزان عناصر در نمونه را با



شکل ۱-تاثیر تیمارهای مختلف باکتریایی بر طول اندام‌هوایی (A)، مجموع طول ریشه‌ها (B)، سطح برگ (C) و وزن خشک بخش‌هوایی (D) در مرحله ۱۰ هفته‌ای رشد

Figure 1. The effect of different bacterial treatment on length of aerial part (A), total length of roots (B), leaf area (C) and shoot dry weight (D) in 10-weeks old plants.

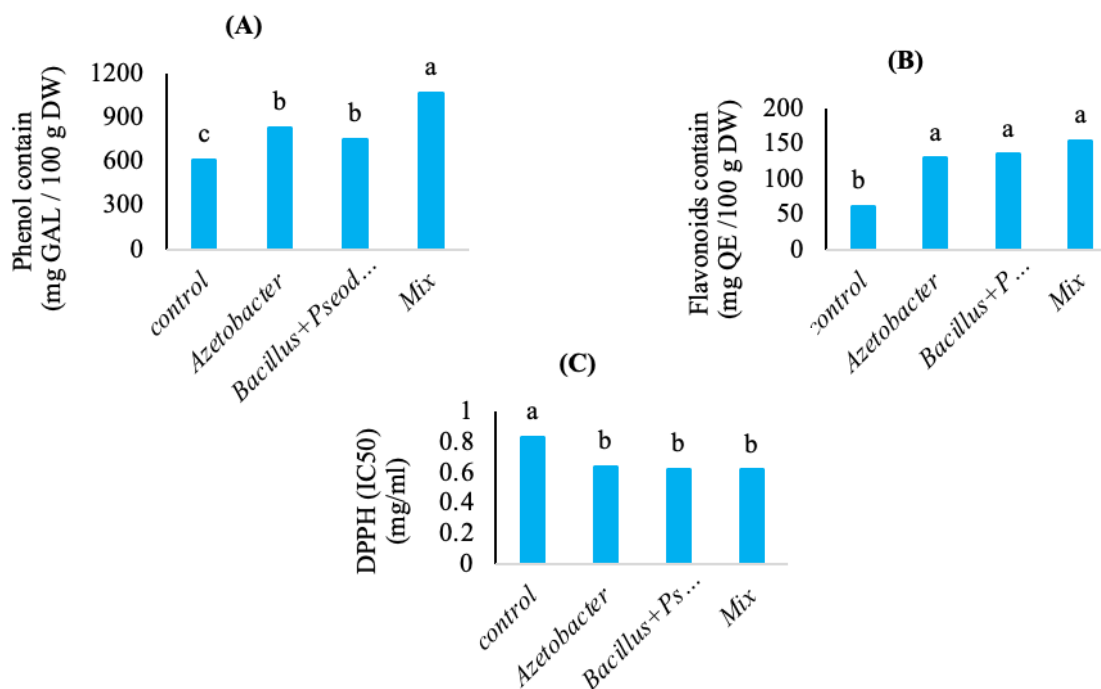
ستون‌های واجد حرف یا حروف مشترک، در سطح احتمال ($P \leq 0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

There is no significant difference among those columns that have same letter.

بررسی تاثیر باکتری های محرک رشد بر صفات بیوشیمیایی گیاه در مرحله ۱۰ هفته ای رشد

میانگین محتوی فلاونوئید کل تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ولی تفاوت هر سه تیمار مذکور با گیاهان شاهد معنی دار بود. بیشترین میزان محتوی فلاونوئید کل به کاربرد مخلوط گونه های باکتریایی (*A. choorocum*، *P. putida*، *B. cereus*) (۱۵۴/۶۷ میلی گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم بافت خشک) و کمترین آن به گیاهان شاهد (۶۲/۱۲ میلی گرم کوئرستین در ۱۰۰ گرم بافت خشک) تعلق داشت (شکل ۲ B). گونه های مختلف باکتری از نظر فعالیت ترکیبات آنتی اکسیدانی در این مرحله تفاوت معنی داری نداشتند ولی فعالیت ترکیبات آنتی اکسیدانی در هر سه تیمار نسبت به گیاهان شاهد معنی دار بود ($P < 0.05$). کمترین و بیشترین میزان فعالیت ترکیبات آنتی اکسیدانی به ترتیب به تلقیح *A. choorocum* (۶۳۸) / میلی گرم بر میلی لیتر) و کاربرد مخلوط گونه های باکتریایی (*A. choorocum*، *P. putida*، *B. cereus*) (۰/۶۱۹ میلی گرم بر میلی لیتر) تعلق داشت (شکل ۲ C).

