فـصـلنامـه علمی ـ پژوهشی علـوم‌محیـطی، دوره یازدهم، شـمـاره ۳، پائیز ۱۳۹۲
Environmental Sciences Journal, Vol. 11, No. 3, Fall 2013

تأثیر سطوح کودهای بیولوژیک و شیمیایی بر رشد و غلظت عناصر غذایی در گیاه دارویی ریحان

حجت اله آذرپیوند*[۱]، محمدعلی بهدانی[۲]، محمدحسن سیاری زهان[۳] و کاظم خاوازی[۴]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد اگرواکولوژی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند
[۲] دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند
[۳] استادیار گروه خاکشناسی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند
[۴] دانشیار مؤسسهٔ تحقیقات خاک و آب، تهران

تاریخ دریافت: ... تاریخ چاپ:.....

چکیده

امروزه برای داشتن یک سیستم کشاورزی پایدار، استفاده از نهاده‌هایی که جنبه‌های اکولوژیکی سیستم را بهبود بخشند و مخاطرات محیطی را کاهش دهند، ضروری به نظر می‌رسد. به‌منظور بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک و شیمیایی بر رشد گیاه ریحان، آزمایشی گلدانی در سال ۱۳۹۰ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه بیرجند انجام شد. فاکتور اول کود بیولوژیک در سه سطح شامل: عدم تلقیح، کود زیستی مرکب یک (ازتوباکتر کروکوکوم + آزوسپریلیوم لیپوفروم + سودوموناس پوتیدا ۴۱)، و همچنین کود زیستی مرکب دو (ازتوباکتر کروکوکوم + آزوسپریلیوم لیپوفروم + سودوموناس فلورسنت ۱۸۷) و فاکتور دوم کود شیمیایی (NPK)، هر کدام در پنج سطح: کود نیتروژن (N_0=0, N_1=45, N_2=90, N_3=135, N_4=180 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع اوره)، کود فسفات (P_0=0, P_1=20, P_2=40, P_3=60, P_4=80 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع سوپر فسفات تریپل)، کود پتاس (K_0=0, K_1=20, K_2=40, K_3=60, K_4=80 میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات پتاسیم)، به‌صورت ترکیبی [Contorl, $N_1P_1K_1$, $N_4P_4K_4$, $N_2P_2K_2$, $N_3P_3K_3$] به خاک اضافه شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد اثرات اصلی تیمارهای کودی بر صفات ارتفاع بوته، وزن خشک ساقه، وزن تر برگ، غلظت فسفر، ازت و پتاسیم برگ در سطح آماری ($P <$ ۰۱/۰) و همچنین اثرات متقابل تیمارهای کودی بر صفات وزن تر برگ و غلظت ازت برگ در سطح آماری ($P <$ ۰۵/۰) معنی‌داری شد. به‌طوری که بیشترین غلظت نیتروژن (۳۱/۳٪) و وزن تر برگ (۴۸/۳ gr/plant) با کاربرد P_{41}AA+ $N_3P_3K_3$ به دست آمد و همچنین بالاترین غلظت فسفر (۱/۰٪) و پتاسیم (۳/۲٪) برگ در تیمار $N_3P_3K_3$ حاصل شد. نتایج این پژوهش حاکی از آن است که کاربرد کودهای زیستی به‌تنهایی یا در ترکیب با یکدیگر در بهبود عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی ریحان و همچنین در جهت پایداری تولید و حفظ محیط‌زیست تأثیر مثبتی داشته و به نظر می‌رسد کودهای زیستی جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی باشند.

کلمات کلیدی: ریحان (*Ocimum basilicum* L.)، PGPR، جذب عناصر غذایی، حاصل‌خیزی، زراعت ارگانیک.

The Effects of Biological and Chemical Fertilizers Application on Growth and Concentration of Elements (N, P, K) in Leaf of Basil (*Ocimum basilicum* L.)

Hojatollah Azarpeyvand,[1*] Mohammad Ali Behdani,[2] Mohammad Hassan Sayyari-Zahan[3] and Kazem Khavazi[4]

[1] *M.Sc. Student of Agroecology, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand*
[2] *Associated Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand*
[3] *Assistant Professor, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand*
[4] *Associated Professor, Soil and Water Research Institute, Tehran*

Abstract

In order to have a sustainable agriculture it is necessary to use environmental friendly inputs to improve ecological aspects of environment. Basil is a medicinal and vegetable crop which is cultivated in different parts of the world. Accordingly, a greenhouse experiment was conducted in Agriculture Faculty of Birjand University as a completely randomized design based on factorial arrangement in four replicates in 2011. In order to study the effect of biological and chemical fertilizers on plant of basil plant an experiment was conducted in the greenhouse of Agriculture Faculty, Birjand University in 2011. It was based on factorial experiment in randomized complete design with 15 treatments and 4 replications. The first factor was three levels of biological fertilizer, including: control (M_0= no inoculation) biological compound fertilizer No.1 (M_1 =Pseudomonas41+ Azospirillum+ Azotobacter) and the biological fertilizer composed of No.2 (M_2= Pseudomonas187+ Azospirillum+ Azotobacter). The second factor was chemical fertilizer including Nitrogen [N_0=0, N_1=45, N_2=90, N_3=135, N_4=180 mg.kg^{-1}], Potassium [P_0=0, P_1=20, P_2=40, P_3=60, P_4=80 mg.kg^{-1}] and Phosphorus [P_0=0, P_1=20, P_2=40, P_3=60, P_4=80 mg.kg^{-1}], including 5 levels: Contorl, $N_1P_1K_1$, $N_2P_2K_2$, $N_3P_3K_3$, $N_4P_4K_4$ *quantity indicators including (height, fresh leaf weight per plant, dry stem weight per plant,) and quality indices including (N, P and K concentrations). The results of analysis of variance showed the main effects of biological and chemical fertilizers (NPK) on the characteristics was significant (P<0.01). Interaction of biological and chemical fertilizers on the, fresh leaf weight per plant and nitrogen amount in basil leave was significant (P<0.05). There was positive and synergistic interaction between* PGPR inoculation and chemical fertilizers on N concentration as the highest and lowest N concentration percentage in herb were obtained in treatments of P_{41}AA+ $N_3P_3K_3$ (3.31) and Contorl (2.39), respectively. The highest concentrations of P and K in leaf were obtained with application of $N_3P_3K_3$. It is concluded that application of biofertilizers enhanced quantitative and qualitative characteristics in this plant. Generally, it seems that using of biofertilizers could improve basil performance in addition to reduction of environmental pollution.

Keywords: Basil (*Ocimum basilicum* L.), Plant Growth Promoting Rhizobacteria(PGPR), Elemental uptake, Fertility, Organic farming.

