

## بررسی تغییرات بیوشیمیایی میزان ترپنوفیدها، مقدار و عملکرد اسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی تحت تأثیر تیمارهای باکتریایی و قارچی در شرایط گلخانه‌ای (*Mentha piperita L.*)

مهردی محمودزاده<sup>۱</sup>، میرحسن رسولی صدقیانی<sup>۱</sup>، حمایت عسگری لجایر<sup>۲\*</sup> و فاطمه سفیدکن<sup>۳</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۴/۱۱)

### چکیده

در این تحقیق، اثر باکتری‌های ریزوسفری محرك رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر درصد، عملکرد و ترکیب شیمیایی اسانس اندام هوایی گیاه دارویی نعناع فلفلی، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۳۸۹ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه بررسی شد. تلقیح با سه گونه باکتریایی از گروه باکتری‌های ریزوسفری محرك رشد گیاه (ازتوباکتر، باسیلوس و سودوموناس)، سه گونه قارچ میکوریزی (گلوموس موسه، گلوموس ایترارادیسز و گلوموس فسیکولاوم) و تیمار بدون تلقیح باکتریایی و قارچی (شاهد) تیمارهای آزمایشی بودند. نتایج حاکی از این بود که بیشترین درصد حجمی اسانس (۲/۷۷ درصد) و عملکرد (۰/۲۵۹ میلی لیتر در گلدان) به تیمار گلوموس فسیکولاوم و سودوموناس تعلق گرفت. آنالیز شیمیایی اسانس نشان داد که در تمامی تیمارها ترکیب‌های غالب اسانس متول، متون، ایزو متلون، ۸،۱-سینثول، پولگون و متوفوران بودند. بیشترین مقدار متول (۲/۴۲ درصد)، تیمار (۱۹/۳۳ درصد)، ایزو متلون (۱۶/۷۷ درصد)، ۸،۱-سینثول (۱۰/۱۶ درصد)، پولگون (۷/۳۴ درصد) و متوفوران (۶/۶۱ درصد) به متون (۱۹/۳۳ درصد)، ایزو متلون (۱۶/۷۷ درصد)، ۸،۱-سینثول (۱۰/۱۶ درصد)، پولگون (۷/۳۴ درصد) و متوفوران (۶/۶۱ درصد) به ترتیب در تیمارهای شاهد، گلوموس موسه، باسیلوس، ازتوباکتر، گلوموس ایترارادیسز و سودوموناس به دست آمد. همچنین، مقایسه ترکیبات ترپنی نشان داد که مقدار مونوترپن‌های اکسیزن‌به کاربرد تیمارهای گلوموس موسه، گلوموس فسیکولاوم، باسیلوس و سودوموناس و مونوترپن‌های هیدروکربن‌به کاربرد تیمارهای گلوموس فسیکولاوم، گلوموس ایترارادیسز و ازتوباکتر افزایش یافت. مقدار کلی مونوترپن‌ها و سزکوئی ترپن‌های هیدروکربن‌به در تمام تیمارها افزایش نشان داد. به‌طور کلی، نتایج بیانگر آن است که تیمارهای قارچی و باکتریایی مختلف، اثرهای متفاوتی بر ترکیبات شیمیایی اسانس نعناع فلفلی دارند. بنابراین، با توجه به نیاز صنایع مختلف به اسانس نعناع فلفلی با ترکیب شیمیایی مشخص، می‌توان پیشنهاد نمود که تلقیح این گیاه با تیمارهای باکتریایی و قارچی برای به‌دست آوردن ترکیب شیمیایی مورد نظر انجام شود.

**واژه‌های کلیدی:** اسانس، باکتری محرك رشد، قارچ میکوریز آربوسکولار، ترپنوفید، نعناع فلفلی

(۲). در بین گیاهان دارویی، گونه‌های موجود در خانواده نعناع به سبب انعطاف اکولوژیک بسیار زیاد آنها به اقلیم‌های متنوع، مصارف تغذیه‌ای- دارویی و به‌واسطه وجود ترکیبات معطر قابل کاربرد در صنایع آرایشی و بهداشتی، از اهمیت زیادی برخوردارند (۱). یکی از گیاهان بسیار مهم دارویی، که به‌طور

**مقدمه**  
امروزه، مشخص شدن عوارض جانی داروهای شیمیایی و روند تدریجی و همه جانبه به سمت استفاده از داروهای گیاهی، سبب ترغیب و توجه به کشت و تولید گیاهان دارویی در سطح کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه مانند ایران گردیده است

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

۳ بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراغه، تهران  
\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: h-asgari@tabrizu.ac.ir

باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه (PGPR)، قارچ‌های میکوریز آربوسکولار و ریزجانداران حل کننده فسفات اشاره نمود که هر کدام برای منظور خاصی مثل ثبیت نیتروژن، رهاسازی یون‌های فسفات، پتانسیم و آهن از ترکیبات نامحلول آنها استفاده می‌شوند (۱۶). در رابطه با نقش کودهای زیستی بر کمیت و کیفیت انسانس گیاهان دارویی، بهارتی و همکاران (۱۰) نشان دادند که تلقیح گیاه دارویی نعناع (*Mentha arvensis* L.) با چهار گونه قارچ میکوریزی (گلوموس موس، گلوموس ایترارادیسز، گلوموس فسیکولاتوم و گلوموس اگراگاتوم) سبب افزایش بارز کمیت و کیفیت انسانس نعناع (درصد و عملکرد انسانس و درصد متول) در شرایط غیر شور، در مقایسه با شاهد، شد، به نحوی که بیشترین افزایش به ترتیب در گلوموس موس، گلوموس ایترارادیسز، گلوموس فسیکولاتوم و گلوموس اگراگاتوم مشاهده گردید. در پژوهش دیگری، مشخص شد که همزیستی گیاه دارویی گشنیز با دو گونه از قارچ میکوریزی به‌طور معنی‌داری موجب بهبود میزان انسانس و کیفیت آن می‌شود، به نحوی که مقدار اجزای مهمی مانند ژرانیول و لینالول در ترکیب انسانس به‌طور چشمگیری افزایش، ولی میزان آتنول و بتا-من در مقایسه با شاهد کاهش داشت (۱۹). بانچیو و همکاران (۹) اثر باکتری‌های محرک رشد (سودوموناس فلورسنس، باسیلوس سابتیلیس، سینوریزوبیوم ملیلوتی و برادی ریزوبیوم) بر کمیت و کیفیت انسانس گیاه دارویی مرزنجوش (*Origanum majorana* L.) را بررسی و گزارش کردند که فقط سودوموناس فلورسنس و برادی ریزوبیوم موجب افزایش معنی‌دار عملکرد انسانس و ترکیب غالب انسانس (ترانس سایپین هیدرات و تربینن-۴-اول) نسبت به شاهد و دیگر تیمارهای باکتریایی گردید. با توجه به تأثیر احتمالی قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر کمیت و کیفیت انسانس گیاه دارویی نعناع فلفلی و همچنین با در نظر گرفتن اهمیت گسترش کشت گیاهان دارویی، به ویژه به روش ارگانیک، این تحقیق به اجرا در آمد.