هر سه تیمار مورد بررسی شامل *A. choorocum*، کاربرد توام باکتری های *P. putida* و *B. cereus* و کاربرد مخلوط گونه های باکتریایی (*A. choorocum*، *P. putida*، *B. cereus*) به طور معنی داری محتوی ترکیبات فنلی گیاه را نسبت به گیاهان شاهد افزایش دادند ($P < 0.05$) (شکل ۲ A). بیشترین محتوی ترکیبات فنلی مربوط به گیاهان تلقیح شده با مخلوط گونه های باکتریایی (*A. choorocum*، *P. putida*، *B. cereus*) بود که افزایش حدود ۱/۷ برابری و معنی دار نسبت به گیاهان شاهد و سایر ترکیبات تیماری داشت. محتوی ترکیبات فنلی در تیمار باکتری *A. choorocum* افزایش حدودی ۱/۴ برابری و برای تیمار همزمان گونه های *P. putida* و *B. cereus* سبب افزایش ۱/۲ برابری داشت. در این بررسی میانگین محتوی ترکیبات فنلی در دو ترکیب تیماری نسبت به هم تفاوت معنی داری نداشتند. اعمال تیمارهای مختلف باکتریایی از حیث



شکل ۲- تاثیر تیمارهای مختلف باکتریایی بر محتوی ترکیبات فنلی (A)، فلاونوئید (B)، فعالیت آنتی اکسیدانی (IC50) (C) در مرحله رشد ۱۰ هفته ای رشد
Figure 2. The effect of different bacterial treatments on the contain of phenol (A), flavonoids (B) and antioxidant activity (IC50) (C) in 10-weeks old plants.

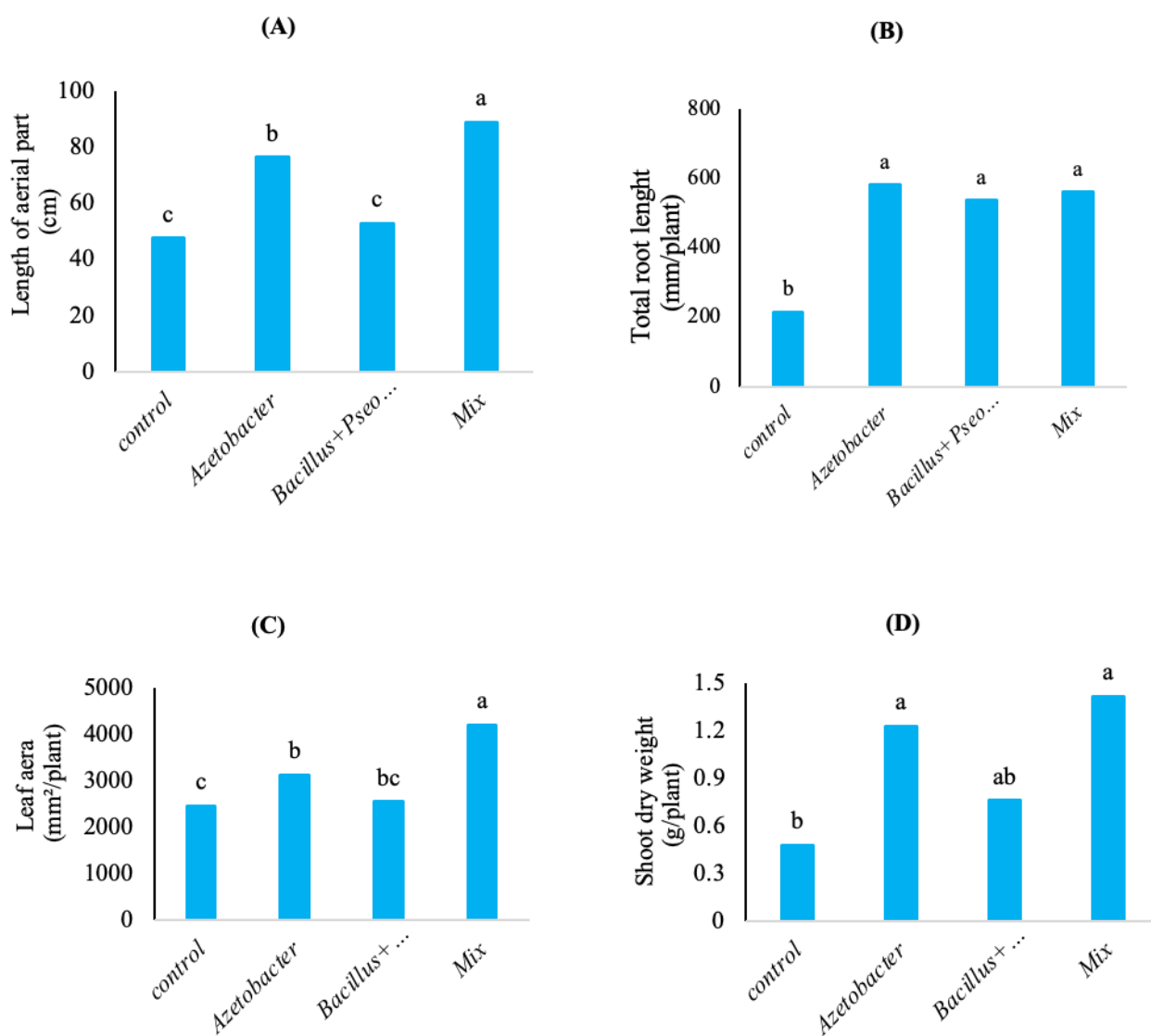
ستون های واجد حرف یا حروف مشترک، در سطح احتمال ($P \leq 0.05$) تفاوت معنی داری ندارند.

