

تأثیر کودهای بیولوژیک سوپر نیتروپلاس و بیوسوپرفسفات بر صفات (*Ocimum basilicum* L.) ریحان

علیرضا رهی^{*}

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۱۱)

چکیده

استفاده از باکتری‌های تولید کننده مواد غذایی مورد نیاز گیاه و به کارگیری روش‌های مناسب حاصل خیزی خاک و تغذیه گیاه علاوه بر حفظ محیط زیست و سلامتی انسان، از کاربرد غیرضروری و بی‌رویه مصرف کودهای شیمیایی نیز اجتناب می‌کند. بنابراین، برای رسیدن به چنین هدفی، آزمایشی گلخانه‌ای در شهرستان دماوند در سال ۱۳۹۱ با استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات و ثبت کننده نیتروژن در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل مصرف نیتروپلاس به میزان ۴ لیتر در هکتار، مصرف بیوسوپرفسفات به مقدار ۲ لیتر در هکتار، مصرف همزمان ۴ لیتر نیتروپلاس و ۲ لیتر بیوسوپرفسفات و شاهد (عدم مصرف نیتروپلاس و بیوسوپرفسفات) بودند که مقادیر مورد نیاز برای هر گلدان محاسبه و اعمال شد. ویژگی‌های مورد اندازه‌گیری شامل ارتفاع بوته، وزن تر و خشک ریشه، برگ و ساقه، طول ریشه، قطر ساقه، تعداد و سطح برگ و میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتینوئید بودند. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که صفات مورد بررسی این تحقیق به طور معنی‌داری تحت تأثیر کود نیتروپلاس و بیوسوپرفسفات قرار گرفته‌اند. نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایش، وزن تر و خشک اندام هوایی، کلروفیل a و کلروفیل b کل را در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری دادند.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، کود زیستی، رشد رویشی

از طرفی، کمبود مواد غذایی خاک در بسیاری از کشورها و عدم جایگزینی مناسب و کافی عناصر در خاک باعث کاهش توان تولیدی خاک شده است. امروزه، در کشاورزی پایدار، علاوه بر کمیت تولید، به کیفیت محصول و ثبات و پایداری در تولید نیز توجه خاصی می‌شود. با مدیریت صحیح عوامل محیطی قابل مدیریت مثل رطوبت، شرایط خاک و انتخاب ارقام گیاهی مناسب، می‌توان به حداقل مقدار محصول دست یافت.^(۲).

بر اساس تحقیقات انجام شده، در سطح جهانی، مجموع مقدار نیتروژنی که از طریق ثبت بیولوژیک به خاک افزوده

مقدمه

با افزایش جمعیت، نیاز انسان به محصولات کشاورزی، بخصوص سبزی‌ها، زیاد می‌شود. این در حالی است که کشور ایران نیز از این امر مستثنی نمی‌باشد. بنابراین، توسعه سطح مزارع کشاورزی در آینده امکان ندارد و بخش زیادی از تولیدات کشاورزی توسط گلخانه‌ها صورت خواهد گرفت^(۱۰). از دیگر مزایای گلخانه، کاهش ۳۱ درصدی میزان آب مصرفی نسبت به مزرعه است. با افزایش ۱۰ درصدی میزان کارایی مصرف آب، می‌توان حدود ۸ میلیارد متر مکعب آب صرفه جویی نمود، که از مجموع آب مصرفی در بخش‌های شرب و صنعت بیشتر است^(۱۶).

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: genomixar@gmail.com

جهان به محصولات سالم کشاورزی، در حال حاضر سطح زیر کشت محصولات ارگانیک در جهان $62/9$ میلیون هکتار و تجارت جهانی آن 56 میلیارد دلار می‌باشد. ولی متأسفانه جایگاه ایران در کشت ارگانیک یک جایگاه مبهم و نامشخص است. طبق اطلاعات موجود، سطح زیر کشت محصولات کشاورزی بدون استفاده از کود شیمیایی در کشور 239462 هکتار است که 125802 هکتار باغی و 113659 هکتار آن زراعی است و حداقل $3/7$ از کل تولیدات کشاورزی می‌باشد (۵). بنابراین، با توجه به خطرات جدی کودهای شیمیایی و کاهش زمین‌های قابل کشت، در این رابطه تحقیقات بسیار گسترده‌ای در جهان صورت گرفته و استفاده از کودهای زیستی توصیه شده است.

نیتروژن عنصری ضروری در تغذیه گیاهان به حساب می‌آید، زیرا یکی از اجزای مهم ترکیبات آلی مانند پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و کلروفیل می‌باشد. در سیستم‌های تولید گیاهان زراعی، قابلیت دسترسی نیتروژن در خاک یکی از عوامل مهم و محدود کننده رشد، نمو و عملکرد گیاهان می‌باشد (۳۱).

فسفر، بعد از نیتروژن، از مهمترین منابع برای تأمین رشد و نمو گیاه می‌باشد و نقش اساسی در تقسیم سلولی، تشکیل گل، تشکیل و رسیدن میوه و دانه، تنفس سلولی، رشد و تکامل ریشه، خصوصاً ریشه‌های فرعی و مویین، بلوغ گیاه، مقاومت در برابر بیماری‌ها، تولید چربی‌ها و آلبومین، بیوسیتز نوکلئوتیدها و فتوستتر دارد. کمبود این عنصر در سیتوپلاسم و در نتیجه کاهش مقدار آن در کلروپلاست، فعالیت‌های فتوستتری را مختل می‌کند (۴۲).

تحقیقات نشان می‌دهد که به دلیل آهکی بودن خاک، بیش از 80 % فسفر برای گیاه غیر قابل استفاده است. چون ابقای فسفر در این گونه خاک‌ها مشکل‌ساز است. از طرفی، جهان با کمبود منابع تأمین کننده فسفر مواجه است. بنابراین، برای تأمین فسفر مورد نیاز گیاه، بدون اینکه خطری متوجه سلامتی انسان و محیط زیست شود، استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفات لازم می‌باشد. به طور کلی، استفاده از باکتری‌های حل کننده فسفر می‌تواند راهکار بهتری جهت غلبه بر حلالیت کم فسفات باشد.