گسترده در صنایع دارویی، غذایی، بهداشتی و به شکل‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته، نعناع فلفلی است (۵). نعناع فلفلی با نام علمی *Mentha piperita* L. از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) و به عنوان سبزی، ادویه و گیاه دارویی کشت و استفاده می‌شود. از برگ‌های خشک شده این گیاه برای تهیه دمکرده و جوشاندهای گیاهی، از اندام‌های رویشی تازه برای استفاده به عنوان سبزی و از انسانس آن به عنوان ماده افزودنی در تولید آدامس‌های نعنایی، صنایع بهداشتی مانند خمیر دندان و دهان‌شویه و در محصولات مختلف صنایع دارویسازی و آرومترایی استفاده می‌شود (۲۳). ایالت متحده آمریکا و هندوستان بزرگترین تولید کننده‌های انسانس نعناع هستند و میزان تولید انسانس نعناع فقط در کشور آمریکا ۳۱۰۰ تن در سال ۲۰۰۷ و ۲۵۰۰ تن در سال ۲۰۰۸ بوده است (۳۳).

انسانس‌ها متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که اگرچه تحت تأثیر فرآیندهای ژنتیکی ساخته می‌شوند، اما ساخت آنها به‌طور آشکاری تحت تأثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد (۱۸). از مهم‌ترین عوامل محیطی که تأثیر بسیار عمده‌ای بر رشد گیاهان دارویی و کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها می‌گذارد، می‌توان به شرایط رشدی، اقلیم و عناصر غذایی اشاره نمود (۳۱). رویکرد جهانی در تغذیه متعادل و تولید گیاهان دارویی، به سمت استفاده از نظام‌های کشاورزی پایدار و به کارگیری روش‌های مدیریتی آنان، نظیر کاربرد کودهای زیستی، به‌منظور ارتقا عملکرد کمی و کیفی این گیاهان می‌باشد (۳ و ۲۹). در بحث تولید گیاهان دارویی، ارزش واقعی به کیفیت محصول و پایداری تولید داده شده و کمیت محصول در درجه دوم اهمیت قرار می‌گیرد. برای این منظور، در سال‌های اخیر مطالعات زیادی در باره تأثیر کودهای زیستی بر کمیت و کیفیت انسانس گیاهان دارویی انجام گردیده است (۱۴ و ۲۰). کودهای زیستی شامل مواد نگهدارنده‌ای با جمعیت متراکم یک یا چند موجود مفید خاکزی و یا به صورت فرآورده متابولیک این موجودات می‌باشد (۳۲). از جمله ریزجانداران مورد استفاده در کودهای زیستی می‌توان به

جدول ۱. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در کشت گلخانه‌ای

| بافت خاک | pH  | EC (dS/m) | CaCO <sub>3</sub> (%) | ماده آلی (mg/kg) | فسفر (mg/kg) | پتاسیم (mg/kg) | روی (mg/kg) | آهن (mg/kg) | مس (mg/kg) |
|----------|-----|-----------|-----------------------|------------------|--------------|----------------|-------------|-------------|------------|
| لوم شنی  | ۷/۲ | ۰/۴۵      | ۷/۲                   | ۱۳               | ۹/۶۵         | ۱۶۵            | ۰/۸         | ۱/۸۰        | ۱/۱        |

تیمارهای شاهد نیز کشت گیاه در خاک استریل و بدون تلقیح میکروبی انجام گرفت. آبیاری تا پایان آزمایش به وسیله آب مقطر و با توزین روزانه گلدان‌ها انجام شد. مقدار مناسب آب برای هر گلدان تا رسیدن رطوبت به دامنه ۷۰ تا ۸۰ درصد ظرفیت زراعی محاسبه و اضافه گردید. همچنین، تمامی اقدامات زراعی از قبیل نیاز غذایی، نور و دما در شرایط بهینه تنظیم گردید. تا پایان آزمایش، گلدان‌ها هر هفته به طور تصادفی روی سینک گلخانه جابه‌جا شدند. آزمایش به مدت ۴ ماه ادامه یافت و پس از رسیدن به مرحله گل‌دهی کامل، صفات رویشی اندازه‌گیری شده و گیاهان از محل طوقه قطع گردیدند.

#### تهیه اسانس

پس از برداشت گیاهان و به منظور حفظ کمیت و کیفیت اسانس، گیاهان در سایه و دمای محیط خشک شدند و اسانس‌ها با استفاده از روش تقطیر با آب به وسیله دستگاه کلونجر در مدت ۲ ساعت استخراج شدند. پس از اتمام اسانس‌گیری، جمع‌آوری اسانس از ستون کلونجر به وسیله پیپت پاستور انجام شد. بازده اسانس (درصد) نیز پس از رطوبت‌زادی آب آن توسط سولفات سدیم خشک نسبت به وزن خشک گیاه محاسبه گردید و تا زمان آنالیز اسانس‌ها در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. عملکرد اسانس در واحد گلدان بر اساس عملکرد زیست‌توده و درصد اسانس محاسبه گردید (۱۷).

#### جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس

نمونه‌های اسانس در بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور،

#### مواد و روش‌ها

#### کشت گلخانه‌ای

آزمایش به صورت طرح پایه کاملاً تصادفی در ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۸۹-۹۰ انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل سه گونه میکوریز [گلوموس موسه (*Glomus mosseae*) (Gm)، گلوموس فسیکولاتوم (*Glomus fasciculatum*) (Gf) و گلوموس ایترارادیسز (*Glomus intraradices*) (Gi)] و سه گونه باکتریایی [اکتوبacter (A)، *Azotobacter* (B)، *Bacillus* (C) و پسودomonas (P)] و شاهد (بدون تلقیح) بودند. برای انجام این آزمایش، در ابتدا مخلوطی از خاک با بافت سنگین (محتوی رس زیاد) و ماسه به نسبت ۲ به ۱ تهیه شد. خصوصیات خاک مورد استفاده (غیر استریل) در کشت گلدانی در جدول ۱ نشان داده شده است (۴). سپس، ریزوم‌های نعناع فلفلی از گروه علوم باگبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه تهیه و برای اطمینان از یکسان بودن شرایط گیاه اولیه، همه ریزوم‌ها از یک گیاه مادری جدا شدند. برای کشت، ریزوم‌ها شستشو داده شده و در عمق ۳ تا ۴ سانتی‌متری سطح خاک و به تعداد دو عدد در هر گلدان (گلدان‌ها از جنس پلی‌اتیلن با قطر ۱۲ و ارتفاع ۱۴ سانتی‌متر) قرار داده شد. برای تلقیح با مایکوریز، حدود ۵۰ گرم مایه تلقیح گونه‌های میکوریزی با تعداد اسپور یکسان به هر گلдан در اطراف ریزوم‌ها به هنگام کاشت اضافه شد و سپس حدود ۱۵ سانتی‌متری روی ریزوم‌ها خاک ریخته و پس از اتمام کار آبیاری شدند. سوسپانسیون باکتریایی نیز با غلظت نهایی CFU ml<sup>-1</sup> ۱۰<sup>۹</sup> تهیه گردیده و ۴۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتریایی برای هر گلدان و در اطراف ریشه اصلی گیاه استفاده گردید. در

رسید. دمای محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سلسیوس تنظیم شده بود.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای آماری SAS و Mstat-c استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چندامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

### نتایج و بحث

#### درصد و عملکرد اسانس

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) بیانگر آن بود که اثر تیمارهای باکتریایی و قارچی بر درصد و عملکرد اسانس اندام هوایی در سطح احتمال ۱٪ ( $P \leq 0.01$ ) معنی‌دار شد. مقایسه میانگین‌های تیمارها (جدول ۳) نشان داد که بین تیمار شاهد با تیمارهای تلقیح باکتریایی و قارچی (به غیر از تأثیر تیمار گلوموس موسه بر عملکرد اسانس) از نظر تأثیر بر درصد و عملکرد اسانس اختلاف معنی‌داری وجود داشت، هر چند این اختلاف، به استثنای تأثیر گلوموس موسه بر عملکرد اسانس، بین تیمارهای باکتریایی با قارچی مشاهده نشد. بیشترین درصد (۲/۷۷ درصد) و عملکرد اسانس فسیکولاتوم و سودوموناس و کمترین آنها به ترتیب به میزان ۲/۱۱ درصد و ۰/۱۷۳ میلی لیتر بر گلدان در تیمار شاهد مشاهده شد. در تفسیر نتایج حاصل از بهبود درصد و عملکرد اسانس در اثر تلقیح تیمارهای باکتریایی و قارچی می‌توان اظهار داشت که تولید اسانس حاصل مجموعه فرآیندهای فیزیولوژیک و مورفو‌لولوژیک می‌باشد. در این رابطه، عوامل محیطی تأثیر بهسزایی در تولید اسانس دارند. از جمله عوامل محیطی می‌توان به عناصر غذایی اشاره نمود، به طوری که تیمارهای قارچ میکوریز از طریق گسترش هیف و توسعه سیستم ریشه، سطح جذب آب بیشتری برای گیاه فراهم و به دنبال جذب آب بیشتر، مواد غذایی بیشتری نیز

آنالیز گردید. به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات اسانس، از دستگاه کروماتوگراف گازی (GC) و کروماتوگراف گازی متصل شده به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) استفاده شد. شناسایی طیف‌ها به کمک محاسبه شاخص بازداری آنها، با تزریق هیدروکربن‌های نرمال (C<sub>7</sub>-C<sub>25</sub>) در شرایط یکسان با تزریق اسانس‌ها، همچنین مقایسه آنها با منابع مختلف (V)، استفاده از طیف‌های جرمی ترکیب‌های استاندارد و اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه GC/MS انجام شد.

#### مشخصات دستگاه‌های مورد استفاده

##### کروماتوگراف گازی (GC)

دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده شده مدل Shimadzu GC-9A مجهر به آشکارساز FID (یونیزاسیون شعله هیدروژن) و داده‌پرداز Chromatopac C-R3A، با ستون DB-5 به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌لیتر، ضخامت لایه فاز ساکن برابر ۰/۲۵ میکرون، با گاز حامل هلیوم با خلوص ۹۹/۹۹ درصد و با فشار ورودی ۳ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع در ابتدای ستون ۶۰ استفاده گردید. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۶ درجه سلسیوس شروع شده، به تدریج با سرعت ۳ درجه سلسیوس بر دقيقه افزایش یافته، تا به ۲۱۰ درجه سلسیوس رسید. دمای محفظه تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۸۰ و ۳۰۰ درجه سلسیوس تنظیم شده بود.