There is no significant difference among those columns that have same letter

سانتی متر)، مجموع سطح برگ‌ها (۴۲۱۴/۲) و وزن خشک بخش هوایی (۱/۴۲ گرم) به کاربرد سه گانه باکتری‌ها و بیشترین مجموع طول ریشه‌ها (۵۸۲/۳۷ میلی متر) به کاربرد باکتری *A. choorocum* تعلق داشت. کاربرد ترکیبات مختلف تیماری از این حیث تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند ولی تفاوت آن‌ها با تیمار شاهد بسیار معنی دار بود (شکل C^۳ و B^۳ و A^۳).

بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد بر صفات مورفولوژیکی گیاه در مرحله ۲۰ هفته‌ای رشد

کاربرد باکتری‌های محرک رشد تمامی صفات مورفولوژیکی گیاه را نسبت به شاهد به صورت معنی داری افزایش داد ($P < 0.05$) (شکل ۳). بیشترین افزایش طول اندام هوایی (۸۸/۸۳)



شکل ۳- تاثیر تیمارهای مختلف باکتریایی بر طول اندام هوایی (A)، مجموع طول ریشه‌ها (B)، سطح برگ (C) و وزن خشک بخش هوایی (D) در مرحله ۲۰ هفته‌ای رشد

Figure 3. The effect of different bacterial treatments on length of aerial part (A), total root length (B), leaf area (C) and shoot dry weight (D) in 20-weeks old plants.

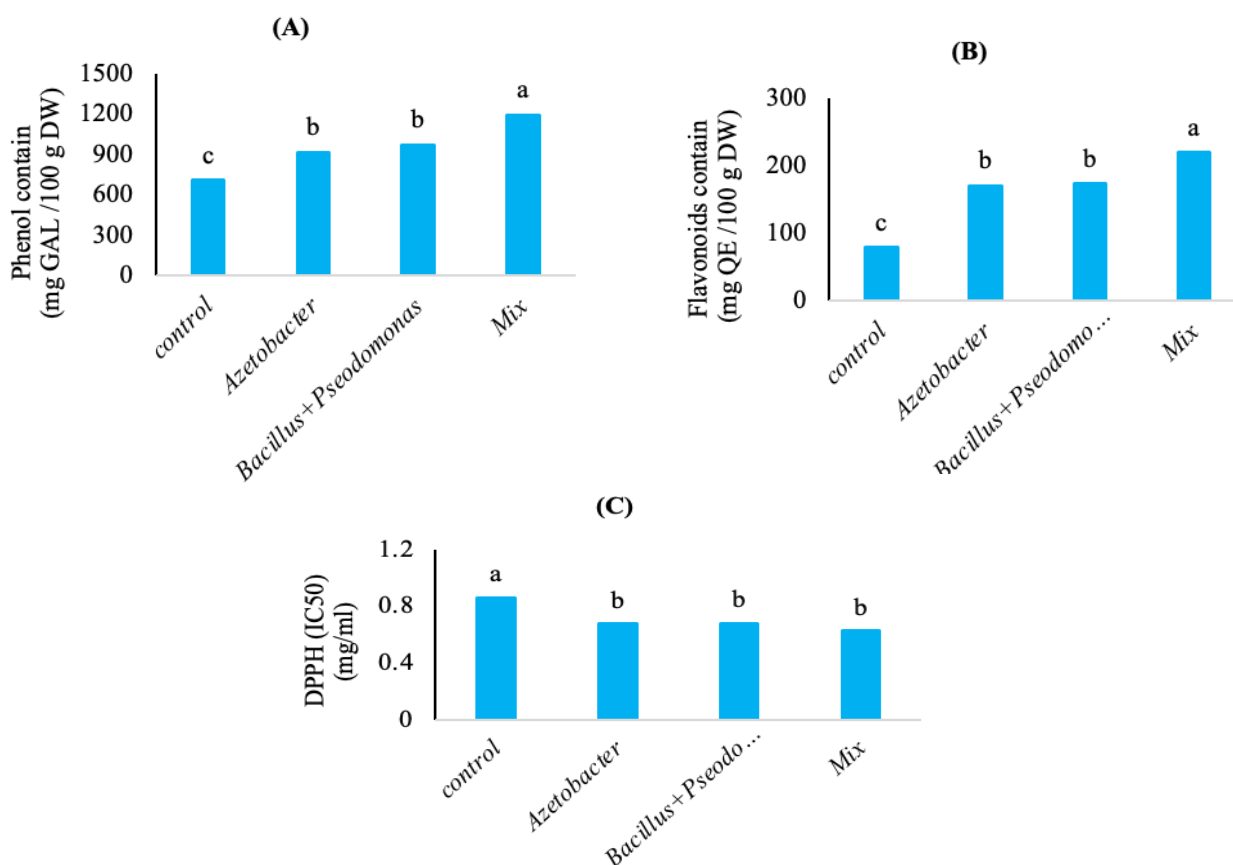
ستون‌های واجد حرف یا حروف مشترک، در سطح احتمال ($P \leq 0.05$) تفاوت معنی داری ندارند.