* Corresponding author. *E-mail Address*: Azarpeyvand.hojat@gmail.com

۱- مقدمه

کشت گیاهان دارویی و معطر از دیرباز جایگاه ویژه‌ای در نظام‌های سنتی کشاورزی ایران داشته است؛ این نظام‌ها از نظر ایجاد تنوع و پایداری نقش مهمی ایفا می‌کنند. ریحان (*Ocimum basilicum* L.) گیاهی یک‌ساله (۲n=۴۸) از خانواده نعناعیان[۱]، علفی، ایستاده، تقریباً بدون کرک، معطر و به‌ارتفاع ۶۰-۳۰ سانتی‌متر است که به‌عنوان گیاه دارویی، ادویه‌ای و همچنین به‌صورت سبزی تازه مورد استفاده قرار می گیرد. جنس Ocimum متعلق به تیرهٔ نعناع است که اکوتیپ‌های آن تنوع مورفولوژیکی زیادی دارند. این جنس حداقل ۶۰ گونه و تعداد زیادی واریته را شامل می‌شود [۱۹]. در بین گونه‌های این جنس گونهٔ *Ocimum basilicum* L. اقتصادی‌ترین گونه محسوب شده و تقریباً در تمام مناطق گرم و معتدل کشت و کار می‌شود. از ریحان به‌عنوان گیاه دارویی، ادویه‌ای، و سبزی تازه استفاده می‌شود. برگ‌های معطر این گیاه به‌صورت تازه یا خشک‌شده به‌عنوان چاشنی و طعم‌دهندهٔ غذاها، شیرینی‌جات و نوشابه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۸]. ریحان در اکثر داروشناسی‌ها به‌عنوان یک گیاه دارویی معرفی شده است. مواد مؤثرهٔ پیکر رویشی این گیاه اشتهاآور است و برای درمان نفخ و تقویت دستگاه گوارش استفاده می‌شود. از این گیاه برای معالجه برخی ناراحتی‌های قلبی و همچنین برای مداوای بزرگی طحال می‌توان استفاده کرد. در طب سنتی از این گیاه به‌عنوان خلط‌آور، مدر، ضد نفخ، جهت تسکین درد معده و محرک استفاده می‌شود. همچنین ریحان خاصیت حشره‌کشی، دورکننده پشه، ساس، مار و عقرب دارد [۲۸]. این گیاه همانند سایر گیاهان خانواده نعناع حاوی اسانس است. ریحان خاصیت ضد قارچی و باکتریایی دارد و کنترل‌کننده حشرات است و در صنایع غذایی، عطرسازی و آرایشی کاربرد دارد [۱۹]. میزان اسانس گیاه ریحان با توجه به شرایط محیطی بین ۰/۵ تا ۱/۵ درصد متغیر است. ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس نیز با توجه به شرایط متفاوت است. اسانس ریحان از پیکر رویشی گیاه (برگ ها، سرشاخه‌ها و گل‌های تازه یا خشک شده) به دو روش تقطیر با آب یا تقطیر با بخار آب استخراج می‌شود و چون سبک‌تر از آب است جداسازی آن از مخلوط آب ـ اسانس به‌راحتی امکان پذیر است [۳۰]. عملکرد ماده خشک ریحان تقریباً ۱/۲ تا ۲ تن در هکتار [۲۸]، عملکرد پیکر رویشی تازه آن ۸ تا ۱۰ تن و گاهی ۱۲ تن در هکتار [۳۰] و عملکرد بذری آن ۶۰۰ تا ۸۰۰ کیلوگرم در هکتار، و عملکرد اسانس آن ۸ تا ۱۰ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است [۲۸].

از آنجا که مدیریت خاک از عوامل اصلی برای نیل به کشاورزی پایدار[۲] محسوب می‌شود، جایگزینی تدریجی کودهای شیمیایی خصوصاً کودهای نیتروژن و فسفات با کودهای بیولوژیک[۳]، بشر را در دست‌یابی به تولید پایدار محصولات کشاورزی یاری می‌کند. مصرف کودهای بیولوژیک بدون نگرانی از اثرات سوء زیست‌محیطی غالباً موجب بهبود شرایط فیزیکی، شیمیایی و زیست‌شناختی خاک شده و حاصل‌خیزی خاک‌ها را افزایش می‌دهد [۲۷]. کودهای بیولوژیک در حقیقت ماده‌ای شامل انواع مختلف ریزموجودات آزادزی است [۶، ۴۲] که قابلیت تبدیل عناصر غذایی اصلی از فرم غیر قابل دسترس به فرم قابل دسترس طی فرایندهای زیست‌شناختی را دارد [۳۱، ۴۲] و منجر به توسعه سیستم ریشه‌ای و جوانه‌زنی بهتر بذرها می‌شوند [۶]. برخی از ریزموجودات خاک اثرات مثبتی در تحریک رشد گیاه دارند که به آن‌ها ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه[۴] (PGPR) اطلاق می‌شود. باکتری های آزادزی در برخی از فرآیندهای کلیدی اکوسیستم مانند فرایندهای دخیل در کنترل زیست‌شناختی پاتوژن‌های گیاهی، چرخه عناصر غذایی و استقرار گیاهچه نقش دارند [۴۵]، گروهی از این گونه‌های باکتریایی که قابلیت همیاری با گیاه دارند، متعلق به جنس‌های ازتوباکتر، آزوسپریلیوم و سودوموناس است [۳۷]. مطالعات نشان داده که نیتروژن بر روی کیفیت سبزیجات مؤثر است [۲۶] و نیز در آزمایشی که بر روی کدوی پوست کاغذی انجام شد، میزان کلروفیل برگ بر اثر افزایش نیتروژن افزایش یافت [۲]. در تحقیقی که بر روی گیاه آلوئه‌ورا انجام شد [۴۱]، مشاهده شد که کود نیتروژن باعث بهبود عملکرد محصول و همچنین باعث افزایش اندازه برگ و وزن برگ می‌شود. تیتولر و دیسمارست[۸ و ۳۸] بیان کردند که با افزایش نیتروژن عملکرد رازیانه افزایش پیدا می‌کند. استفاده از کودهای زیستی برای بهبود کمی و کیفی گیاهان دارویی از جمله شوید [۱۴]، رازیانه [۱۵]، سیاه‌دانه [۳۶]، سنا [۲۲]، مرزنجوش [۳۳]، زیره سیاه [۱۴ و ۴۳]، آویشن، ریحان [۷] و آرتمیزیا [۱۶] در برخی منابع گزارش شده است.