#### کروماتوگراف گازی متصل شده به طیف‌سنج جرمی

##### (GC/MS)

دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف‌سنج جرمی مدل 3400 Varian ساخت کشور آمریکا، دارای ستون یکسان با دستگاه کروماتوگرافی گازی و انرژی یونیزاسیون معادل ۷۰ الکترون ولت بود. برنامه‌ریزی حرارتی ستون از دمای اولیه ۶ درجه سلسیوس شروع شده، به تدریج با سرعت ۳ درجه سلسیوس بر دقيقه افزایش یافته، تا به ۲۵۰ درجه سلسیوس

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرك رشد و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر درصد اسانس و عملکرد اسانس نعناع فلفلی

| منابع          | درجه | میانگین مریعات | درصد اسانس | عملکرد اسانس |
|----------------|------|----------------|------------|--------------|
| تیمار          | ۶    | ۰/۰۰۳۰**       | ۰/۱۵۶۱**   |              |
| اشتباه آزمایشی | ۱۴   | ۰/۰۰۰۵         | ۰/۰۳۳۸     |              |
| ضریب تغییرات   | ۷/۱۱ | ۱۰/۶۹          |            |              |

\*\* معنی دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین‌های تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرك رشد و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار بر درصد و عملکرد اسانس نعناع فلفلی

| صفت                              | تیمار   | C        | Gm       | Gi      | Gf      | A       | P       | B      |
|----------------------------------|---------|----------|----------|---------|---------|---------|---------|--------|
| درصد حجمی اسانس                  | ۲/۱۱ b  | ۲/۷۳ a   | ۲/۷۷ a   | ۲/۵۳ a  | ۲/۷۵ a  | ۲/۶۰ a  | ۰/۲۳۳ a | ۰/۰۰۰۵ |
| عملکرد اسانس (میلی لیتر در گلدن) | ۰/۱۷۳ c | ۰/۱۸۶ bc | ۰/۲۲۱ ab | ۰/۲۳۴ a | ۰/۲۵۰ a | ۰/۲۵۹ a | ۲/۷۵ a  | ۲/۶۰ a |

در هر ردیف، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ آزمون دانکن ندارند.

خواهد داشت. نتایج این تحقیق مبنی بر افزایش درصد و عملکرد با کاربرد تیمارهای باکتریابی و قارچی با نتایج درزی و همکاران (۳)، گوپتا و همکاران (۱۵)، بانچیو و همکاران (۹) و کاپور و همکاران (۲۰) مطابقت دارد.

### تغییرات میزان ترکیبات اسانس

در کشت و کار گیاهان دارویی و معطر، علاوه بر کمیت (درصد و عملکرد اسانس) کیفیت (نوع و مقدار ترکیبات تشکیل دهنده) اسانس نیز اهمیت دارد. با آنالیز اسانس شاخصاره گیاه دارویی نعناع فلفلی در تیمارهای مختلف، بین ۱۹ تا ۲۳ ترکیب شناسایی شدند که در جدول ۴ آورده شده‌اند. در تمامی تیمارهای باکتریابی و قارچی، ترکیبات متول (۷/۲۷ درصد)، متون (۱۹/۳۳ درصد)، ایزو متون (۱۶/۷۷ درصد)، متنون (۱۰/۱۶ درصد)، درصد (۸)، پولگون (۴/۰۷ درصد) و متوفوران (۶/۶۱ درصد) ترکیبات غالب اسانس بودند. ولی ترتیب ترکیب غالب در برخی تیمارهای اعمال شده متفاوت از تیمار شاهد بود. در مجموع، این ترکیبات غالب در

جذب شده (۸) و تیمارهای باکتری‌های محرك رشد نیز از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله تولید هورمون‌های محرك رشد گیاه، تولید سیدروفور، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثییت نیتروژن و افزایش جذب عناصر کم‌صرف (۶ و ۹) باعث افزایش فعالیت فتوستنتزی و توسعه پوشش گیاهی می‌شوند. افزایش فعالیت فتوستنتزی با افزایش جذب عناصر غذایی را می‌توان مرتبط با مهم‌ترین بخش فتوستنتز کننده در گیاه، یعنی برگ‌ها، دانست، به‌طوری که با افزایش فراهمی عناصر غذایی، سطح برگ افزایش و با افزایش سطح برگ، تعداد روزنه به عنوان محل ورودی اکسید کربن و گلوکز به عنوان پیش‌ماده مناسب در سنتز اسانس‌ها، به عنوان نتیجه فرآیند فتوستنتز، زیاد شده و در نتیجه سوبسترای لازم برای سنتز اسانس در گیاه فراهم می‌گردد (۱۳، ۲۲ و ۳۰). همچنین، عملکرد اسانس تابعی از درصد اسانس و عملکرد وزن خشک اندام هوایی می‌باشد. بنابراین، با کاربرد تیمارهای باکتریابی و قارچی، درصد اسانس و وزن خشک اندام هوایی (داده‌ها گزارش نشده) افزایش و متعاقباً عملکرد اسانس نیز افزایش

جدول ۴. ترکیبات شناسایی شده در اسانس حاصل از تیمارهای مختلف باکتری‌های محرك رشد و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار در نعناع فلفلی