There is no significant difference among those columns that have same letter.

فلاوونوئید کل به کاربرد سه گانه باکتری‌ها (*A. choorocum*، *B. cereus*، *P. putida*) تعلق داشت که تفاوت آن با سایر تیمارها و شاهد معنی‌دار بود (شکل B۴ و A۴). گونه‌های مختلف باکتری از نظر فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با یکدیگر و شاهد تفاوت معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). بیشترین و کمترین میزان فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به ترتیب به کاربرد مخلوط گونه‌های باکتریایی (*A. choorocum*، *P. putida*، *B. cereus*) (۶۲۹/۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و تلقیح توام *B. cereus* و *P. putida* (۶۸۳/۰ میلی گرم بر میلی لیتر) و تعلق داشت (شکل ۴ C).

بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد بر صفات بیوشیمیایی گیاه در مرحله ۲۰ هفته‌ای رشد

تیمارهای مختلف باکتریایی تاثیر معنی‌داری بر محتوای فنل، فلاوونوئید کل و فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی داشت ($P < 0.05$) و محتوای ترکیبات فوق را نسبت به گیاهان شاهد به صورت معنی‌داری افزایش داد. کاربرد توام باکتری‌های *B. cereus* و *P. putida* از حیث محتوای فنل، فلاوونوئید کل و فعالیت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با تیمار کاربرد *A. choorocum* تفاوت معنی‌دار نداشتند اما تفاوت هر دو نسبت به شاهد معنی‌دار بود. در این بررسی بیشترین محتوای فنل و



شکل ۴- تاثیر تیمارهای مختلف باکتریایی بر محتوای ترکیبات فنلی (A)، فلاوونوئید (B)، فعالیت ترکیبات آنتی اکسیدانی (IC50) (C) در مرحله رشد ۲۰ هفته‌ای رشد.

Figure 4. The effect of different bacterial treatments on the phenol (A), flavonoids contain (B) and antioxidant activity (IC50) (C) in 20-weeks old plants.

ستون‌های واجد حرف یا حروف مشترک، در سطح احتمال ($P \leq 0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

There is no significant difference among those columns that have same letter

بررسی تاثیر باکتری‌های محرک رشد بر محتوی عناصر غذایی در مرحله ۲۰ هفته‌ای رشد

تلقیح *A. choorocum*، تیمار کاربرد دو گانه *B. cereus* و *P. putida* و تیمار سه گانه باکتری‌ها (*A. choorocum*، *P. putida*، *B. cereus*) تاثیر معنی‌داری بر محتوی عناصر غذایی

بافت هوایی گیاه نسبت به شاهد داشتند ($P < 0.05$). حداکثر محتوی منیزیم بخش هوایی در کاربرد باکتری *A. choorocum* و بیشترین محتوی آهن، فسفر، پتاسیم و کلسیم به تیمار سه گانه باکتری‌ها (*A. choorocum*، *P. putida*، *B. cereus*) تعلق داشت (جدول ۲).

جدول ۲ - نتایج مقایسه میانگین کاربرد ترکیبات مختلف تیماری بر محتوی برخی عناصر غذایی بافت هوایی پونه‌سای بینالودی در مرحله ۲۰ هفته‌ای رشد

Table 2. Means comparison of different bacterial treatments on some nutrients content of *Nepeta binaludensis* in 20-weeks old plants.

Ca (mg/g DW)	K (mg/g DW)	P (mg/g DW)	Fe (ppm)	Mg (mg/g DW)	Treatment
2.606 c	325.84 b	1.23 a	26.370 c	4.850 b	Control
4.933 b	401.33 a	1.46 b	28.003 b	8.830 a	<i>A. choorocum</i>
4.716 b	374.81 ab	1.85 a	27.823 b	5.086 b	<i>B. cereus</i> + <i>P. putida</i>
5.876 a	411.32 a	1.89 a	29.383 a	8.376 a	<i>A. choorocum</i> + <i>B. cereus</i> + <i>P. putida</i>

ستون‌های واجد حرف یا حروف مشترک، در سطح احتمال ($P \leq 0.05$) تفاوت معنی‌داری ندارند.