می‌شود حدود 175 میلیون تن در سال تخمين زده شده است (۹). این موضوع در حالی است که در سال 1970 میلادی در سطح جهانی میزان تأمین مواد غذایی گیاهان از خاک و کودهای شیمیایی به ترتیب حدود 50 و 40 درصد بود. تخمين زده شده که تا سال 2020 میلادی این نسبت به ترتیب به حدود 20 و 70 درصد بررسد. لذا، استفاده از کودهای شیمیایی برای تولید مواد غذایی اجتناب ناپذیر است. اما استفاده بیش از حد این کودها باعث ناپایداری محیط زیست شده و نگرانی‌هایی در مورد برهم خوردن اکوسیستم را ایجاد می‌کند (۲۲) و اگر مسائل فنی و اجتماعی لازم در نظر گرفته نشود ممکن است تبدیل به یک خطر جدی زیست‌محیطی گردد.

بر اساس برآورد انجام گرفته در ایران، 7% کل گازهای گلخانه‌ای از بخش کشاورزی منشأ می‌گیرد. انتشار گازهای گلخانه‌ای ناشی از کود در سه بخش تولید، توزیع و مصرف کودهای شیمیایی قابل بررسی است. تولید کودهای شیمیایی نیازمند مقادیر قابل توجهی انرژی در مراحل مختلف استخراج، انتقال مواد اولیه، محصول و همجنین طی فرایند ساخت می‌باشد که عامل انتشار گازهای گلخانه‌ای است. از لحاظ تئوری، به منظور کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای در بخش صنعت کود، می‌توان مصرف انرژی را تا 40% و میزان انتشار گازهای گلخانه‌ای ناشی از آن را تا 60% کاهش داد (۱۱).

از طرفی، مطابق گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO) در سال 2007 ، رتبه بهداشتی ایران 123 می‌باشد که این رتبه برای پایین بوده و علت اصلی آن سوء تغذیه است. بنابراین، برای تأمین امنیت غذایی، استفاده از کودهای شیمیایی جزء ساختار کشاورزی ایران شده است. اما استمرار در مصرف نامتعادل این کودها تهدیدی جدی برای سلامت خاک می‌باشد (۱۵).

بنابراین، برای جلوگیری از مضرات و بیماری‌های ناشی از مصرف کودهای شیمیایی، استفاده از کشاورزی آلی در یک سیستم تولیدی که از مصرف کودهای شیمیایی، آفت‌کش‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و افروزندهای خوراک دام تا حد امکان اجتناب می‌کند، ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به رویکرد

جدول ۱. نتایج آزمون خاک مورد استفاده

| Cu | Zn | Mn | Fe | P | K (mg/L) | pH | درصد رس | درصد سیلت | درصد شن | بافت خاک |
|-----|-----|-----|----|----|-------------|-----|---------|-----------|---------|----------|
| ۱/۳ | ۱/۴ | ۵/۶ | ۴ | ۱۶ | ۳۰۰ | ۷/۹ | ۳۵/۷ | ۴۸/۵ | ۱۵/۸ | لوم رسی |

در تحقیقی، مشخص شد که کود زیستی نیترات (ازتوباکتر) وزن تر، وزن خشک و ارتفاع بوته گیاه نعناع (Mentha piperita) را افزایش داد (۳۷).

نتایج بررسی کوچکی و همکاران (۱۹) نشان داد که استفاده از کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و باکتری‌های حل‌کننده فسفات باعث افزایش ارتفاع و قطر بوته و وزن تر و خشک گیاه زوفا شد. همچنین، نتایج برخی مطالعات نتایج پژوهشی نشان داد که بین کلروفیل برگ و مقدار نیتروژن رابطه معنی‌داری برقرار است (۴۰ و ۴۲).

مواد و روش‌ها

این آزمایش گلخانه‌ای در شهرستان دماوند با موقعیت جغرافیایی "۷/۹ ۴۳° ۳۵' عرض شمالی و "۳۱/۲ ۵۲° طول شرقی در قالب طرح کاملاً تصادفی از آبان ۱۳۹۱ تا اردیبهشت ۱۳۹۲ در ۳ تکرار اجرا شد. حجم گلخانه ۳۶ مکعب متر مکعب و از نوع شیشه‌ای با سازه فلزی بود. نور آن توسط خورشید تأمین می‌شد. دامنه تغییرات دمای گلخانه بین ۲۱-۲۵ درجه سلسیوس بود. به دلیل اینکه ممکن بود نتایج این آزمایش در برخی از گلخانه‌های موجود در منطقه در سال زراعی آینده مورد استفاده قرار گیرد، بنابراین خاک این آزمایش از نمونه خاک مورد استفاده در گلخانه‌های منطقه انتخاب شد. قبل از اجرای آزمایش، خاک مورد استفاده نیز آزمایش شد که نتایج آن در جدول ۱ آمده است.

کودهای بیولوژیک مورد استفاده در این تحقیق شامل نیتروپلاس و بیوسوپرفسفات بودند. باکتری‌های حل‌کننده فسفات این تحقیق از جنس‌های مختلف باسیلوس و سودوموناس می‌باشند. همچنین، سوپرنیتروپلاس مجموعه‌ای از گونه‌های مختلف باکتری‌های ثبت‌کننده نیتروژن و باکتری‌های

این باکتری‌ها قادرند از طریق مکانیسم‌های مختلف فسفر را از منابع نامحلول آزاد کنند (۲۴).

در این رابطه، نتایج تحقیق کرسپو و همکاران (۳۲) نشان می‌دهد که باکتری‌های حل‌کننده فسفات یک جایگزین بسیار خوب برای کودهای شیمیایی فسفاته است، که علاوه بر رشد گیاه، می‌تواند موجب ارتقاء توانایی‌های گیاه در استفاده از فسفات خاک باشد. همچنین، رحمانی و همکاران (۱۰) گزارش کردند که نتایج تحقیقات صورت گرفته در ارتباط با این نوع نهاده‌های زیستی نشان داده که دامنه تأثیر آنها بسته به نوع گیاه، بافت خاک، آب و هوا، دما، رطوبت و شرایط شیمیایی خاک متغیر است و کاربرد آنها توانسته است ۲۵ تا ۵۰ درصد از نیاز فسفر گیاه میزبان را تأمین نمایند. لقاح بذر با باکتری‌های حل‌کننده فسفات نقش مهمی در ارتقاء رشد گیاه و بهبود حاصل خیزی خاک دارد (۳۴).