| T <sub>۷</sub> | T <sub>۶</sub> | T <sub>۵</sub> | T <sub>۴</sub> | T <sub>۳</sub> | T <sub>۲</sub> | T <sub>۱</sub> | شاخص بازداری (RI) | نام ترکیب              | ردیف |
|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------|------------------------|------|
| ۰/۱۴           | -              | ۰/۱۳           | ۰/۱۱           | ۰/۱۱           | -              | -              | ۹۳۰               | - thujene              | ۱    |
| ۰/۷۸           | ۰/۶۳           | ۱/۱۶           | ۰/۸۶           | ۰/۹۷           | ۰/۶۳           | ۰/۸۱           | ۹۳۷               | - pinene               | ۲    |
| ۰/۷۰           | ۰/۰۷           | ۰/۹۲           | ۰/۸۰           | ۰/۸۱           | ۰/۶۲           | ۰/۷۲           | ۹۷۵               | Sabinene               | ۳    |
| ۱/۶۰           | ۱/۳۷           | ۲/۱۸           | ۱/۷۰           | ۱/۸۰           | ۱/۴۰           | ۱/۵۰           | ۹۷۹               | - pinene               | ۴    |
| ۰/۴۳           | ۰/۴۳           | ۰/۶۲           | ۰/۵۱           | ۰/۶۲           | ۰/۳۹           | ۰/۵۰           | ۹۹۱               | Myrcene                | ۵    |
| ۰/۲۶           | ۰/۱۲           | ۰/۴۷           | ۰/۴۳           | ۰/۵۰           | ۰/۱۷           | -              | ۱۰۰۳              | - phellandrene         | ۶    |
| ۱/۳۰           | ۱/۲۷           | ۱/۷۴           | ۱/۹۲           | ۱/۰۵           | ۱/۱۴           | ۱/۹۹           | ۱۰۲۷              | Limonene               | ۷    |
| ۸/۹۰           | ۸/۴۶           | ۱۰/۱۶          | ۹/۱۹           | ۹/۹۹           | ۸/۸۳           | ۸/۳۵           | ۱۰۳۰              | 1,8- cineole           | ۸    |
| ۰/۲۴           | ۰/۲۱           | ۰/۲۲           | ۰/۱۹           | ۰/۱۴           | ۰/۱۶           | -              | ۱۰۶۰              | - terpinene            | ۹    |
| ۱/۹۸           | ۱/۷۴           | ۲/۲۵           | ۲/۲۶           | ۲/۰۴           | ۱/۸۰           | ۱/۶۴           | ۱۰۷۳              | P-mentha -3 , 8-diene  | ۱۰   |
| ۰/۴۱           | ۰/۳۱           | ۰/۳۸           | ۰/۴۴           | ۰/۳۶           | ۰/۳۷           | ۰/۳۷           | ۱۰۹۵              | Trans sabinene hydrate | ۱۱   |
| ۱۸/۶۲          | ۱۷/۸۳          | ۱۷/۳۱          | ۱۶/۱۲          | ۱۷/۶۲          | ۱۹/۳۳          | ۱۵/۴۱          | ۱۱۵۲              | Menthone               | ۱۲   |
| ۱۰/۹۵          | ۱۶/۷۷          | ۱۵/۱۰          | ۱۶/۴۳          | ۱۶/۲۳          | ۱۶/۳۷          | ۷/۷۰           | ۱۱۶۳              | Isomenthone            | ۱۳   |
| ۶/۶۱           | ۵/۰۶           | ۴/۹۲           | ۳/۸۴           | ۵/۸۷           | ۵/۵۴           | ۵/۴۸           | ۱۱۶۴              | Menthofuran            | ۱۴   |
| ۱/۹۱           | ۱/۴۸           | ۱/۷۶           | ۱/۶۳           | ۱/۰۵           | ۱/۵۱           | ۲/۳۵           | ۱۱۶۶              | Neo menthol            | ۱۵   |
| ۳۶/۰۶          | ۳۰/۲۹          | ۳۰/۲۹          | ۲۹/۷۵          | ۲۹/۳۰          | ۳۰/۱۸          | ۴۲/۲۷          | ۱۱۷۱              | Menthol                | ۱۶   |
| ۰/۲۹           | ۰/۳۲           | ۰/۳۵           | ۰/۲۲           | ۰/۳۳           | ۰/۳۹           | ۰/۳۹           | ۱۱۸۲              | Isomenthol             | ۱۷   |
| ۴/۰۷           | ۷/۰۰           | ۵/۵۵           | ۷/۳۴           | ۶/۶۰           | ۶/۷۲           | ۴/۳۶           | ۱۲۲۶              | Pulegone               | ۱۸   |
| ۰/۱۷           | ۰/۲۳           | ۰/۲۶           | ۰/۲۹           | ۰/۱۹           | ۰/۲۵           | ۰/۲۵           | ۱۲۵۲              | Piperitone             | ۱۹   |
| ۱/۰۰           | ۱/۲۳           | ۰/۹۵           | ۱/۶۲           | ۰/۰۴           | ۰/۷۹           | ۰/۶۲           | ۱۲۹۵              | Menthyl acetate        | ۲۰   |
| ۰/۹۷           | ۱/۶۰           | ۱/۳۹           | ۱/۰۴           | ۱/۱۹           | ۱/۱۶           | ۰/۸۱           | ۱۴۱۸              | E- caryophyllene       | ۲۱   |
| ۰/۱۵           | ۰/۲۷           | ۰/۲۱           | ۰/۲۵           | ۰/۲۲           | ۰/۱۹           | -              | ۱۴۵۵              | - humulene             | ۲۲   |
| ۰/۴۸           | ۱/۰۹           | ۰/۸۱           | ۱/۰۳           | ۰/۶۹           | ۰/۶۷           | ۰/۵۰           | ۱۴۸۰              | - muurolene            | ۲۳   |

به علت محدودیت در استفاده از دستگاه، آنالیزها با یک تکرار انجام شده‌اند. مشخصات تیمارها به صورت T<sub>1</sub> (شاهد و بدون تلقیح)، T<sub>2</sub> (گلوموس موسه)، T<sub>3</sub> (گلوموس فسیکولاتوم)، T<sub>4</sub> (ازتوپاکتر)، T<sub>5</sub> (ازتوپاکتر)، T<sub>6</sub> (باسیلوس) و T<sub>7</sub> (سودوموناس).

ایزومتون و ۸,۱- سینئول ترکیبات غالب بعدی گیاه نعناع فلفلی بودند که بر عکس متول، این هر سه ترکیب با کاربرد تمامی تیمارهای باکتریایی و قارچی نسبت به شاهد افزایش داشتند. بیشترین میزان متون، ایزومتون و ۸,۱- سینئول به ترتیب در تیمارهای گلوموس موسه، باسیلوس و ازتوپاکتر به دست آمد، به طوری که تیمارهای مذکور باعث افزایش ۱۱۷/۷۹، ۲۵/۴۳ و

تیمارهای مختلف، ۸۳ تا ۸۸ درصد از کل ترکیبات اسانس را به خود اختصاص دادند. در تمامی تیمارها، غالباً ترین ترکیب شیمیایی اسانس، متول بود که با کاربرد تیمارهای باکتریایی و قارچی کاهش چشمگیری نسبت به شاهد داشت. بیشترین میزان متول (۴۲/۲۷ درصد) در تیمار شاهد و کمترین میزان آن (۲۹/۳ درصد) در تیمار گلوموس فسیکولاتوم به دست آمد. متون،