There is no significant difference among those columns that have same letter

بحث

(Sobhanipour., 2012)، تولید ویتامین‌ها و هورمون‌های اکسین، جیبرلین و سیتوکینین منجر می‌شود. در سال ۲۰۰۹ Gholami و همکاران دریافتند که تیمار سویه‌های مختلف باکتری *Pseudomonas* و *Azospirillum* سبب افزایش جذب عناصر نیتروژن و فسفر و افزایش بیومس کل گیاه ذرت گردید. در این بررسی کاربرد همزمان دو باکتری موثرتر بود. تامین کربن از ریزوسفر به منظور ادامه رشد و فعالیت *A. choorocum* و افزایش موفقیت آمیز تلقیح باکتری ضرورت دارد (Sumbul et al., 2020; Goswami & Deka, 2020; Ahmad et al., 2022; Maung et al., 2022). سویه‌های *A. choorocum* (Goswami et al., 2020) و *P. putida* به دلیل توان تولید آنزیم ACC دامیناز به عنوان محرک رشد در جذب عناصر غذایی نیز موثر می‌باشند (Ahmad et al., 2022). استفاده همزمان از *Azotobacter* و سویه‌هایی از باسیلوس به علت تولید محصولات متابولیک در سطح باکتری (EPS) سبب افزایش پتانسیل آب خاک، تثبیت نیتروژن، انحلال فسفات نامحلول، بهبود تجمع خاک، جلوگیری از جذب فلزات سنگین و افزایش جذب مواد مغذی می‌شود که به رشد و توسعه گیاهان کمک می‌کند (Subramaniam et al., 2020).

در این تحقیق بررسی صفات مورفولوژیک در هفته دهم رشد نشان داد استفاده تنها از تلقیح *A. choorocum* افزایش معنی دار کلیه صفات مورفولوژیک را سبب شد ($P < 0.05$). در مطالعه صفات در هفته بیستم رشد، بیشترین افزایش معنی‌دار سه صفت مورفولوژیک (طول اندام هوایی، مجموع سطح برگ و وزن خشک بخش هوایی) تنها در تلقیح سه گونه باکتریایی نسبت به شاهد مشاهده شد ($P < 0.05$). در مطالعات قبلی تاثیر سویه‌های مختلف *A. choorocum* بر افزایش وزن خشک سنبله و بخش هوایی گندم (Kader et al., 2002)، باکتری *Pseudomonas monteilii* در افزایش چشمگیر ارتفاع و وزن خشک گیاه ریحان (Singh et al., 2012) و افزایش صفات مورفولوژیک در گیاه سنبلیله تحت تیمار ترکیب باکتری‌های *Pseudomonas florescens* و *Rhizobium* (Ratan., 2010) تایید شده است. *A. choorocum* با افزایش تنفس سبب افزایش تثبیت نیتروژن، انحلال و جذب فسفر و تولید اسیمیلات بیشتر می‌گردد که نهایتاً به توسعه شبکه ریشه منجر می‌شود. افزایش تنفس نهایتاً به افزایش ظرفیت تبدالی و بهبود رشد گیاه (Alipour &

کاتیون ها توسط اسیدهای آمینه کربوکسیلی (آرژنین، لیزین، هیستیدین، تریپتوفان) یا اسیدهای آمینه آلی (قبیل اسیدمالیک و اسیدسیتریک) به ریشه می گردد که نهایتا به بخش هوایی منتقل می گردد. توسعه شبکه ریشه در خاک دارای میکروارگانیسم منجر به جذب بیشتر کلسیم و آزاد سازی فسفر به خاک می شود (Alipour & Sobhanipour., 2012). میکروارگانیسم های حل کننده فسفات توان ترشح ترکیباتی از قبیل اسید لاکتیک، گلوکونیک، اگزالیک و سیتریک را دارا هستند که علاوه بر کاهش pH خاک سبب تجزیه مواد آلی، آزادسازی و جذب فسفر و کاتیون های کانی می گردند (Subramaniam et al., 2020) و علی پور و سبحانی پور (۲۰۱۲) افزایش جذب آهن در حضور باکتری *P. fluorescens* را گزارش کردند. Rajae و همکاران (۲۰۰۷) دریافتند چند سویه *Azotobacter* سبب افزایش جذب پتاسیم، منیزیم و آهن در گندم شد. افزایش احتمالی سنتز هورمون سیتوکینین در حضور ریزوباکترها به عنوان محرک رشد ضمن تحریک رشد ریشه امکان هدایت یون های ضروری به بخش هوایی را فراهم می کند (Gonzalez-lopes et al., 1991).