بررسی‌ها نشان داده که افزایش حاصل‌خیزی خاک توسط کودهای بیولوژیک نظیر ازتوباکتر، آزوسپریلیوم و سودوموناس موجب افزایش و بهبود خصوصیات رشدی گیاه سیاه‌دانه مانند ارتفاع، تعداد شاخه جانبی، تعداد کپسول در بوته و عملکرد دانه می‌شود [۳۶]. طبق گزارش محققان، کاربرد کودهای زیستی در گیاه دارویی آویشن باغی نیز باعث افزایش معنی‌دار رشد گیاه شد [۴۶]. در بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر گیاه رازیانه [۳]، استفاده از تیمار ازتوباکتر نسبت به شاهد باعث افزایش ۱۸درصدی عملکرد رازیانه شد.

براساس گزارش محققان [۲۵] کاربرد کودهای زیستی ازتوباکتر، آزوسپریلیوم و باسیلیوس باعث افزایش رشد رویشی، افزایش وزن تر، وزن خشک و میزان اسانس در گیاه دارویی رازیانه می‌شود. همچنین استفاده از کودهای زیستی حاوی باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم در گیاه دارویی مریم‌گلی باعث افزایش ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه شد [۴۰]. دیگر محققان اظهار داشتند که استفاده از کودهای زیستی حاوی آزوسپریلیوم و ازتوباکتر در گیاه دارویی مریم‌گلی سبب افزایش ارتفاع بوته، وزن تر و وزن خشک اندام‌های هوایی گیاه می‌شود [۴۶].

با توجه به گرایش جهانی به تولید و تکثیر گیاهان دارویی در سیستم‌های کشاورزی پایدار و کم‌نهاده، و نیز کمبود مطالعات درخصوص واکنش گیاه دارویی ریحان نسبت به منابع کودی مختلف، این طرح با هدف مقایسهٔ اثر کودهای شیمیایی و انواع کودهای زیستی که جزء مهمی از کشاورزی پایدار هستند، بر برخی صفات کمی و کیفی ریحان انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۰ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار و ۴ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزیِ دانشگاه بیرجند اجرا شد. تیمارهای مورد استفاده در این تحقیق شامل دو فاکتور بود؛ فاکتور اول کود بیولوژیک در ۳ سطح شامل: عدم تلقیح[۵]، کود زیستی مرکب یک (ازتوباکتر کروکوکوم[۶] + آزوسپریلیوم لیپوفروم[۷] + سودوموناس پوتیدا[۸])، و همچنین کود زیستی مرکب دو (ازتوباکتر کروکوکوم + آزوسپریلیوم لیپوفروم + سودوموناس فلورسنت[۹]) و فاکتور دوم کود شیمیایی (NPK) در پنج سطح به‌صورت ترکیبی شامل: Contorl, $N_1P_1K_1$, $N_2P_2K_2$, $N_3P_3K_3$, $N_4P_4K_4$ بود. دمای محیط گلخانه با داشتن سیستم اتوماتیک و همچنین نیاز دمایی ریحان در تناوب حرارتی ۲۰/۳۰ درجه سانتی‌گراد (روز / شب) با فتوپریود ۱۲ ساعت تنظیم شد. به‌منظور ضد عفونی بذرها و جلوگیری از آلودگی های احتمالی قارچی، آن ها را به مدت دو تا سه دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ قرار داده، و سپس با آب معمولی و آب مقطر شست‌وشو داده شدند. به‌منظور اجرای طرح تعداد ۶۴ عدد گلدان (با قطر دهانه ۲۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر) تهیه شد. تعداد ۶۰ گلدان برای کشت گیاهان و تعداد ۴ گلدان بدون گیاه برای اندازه‌گیری میزان تبخیر آب مورد نیاز برای آبیاری روزانه گلدان‌ها (آبیاری گلدان‌ها براساس ظرفیت زراعی هر روز با آب غیرشور انجام شد) در نظر گرفته شد. هریک از گلدان‌ها با ۵ کیلوگرم خاک پُر شد و مقادیر کودهای شیمیایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم در سطوح مختلف محاسبه ([کود نیتروژن $N_0=0$, $N_1=45$, $N_2=90$, $N_3=135$, $N_4=180$ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع اوره]، [کود فسفات $P_0=0$, $P_1=20$, $P_2=40$, $P_3=60$, $P_4=80$ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع سوپرفسفات تریپل] و [کود پتاس $K_0=0$, $K_1=20$, $K_2=40$, $K_3=60$, $K_4=80$ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک از منبع سولفات پتاسیم]، به‌صورت ترکیبی [Contorl, $N_1P_1K_1$, $N_2P_2K_2$, $N_3P_3K_3$, $N_4P_4K_4$] به خاک اضافه شد) و به‌صورت محلول همراه رطوبت ظرفیت زراعی به دست آمده با خاک مورد نظر در داخل تشت به‌طور کامل مخلوط شد. این کار برای هر تیمار به‌طور جداگانه صورت گرفت و سپس وزن نهایی گلدان‌ها به دست آمد [۳۵]. کودهای زیستی مورد استفاده عبارت بود از کود بیولوژیک مرکب یک و کود بیولوژیک مرکب دو با 10^8 واحد پرگنه‌سازی[۱۰] (CFU) در هر میلی‌لیتر به همراه چسب و رنگ طبیعی. بذرهای ریحان قبل از کشت با باکتری‌های آزوسپریلیوم، ازتوباکتر و سودوموناس به روش استاندارد [۱۸] و با رعایت توصیه های مؤسسهٔ تولید کود آغشته شد. برای این کار ابتدا بذرهای ریحان را در زمان کاشت به مدت یک ساعت در مایه تلقیح خیسانده و سپس بذرهای تلقیح‌شده در سایه و به دور از نور خورشید خشک شدند. بلافاصله پس از خشک شدن

بذرهای تلقیح شده، برای کشت آن‌ها اقدام شد. هنگام کشت، رطوبت خاک گلدان در حد ظرفیت زراعی برای بقای باکتری‌ها بود.

برای تأمین نیازهای غذایی گیاه ریحان در تیمارهای مصرف کود شیمیایی، از کودهای فسفره و پتاسه به‌صورت محلول با خاک گلدان قبل از کاشت مخلوط، و از کود نیتروژن در سه نوبت (یک‌سوم مخلوط با خاک گلدان در زمان کاشت، یک‌سوم در مرحله ۸ برگی و یک‌سوم در مرحله قبل از گل‌دهی) مصرف شد. کشت بذرهای ریحان در عمق ۱/۵ سانتی‌متری از سطح خاک در شهریور ماه ۱۳۹۰ صورت گرفت. ابتدا ۱۰ بذر در هر گلدان کاشته شد، بعد از اطمینان از سبز شدن و همچنین استقرار کامل گیاهچه‌ها، تنک بوته‌ها انجام، و به تعداد ۶ بوته در گلدان رسانده شد.