کشت گیاهان دارویی و معطر سابقه طولانی در ایران دارد. ریحان به عنوان گیاه دارویی، ادویه‌ای و سبزی تازه، از پرمصرف‌ترین گیاهان می‌باشد. ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum L.* خانواده نعناع (Lamiaceae) است. جنس *Ocimum L.* دارای بیش از ۳۰ گونه بوده و گونه *Ocimum L.* در اکثر نقاط جهان کاشته می‌شود (۴۰). این گیاه به عنوان خلط آور، ضد نفخ، جهت تسکین درد معله و محرك استفاده می‌شود. همچنین، ریحان خاصیت حشره‌کشی، دورکننده پشه، ساس، مار و عقرب دارد. در صنایع غذایی، عطر سازی و پزشکی استفاده‌های زیادی از این گیاه می‌شود (۲۷).

دیده‌بان و همکاران (۷) با بررسی اثر مخلوط کود زیستی آزوسپیریلوم و ازتوباکتر بر برخی از عناصر معدنی موجود در برگ سه رقم کلزا در خوزستان به این نتیجه رسیدند که کود زیستی نیتروکسین افزایش معنی‌داری در عملکرد ایجاد کرد.

جدول ۲. آزمون نرمالیته به روش اسمیرنوف-کولموگروف صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک ریحان تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات (Ocimum basilicum L.)

| ارتفاع بوته | قطر ساقه | وزن ریشه | طول ساقه | وزن برگ | وزن ساقه | تعداد سطح خشک | وزن تر خشک | وزن خشک | کلروفیل a | کلروفیل b | کارتوئینوئیدها | کل کلروفیل |
|-------------|----------|----------|----------|---------|----------|---------------|------------|---------|-----------|-----------|----------------|------------|
| ۰/۸۹ | ۰/۹۸ | ۰/۹۹ | ۰/۷۴ | ۰/۷۱ | ۰/۵۳ | ۰/۷۵ | ۰/۹۸ | ۰/۹۹ | ۰/۱۹ | ۰/۹۱ | ۰/۷۶ | ۰/۸۸ |
| | | | | | | | | | | | ۰/۹۳ | ۰/۹۲ |

(۱۸). آنالیز داده‌ها توسط نرم افزار SPSS SAS و انجام گردید.

$$Chl.a = [(12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645}))V/W \times 1000g^{-1} FW] [1]$$

$$Chl.b = [(22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663}))V/W \times 1000g^{-1} FW] [2]$$

$$Chl.Total = Chl.a + Chl.b [3]$$

$$C_{X+C} = \frac{(1000 \times A470 - 1.8Chl.a - 85.02Chl.b) \times V}{198 \times 1000 \times W} [4]$$

که A_{663} جذب در ۶۶۳ نانومتر، A_{645} جذب در ۶۴۵ نانومتر، V حجم محلول و W وزن برگ (میلی‌گرم) است.

نتایج و بحث

قبل از انجام تجزیه واریانس روی کلیه داده‌ها، آزمون تست نرمالیته بر اساس روش اسمیرنوف-کولموگروف انجام شد که نتایج این آزمون در جدول ۲ آمده است. نتیجه به دست آمده تأیید می‌کند که صفات نرمال می‌باشند.

ارتفاع بوته و خصوصیات ساقه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که مصرف کودهای بیولوژیک در مقایسه با تیمار شاهد تأثیر معنی‌داری (در سطح احتمال ۱٪) بر ارتفاع بوته و برای صفات قطر ساقه، وزن تر و وزن خشک ساقه در سطح ۵٪ داشته است.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، بیشترین ارتفاع بوته (۳۰/۸ سانتی‌متر) مربوط به مصرف همزمان سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات و کمترین مقدار آن (۲۰ سانتی‌متر) مربوط به عدم مصرف کودهای زیستی می‌باشد. ثابت

محرك رشد (PGPR) شامل *Basillus subtilis* *Pseudomonas* می‌باشد که با فرمولاسیون *Azospirillum spp flurescens* شرکت فن‌آوری زیستی مهر آسیا تهیه شد. تیمارها شامل نیتروپلاس به میزان ۴ لیتر در هکتار، بیوسوپرفسفات به مقدار ۲ لیتر در هکتار، مصرف همزمان ۴ لیتر در هکتار نیتروپلاس و ۲ لیتر در هکتار بیوسوپرفسفات و همچنین شاهد (عدم مصرف نیتروپلاس و بیوسوپرفسفات) بودند، که مقادیر مورد نیاز برای هر گلدان محاسبه و اعمال شد. هر گلدان دارای ۴ کیلوگرم خاک بود. کلیه تیمارها با بذرهای گیاه ریحان تلقیح شدند و سپس اقدام به کاشت گردید. پس از سبز شدن بذرهای ریحان، برای هر گلدان ۱۰ بوته در نظر گرفته شد و کلیه مراحل یادداشت‌برداری‌ها روی گیاهان هر گلدان صورت گرفت.