نتیجه گیری

نتایج پژوهش نشان داد که تلقیح گیاهان پونه ساي بينالودي در هفته دهم و بیستم رشد در حضور باکتری های محرک رشد منجر به افزایش صفات مرفولوژیکی (طول اندام هوایی، مجموع طول ریشه ها، مجموع سطح برگ و وزن خشک بخش هوایی)، افزایش صفات بیوشیمیایی (محتوای فنل و فلاوونوئید کل و ظرفیت آنتی اکسیدانی) گیاه و همچنین افزایش محتوای عناصر غذایی مانند منیزیم، آهن، فسفر، پتاسیم و کلسیم شد. بهترین نتایج مربوط به تیمار *Azotobacter* به تنهایی و یا مخلوط سه باکتری با هم بود. از اینرو، با توجه به نتایج به دست آمده استفاده از باکتری های محرک رشد به ویژه در ترکیب با هم، به منظور بهبود رشد و نمو و نیز افزایش ترکیبات موثره و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاهان دارویی پیشنهاد می شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد که هزینه ها و امکانات اجرای این آزمایش را از محل گرنت شماره ۳/۴۰۴۱۷ فراهم نمودند، سپاسگزاری می شود.

بررسی صفات بیوشیمیایی در هفته دهم و بیستم رشد در حضور سه نوع تیمار باکتریایی نسبت به شاهد افزایش معنی دار نشان داد به گونه ای که تلقیح گیاهان با مخلوط سه باکتری سبب بیشترین افزایش معنی دار نسبت به شاهد در محتوی ترکیبات فنلی، فلاوونوئید کل و فعالیت ترکیبات آنتی اکسیدانی شد ($P < 0.05$). به گزارش Tith و همکاران (۲۰۲۱) تیمار باکتری *Sinorhizobium meliloti* به گیاه خیار، *P. putida* به فلفل دلمه ای (Ureche et al., 2021) و سویه های مختلف *Bacillus* به گوجه فرنگی (Ruiz-Cisneros et al., 2022) سبب افزایش تولید ترکیبات فنلی و فلاوونوئیدی و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی شد. باکتری *P. putida* قادر به القای تولید ترکیبات فنلی در حضور فاکتور رونویسی R2R3-MYB می باشد. ترکیبات فنلی به عنوان آنتی اکسیدان قادر به روبش رادیکال های آزاد، انتقال هیدروژن به رادیکال های لیپید و قطع واکنش زنجیره ای اکسیداسیون می باشد که سبب افزایش توان مقابله گیاه با پاتوژن می گردد (Gara et al., 2003; Sheikhalipour et al., 2018). در حضور میکروارگانیسم ها با افزایش فعالیت دامینازی فنیل آلانین آمونیالیز بر روی اسیدامینه فنیل آلانین، تولید اسیدسینامیک افزایش می یابد که به افزایش تولید ترکیبات فنلی مشتق از آن منجر می گردد (Wen et al., 2008). به گزارش Ureche و همکاران (۲۰۲۱) در گیاه فلفل دلمه ای تحت تیمار با *P. putida* به دلیل استفاده از کوئرستین و کامفرول به عنوان منابع کربن، شاهد افزایش محتوی فلاوونوئید بودند. جاسمونات، ترپن و ترکیبات شش کربنه حاصل تلقیح باکتری های محرک رشد به عنوان مولکول علامتی عمل کرده و سبب افزایش تولید ترکیبات ثانویه و خاصیت آنتی اکسیدانی گیاه می شوند (Sakya et al., 2022). یکی از مزایای افزایش سطح ترکیبات فنلی و فلاوونوئیدی در گیاهان تحت تیمار با ریزوباکترها، نقش آنها در سیستم دفاع گیاه در برابر پاتوژن ها می باشد (Kolomiets et al., 2019).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد در هفته بیستم رشد، بیشترین محتوی منیزیم متعلق به تیمار *A. choorocum* و بیشترین محتوی آهن، فسفر، پتاسیم و کلسیم به تیمار مخلوط سه باکتری تعلق داشت که نسبت به شاهد معنی دار بود ($P < 0.05$). در مطالعات پیشین نیز افزایش جذب عناصر غذایی گیاه با تلقیح بذرها توسط باکتری های محرک رشد تایید شده است. به عنوان مثال، Goswami و همکاران (۲۰۲۰) دریافتند گیاه گوجه فرنگی تلقیح شده با جنس *Bacillus* و گونه *P. putida* سبب تثبیت نیتروژن، افزایش قابلیت انحلال و جذب فسفر و در دسترس قرار گرفتن آهن می گردد همچنین سبب تسهیل انتقال