ریزوسفری محرك رشد و قارچ های میکوریز آربوسکولار از طریق مکانیسم های مختلفی مانند افزایش ثبیت نیتروژن، تولید اکسین، جیبرلین، سیتوکینین و اتیلن، انحلال فسفات ها، اکسیداسیون سولفور، افزایش قابلیت دسترسی نیترات، ترشح آنتی بیوتیک ها، افزایش رشد و توسعه ریشه و در نتیجه جذب آب و مواد غذایی باعث تغییر شرایط محیطی و در نتیجه تغییر در ترکیبات شیمیابی اسانس می گرددن (۲۴، ۲۶ و ۲۸). مطالعات زیادی پیرامون تأثیر قارچ های میکوریز آربوسکولار و باکتری های محرك رشد بر ترکیبات اسانس گیاهان دارویی انجام گردیده است. ولی در رابطه با گیاه دارویی نعناع فلفلی گزارش های آنچنانی وجود ندارد. بهارتی و همکاران (۱۰) با بررسی تأثیر چهار گونه قارچ میکوریزی (گلوموس موسه، گلوموس ایترارادیسز، گلوموس فسیکولا توم و گلوموس اگراکاتوم) بر گیاه نعناع (*Mentha arvensis* L.) گزارش کردند که گلوموس موسه و گلوموس ایترارادیسز باعث افزایش درصد متول و گلوموس فسیکولا توم باعث افزایش متون نسبت به شاهد شدند. همچنین، تأثیر هیچ کدام از قارچ ها بر ترکیبات نئومتول و ایزومتول معنی دار نگردد. سانتورو و همکاران (۲۸) تأثیر باکتری های ریزوسفری محرك رشد گیاه را بر زیست ساختی ترکیبات عمدۀ اسانس گیاه نعناع فلفلی بررسی و گزارش کردند که تیمار سودوموناس فلورسنس باعث افزایش زیست ساختی ترکیب غالب اسانس (پولگون و متون) گردید. در حالی که آزو سپریلیوم برازیلنس باعث کاهش متول (یکی از ترکیبات غالب اسانس) شد. کاپلاری و همکاران (۱۱) تأثیر باکتری های ریزوسفری آزو سپریلیوم برازیلنس + سودوموناس فلورنس و محرك رشد (آزو سپریلیوم برازیلنس، سودوموناس فلورنس و آزو سپریلیوم برازیلنس) را بر ترکیبات شیمیابی اسانس گیاه جعفری معطر (*Tagetes minuta*) بررسی و گزارش کردند که لیتالول و هومولن تحت تأثیر هیچ کدام از تیمارها قرار نگرفتند. آزو سپریلیوم برازیلنس باعث افزایش ای- او سیمنون (غالب ترین ترکیب اسانس) و ای- تاقتون به ترتیب به میزان ۷۱ و ۶۶ درصد گردید. سودوموناس فلورسنس هم باعث افزایش ترکیبات ای- او سیمن، زد- او سیمن، ای- تاقتون و

۲۱/۶۷ درصدی به ترتیب در ترکیبات متون، ایزومتون و ۸،۱ سینئول گردیدند. همانطور که در جدول ۴ مشاهده می شود، میزان ترکیبات پولگون به استثنای تیمار سودوموناس و متوفوران به استثنای تیمار گلوموس ایترارادیسز و از تباکتر نسبت به شاهد افزایش داشت. بیشترین میزان پولگون و متوفوران به ترتیب در تیمار گلوموس ایترارادیسز و سودوموناس و کمترین میزان آنها به ترتیب در تیمار سودوموناس و گلوموس ایترارادیسز حاصل شد. ترکیبات لیمونن، نئومتول، ای- کاریوفیلن و پی- متا-۳،۸- دینن از دیگر ترکیبات بیشتر از یک درصد در اسانس نعناع فلفلی بودند که با کاربرد تمامی تیمارهای باکتریابی و قارچی نسبت به شاهد، میزان لیمونن و نئومتول کاهش و ای- کاریوفیلن و پی- متا-۳،۸- دینن افزایش داشت. همچنین، ترکیبات آلفا- توجن، آلفا- فلاندرن، آلفا- هومولن و گاما- ترپین در تیمار شاهد وجود نداشتند و با اعمال تیمارهای باکتریابی و قارچی در اسانس مشاهده گردیدند. به طور کلی، در رابطه با ترکیبات غالب اسانس این گیاه می توان بیان نمود که گونه های جنس نعناع از لحاظ ترکیبات اسانس به سه نوع کمotaip یعنی غنی از متول، غنی از کارون و غنی از پولگون یا پیریتون تقسیم بندی می شوند. بارزترین گونه در بین جنس نعناع دارای اسانس غنی از متول، گونه نعناع فلفلی است (۲۱). مککی و بلومبرگ (۲۴) گزارش دادند که معمولاً اسانس نعناع فلفلی (بر حسب درصد) محتوی متول (۳۳-۶۰)، متون (۳۲-۱۵)، ایزومتون (۲-۸)، ۸،۱- سینئول (۳-۵)، متیل استات (۱۱-۲)، متوفوران (۱۱-۱)، لیمونن (۷-۱)، بتا- سیمن (۷-۱/۰)، بتا- کاریوفیلن (۴-۲)، پولگون (۶-۱/۰) و کارون (۱) می باشد. بنابراین، با توضیحات ذکر شده، مقدار ترکیبات غالب اسانس به دست آمده در محدوده مقادیر گزارش شده به وسیله مککی و بلومبرگ (۲۴) قرار دارند. همچنین، در تفسیر نتایج تغییرات این ترکیبات تحت تأثیر تیمارهای باکتریابی و قارچی نیز می توان بیان داشت که در مجموع، تغییر شرایط محیطی مانند عناصر غذایی، دما، رطوبت و روش استخراج می تواند تغییراتی در نوع و مقدار ترکیبات اسانس به وجود آورد (۱۲ و ۲۱). باکتری های