صفات مورد بررسی عبارت بودند از ارتفاع بوته، طول ریشه و قطر یقه که با کولیس دیجیتالی با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد. وزن تر و وزن خشک برگ، ریشه، ساقه و بخش هوایی که با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. سطح برگ نیز به سانتی‌متر مریع (دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ مدل CI۲۰۲) اندازه‌گیری گردید. برای سنجش کلروفیل a، b، کل و کارتوئینوئید مقدار ۰/۰۵ گرم برگ تر را وزن نموده و با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده شد. سپس مخلوط به دست آمده را صاف و با استون ۸۰ درصد به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب محلول در طول موج ۴۷۰، ۶۴۶ و ۶۶۳ نانومتر با دستگاه طیف سنج مدل ۱۶۰۰ اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول ارائه شده غلظت کلروفیل های a، b، کل و کارتوئینوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ تعیین شد

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس ارتفاع و خصوصیات ساقه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی

سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات

| منابع تغییرات | درجه آزادی | ارتفاع بوته | قطر ساقه | وزن ساقه | وزن خشک ساقه | میانگین مربعات |
|------------------|------------|-------------|----------|----------|--------------|----------------|
| تیمار | ۳ | ۷۳/۶** | ۰/۱۵* | ۰/۱۷* | ۰/۰۰۰۹* | ۰/۰۰۰۹* |
| خطا | ۸ | ۸/۸۵ | ۰/۰۳ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۰۰۱ | ۰/۰۰۰۱ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۱۱/۱۵ | ۱۳/۴ | ۲۹/۲ | ۳۲/۹ | ۳۲/۹ |

** و * به ترتیب معنی دار در سطوح ۱٪ و ۵٪

جدول ۴. مقایسه میانگین ارتفاع و خصوصیات ساقه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات به روش دان肯

| تیمار | ارتفاع بوته (سانتی متر) | قطر ساقه (میلی متر) | وزن ساقه (گرم) | وزن خشک ساقه (گرم) | میانگین |
|------------------------------|-------------------------|---------------------|----------------|--------------------|---------|
| شاهد | ۲۰b | ۱/۱۳ab | ۰/۲b | ۰/۱۵b | ۰/۰۱۵b |
| سوپرنیتروپلاس | ۲۵/a | ۱/۵b | ۰/۴۲b | ۰/۰۲۷b | ۰/۰۲۷b |
| بیوسوپرفسفات | ۳۰a | ۱/۷a | ۰/۸۴a | ۰/۰۵۸a | ۰/۰۵۸a |
| سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات | ۳۰/a | ۱/۴۶ab | ۰/۵ab | ۰/۰۳۸ab | ۰/۰۳۸ab |

در هر ستون، اعدادی که حداقل یک حرف مشترک دارند، اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ ندارند.

بیوسوپرفسفات نسبت به بقیه تیمارها بیشترین قطر (۱/۷ میلی متر) و شاهد کمترین قطر (۱/۱۳ میلی متر) را تولید کرده است. در این باره، شمسی محمودآبادی و همکاران (۱۳) بیشترین قطر ساقه به دست آمده در سه رقم ذرت علوفه ای را در مصرف کود زیستی فسفات گزارش کردند.

بیشترین وزن تر و خشک ساقه، به ترتیب ۰/۰۸۴ و ۰/۰۵۸ گرم، در مصرف بیوسوپرفسفات حاصل شد و شاهد نیز در خصوص صفات وزن تر و خشک ساقه، به ترتیب ۰/۲ و ۰/۰۱۵ گرم، کمترین مقدار را داشت (جدول ۴). در این رابطه، خواصی و همکاران (۶) نیز گزارش نمودند که کودهای زیستی تأثیر معنی داری بر وزن خشک ساقه باقلاً دارند. همچنین، زارع دوست و همکاران (۱۲) گزارش نمودند که کود بیولوژیک فسفاته می تواند موجب افزایش اندام هوایی گیاه گل جعفری شود. برخی از محققین عقیده دارند که سودوموناس ها اثر هم افزایی قابل توجهی بر فعالیت میکروارگانیسم های دیگر

شده است که آزوسپریلوم قادر به تولید ایندول تری استیک اسید (IAA) از طریق راه های بیوسنتزی متعددی مانند آمینوترانسفراز، ایندول تری استامید و مسیرهای متصل از تریپتوфан هستند (۳۷). در بین هورمون ها، اکسین و جیبرلین نقش اصلی را بر عهده دارند (۲۹). علاوه بر اکسین، هورمون های دیگری از خانواده ایندول توسط این باکتری سنتز می شوند و یکی از مهم ترین دلایل نسبت دادن توانایی ارتفاع رشد گیاهان توسط باکتری های تثیت کننده نیتروژن، تولید فیتوهورمون های متعددی است که باعث افزایش رشد ریشه و بهبود جذب آب و عناصر معدنی و در نهایت تولید رشد طولی گیاه می شود (۲۸). باکتری های حل کننده فسفات که روی مواد آلی آزاد شده از ریشه زندگی می کنند با ترشح اسیدهای مختلف و کاهش pH محیط ریشه باعث افزایش غلظت فسفات قابل جذب توسط گیاه می شوند (۳۰).

نتایج مقایسه میانگین ها (جدول ۴) نشان داد که

جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس خصوصیات برگ ریحان (*Ocimum basilicum L.*) تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات

| منابع تغییرات | درجه آزادی | وزن تر برگ | وزن خشک برگ | تعداد برگ | سطح برگ | میانگین مربعات |
|----------------------|------------|------------|-------------|-----------|---------|----------------|
| تیمار | ۳ | ۰/۳۶* | ۰/۰۵۳* | ۲۶/۸۵* | ۳۲۶۴* | |
| خطا | ۸ | ۰/۰۷ | ۰/۰۰۰۴ | ۳/۸ | ۴۵۹ | |
| ضریب تغییرات (%) | | ۲۷/۲۲ | ۲۳/۶ | ۱۱/۳۷ | ۲۸/۶ | |
| * معنی دار در سطح ۵٪ | | | | | | |

جدول ۶. مقایسه میانگین خصوصیات برگ ریحان (*Ocimum basilicum L.*) تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات به روشن دانکن

| تیمار | وزن تر برگ (گرم) | وزن خشک برگ (گرم) | تعداد برگ | سطح برگ (سانسی مترا مربع) |
|------------------------------|------------------|-------------------|-----------|------------------------------|
| شاهد | ۰/۵b | ۰/۰۴۶b | ۱۲b | ۱۷/۳۰b |
| سوپرنیتروپلاس | ۱/۰۸a | ۰/۱۰۱a | ۲۰a | ۷۲/۴۷a |
| بیوسوپرفسفات | ۱/۳a | ۰/۱۲a | ۱۷a | ۱۰۷/۶۶a |
| سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات | ۲/۱۹a | ۰/۱a | ۱۸a | ۸۸/۵۳a |

در هر ستون، اعدادی که حداقل یک حرف مشترک دارند، اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ ندارند.