برای تعیین وزن خشک اندام هوایی گیاه ریحان (به‌صورت میانگین ۳ بوته در هر گلدان)، در مرحله گل‌دهی از سطح خاک جدا و مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه آون قرار داده شد. سپس توسط ترازوی آزمایشگاهی وزن خشک برگ و ساقه، با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد. درصد ازت و پروتئین با استفاده از دستگاه کجلدال[11] از یک گرم برگ ریحان آسیاب شده، و درصد فسفر و پتاسیم از دو گرم برگ ریحان آسیاب‌شده، به‌ترتیب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر[12] در طول موج ۴۳۰ نانومتر [۲۴]، و پتاسیم توسط دستگاه فلیم‌فتومتر[13] تعیین شد. (لازم به ذکر است در بررسی حاضر برای اندازه‌گیری غلظت عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم، به‌علت هزینه بالا، یکی از تکرارها در نمونه‌برداری حذف و نمونه‌برداری از ۳ تکرار انجام شد.) در پایان، پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه و تحلیل آن‌ها به‌کمک نرم‌افزار آماری SAS، مقایسهٔ میانگین به‌روش LSD و در سطح معنی‌دار ۵٪ انجام شد. نمودار و شکل‌ها نیز توسط نرم‌افزار Excel رسم شد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

هدایت الکتریکی (dS/m)	اسیدیته	آهک کل (٪)	کربن آلی (٪)	مواد آلی (٪)	ظرفیت زراعی (٪)	بافت خاک	رس (٪)	سیلت (٪)	شن (٪)
۰/۴۶	۷/۹۸	۱۵	۰/۱۷	۰/۲۹	۱۷	لومی	۱۰	۴۲	۴۸

جدول ۲- آنالیز واریانس (میانگین مربعات) برخی صفات اندازه‌گیری شده ریحان تحت تأثیر تیمارهای کودی مختلف

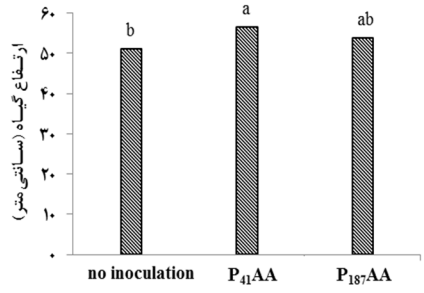
منبع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع (cm)	وزن تر برگ (gr/plant)	وزن خشک ساقه (gr/plant)
کود شیمیایی (NPK)	۴	۵۴۴ **	۰/۴ **	۰/۰۴۱ **
کود بیولوژیک	۲	۱۴۴/۷ **	۰/۵ **	۰/۰۴۹ **
کود شیمیایی× کود بیولوژیک	۸	۱۵ ns	۰/۱ *	۰/۰۰۷ ns
خطا	۴۵	۲۴/۷	۰/۰۴	۰/۰۰۶
ضریب تغییرات (٪)	-	۹/۲	۷/۱	۱۴

ns: اختلاف معنی‌داری وجود ندارد * اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد وجود دارد ** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد وجود دارد

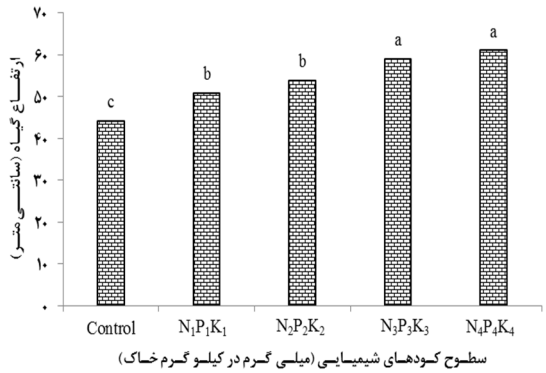
۳- نتایج و بحث

۳-۱- صفات مورفولوژیک

نتایج حاصل از تحلیل واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تیمارهای کود شیمیایی (NPK) و کود زیستی تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع ساقه گیاه ریحان دارد ($P<0/01$). چنان که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود، کاربرد سطوح مختلف کود شیمیایی (NPK) تأثیر معنی‌داری بر ارتفاع بوته‌ها دارد، به‌طوری که تیمارهای مورد مطالعه باعث افزایش نسبی ارتفاع ریحان نسبت به تیمار شاهد شد. همچنین تیمار شاهد و $N_4P_4K_4$ با ارتفاع ۴۴/۱ و ۶۱ سانتی‌متر به‌ترتیب کم‌ترین و بیشترین ارتفاع ساقه اصلی را داشتند. تیمار کودی $N_1P_1K_1$ ارتفاع گیاه را به‌طور معنی‌داری تا میزان ۱۵/۱ درصد افزایش داد. همچنین افزایش کود شیمیایی در سطوح $N_2P_2K_2$ و $N_3P_3K_3$ به‌ترتیب ۲۲ و ۲۳/۵ درصد ارتفاع گیاه را نسبت به شاهد افزایش داد. بیشترین افزایش ارتفاع در تیمار $N_4P_4K_4$ مشاهده شد که این افزایش نسبت به شاهد ۳۸/۲ درصد بود (شکل ۲).



شکل ۱- اثر کودهای زیستی بر ارتفاع ریحان.



شکل ۲- اثر سطوح مختلف کودهایی شیمیایی (NPK) بر ارتفاع ریحان.

$P_{41}AA$: *(Pseudomonas putida* strain 41+ *Azospirillum lipoferum* strain OF+*Azotobacter chroococcum* strain 5)
$P_{187}AA$: *(Pseudomonas fluorescens* strain 187+*Azospirillum lipoferum* strain OF+*Azotobacter chroococcum* strain 5**)**
$N_1P_1K_1$: (45 mg.kg^{-1} **N** + 20 mg.kg^{-1} **P** + 20 mg.kg^{-1} **K**) **$N_2P_2K_2$:** (90 mg.kg^{-1} **N** + 40 mg.kg^{-1} **P** + 40 mg.kg^{-1} **K**)
$N_3P_3K_3$: (135 mg.kg^{-1} **N** + 60 mg.kg^{-1} **P** + 60 mg.kg^{-1} **K**) **$N_4P_4K_4$:** (180 mg.kg^{-1} **N** + 80 mg.kg^{-1} **P** + 80 mg.kg^{-1} **K**)

درخصوص اثر کودهای شیمیایی (NPK) بر افزایش ارتفاع بوته، باید اظهار داشت که این امر ناشی از افزایش جذب عناصر غذایی، به‌ویژه فسفر و نیتروژن، و تأثیر آن بر بهبود فتوسنتز و درنتیجه افزایش رشد بوته است [۳۴].