جدول ۵. درصد مونوتրپن و سزکوئی ترپن‌ها در اسانس نعناع فلفلی تحت تأثیر تیمارهای مختلف باکتری‌های محرك رشد گیاه و قارچ‌های میکوریز آربوسکولار

| تیمارهای*      |                |                |                |                |                |                | تقسیم‌بندی ترکیبات اسانس      |
|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------------|
| T <sub>۷</sub> | T <sub>۶</sub> | T <sub>۵</sub> | T <sub>۴</sub> | T <sub>۳</sub> | T <sub>۲</sub> | T <sub>۱</sub> |                               |
| ۷/۲۹           | ۶/۳۴           | ۹/۵۶           | ۸/۶۷           | ۸/۴۳           | ۶/۳۱           | ۷/۱۶           | Hydrocarbonate Monoterpenes   |
| ۸۸/۹۹          | ۸۹/۴۸          | ۸۷/۰۳          | ۸۶/۸۸          | ۸۸/۵۸          | ۹۰/۲۷          | ۸۷/۵۵          | Oxygenate Monoterpenes        |
| ۹۶/۲۸          | ۹۵/۸۲          | ۹۶/۵۹          | ۹۵/۵۵          | ۹۷/۰۱          | ۹۶/۵۸          | ۹۴/۷۱          | Total Monoterpenes            |
| ۱/۶            | ۲/۹۶           | ۲/۴۱           | ۲/۸۲           | ۲/۱            | ۱/۹۲           | ۱/۳۱           | Hydrocarbonate Sesquiterpenes |
| -              | -              | -              | -              | -              | -              | -              | Oxygenate Sesquiterpenes      |
| ۱/۶            | ۲/۹۶           | ۲/۴۱           | ۲/۸۲           | ۲/۱            | ۱/۹۲           | ۱/۳۱           | Total Sesquiterpenes          |
| ۹۷/۸۸          | ۹۸/۷۸          | ۹۹             | ۹۸/۳۷          | ۹۹/۱۱          | ۹۸/۵           | ۹۶/۰۲          | Total Identified              |

\* T<sub>۱</sub> (شاهد و بدون تلقیح)، T<sub>۲</sub> (گلوموس موسه)، T<sub>۳</sub> (گلوموس فسیکولاتوم)، T<sub>۴</sub> (ازتویاکتر)، T<sub>۵</sub> (باسیلوس) و T<sub>۷</sub> (سودوموناس)

باکتریایی و قارچی تغییراتی داشتند. به‌طوری که سزکوئی ترپن‌های هیدروکربنی در تمامی تیمارهای باکتریایی و قارچی افزایش نشان داده است و سزکوئی ترپن‌های اکسیژنه در اسانس تشخیص داده نشدند. در رابطه با تغییرات مونوتترپن‌ها و سزکوئی ترپن‌ها می‌توان بیان داشت که تحریک تولید این ترپن‌وئیدها با کاربرد تیمارهای باکتریایی و قارچی، ممکن است در نتیجه تحریک مقاومت سیستماتیک گیاه به عوامل خارجی باشد. تحریک مقاومت سیستماتیک باعث افزایش مقاومت دیواره سلول‌های گیاهی، تغییر فیزیولوژی گیاهان و پاسخ‌های متابولیک و افزایش سنتز مواد شیمیایی دفاعی در شرایط تنفس غیر زنده می‌شود (۲۷). ترپن‌ها نقش مهمی در سیستم‌های دفاعی گیاه دارند. همچنین، زیست‌ساخت ترپن‌وئیدها وابسته به متابولیسم اولیه گیاه مانند فتوسنتز و فراهمی انرژی است (۲۸). بنابراین، تغییرات زیست‌ساخت ترکیبات ترپن‌وئیدی، از جمله مونوتترپن‌ها و سزکوئی ترپن‌ها، ممکن است به‌دلیل تغییرات بیوانرژتیک سلول‌های گیاهی در پاسخ به تیمارهای باکتریایی و قارچی باشد.

**نتیجه‌گیری**  
به‌طور کلی، از نتایج این آزمایش استنتاج می‌شود که در گیاه

ليمونن شد و تیمار ترکیبی آنها نیز باعث بیشترین افزایش در ترکیبات مذکور گردید. به عنوان جمع‌بندی، با توجه به اینکه متول، از ترکیبات اسانس نعناع فلفلی، بیشتر جنبه اقتصادی و تجاری و استفاده در صنایع مختلف دارد و اگر هدف از کشت نعناع فلفلی استخراج متول از اسانس آن باشد با توجه به نتایج به‌دست آمده و کاهش درصد متول، کاربرد هیچ‌کدام از تیمارهای باکتریایی و قارچی قابل توصیه نیست. ولی در صورت نیاز به دیگر ترکیبات غالب اسانس، می‌توان با کاربرد تیمارهای باکتریایی و قارچی مشخص، باعث بهبود میزان این ترکیبات شد.

**تغییرات میزان ترپن‌های موجود در اسانس**  
مقایسه میزان ترکیبات ترپنی موجود در اسانس نعناع فلفلی در تیمارهای مختلف باکتریایی و قارچی در جدول ۵ ارائه شده است. میزان مونوتترپن‌های هیدروکربنی، به استثنای تیمار گلوموس موسه و باسیلوس، و مونوتترپن‌های اکسیژنه، به استثنای تیمار گلوموس ایترارادیسز و ازتویاکتر، نسبت به شاهد افزایش داشت. این در حالی است که مقدار کل مونوتترپن‌ها با کاربرد تیمارهای باکتریایی و قارچی نسبت به شاهد افزایش داشته است. مقدار سزکوئی ترپن‌ها نیز در پاسخ به تیمارهای

باکتریایی و قارچی باعث افزایش اکثر ترکیبات غالب اسانس، بجز متول، گردید. بنابراین، به منظور تولید اسانس نعناع فلفلی با درصد ترکیبات غالب متون، ایزو متون و ۱-۸، سیشور می‌توان از تلقیح این گیاه با تیمارهای باکتریایی و قارچی استفاده کرد.

نعناع فلفلی، با کاربرد تیمارهای باکتریایی و قارچی، بر تولید اسانس (درصد و عملکرد اسانس) افزوده می‌شود. بنابراین، با کاربرد کودهای زیستی محتوی میکرووارگانیسم‌های باکتریایی و قارچی می‌توان از مصرف کودهای شیمیایی برای دسترسی به مقدار اسانس بیشتر در نعناع فلفلی اجتناب نمود و در راستای کشاورزی پایدار گام برداشت. همچنین، کاربرد تیمارهای