صرف بیوسوپرفسفات بیشترین وزن خشک برگ (۰/۱۲ گرم) را تولید کرد که با میانگین‌های حاصل از صرف سوپرنیتروپلاس به تنها یک و صرف هم‌زمان سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات تفاوت معنی داری نداشت. عدم صرف کودهای زیستی (شاهد) کمترین وزن خشک برگ (۰/۰۴۶ گرم) را ایجاد کرد. شارما (۴۴) گزارش کرد که صرف کودهای زیستی باعث افزایش زیست‌توده و ماده خشک در گیاه شده و دلیل آن را به تثبیت بیولوژیک عناصر مورد نیاز گیاه، از جمله نیتروژن و فسفر، مرتبط دانست. انصاری جوینی و همکاران (۳) نیز گزارش کردند Azotobacter کاربرد کودهای زیستی شامل باکتری‌های *Pseudomonas putida* strain ۱۶۸ و *chroococcum* ترتیب تثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفات هستند می‌تواند به همراه ورمی‌کمپوست، وزن خشک گیاه را افزایش دهد. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) نشان داد که تعداد برگ با صرف سوپرنیتروپلاس (۲۰ برگ) افزایش داشته و شاهد

دارند. مثلاً سودوموناس فلورسنس روی فعالیت ریزوبیوم ژاپونیکوم اثر گذاشته و موجب افزایش تعداد غده‌های تثبیت کننده نیتروژن و همچنین رشد گیاه شده است (۲۰).

خصوصیات برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۵) نشان داد که تأثیر کاربرد کودهای زیستی بر وزن تر و خشک برگ و همچنین سطح و تعداد برگ در سطح ۵٪ معنی دار شده است. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) نشان داد که بیشترین وزن تر برگ (۲/۱۹ گرم) در صرف هم‌زمان سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات حاصل شده است. تیمار عدم صرف کود زیستی، کمترین میانگین وزن تر برگ (۰/۵ گرم) را دارا بود. در این رابطه، ویسانی و همکاران (۲۶) گزارش نمودند که صرف کود زیستی موجب افزایش وزن تر برگ گیاه ریحان شد.

جدول ۷. نتایج تجزیه واریانس خصوصیات ریشه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی سوپر نیتروپلاس و بیو سوپرفسفات

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | طول ریشه | وزن تر ریشه | وزن خشک ریشه |
|------------------|------------|----------------|----------|-------------|--------------|
| تیمار | ۳ | ۰/۰۰۴* | ۲۴۵/۸* | ۰/۴** | ۰/۰۰۱ |
| خطا | ۸ | ۰/۰۰۱ | ۳۳/۳۳ | ۰/۰۰۳ | ۱۷/۶۱ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۱۴/۵۳ | ۲۰/۳۷ | | |

* و ** به ترتیب معنی دار در سطوح ۱٪ و ۵٪

جدول ۸. مقایسه میانگین خصوصیات ریشه ریحان (*Ocimum basilicum L.*) تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی سوپر نیتروپلاس و بیو سوپرفسفات به روش دانکن

| تیمار | طول ریشه (سانتی متر) | وزن تر ریشه (گرم) | وزن خشک ریشه (گرم) | وزن خشک ریشه (سانتی متر) |
|--------------------------------|----------------------|-------------------|--------------------|--------------------------|
| شاهد | ۱۷/۵c | ۰/۱۳d | ۰/۰۱۳b | ۰/۰۱۳b |
| سوپر نیتروپلاس | ۲۵bc | ۰/۷۳a | ۰/۰۴۲a | ۰/۰۴۲a |
| بیو سوپرفسفات | ۳۲/۵ab | ۰/۳c | ۰/۰۱۶b | ۰/۰۱۶b |
| سوپر نیتروپلاس و بیو سوپرفسفات | ۳۸/۳a | ۰/۵۳b | ۰/۰۱۸b | ۰/۰۱۸b |

در هر ستون، اعدادی که حداقل یک حرف مشترک دارند، اختلاف معنی داری در سطح ۵٪ ندارند.

خصوصیات ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تأثیر کاربرد کودهای زیستی بر وزن تر (در سطح ۱٪) و وزن خشک و طول ریشه در سطح ۵٪ معنی دار است (جدول ۷).

مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۸) نشان داد که در مصرف هم زمان سوپر نیتروپلاس و بیو سوپرفسفات بیشترین طول ریشه (۳۸ سانتی متر) حاصل می شود و شاهد نیز نسبت به سایر تیمارها کمترین مقدار طول ریشه (۱۷/۵ سانتی متر) را دارد.

بیشترین وزن تر و خشک ریشه در مصرف سوپر نیتروپلاس (به ترتیب ۰/۷۳ و ۰/۰۴۲ گرم) به دست آمد (جدول ۸). تیمار شاهد (عدم مصرف کودهای زیستی) کمترین مقدار وزن تر و خشک ریشه (به ترتیب ۰/۱۳ و ۰/۰۱۳ گرم) را تولید کرد. نتایج تحقیق ویسانی و همکاران (۲۶) نشان داد که کود بیولوژیک فسفاته تأثیری بر طول و وزن خشک ریشه ریحان ندارد. مطهری و همکاران (۲۲) گزارش کردند که کود بیولوژیک

کمترین تعداد برگ (۱۳ عدد) را تولید کرد. ویسانی و همکاران (۲۶) با بررسی اثر نیتروکسین، فسفات بارور و کود شیمیایی نیتروژن و فسفر بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک ریحان به این نتیجه رسیدند که کود زیستی نیتروکسین افزایش معنی داری بر تعداد برگ دارد.

بیشترین سطح برگ در تیمار بیو سوپرفسفات (۱۰۷/۶۶ سانتی متر مربع) به دست آمده که با تیمار مصرف هم زمان سوپر نیتروپلاس و بیو سوپرفسفات و سوپر نیتروپلاس اختلاف معنی داری نداشت. کمترین سطح برگ (۱۷/۳ سانتی متر مربع) در تیمار شاهد حاصل شد (جدول ۶). در این رابطه، نتایج سایر محققین نشان می دهد که استفاده از کود زیستی فسفاته در کشت گندم روی شاخص سطح برگ اثر معنی دار دارد (۲۵). افزایش دسترسی عناصر غذایی فسفر و نیتروژن مورد نیاز گیاه و افزایش عملکرد به وسیله ترکیب باکتری های آزو سپریلوم و حل کننده فسفات نیز گزارش شده است (۳۳).