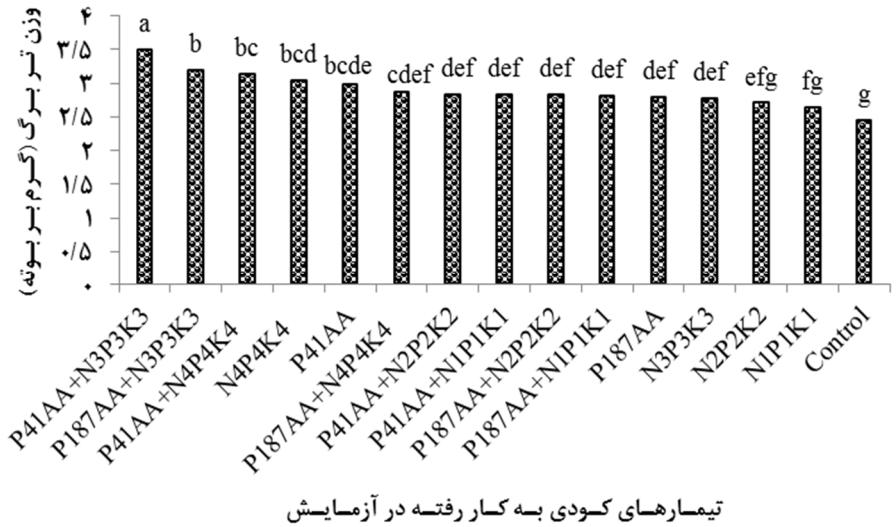
افزایش ارتفاع بوته معمولاً بارزترین تغییر ناشی از رشد در اغلب گیاهان است. یکی از نتایج افزایش ارتفاع بوته، تشکیل برگ‌های جدید در کانوپی است، به‌طوری که برگ‌های جوان با کارآیی بیشتر معمولاً در بالای برگ‌های قدیمی قرار می‌گیرند و تشعشع بیشتری دریافت می‌کنند. این خصوصیت کارآمدترین برگ‌ها را در بهترین موقعیت از نظر فتوسنتز قرار می‌دهد [۱۳].

براساس داده‌های جدول ۲، اثر اصلی کودهای بیولوژیک بر ارتفاع بوته نیز معنی‌دار بود ($P<$۰/۰۱)، به‌طوری که تیمار عدم تلقیح و کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) با مقدار ۵۱/۱ و ۵۶/۵ سانتی‌متر به‌ترتیب کم‌ترین و بیشترین ارتفاع ساقه اصلی را داشتند. کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) و دو ($P_{187}AA$) به‌ترتیب با ۱۰/۵ و ۵/۲ درصد نسبت به شاهد باعث افزایش ارتفاع گیاه ریحان شدند؛ بین دو گونه باکتری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و کاربرد کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) باعث افزایش ارتفاع ریحان به مقدار ۵/۲ درصد نسبت به شاهد شد (شکل ۱).

در مطالعات دیگر [۳۶] نیز گزارش شده که تلقیح بذر سیاه‌دانه با کودهای زیست‌شناختی نظیر آزوسپریلیوم، ازتوباکتر و سودوموناس به بهبود خصوصیات رشدی گیاه، نظیر ارتفاع گیاه، می‌انجامد که علت آن افزایش جذب مواد غذایی توسط گیاه بوده است. تلقیح میکروبی همچنین باعث بهبود خصوصیات خاک نظیر محتوای ماده آلی و افزایش محتوای نیتروژن قابل دسترس خاک می‌شود. در همین راستا، این افزایش ارتفاع احتمالاً به‌دلیل ترشح هورمون‌های اکسینی توسط باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم به‌همراه تثبیت نیتروژن هر دو باکتری [۱] صورت گرفته است.

به‌طور کلی، از آن‌جا که این باکتری‌ها باعث تحریک رشد گیاه و افزایش ارتفاع بوته‌ها می‌شود و نیز با توجه به وابستگی شدید رشد به مقدار رطوبت در دسترس گیاه، به نظر می‌رسد که این کودها با افزایش رشد ریشه و میزان آب قابل جذب برای گیاه باعث افزایش رشد و در نتیجه ارتفاع بوته‌ها شده‌اند. گزارشات محققین مبنی بر افزایش ارتفاع گیاه دارویی سیاهدانه بر اثر کاربرد کودهای بیولوژیک، با نتیجه تحقیق حاضر مطابقت دارد [۲۰].

با توجه به نتایج تحلیل واریانس (جدول ۲)، اثرات اصلی کودهای زیستی ($P<$۰/۰۱) و شیمیایی ($P<$۰/۰۱) و برهمکنش آن‌ها ($P<$۰/۰۵) بر وزن تر برگ ریحان معنی‌دار بوده، به‌طوری‌که تیمار شاهد (عدم تلقیح) و کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) + $N_3P_3K_3$ با مقادیر ۲/۴۴ و ۳/۴۸ گرم بر بوته به‌ترتیب کم‌ترین و بیشترین وزن تر برگ را داشته‌اند که این افزایش نسبت به شاهد ۴۲/۶ درصد بود (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی بر وزن تر برگ ریحان (گرم بر بوته)

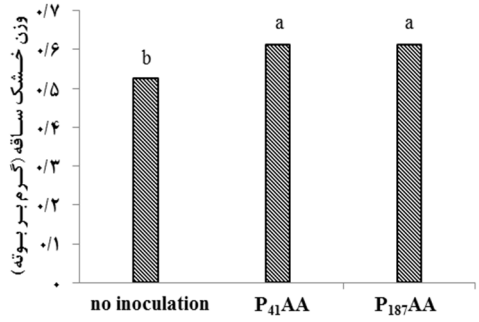
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری از طریق آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ با هم ندارند.
$P_{41}AA$: (*Pseudomonas putida* strain 41+ *Azospirillum lipoferum* strain OF+ *Azotobacter chroococcum* strain 5)
$P_{187}AA$: (*Pseudomonas fluorescens* strain 187+*Azospirillum lipoferum* strain OF+*Azotobacter chroococcum* strain 5)
$N_1P_1K_1$: (45 mg.kg^{-1} **N** + 20 mg.kg^{-1} **P** + 20 mg.kg^{-1} **K**) **$N_2P_2K_2$:** (90 mg.kg^{-1} **N** + 40 mg.kg^{-1} **P** + 40 mg.kg^{-1} **K**)
$N_3P_3K_3$: (135 mg.kg^{-1} **N** + 60 mg.kg^{-1} **P** + 60 mg.kg^{-1} **K**) **$N_4P_4K_4$:** (180 mg.kg^{-1} **N** + 80 mg.kg^{-1} **P** + 80 mg.kg^{-1} **K**)