REFERENCES

- Ahmad, H. M., Fiaz, S., Hafeez, S., Zahra, S., Shah, A. N., Gul, B. & Wang, X.** 2022. Plant growth-promoting rhizobacteria eliminate the effect of drought stress in plants: A review. *Journal of Frontiers in Plant Science* 13: 1-19.
- Alipour, Z.T. & Sobhanipour, A.** 2012. The Effect of *Thiobacillus* and *Pseudomonas fluorescent* Inoculation on maize growth and Fe Uptake. *Journal of Annals of Biological Research* 3: 1661-1666.
- Aloo, B. N., Tripathi, V., Makumba, B. A. & Mbega, E. R.** 2022. Plant growth-promoting rhizobacterial biofertilizers for crop production: The past, present, and future. *Journal of Frontiers in Plant Science* 13: 1-15.
- Azimi Mahalleh, A., Sharayei, P. & Azarpazhooh, E.** 2020. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of bioactive compounds from *Nepeta* (*Nepeta binaludensis* Jamzad). *Journal of Food Measurement and Characterization*. 14: 668-678.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C.** 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis* 10: 178-182.
- Chiappero, J., del Rosario Cappellari, L., Alderete, L. G. S., Palermo, T. B. & Banchio, E.** 2019. Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content. *Journal of Industrial Crops and Products* 139: 1-9.
- Gara, L. D., de Pinto, M. C. & Tommasi, F.** 2003. The antioxidant systems vis-a- vis reactive oxygen species during plant-pathogen interaction. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 41: 863-870.
- Gholami, A., Shahsavani, S. & Nezarat, S.** 2009. The Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. *Journal of Rangeland Science*. 9: 364-377
- Gonzalez-lopess, J., M. V. Martinez-Toledo, S. Reina. & V. SImern.** 1991. Root exudates of maize and production of auxins, gibberellins, cytokinins, amino acids and vitamins by *Azotobacter chroococcum* in chemically defined media and dialyzed-soil media. *Technological and Environmental Chemistry*. 33:69-78.
- Goswami, M. & Suresh, D. E. K. A.** 2020. Plant growth-promoting rhizobacteria- alleviators of abiotic stresses in soil: a review. Special Issue: Soil Biodiversity in a Rapidly Changing World 30: 40-61.
- Hashemi Moghaddam, H., Sefidkon, F., Jafari, A. A. & Kalate Jari, S.** 2020. Effects of Drying Methods on the Essential Oil Content and Composition of *Nepeta binaludensis* Jamzad. *Journal of Medicinal plants and By-product* 9: 207-214.
- Imran, M., Shahzad, S. M., Arif, M. S., Yasmeen, T., Ali, B. & Tanveer, A.** 2020. Inoculation of potassium solubilizing bacteria with different potassium fertilization sources mediates maize growth and productivity. [Pakistan Journal of Agricultural Research](#) 57: 1045-1055
- Kader, M. A., M. H. Main and M. S. Hogue.** 2002. Effects of Azotobacter inoculants on the yield and nitrogen uptake by wheat. [Journal of Biological Sciences](#) 2:259-261.
- Kalra, Y. P.** 1998. Handbook of Reference Methods for plant analysis. *CRC, USA*, 85-88.
- Khaladgi, M., Jamzad, M. & Mirahmadpour, P.** 2018. Total phenolic and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activity of *Nepeta binaludensis* Jamzad extracts. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products* 13: e58500.
- Khalighi Sigarudi, F., Jarvandi, S. & Taghizade, M.** 2011. Use of medicinal plants. Tehran: Ketab Arjmand. 312 p.p.
- Kolomiets, Y., Grygoryuk, I., Likhanov, A., Butsenko, L. & Blume, Y.** 2019. Induction of bacterial canker resistance in tomato plants using plant growth promoting rhizobacteria. *The Open Agriculture Journal* 13: 215-222.
- Kulisic, T., Rodonic, A., katalinic, V. & Milos, M.** 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Journal of Food Chemistry*. 85:663-640.
- Laxita, L. & Shruti, S.** 2020. Isolation and Characterization of Potassium Solubilizing Microorganisms from South Gujarat Region and their effects on Wheat Plant. *Archives of agronomy and soil science* 59: 1713-1723.