جدول ۹. نتایج تجزیه واریانس رنگیزه‌های گیاهی ریحان (*Ocimum basilicum L.*) تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی سوپرنتروپلاس و بیوسوپرفسفات

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | کاروتوئید | کلروفیل کل | کلروفیل b | کلروفیل a | کاروتوئید |
|------------------|------------|----------------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|
| تیمار | ۳ | ۰/۰۰۶ns | ۰/۰۵** | ۰/۰۰۹** | ۰/۰۲۲** | ۰/۰۰۹** | ۰/۰۰۶ns |
| خطا | ۸ | ۰/۰۰۱۴ | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۰۴ | ۰/۰۰۲ | ۰/۰۰۰۲ | ۰/۰۰۱۴ |
| ضریب تغییرات (%) | ۱۶/۸ | ۵/۸ | ۱۹/۸ | ۱۰/۵ | ۱۰/۵ | ۱۰/۵ | ۱۶/۸ |

** و ns به ترتیب معنی دار در سطح ۱٪ و بدون اختلاف معنی دار

که با مقدار مصرف همزمان سوپرنتروپلاس و بیوسوپرفسفات تفاوت معنی داری ندارد. مقدار کلروفیل a در تیمار شاهد ۰/۳۷ میلی گرم در گرم وزن تر برگ بود که در بین تیمارها کمترین مقدار می‌باشد (جدول ۱۰).

کلروفیل b در تیمار مصرف جدآگانه سوپرنتروپلاس و بیوسوپرفسفات، به ترتیب ۰/۱۵ و ۰/۱۶ میلی گرم در گرم وزن تر برگ، بیشترین مقدار و در تیمار شاهد کمترین مقدار بود (۰/۰۵ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) که با مقدار مصرف همزمان سوپرنتروپلاس و بیوسوپرفسفات تفاوت آماری معنی داری ندارد (جدول ۱۰).

صرف جدآگانه سوپرنتروپلاس و بیوسوپرفسفات، بیشترین مقدار کلروفیل کل (به ترتیب ۰/۷۱ و ۰/۷۲ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) را تولید کرد که با یکدیگر نیز اختلاف معنی دار آماری ندارند. کمترین مقدار کلروفیل کل (۰/۴۳ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۱۰).

کلروفیل همیشه در اتصال با پروتئین‌ها یافت می‌شود (۱۷). بنابراین، می‌توان با کمک باکتری‌های تثیت‌کننده نیتروژن، نیتروژن مورد نیاز کلروفیل و پروتئین‌های گیاهی را تأمین نمود و باعث افزایش مقدار کلروفیل در گیاه شد که این افزایش نیز خود موجب افزایش تولیدات گیاهی می‌شود. در پژوهشی، مشخص شد که باکتری‌های تثیت‌کننده نیتروژن بر مقدار کلروفیل در گندم مؤثرند (۵).

فسفاته بر وزن تر و خشک ریشه گل همیشه بهار اثر مثبت دارد. همچنین، نتایج پژوهشی نشان داد که *Pseudomonas putida* محرك قدرتمند رشد ریشه و اندام هوایی گیاه است و جذب فسفر ۳۲ نشاندار را در کلزا افزایش می‌دهد (۳۸). باکتری‌های تثیت‌کننده نیتروژن قادرند از طریق ایجاد رابطه مقابله از نوع همیاری با گیاه، نیتروژن مولکولی را تثیت و در اختیار میزان خود قرار دهند. علاوه بر این، باکتری، با تولید هورمون‌های رشد، توسعه سیستم ریشه‌ای و بهبود جذب آب و مواد معدنی موجب رشد گیاهان می‌شود (۴۱). میکرووارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات، با ترشح اسیدهای آلی و استفاده از آنزیم فسفاتاز، با کاهش موضعی pH خاک، فسفر را از فاز نامحلول به فاز محلول خاک وارد می‌کنند. با ترشح اسیدهای آلی موجب افزایش حلایت فسفات معدنی کم محلول، نظیر سنگ فسفات، می‌شوند و یا با تولید آنزیم فسفاتاز سبب آزاد شدن فسفر از ترکیبات آلی می‌گردد. در نتیجه، فسفر آزاد شده جذب گیاه شده و رشد اندام‌های گیاه را موجب می‌شود (۳۵).

رنگیزه‌های فتوسترزی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۹) نشان داد که اثر کودهای زیستی بر کلروفیل‌های a, b و کل در سطح ۱٪ معنی دار شد. اما اثر معنی داری بر کاروتوئیدها نداشت. بیشترین مقدار کلروفیل a (۰/۵۶ میلی گرم در گرم وزن تر برگ) در مصرف جدآگانه سوپرنتروپلاس و بیوسوپرفسفات حاصل شد

جدول ۱۰. مقایسه میانگین صفات رنگیزهای گیاهی ریحان (*Ocimum basilicum L.*) تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات به روش دانکن

| تیمار | کلروفیل a (میلی گرم در گرم وزن تر برگ) | کلروفیل b (میلی گرم در گرم وزن تر برگ) | کلروفیل کل (میلی گرم در گرم وزن تر برگ) |
|------------------------------|---|---|--|
| شاهد | ۰/۳۷b | ۰/۰۵b | ۰/۴۳c |
| سوپرنیتروپلاس | ۰/۵۶a | ۰/۱۵a | ۰/۷۱a |
| بیوسوپرفسفات | ۰/۵۶a | ۰/۱۶a | ۰/۷۲a |
| سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات | ۰/۵۲a | ۰/۰۷b | ۰/۰۹b |

در هر ستون، اعدادی که حداقل یک حرف مشترک دارند، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف هم‌زمان کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات توانست ارتفاع بوته، وزن تر و خشک ریشه، برگ و ساقه، طول ریشه، قطر ساقه، تعداد و سطح برگ و غلظت رنگیزهای را افزایش دهد. با توجه به نتایج این تحقیق و سایر محققین در خصوص تأثیر مطلوب کودهای زیستی بر گیاه، و برای حفظ سلامتی انسان و محیط زیست، توصیه می‌گردد که کودهای زیستی جایگزین کودهای شیمیایی شده و یا به همراه آن‌ها مصرف گردد.