چنین به نظر می‌رسد که در این پژوهش نیز احتمالاً این نتایج می‌تواند ناشی از اثر کاربرد باکتری‌های تثبیت‌کنندهٔ نیتروژن باشد. با تولید مقادیر مناسب مواد تنظیم‌کنندهٔ رشد گیاه مانند اکسین، جیبرلین، سیتوکینین و ویتامین‌های گروه B، ظرفیت ریشه‌زایی گیاه و جذب مواد غذایی از خاک بهبود می‌یابد و درنتیجه بر میزان نیتروژن و فسفر موجود در برگ‌ها افزوده می‌شود [۱۰]. از سوی دیگر، اثرات هم‌افزایی متقابل که از کاربرد تلفیقی این ترکیبات به دست می‌آید نیز دلیل دیگری بر افزایش رشد گیاه در تیمارهای ترکیبی است. یافته‌های موجود درخصوص گیاه توت‌فرنگی [۳۹] و نیز ریحان [۲۹]، با نتیجه مطالعه حاضر مطابقت دارد.

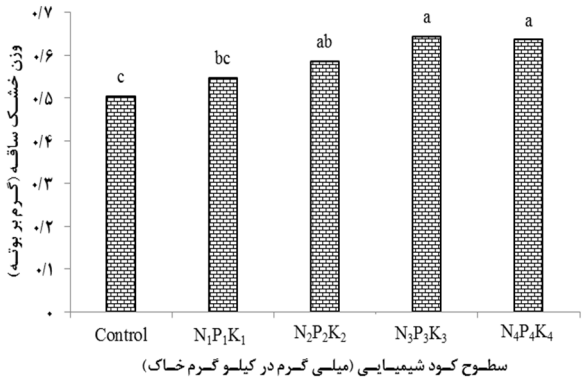
براساس نتایج حاصل از تحلیل واریانس داده‌ها (جدول ۲)، تیمارهای کود شیمیایی و کود زیستی تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ساقه گیاه ریحان داشتند ($P<0/01$). با افزایش سطوح کود شیمیایی (NPK) وزن خشک ساقه گیاه افزایش یافت، به‌طوری که بیشترین وزن خشک ساقه در تیمار $N_3P_3K_3$ به‌میزان ۰/۶گرم بر بوته به دست آمد که با سطوح کودی $N_2P_2K_2$ و $N_4P_4K_4$ اختلاف معنی‌داری نداشت. در تیمار شاهد (عدم استفاده از هر نوع کود)، کم‌ترین وزن خشک ساقه به‌مقدار ۰/۵گرم بر بوته به دست آمد که ۲۶ درصد کم‌تر از بالاترین سطح کودی (تیمار $N_4P_4K_4$) بود و با تیمار کودی $N_1P_1K_1$ اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۵).

چنان که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، تأثیر استفاده از کود بیولوژیک بر وزن خشک ساقه معنی‌دار بود ($P<0/01$). به‌طوری که تیمار عدم تلقیح و کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) با مقدار ۰/۵ و ۰/۶ گرم بر بوته، به‌ترتیب کم‌ترین و بیشترین وزن خشک ساقه را دارند. وزن خشک ساقه گیاه ریحان با مصرف کودهای زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) و دو ($P_{187}AA$) به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار گرفت، به‌طوری که بیشترین وزن خشک ساقه با کاربرد کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) با افزایش ۱۶/۳ درصدی نسبت به عدم تلقیح به دست آمد و نسبت به کود زیستی مرکب دو ($P_{187}AA$) با افزایش ۰/۱ درصدی اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۴). بنابراین، به نظر می‌رسد که در این پژوهش نیز احتمالاً با مصرف کود اوره، عنصر نیتروژن برای گیاه تأمین شده است و چون ازت یکی از عناصر ضروری برای رشد و نمو گیاه است، وزن خشک ساقه در این حالت افزایش یافت. همچنین، افزایش عملکرد

در تیمارهای کود بیولوژیک را می‌توان ناشی از نقش ازتوباکتر و آزوسپریلیوم در تثبیت نیتروژن و تولید مواد محرک رشد، مانند جیبرلین‌ها و ایندول استیک اسید، توسط آن‌ها دانست [۲۵]. افزایش دسترسی به فسفر توسط باکتری‌های حل‌کنندهٔ فسفات[14] نیز از دیگر دلایل افزایش عملکرد در گیاهان تحت تیمار کود بیولوژیک است. همچنین وجود ریزموجودات ناشی از کاربرد کودهای زیست‌شناختی در محیط ریشه گیاه[15] تأثیر مثبتی بر رشد گیاه داشته و منجر به افزایش رشد گیاه شد. این امر را می‌توان مربوط به تولید و ترشح ترکیبات تحریک‌کننده رشد گیاه یا برخی هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد دانست که توسط ریزموجودات در خاک تولید شده و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار داده‌اند. تأثیر کودهای زیستی بر رشد گیاه دارویی آویشن باغی [۴۴]، رزماری [۲۳]، و نعناع [۱۷] نیز مثبت ارزیابی شده است. نتایج مطالعه محققین روی گیاه دارویی شوید [۱۲و۲۵] نیز با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت دارد.



شکل ۴- اثر کودهای زیستی بر وزن خشک ساقه ریحان.



شکل ۵- اثر سطوح مختلف کودهایی شیمیایی (NPK) بر وزن خشک ساقه ریحان.

$P_{41}AA$: *(Pseudomonas putida* strain 41+ *Azospirillum lipoferum* strain OF+ *Azotobacter chroococcum* strain 5)
$P_{187}AA$: *(Pseudomonas fluorescens* strain 187+ *Azospirillum lipoferum* strain OF+ *Azotobacter chroococcum* strain 5)
$N_1P_1K_1$: (45 mg.kg^{-1} **N** + 20 mg.kg^{-1} **P** + 20 mg.kg^{-1} **K**) **$N_2P_2K_2$:** (90 mg.kg^{-1} **N** + 40 mg.kg^{-1} **P** + 40 mg.kg^{-1} **K**)
$N_3P_3K_3$: (135 mg.kg^{-1} **N** + 60 mg.kg^{-1} **P** + 60 mg.kg^{-1} **K**) **$N_4P_4K_4$:** (180 mg.kg^{-1} **N** + 80 mg.kg^{-1} **P** + 80 mg.kg^{-1} **K**)

