تأثیر کودهای بیولوژیک سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک ریحان (*Ocimum basilicum* L.)

علیرضا رهی[1*]

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

چکیده

استفاده از باکتری‌های تولید کننده مواد غذایی مورد نیاز گیاه و به‌کارگیری روش‌های مناسب حاصل‌خیزی 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 تثبیت 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، کلروفیل کل و کاروتنوئید 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، کلروفیل b و کلروفیل کل را در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری دادند.

واژه‌های کلیدی: گیاهان دارویی، کود زیستی، رشد رویشی

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).

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 حداکثر مقدار محصول دست یافت (۲).

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

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

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

می‌شود حدود ۱۷۵ میلیون تن در سال تخمین زده شده است (۹). این موضوع در حالی است که در سال ۱۹۷۰ میلادی در سطح جهانی میزان تأمین مواد غذایی گیاهان از خاک و کودهای شیمیایی به ترتیب حدود ۵۰ و ۴۰ درصد بود. تخمین زده شده که تا سال ۲۰۲۰ میلادی این نسبت به ترتیب به حدود ۲۰ و ۷۰ درصد برسد. لذا، استفاده از کودهای شیمیایی برای تولید مواد غذایی اجتناب ناپذیر است. اما استفاده بیش از حد از 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، ۷٪ 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 همچنین 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 ۴۰٪ و میزان انتشار گازهای گلخانه‌ای ناشی از آن را تا ٦۰٪ کاهش داد (۱۱).

از طرفی، مطابق گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO) در سال ۲۰۰۷، رتبه بهداشتی ایران ۱۲۳ می‌باشد که این رتبه بسیار 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 افزودنی‌های خوراک دام تا حد امکان اجتناب می‌کند، ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به رویکرد جهان به محصولات سالم کشاورزی، در حال حاضر سطح زیر کشت محصولات اُرگانیگ در جهان ٦۲/۹ میلیون هکتار و تجارت جهانی آن ۵٦ 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 ۲۳۹۴٦۲ هکتار است که ۱۲۵۸۰۲ هکتار باغی و ۱۱۳٦۵۹ هکتار آن زراعی است و حداکثر ۳٪ 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، بیوسنتز نوکلئوتیدها و فتوسنتز دارد. کمبود این عنصر در سیتوپلاسم و در نتیجه کاهش مقدار آن در کلروپلاست، فعالیت‌های فتوسنتزی را مختل می‌کند (۴۲).

تحقیقات نشان می‌دهد که به دلیل آهکی بودن خاک، بیش از ۸۰٪ فسفر برای گیاه غیر قابل استفاده است. چون ابقای فسفر در این گونه خاک‌ها مشکل‌ساز است. از طرفی، جهان با کمبود منابع تأمین‌کننده فسفر مواجه است. بنابراین، برای تأمین فسفر مورد نیاز گیاه، بدون اینکه خطری متوجه سلامتی انسان و محیط زیست شود، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفات لازم می‌باشد. به طور کلی، استفاده از باکتری‌های حل‌کننده فسفر می‌تواند راهکار بهتری جهت غلبه بر حلالیت کم فسفات باشد.

جدول ۱. نتایج آزمون خاک مورد استفاده

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

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 متفاوت بوده 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 حاصل‌خیزی 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. از خانواده نعناع (Lamiaceae) است. جنس *Ocimum* L. دارای بیش از ۳۰ گونه بوده و گونه *Ocimum basilicum* L. در اکثر نقاط جهان کاشته می‌شود (۴۰). این گیاه به عنوان خلط آور، ضد نفخ، جهت تسکین درد معده و محرک 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.