### منابع مورد استفاده

۱. امیدبیگی، ر. ۱۳۸۸. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد ۱، چاپ پنجم، انتشارات آستان قدس رضوی، ۳۴۷ صفحه.
۲. عرفی، ف.، ا. گلچین و س. شفیعی. ۱۳۹۳. تأثیر کاربرد نیتروژن و محلول پاشی آمینوکلات آهن بر عملکرد و شاخص‌های رشد گیاه دارویی شوید (*Anethum graveolans L.*). علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای(۵): ۱۷-۱۲.
۳. درزی، م. ت.، ا. قلاوند، ف. سفیدکن و ف. رجالی. ۱۳۸۷. تأثیر کاربرد مایکوریزا، ورمی‌کمپوست و کود فسفات زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه رازیانه. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران (۲۴): ۳۹۶-۴۱۳.
۴. علی احیایی، م. و ع. ا. بهبهانی‌زاده. ۱۳۷۲. روش‌های تجزیه شیمیایی خاک. نشریه شماره ۸۹۳، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، تهران، ۱۳۲ صفحه.
۵. میرمصطفایی، س.، م. عزیزی، م. بحرینی، ح. آروئی و ف. عروج‌علیان. ۱۳۹۲. تأثیر روش‌های مختلف خشک کردن بر سرعت کاهش وزن، میزان اسانس و بار میکروبی نعناع فلفلی. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی (۲۰): ۱۳۳-۱۴۷.
6. Abou El-Yazeid, A., H.A. Abou-Aly, M.A. Mady and S.A.M. Moussa. 2007. Enhancing growth, productivity and quality of squash plants using phosphate dissolving microorganisms (bio-phosphor) combined with boron foliar spray. Res. J. Agric. Biol. Sci. 3(4): 274-286.
7. Adams, R.P. 2005. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured, Carol Stream, IL.,USA.
8. Auge, R.M. 2001. Water relation, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. J. Mycorrhiza 11: 3-42.
9. Banchio, E., P.C. Bogino, J. Zygadlo and W. Giordano. 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L. Biochem. Sys. Ecol. 30: 766-771.
10. Bharti, N., S. Baghel, D. Barnawal, A. Yadav and A. Karla. 2013. The greater effectiveness of *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* in improving productivity, oil content and tolerance of salt-stressed menthol mint (*Mentha arvensis* L.). J. Sci. Food Agric. 93: 2154-2161.
11. Cappellari, L.D.R., M.V. Santoro, F. Nievas, W. Giordano and E. Banchio. 2013. Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. Appl. Soil Ecol. 70: 16-22.
12. Chauhan, R.S., M.K. Kaul, A.K. Shahi, A. Kumar, G. Ram and A. Tawa. 2009. Chemical composition of essential oils in *Mentha spicata* L. Accession [IIIM (J) 26] from North-West Himalayan region, India. Ind. Crop Prod. 29: 654-656.
13. El-Sawi, S. and M. Mohamed. 2002. Cumin herb as a new source of essential oils and its response to foliar spray with some micro-elements. Food Chem. 77(1): 75-80.
14. Freitas, M.S.M., M.A. Martins and E.I.J.C. Vieira. 2004. Yield and quality of essential oils of *Mentha arvensis* in response to inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 39(9): 887-894.
15. Gupta, M.L., A. Prasad, M. Ram and S. Kumar. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresour. Technol. 81: 77-79.
16. Gupta, M., S.H. Kiran, A. Gulati, B. Singh and R. Tewari. 2012. Isolation and identification of phosphate solubilizing bacteria able to enhance the growth and aloin-A biosynthesis of *Aloe barbadensis* Miller. Microbiol. Res. 167: 358-363.
17. Hadian, J., S. Nejad Ebrahimi and P. Salehi. 2010. Variability of morphological and phytochemical characteristics

- among *Satureja hortensis* L. accessions of Iran. Ind. Crop Prod. 32: 62-69.
18. Heywood, V.H. 2002. The conservation of genetic and chemical diversity in medicinal and aromatic plants. PP. 13-22. In: Sener, B. (Ed.), Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
  19. Kapoor, R., B. Giri and K.G. Mukerji. 2002. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to enhance the concentration and quality of essential oil. J. Sci. Food Agric. 82(4): 339-342.
  20. Kapoor, R., B. Giri and K.G. Mukerji. 2004. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* Mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresour. Technol. 93: 307-311.
  21. Kumar, P., S. Mishra, A. Malik and S. Satya. 2011. Insecticidal properties of *Mentha* species: A review. Ind. Crop Prod. 34: 802-817.
  22. Kumar, V. and K.P. Singh. 2001. Enriching vermicompost by nitrogen fixing and phosphate solubilizing microorganisms. Bioresour. Technol. 76(2): 173-175.
  23. Lawrence, B.M. 2007. Mint: The Genus *Mentha*. Medicinal and Aromatic Plants. Industrial Profiles Series, CRC Press, Boca Raton, FL.
  24. McKay, D.L. and J.B. Blumberg. 2006. A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). Phytother. Res. 20(8): 619-633.
  25. Niranjan, R.S., H.S. Shetty, M.S. Reddy. 2006. Plant growth promoting rhizobacteria: Potential green alternative for plant productivity. PP. 197-216. In: Siddiqui, Z.A. (Ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization, Springer, The Netherlands.
  26. Prasad, A., S. Kumar, A. Khaliq and A. Pandey. 2011. Heavy metals and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can alter the yield and chemical composition of volatile oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Biol. Fert. Soils 47: 853-861.
  27. Ramamoorthy, V., R. Viswanathan, T. Raguchander, V. Prakasam and R. Samiyappan. 2001. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plant against pests and diseases. Crop Prot. 20: 1-11.
  28. Santoro, M.V., J. Zygaldo, W. Giordano and E. Banchio. 2011. Volatile organic compounds from rhizobacteria increase biosynthesis of essential oils and growth parameters in peppermint (*Mentha piperita* L.). Plant Physiol. Biochem. 49: 1177-1182.
  29. Sharma, A.K., 2002. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, India, 300 p.
  30. Sifola, M. and G. Barbieri. 2006. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. Sci. Hort. 108(4): 408-413.
  31. Street, R.A. 2012. Heavy metals in medicinal plant products- An African perspective. South Afr. J. Bot. 82: 67-74.
  32. Yasari, E., A.M. Patwardhan, V.S. Ghole, O. Ghasemi Chapi and A. Asgarzadeh. 2007. Biofertilizers impact on canola (*Brassica napus* L.) seed yield and quality. Asian J. Microbiol. 9(3): 701-707.
  33. Zheljazkov, V.D and T. Astatkie. 2012. Distillation waste water can modify peppermint (*Mentha piperita* L.) oil composition. Ind. Crop Prod. 36: 420-426.