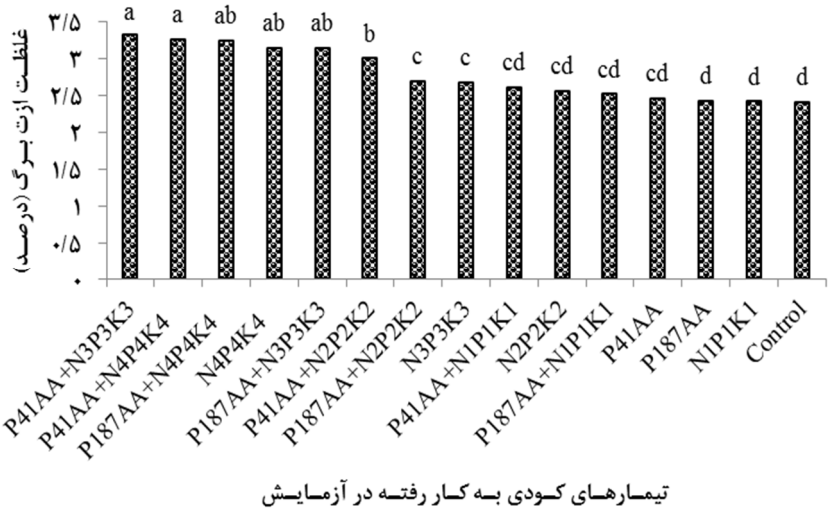
۳-۲- صفات کیفی

۳-۲-۱- غلظت ازت در برگ گیاه

تحلیل واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که اثرات اصلی و همچنین اثرات متقابل بر میزان ازت به‌ترتیب در سطح $P<$۰/۰۱ و $P<$۰/۰۵ معنی‌دار است (جدول ۳). در حالت مصرف کود زیستی مرکب یک، بیشترین میزان ازت برگ با مصرف $N_3P_3K_3$ به مقدار ۳/۳۱ درصد به دست آمد که ۱/۸ درصد بیشتر از حالت ترکیبی کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) + $N_4P_4K_4$ بود. همچنین در حالت مصرف کود زیستی مرکب دو، بیشترین میزان ازت برگ با مصرف $N_4P_4K_4$ به مقدار ۳/۲۲ درصد به دست آمد که از لحاظ آماری با حالت ترکیبی کود زیستی مرکب دو + $N_3P_3K_3$ اختلاف معنی‌داری نداشت. در حالت شاهد (عدم استفاده از هر کود) میزان ازت برگ به مقدار ۲/۳۹ درصد به دست آمد که ۳۸/۴ درصد کم‌تر از بالاترین مقدار برای این شاخص بود. در حالت مصرف $N_3P_3K_3$ بالاترین میزان ازت برگ با مصرف کود زیستی مرکب یک به مقدار ۳/۳ درصد به دست آمد که نسبت به مصرف به‌تنهایی $N_3P_3K_3$ ۱۷/۴ درصد افزایش نشان داد (شکل ۶).

در بررسی اثرات تلقیح ازتوباکتر آزمایشات زیادی روی گیاهان زراعی انجام شده است. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که در بیشتر موارد زیست‌توده گیاهی، عملکرد و مقدار نیتروژن موجود در اندام گیاه در شرایط تلقیح با ازتوباکتر بیشتر از شرایط عدم تلقیح بوده است [۱۱ و ۲۱].

براساس گزارش پـژوهش‌گـران [۴] تلقـیح *Setaria italica* بـا آزوسـپریلیوم بـه‌تنهـایی و در ترکیـب بـا کـود شیمیایی نیتـروژن (۴۰کیلـوگرم در هکتـار) کـل محتـوای نیتروژن ریشه، اندام‌های هوایی و دانه را افزایش داد. برخـی تحقیقات نشان داده که تلقیح گیاه میزبان بـا آزوسـپریلیوم باعث افزایش میزان دو فیتوهورمون اکسین و اتیلن می‌شود که به دنبال آن سطح ریشه و طول تارهای کشنده در گیاه افزایش می‌یابد [۳۲]. بنابراین، تحت تأثیر عوامل ذکر شده، در اثر استفاده از باکتری‌های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم همراه با کود شیمیایی، میزان نیتروژن بافت گیاهی به‌طور نسـبی افزایش یافت. بعضی از محققان عنوان کرده‌انـد کـه درصـد کم‌تر نیتروژن موجود در بافت گیاهی، علی‌رغم مصرف کود نیتروژن بیشتر با کود دامی یا کودهای زیستی، می‌تواند به پدیده‌ای تحت عنوان اثر رقیق‌سازی[۱۶] مربوط باشـد؛ بـدین معنی که افزایش نیتروژن موجود در خاک (از طریـق کـود شیمیایی، دامی یا زیستی) به افزایش جذب نیتروژن توسط گیاه منجر می‌شود. اما به دلیل زیاد شـدن رشـد انـدام‌هـا، نیتروژن جذب شده در کـل پیکـره گیـاه توزیـع مـی‌شـود (رقیق شدن) و لذا به‌صورت افزایش درصـد نیتـروژن نمـود پیدا نمی‌کند. بنابراین تیمارهای کود بیولوژیک بـا قـابلیتی که در فراهم آوردن عناصـر غـذایی، بـه‌خصـوص نیتـروژن، دارند باعث افزایش رشد رویشی گیاه می‌شـوند. در نتیجـه، افزایش تعداد برگ‌های گیاه باعث افـزایش شـاخص سـطح برگ گیاه و تراکم بیشتر کانوپی، و نهایتـاً افـزایش کـارآیی محصول در استفاده از انـرژی نـورانی و سـنتز بیشـتر مـواد فتوسنتزی می‌شود.



شکل ۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای آزمایشی بر غلظت ازت برگ ریحان (درصد)
میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از لحاظ آماری اختلاف معنـی‌داری از طریـق آزمـون LSD در سطح احتمال ۵٪ با هم ندارند.

$P_{41}AA$: *(Pseudomonas putida* strain 41+ *Azospirillum lipoferum* strain OF+ *Azotobacter chroococcum* strain 5)
$P_{187}AA$: *(Pseudomonas fluorescens* strain 187+*Azospirillum lipoferum* strain OF+*Azotobacter chroococcum* strain 5)
$N_1P_1K_1$: (45 mg.kg^{-1} **N** + 20 mg.kg^{-1} **P** + 20 mg.kg^{-1} **K**) **$N_2P_2K_2$:** (90 mg.kg^{-1} **N** + 40 mg.kg^{-1} **P** + 40 mg.kg^{-1} **K**)
$N_3P_3K_3$: (135 mg.kg^{-1} **N** + 60 mg.kg^{-1} **P** + 60 mg.kg^{-1} **K**) **$N_4P_4K_4$:** (180 mg.kg^{-1} **N** + 80 mg.kg^{-1} **P** + 80 mg.kg^{-1} **K**)

جدول ۳- آنالیز واریانس (میانگین مربعات) غلظت عناصر غذایی در برگ ریحان تحت تأثیر تیمارهای کودی مختلف.