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 ″۴۱/۲ ′۳ ◦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 تثبیت‌کننده نیتروژن و باکتری‌های

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

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

محرک رشد (PGPR) شامل *Basillus subtilis Pseudomonas flurescens* و *Azospirillum spp* می‌باشد که با فرمولاسیون 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. وزن‌تر و وزن خشک برگ، ریشه، ساقه و بخش هوایی که با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. سطح برگ نیز به سانتی‌متر مربع (دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ مدل CI۲۰۲) اندازه‌گیری گردید. برای سنجش کلروفیل a، b، کل وکارتنوئید 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 حجم۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب محلول در طول موج ۶۴۶، ۶۶۳ و۴۷۰ نانومتر با دستگاه طیف سنج مدل ۱۶۰۰ اندازه‌گیری شد و با استفاده از فرمول ارائه شده غلظت کلروفیل های a، b، کل و کارتنوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ تعیین شد (۱۸). آنالیز داده‌ها توسط نرم افزارSAS وSPSS انجام گردید.

$$Chl.a = [(12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})]V / W \times 1000g^{-1}FW \quad [۱]$$

$$Chl.b = [(22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663})]V / W \times 1000g^{-1}FW \quad [۲]$$

$$Chl.Total = Chl.a + Chl.b \quad [۳]$$

$$C_{X+C} = \frac{(1000 \times A470 - 1.8Chl.a - 85.02Chl.b) \times V}{198 \times 1000 \times W} \quad [۴]$$

که $A_{۶۶۳}$ جذب در ۶۶۳ نانومتر، $A_{۶۴۵}$ جذب در ۶۴۵ نانومتر، $A_{۴۷۰}$ جذب در ۴۷۰ 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

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	میانگین مربعات			
		ارتفاع بوته	قطر ساقه	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه
تیمار	۳	۷۳/۶**	۰/۱۵*	۰/۰۱۷*	۰/۰۰۰۹*
خطا	۸	۸/۸۵	۰/۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)		۱۱/۱۵	۱۳/۴	۲۹/۲	۳۲/۹

** و * به‌ترتیب معنی‌دار 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 دانکن

تیمار	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	قطر ساقه (میلی‌متر)	وزن‌تر ساقه (گرم)	وزن خشک ساقه (گرم)
شاهد	۲۰b	۱/۱۳ab	۰/۲b	۰/۰۱۵b
سوپرنیتروپلاس	۲۵/۸a	۱/۵b	۰/۴۲b	۰/۰۲۷b
بیوسوپرفسفات	۳۰a	۱/۷a	۰/۸۴a	۰/۰۵۸a
سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات	۳۰/۸a	۱/۴۶ab	۰/۵ab	۰/۰۳۸ab

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

شده است که آزوسپیریلوم قادر به تولید ایندول تری استیک اسید (IAA) از طریق راه‌های بیوسنتزی متعددی مانند آمینوترانسفراز، ایندول تری استامید و مسیرهای متصل از تریپتوفان هستند (۳۷). در بین هورمون‌ها، اکسین و جیبرلین نقش اصلی را بر عهده دارند (۲۹). علاوه بر اکسین، هورمون‌های دیگری از خانواده ایندول توسط این باکتری سنتز می‌شوند و یکی از مهم‌ترین دلایل نسبت دادن توانایی ارتقاء رشد گیاهان توسط باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن، تولید فیتوهورمون‌های متعددی است که باعث افزایش رشد ریشه و بهبود جذب آب و عناصر معدنی و در نهایت تولید رشد طولی گیاه می‌شود (۲۸). باکتری‌های حل‌کننده فسفات که روی مواد آلی آزاد شده از ریشه زندگی می‌کنند با ترشح اسیدهای مختلف و کاهش pH محیط ریشه باعث افزایش غلظت فسفات قابل جذب توسط گیاه می‌شوند (۳۰).

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان داد که بیوسوپرفسفات نسبت به بقیه تیمارها بیشترین قطر (۱/۷ میلی‌متر) و شاهد کمترین قطر (۱/۱۳ میلی‌متر) را تولید کرده‌اند. در این باره، شمسی محمودآبادی و همکاران (۱۳) بیشترین قطر ساقه به‌دست آمده در سه رقم ذرت علوفه‌ای را در مصرف کود زیستی فسفات گزارش کردند.