- Maung, C. E. H., Choub, V., Cho, J. Y. & Kim, K. Y.** 2022. Control of the bacterial soft rot pathogen, *Pectobacterium carotovorum* by *Bacillus velezensis* CE 100 in cucumber. [Korean Journal of Soil Science and Fertilizer](#) 54:297-310.
- Motaghd, M., Nili-Ahmadabadi, A. & Moradkhani, S.** 2022. Assessment of the anti-oxidative potential of *Nepeta crispa* Willd. (Lamiaceae) and its effects on oxidative stability of virgin sunflower oil under accelerated storage conditions. *Journal of Medicinal Plants*. 21: 13-27.
- Ozkan, S.B., Wu, G.A., Chodera, J.D. & Dill, K.A.** 2007. Protein folding by zipping and assembly. *Journal of biophysics and computational biology* 104:11987–11992.
- Rajae, S., Alikhani, H. & Urusi, F.** 2007. Growth simulator effects of *Azotobacter* strains on growth, yield and nutrient uptake in wheat. *Journal of Agricultural Science and Methods* 41:285-296. (In Persian).
- Raji, M. & Thangavelu, M.** 2021. Isolation and screening of potassium solubilizing bacteria from saxicolous habitat and their impact on tomato growth in different soil types. *Journal of Archives of Microbiology* 203: 3147-3161.
- Rattan, R.S.** 2010. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Prot* 29: 913–920.
- Ruiz-Cisneros, M. F., Ornelas-Paz, J. D. J., Olivas-Orozco, G. I., Acosta-Muniz, C. H., Salas-Marina, M. A., Molina-Corral, F. J. & Rios-Velasco, C.** 2022. Effect of rhizosphere inoculation with *Bacillus* strains and phytopathogens on the contents of volatiles and human health-related compounds in tomato fruits. *Journal of Food Science and Technology* 42. 1-12.
- Sakya, A. T., Purnomo, J. & Bima, D. A.** 2022. Application of GA3 and PGPRs on growth and antioxidant content of Parijoto (*Medinilla verrucosa*) in peat soil. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1016, No. 1, p. 012009). IOP Publishing.
- Shekhalipour, M., Bolandnazar, S.A. Sarikhani, M.R. & Panahandeh, J.** 2018. Effect of application of biofertilizers on yield, quality and antioxidant capacity of tomato fruit. *Iranian Journal of Horticultural Science* 50: 621-632.(in Persian).
- Singh, R., Soni, S.K. & Kalra, A.** 2012. Synergy between *Glomus fasciculatum* and a beneficial *Pseudomonas* in reducing root diseases, improving yield, and forskolin content in *Coleus forskohlii* Briq. Under organic field conditions. *Journal of Mycorrhiza* 23: 35- 44.
- Subramaniam, G., Thakur, V., Saxena, R. K., Vadlamudi, S., Purohit, S., Kumar, V. & Varshney, R. K.** 2020. Complete genome sequence of sixteen plant growth promoting *Streptomyces* strains. *Journal of Scientific reports* 10: 1-13.
- Sumbul, A., Ansari, R. A., Rizvi, R. & Mahmood, I.** 2020. *Azotobacter*: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi journal of biological sciences* 27: 3634-3640.
- Tith, S., Duangkaew, P., Laosuthipong, C. & Monkhang, S.** 2021. Vermicompost efficacy in improvement of cucumber (*Cucumis sativus* L.) productivity, soil nutrients, and bacterial population under greenhouse condition. *Asia-Pacific Journal of science and technology* 27: 1-27.
- Ureche, M. A. L., Pérez-Rodriguez, M. M., Ortiz, R., Monasterio, R. P. & Cohen, A. C.** 2021. Rhizobacteria improve the germination and modify the phenolic compound profile of pepper (*Capsicum annum* L.). *Journal of Rhizosphere* 18: 1-8.
- Wen, P. F., Chen, J. Y., Wan, S. B., Kong, W. F., Zhang, P., Wang, W., Zhan, J., Pan, Q. H. & Hung, W. D.** 2008 Salicylic acid activates phenylalanine ammonia-lyase in grape berry in response to high temperature stress. *Journal of Plant Growth Regulation* 55: 1-10.
- Yang, A. N., Lu, L., Wu, C. X. & Xia, M. M.** 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with Huangshan Magnolia (*Magnolia cylindrica*). *Journal of Medical Plant Research* 5: 4542-4548.
- Zapata-sifuentes, G., Hernandez – Montiel, L. G., Saenz- mata, J., Fortis- Hernandez, M., Blanco- Conteras, E., Choquito- Conteras, R. & Presiado rangel, P.** 2022. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Improve Growth and Fruit Quality of Cucumber under Greenhouse Conditions. *Journal of plants*. 11: 2-9.

How to cite this article:

Jaffari, F., Ganjeali, A. & Amjadi, E. 2023. Investigating the effect of inoculation with plant growth promoting bacteria on the morphological, biochemical and nutrient absorption characteristics of *Nepeta binaludensis* Jamzad 10: 71-86. (In Persian).

جعفری، ف.، گنجعلی، ع. و امجدی، ا. ۱۴۰۲. بررسی نقش باکتری‌های محرک رشد گیاه بر ویژگی‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و جذب برخی عناصر غذایی گیاه پونه‌سای بینالودی (*Nepeta binaludensis* Jamzad). یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۱: ۷۱-۸۶.