نتیجه‌گیری

امروزه با درک بیشتر عوارض جدی زیست‌محیطی ناشی از به‌کارگیری بی‌رویه و نامتعادل کودهای شیمیایی و اهمیت استفاده از کودهای زیستی در بهبود حاصل‌خیزی خاک و تولید پایدار محصولات کشاورزی، تولید و کاربرد این کودها توسعه بیشتری یافته و کشورهای در حال توسعه، اقدام به تولید و مصرف کودهای بیولوژیک نموده‌اند. نتایج برخی از تحقیقات نشان می‌دهد که باکتری‌های ثبت‌کننده نیتروژن و باکتری‌های حل‌کننده فسفات در انواع محیط‌ها فعالیت می‌کنند. بنابراین،

منابع مورد استفاده

- آمارنامه کشاورزی. ۱۳۸۷. معاونت امور برنامه‌ریزی، اقتصادی و بین‌المللی، دفتر آمار و فناوری اطلاعات.
- امیدبیگی، ر. ۱۳۷۴. کاربرد بابو نه اصلاح شده در صنایع آرایشی و بهداشتی. مجموعه مقالات اولین سمینار بین‌المللی صنایع بهداشتی آرایشی، صفحه ۳۸.
- انصاری جوینی، م.، م. چایی‌چی و ر. کشاورز افشار. ۱۳۹۰. اثر روش‌های مختلف حاصل‌خیزی خاک (شیمیایی، آلی و تلفیقی) بر عملکرد و اجزای عملکرد شلغم علوفه‌ای (*Brassica rapa*). مجله الکترونیکی تولید گیاهان زراعی (۳): ۱۲۱-۱۳۸.
- حاجی‌بلند، ر.، ن. اصغرزاده و ز. مهرفر. ۱۳۸۳. بررسی اکولوژیکی از توباكتر در دو منطقه مرتعی آذربایجان و اثر تلقیح آن روی رشد و تغذیه معنی‌گیاه گندم. علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی) (۸)(۲): ۷۵-۹۰.
- حیدری، خ. و ج. قادری. ۱۳۸۹. چرا کشاورزی آلی (ارگانیک)؟ اولین کنگره چالش‌های کود در ایران: نیم قرن مصرف کود، تهران.
- خوازی، ک.، ه. اسدی رحمانی و م. ج. ملکوتی. ۱۳۸۴. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور (مجموعه مقالات)، انتشارات سنا، صفحه ۴۲۰.
- دیده‌بان، ب.، ع. عبادی پور، م. هنرمندیان و د. علی بیگی بنی. ۱۳۹۰. اثر مخلوط کود زیستی آزوسپیریلوم و ازتوباکتر بر روی

برخی از عناصر معدنی موجود در برگ سه رقم کلزا در خوزستان. اولین همایش ملی راهبردهای دستیابی به کشاورزی پایدار، دانشگاه پیام نور استان خوزستان، اهواز.

۸. رجالی، ف.، ه. اسدی رحمانی، ک. خوازی، ا. اصغر زاده و م. افشاری. ۱۳۸۹. جایگاه کودهای بیولوژیک فسفاتی و ضرورت توسعه آنها در کشاورزی ایران. اولین کنگره چالش‌های کود در ایران: نیم قرن مصرف کود، تهران.

۹. رحمانی، ح. ۱۳۸۹. کودهای زیستی و نقش آن در کشاورزی پایدار و تولید محصول سالم. اولین کنگره چالش‌های کود در ایران: نیم قرن مصرف کود، تهران.

۱۰. رحمانی، ح.، ف. نورکی و م. برادران. ۱۳۹۱. ارزیابی عوامل مؤثر بر مدیریت بهینه گلخانه‌های صیفی استان خوزستان. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای (۳) (۱۰): ۸۹-۱۰۰.

۱۱. رضایی، ح. و س. سعادت. ۱۳۸۹. بهبود سامانه تولید، توزیع و مصرف کودهای شیمیایی در راستای کاهش انتشار گازهای گلخانه‌ای و تغییر اقلیم. اولین کنگره چالش‌های کود در ایران: نیم قرن مصرف کود، تهران.

۱۲. زارع دوست، ف.، د. هاشم آبادی و م. جدید سلیمان دارابی. ۱۳۹۱. بررسی اثر کود بیولوژیک فسفاته بر روی گل جعفری (Zarع دوست، ف.، د. هاشم آبادی و م. جدید سلیمان دارابی. ۱۳۹۱. بررسی اثر کود بیولوژیک فسفاته بر روی گل جعفری (*Tagetes erecta L.*). اولین همایش ملی توسعه پایدار کشاورزی و محیط زیست سالم، ۸ اسفند، دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان.

۱۳. شمسی محمودآبادی، ح.، ا. مروتی شریف و ز. جاودان نایینی. ۱۳۹۰. کارایی مصرف باکتری‌های تسهیل کننده جذب فسفر موجود در کود زیستی فسفات بر رشد و عملکرد علوفه تر در سه رقم ذرت علوفه‌ای. اولین همایش مباحث نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه.

۱۴. صالح راستین، ن. کودهای بیولوژیک و نقش آنها در راستای نیل به کشاورزی پایدار. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور، مجموعه مقالات مرکز نشر آموزش کشاورزی، کرج، ص ۵۴.

۱۵. طالبی اتوئی، م.، ف. اقامیر، س. نظامی و ا. حسنی. ۱۳۸۹. مصرف نامتعادل کود تهدیدی جدی برای سلامت جامعه. اولین کنگره چالش‌های کود در ایران: نیم قرن مصرف کود، تهران.

۱۶. عابدی کوپایی، ج.، س. اسلامیان و م. امیری. ۱۳۸۸. کشت‌های گلخانه‌ای راهی برای افزایش کارایی مصرف آب. اولین کنگره ملی هیدرопونیک و تولیدات گلخانه‌ای، صفحات ۴۵۴-۴۵۵.