بیشترین وزن تر و خشک ساقه، به ترتیب ۰/۸۴ 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، خاوازی و همکاران (۶) نیز گزارش نمودند که کودهای زیستی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ساقه باقلا دارند. همچنین، زارع دوست و همکاران (۱۲) گزارش نمودند که کود بیولوژیک فسفاته می‌تواند موجب افزایش اندام هوایی گیاه گل جعفری شود. برخی از محققین عقیده دارند که سودوموناس‌ها اثر هم‌افزایی قابل توجهی بر فعالیت میکروارگانیسم‌های دیگر

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

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن تر برگ	وزن خشک برگ	تعداد برگ	سطح برگ
تیمار	۳	۰/۳۶*	۰/۰۰۳*	۲۶/۸۵*	۳۲۶۴*
خطا	۸	۰/۰۷	۰/۰۰۰۴	۳/۸	۴۵۹
ضریب تغییرات (٪)		۲۷/۲۲	۲۳/۶	۱۱/۳۷	۲۸/۶

* معنی‌دار در سطح ۵٪

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

تیمار	وزن تر برگ (گرم)	وزن خشک برگ (گرم)	تعداد برگ	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)
شاهد	۰/۵b	۰/۰۴۶b	۱۳b	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 معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

دارند. مثلاً سودوموناس فلورسنس روی فعالیت ریزوبیوم ژاپونیکوم اثر گذاشته و موجب افزایش تعداد غده‌های تثبیت کنندهٔ 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٪ معنی‌دار شده است.

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) نشان داد که بیشترین وزن تر برگ (۲/۱۹ گرم) در مصرف هم‌زمان سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات حاصل شده است. تیمار عدم مصرف کود زیستی، کمترین میانگین وزن تر برگ (۰/۵گرم) را دارا بود. در این رابطه، ویسانی و همکاران (۲۶) گزارش نمودند که مصرف کود زیستی موجب افزایش وزن تر برگ گیاه ریحان شد.

مصرف بیوسوپرفسفات بیشترین وزن خشک برگ (۰/۱۲ گرم) را تولید کرد که با میانگین‌های حاصل از مصرف سوپرنیتروپلاس به تنهایی و مصرف هم‌زمان سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات تفاوت معنی‌داری نداشت. عدم مصرف کودهای زیستی (شاهد) کمترین وزن خشک برگ (۰/۰۴۶ گرم) را ایجاد کرد. شارما (۴۴) گزارش کرد که مصرف 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 که کاربرد کودهای زیستی شامل باکتری‌های *Azotobacter chroococcum* و *Pseudomonas putida* strain ۱۶۸ که به ترتیب تثبیت‌کننده نیتروژن و حل‌کننده فسفات هستند می‌تواند به همراه ورمی‌کمپوست، وزن خشک گیاه را افزایش دهد.

مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) نشان داد که تعداد برگ با مصرف سوپرنیتروپلاس (۲۰ برگ) افزایش داشته و شاهد

جدول ۷. نتایج تجزیه واریانس خصوصیات ریشه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
تیمار	۳	۲۴۵/۸*	۰/۲**	۰/۰۰۴*
خطا	۸	۳۳/۳۳	۰/۰۰۳	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)		۲۰/۳۷	۱۴/۵۳	۱۷/۶۱

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح ۱٪ و ۵٪

جدول ۸. مقایسه میانگین خصوصیات ریشه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) تحت تأثیر کاربرد کودهای زیستی سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات به روش دانکن

تیمار	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
شاهد	۱۷/۵c	۰/۱۳d	۰/۰۱۳b
سوپرنیتروپلاس	۲۵bc	۰/۷۳a	۰/۰۴۲a
بیوسوپرفسفات	۳۲/۵ab	۰/۳c	۰/۰۱۶b
سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات	۳۸/۳a	۰/۵۳b	۰/۰۱۸b

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

کمترین تعداد برگ (۱۳ عدد) را تولید کرد. ویسانی و همکاران (۲۶) با بررسی اثر نیتروکسین، فسفات بارور۲ و کود شیمیایی نیتروژن و فسفر بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک ریحان به این نتیجه رسیدند که کود زیستی نیتروکسین افزایش معنی‌داری بر تعداد برگ دارد.

بیشترین سطح برگ در تیمار بیوسوپرفسفات (۱۰۷/۶۶ سانتی‌متر مربع) به دست آمده که با تیمار مصرف هم‌زمان سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات و سوپر نیتروپلاس اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین سطح برگ (۱۷/۳ سانتی‌متر مربع) در تیمار شاهد حاصل شد (جدول ۶). در این رابطه، نتایج سایر محققین نشان می‌دهد که استفاده از کود زیستی فسفاته در کشت گندم روی شاخص سطح برگ اثر معنی‌دار دارد (۲۵). افزایش دسترسی عناصر غذایی فسفر و نیتروژن مورد نیاز گیاه و افزایش عملکرد به‌وسیله ترکیب باکتری‌های آزوسپیریلوم و حل‌کننده فسفات نیز گزارش شده است (۳۳).

خصوصیات ریشه

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

مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۸) نشان داد که در مصرف هم‌زمان سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات بیشترین طول ریشه (۳۸ سانتی‌متر) حاصل می‌شود و شاهد نیز نسبت به سایر تیمارها کمترین مقدار طول ریشه (۱۷/۵سانتی‌متر) را دارد.

بیشترین وزن تر و خشک ریشه در مصرف سوپرنیتروپلاس (به‌ترتیب ۰/۷۳ و ۰/۰۴۲ گرم) به دست آمد (جدول ۸). تیمار شاهد (عدم مصرف کودهای زیستی) کمترین مقدار وزن تر و خشک ریشه (به‌ترتیب 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 (۲۳) گزارش کردند که کود بیولوژیک

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

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

** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۱٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

فسفاته بر وزن تر و خشک ریشه گل همیشه بهار اثر مثبت دارد. همچنین، نتایج پژوهشی نشان داد که *Pseudomons putida* محرک قدرتمند رشد ریشه و اندام هوایی گیاه است و جذب فسفر ۳۲ نشاندار را در کلزا افزایش می‌دهد (۳۸). باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن قادرند از طریق ایجاد رابطه متقابل از نوع همیاری با گیاه، نیتروژن مولکولی را تثبیت و در اختیار میزبان خود قرار دهند. علاوه بر این، باکتری، با تولید هورمون‌های رشد، توسعه سیستم ریشه‌ای و بهبود جذب آب و مواد معدنی موجب بهبود رشد گیاهان می‌شود (۴۱). میکروارگانیسم‌های 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 حلالیت فسفات معدنی کم‌محلول، 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 فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۹) نشان داد که اثر کودهای زیستی بر کلروفیل‌های a، b و کل در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. اما اثر معنی‌داری بر کاروتنوئیدها نداشت. بیشترین مقدار کلروفیل a (۰/۵۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) در مصرف جداگانه سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات حاصل شد که با مقدار مصرف هم‌زمان سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات تفاوت معنی‌داری ندارد. مقدار کلروفیل a در تیمار شاهد ۰/۳۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ بود که در بین تیمارها کمترین مقدار می‌باشد (جدول ۱۰).

کلروفیل b در تیمار مصرف جداگانه سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات، به‌ترتیب ۰/۱۵ و ۰/۱۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ، بیشترین مقدار و در تیمار شاهد کمترین مقدار بود (۰/۰۵ میلی‌گرم در گرم وزن‌تر برگ) که با مقدار مصرف هم‌زمان سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات تفاوت آماری معنی‌داری ندارد (جدول ۱۰).