۱۷. عباسی، ع.، م. شفیع رحمانی وی. وفایی. ۱۳۹۰. بیوشیمی گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران، ۷۸۶ صفحه.

۱۸. فرهی آشتیانی، ص. و ص. پرویزیان. ۱۳۶۷. آزمایش‌هایی در فیزیولوژی گیاهی. مرکز نشر دانشگاهی، تهران، ۱۶۵ صفحه.

۱۹. کوچکی، ع.، ل. تبریزی و ر. قربانی. ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگی‌های رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا (*Hyssopus officinalis*). پژوهش‌های زراعی ایران (۶) (۱): ۱۲۷-۱۳۷.

۲۰. کیانی راد، م. ۱۳۷۴. بررسی میکروارگانیسم‌های حل کننده فسفات و تأثیر آنها در کاهش مصرف کودهای فسفره در کشت سویا. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران، کرج.

۲۱. محسنی نیک، ن.، ح. ذبیحی و ا. اصغر زاده. ۱۳۹۰. بررسی عکس العمل گل بریدنی رز به کاربرد کودهای زیستی در شرایط کشت هیدرопونیک. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای (۲) (۸): ۵۷-۶۹.

۲۲. مرجوی، ع. و ع. یزدان پناه. ۱۳۸۹. کودهای شیمیایی و محیط زیست. اولین کنگره چالش‌های کود در ایران: نیم قرن مصرف کود، تهران.

۲۳. مطهری، ح.، پ. مرادی، ع. هانی و م. مطهری. ۱۳۹۰. بررسی مصرف توأم ازت و بارور ۲ بر عملکرد و اجزاء عملکرد گیاه دارویی همیشه بهار. اولین همایش مباحث نوین در کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه.
۲۴. موسوی، ر. و ا. سپهر. ۱۳۹۲. بررسی فسفرکارایی ارقام مختلف جو در حضور ریزجانداران حل کننده سنگ فسفات. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای (۴): ۲۷-۴۰.
۲۵. میرزایی حیدری، م.، ع. ملکی و ر. کرمی. ۱۳۸۶. بررسی اثر کود زیستی فسفاته و مقادیر متفاوت کود فسفره بر عملکرد و اجزای عملکرد گندم. مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم خاک ایران، ۶-۴ شهریور، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج.
۲۶. ویسانی، و.، س. رحیم زاده وی. سهرابی. ۱۳۹۱. تأثیر کودهای بیولوژیک بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و میزان انسانس گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران (۲۸): ۷۳-۸۷.
27. Arabaci, O. and E. Bayram. 2004. The effect of nitrogen fertilization and different plant densities on some agronomic and technologic characteristics of *Ocimum basilicum* L. (Basil). J. Agron. 3(4): 255-262.
28. Bashan, Y. and L. Gonzales. 1999. Long term survival of plant growth promoting bacteria *Azospirillum brasiliense* and *Pseudomonas fluorescens* in dry alginate inoculate. Appl. Microbiol. Biochem. 27: 262-266.
29. Bashan, Y., G. Holguin and L.E De-Bashan. 2004. Azospirillum plant relationship: Physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). Can. J. Microbiol. 50: 521-577.
30. Black, C.A. 1968. Soil-Plant Relationships. 2nd Edn., John Wiley and Sons, Inc., New York.
31. Bredemeier, C. 2005. Laser-induced chlorophyll fluorescence sensing as a tool for site specific nitrogen fertilizer evaluation under controlled environmental and field conditions in wheat and maize. PhD Thesis, Technical University, Munich, Germany.
32. Crespo, J.M., J. Boiardi and M. Luna. 2011. Mineral phosphate solubilization activity of *Gluconacetobacter diazotrophicus* under P-limitation and plant root environment. Agric. Sci. 2(1): 16-22.
33. El-Komy, H.M.A. 2005. Co-immobilization of *Azospirillum lipoferum* and *Bacillus megaterium* for successful phosphorus and nitrogen nutrition of wheat plants. Food Technol. Biotech. 43: 19-27.
34. Gurdeep, K. and R. Sudhakara. 2014. Influence of P-solubilizing bacteria on crop yield and soil fertility at multilocational sites. Soil Biol. 61: 35-40.
35. Gyaneshwar, P., G.N. Aresh Kumar, L.J. Parekh and P.S. Poole. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. Plant Soil 245: 83-93.
36. Holguin, G., C.L. Patten and B.R. Glick. 1999. Genetics and molecular biology of *Azospirillum*. Biol. Fert. Soils 29: 10-23.
37. Karla, A. 2003. Organic cultivation of medicinal and aromatic plants. A hope for sustainability and quality enhancement. Journal of Organic Production of Medicinal, Aromatic and Dye-Yielding Plants (MADPs), FAO, 198 p.
38. Lifshitz, R., J. Klopper, M. Kozlowski, C. Simonson, J. Carlson, E. Tipping and I. Zalesca. 1987. Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions. Can. J. Microbiol. 33: 390-395.
39. Marotti, M., R. Piccaglia and E. Giovanelli. 1996. Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristics. J. Agric. Food. Chem. 44: 3926-3936.
40. Monje, A.O. and B. Bugbee. 1992. Inherent limitations of nondestructive chlorophyll meters: A comparison of two types of meters. HortSci. 27: 69-71.
41. Okon, Y. and Y. Kapulnik. 1986. Development and function of *Azospirillum* inoculated roots. Plant Soil 90: 3-16.
42. Rao, I.M., A. Arulanantham and N. Terry. 1989. Leaf phosphate status, photosynthesis and carbon partitioning in sugar beet. Plant Physiol. 90: 820-826.
43. Rodriguez, I.R. and L.M. Grady. 2000. Using a chlorophyll meter to determine the chlorophyll concentration, nitrogen concentration, and visual quality of St. Augustine grass. HortSci. 35: 751-754.
44. Sharma, A.K. 2002. Biofertilizers for Sustainable Agriculture. Agrobios, India, 407 p.
45. Shen, D. 1997. Microbial diversity and application of microbial products for agricultural purposes in China. Agric. Ecosys. Environ. 62: 237-245.