مصرف جداگانه سوپرنیتروپلاس و بیوسوپرفسفات، بیشترین مقدار کلروفیل کل (به‌ترتیب ۰/۷۱ و ۰/۷۲ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ) را تولید کرد که با یکدیگر نیز اختلاف معنی‌دار آماری ندارند. کمترین مقدار کلروفیل کل (۰/۴۳ میلی‌گرم 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 تثبیت‌کننده 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 تثبیت‌کننده نیتروژن بر مقدار کلروفیل در گندم مؤثرند (۵).

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

تیمار	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)	کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ)	کلروفیل کل (میلی‌گرم 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	۰/۵۹b

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

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 تثبیت‌کننده نیتروژن و باکتری‌های حل‌کننده فسفات در انواع محیط‌ها فعالیت می‌کنند. بنابراین، 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 رنگیزه‌ها 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 گردند.

منابع مورد استفاده

۱. آمارنامه کشاورزی. ۱۳۸۷. معاونت امور برنامه‌ریزی، اقتصادی و بین‌المللی، دفتر آمار و فناوری اطلاعات.

۲. امیدبیگی، ر. ۱۳۷۴. کاربرد بابونه اصلاح شده در صنایع آرایشی وبهداشتی. مجموعه مقالات اولین سمینار بین‌المللی صنایع بهداشتی آرایشی، صفحه ۳۸.

۳. 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 علوفه ای (*Brassica rapa*). مجله الکترونیکی تولید گیاهان زراعی ۴(۳): ۱۲۱–۱۳۸.

۴. حاجی‌بلند، ر.، ن. اصغرزاده و ز. مهرفر. ۱۳۸۳. بررسی اکولوژیکی ازتوباکتر در دو منطقه مرتعی آذربایجان و اثر تلقیح آن روی رشد و تغذیه معدنی گیاه گندم. علوم آب و خاک (علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی) ۸(۲): ۷۵–۹۰.

۵. حیدری، خ. و ج. قادری. ۱۳۸۹. چرا کشاورزی آلی (ارگانیک)؟. اولین کنگره چالش‌های کود در ایران: نیم قرن مصرف کود، تهران.

۶. خاوازی، ک.، ه. اسدی رحمانی و م. ج. ملکوتی. ۱۳۸۴. ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور (مجموعه مقالات)، انتشارات سنا، ۴۲۰ صفحه.

۷. 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. خاوازی، 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 (*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. ۱۳۷۷. 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 هیدروپونیک و تولیدات گلخانه‌ای، صفحات ۴۵۵-۴۵۴.

۱۷. عباسی، ع.، م. شفیع رحمانی و ی. 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 حل‌کننده 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 عکس‌العمل گل بریدنی رز به کاربرد کودهای زیستی در شرایط کشت هیدروپونیک. 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 تـوأم ازت و بـارور۲ بـر عملکـرد و اجـزاء عملکـرد گیـاه 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 حل‌کننده سنگ فسفات. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۴(۱۶): 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، ۴-۶ شهریور، پردیس کشاورزی و منابع طبیعـی، دانشـگاه تهـران، کرج.

۲۶. ویسانی، و.، س. رحیم زاده و ی. سهرابی. ۱۳۹۱. تأثیر کودهای بیولوژیک بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیـک و میـزان اسـانس گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۸(۱): 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 *Azospirrillum brasilense* and *Pseudomonas flourescens* in dry alginate inoculate. Appl. Microbiol. Biochem. 27: 262-266.
29. Bashan, Y., G. Holguin and L.E De-Bashan. 2004. Azospirrillum plant relationship: Physiological, molecular, agricultural, and environmenta 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 cholorophyll 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 *Azospirrillum*. 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. Kloepper, M. Kozlowski, C. Simonson, J. Carlson, E. Tipping and I. Zalesca. 1987. Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Psedomonas 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.