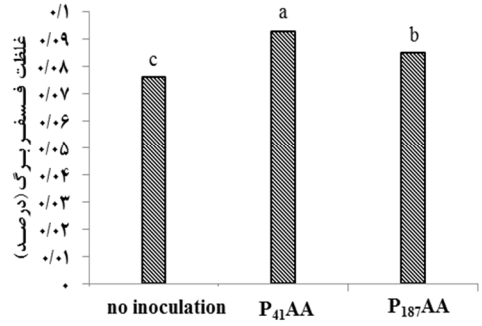
منبع تغییرات	درجه آزادی	پتاسیم (٪)	فسفر (٪)	نیتروژن (٪)
کود شیمیایی(NPK)	۴	۰/۸۷ **	۰/۰۰۱ **	۱ **
کود بیولوژیک	۲	۰/۲ **	۰/۰۰۱ **	۰/۳۲ **
کود شیمیایی× کود بیولوژیک	۸	۰/۰۱ ^{ns}	۴/۳ ^{ns}	۰/۰۵ *
خطا	۳۰	۰/۰۲	۲/۴	۰/۰۲
ضریب تغییرات (٪)	-	۷/۹	۵/۸	۵/۲

^{ns}، * و ** به ترتیب نشان دهندهٔ عدم اختلاف معنی‌دار و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد است.

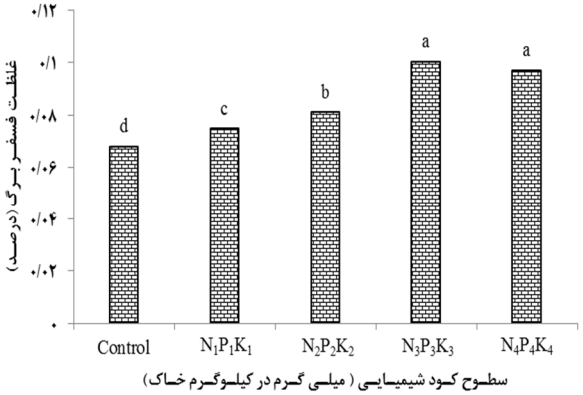
۳-۲-۲- غلظت فسفر برگ ریحان

نتایج حاصل از تحلیل واریانس داده‌ها (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی کود شیمیایی (NPK) و زیستی بر غلظت فسفر برگ ریحان تأثیر معنی‌دار داشت ($P<۰/۰۱$). همان‌طور که در شکل ۸ مشاهده می‌شود، با افزایش سطوح کودی NPK غلظت فسفر برگ ریحان افزایش یافت، به‌طوری که تیمار شاهد و $N_3P_3K_3$ با ۰/۰۶ و ۰/۱ به‌ترتیب کم‌ترین و بیشترین درصد فسفر برگ را داشتند. این افزایش نسبت به شاهد (عدم استفاده از هر نوع کود) ۶۶/۶ درصد بود (شکل ۸).

تحلیل واریانس داده‌ها حاکی از آن است که اثرات کودهای بیولوژیک بر درصد فسفر برگ معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) است (جدول ۳). چنان که در شکل ۷ مشاهده می‌شود، تیمار عدم تلقیح و کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) با مقدار ۰/۰۷ و ۰/۰۹ درصد به‌ترتیب کم‌ترین و بیشترین درصد فسفر برگ را داشتند، که این افزایش نسبت به شاهد ۲۸/۵ درصد بود. بیشترین درصد فسفر برگ با کاربرد کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) با افزایش ۲۸/۵ درصدی نسبت به عدم تلقیح به دست آمد و نسبت به کود زیستی مرکب دو ($P_{187}AA$) با افزایش ۱۲/۵ درصدی اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۷).



شکل ۷- اثر کودهای زیستی بر غلظت فسفر برگ ریحان.



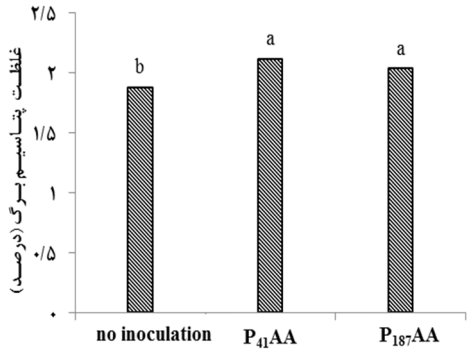
شکل ۸- اثر سطوح مختلف کودهایی شیمیایی (NPK) بر غلظت فسفر برگ ریحان.

$P_{41}AA$: *(Pseudomonas putida* strain 41+ *Azospirillum lipoferum* strain OF+ *Azotobacter chroococcum* strain 5)
$P_{187}AA$: *(Pseudomonas fluorescens* strain 187+*Azospirillum lipoferum* strain OF+*Azotobacter chroococcum* strain 5)
$N_1P_1K_1$: (45 mg.kg^{-1} **N** + 20 mg.kg^{-1} **P** + 20 mg.kg^{-1} **K**) **$N_2P_2K_2$:** (90 mg.kg^{-1} **N** + 40 mg.kg^{-1} **P** + 40 mg.kg^{-1} **K**)
$N_3P_3K_3$: (135 mg.kg^{-1} **N** + 60 mg.kg^{-1} **P** + 60 mg.kg^{-1} **K**) **$N_4P_4K_4$:** (180 mg.kg^{-1} **N** + 80 mg.kg^{-1} **P** + 80 mg.kg^{-1} **K**)

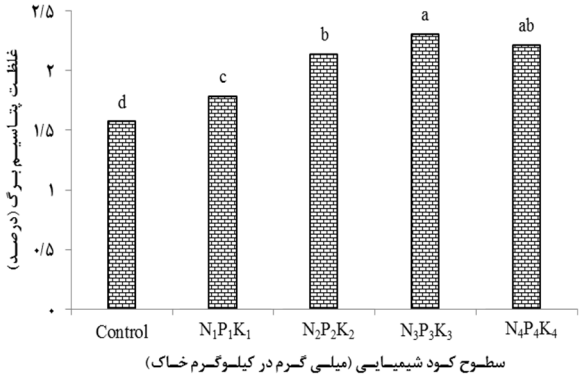
چنین به نظر می‌رسد که در این پژوهش نیز احتمالاً، در رابطه با تأثیر معنی‌دار باکتری‌های جنس ازتوباکتر و آزوسپریلیوم و سودوموناس بر نیتروژن و فسفر جذب شده توسط ریحان می‌توان گفت که باکتری های ریزوسفری افزایندهٔ رشد گیاه علاوه بر تثبیت نیتروژن باعث آزادسازی هورمون‌های گیاهی ــ ازجمله جیبرلیک اسید و اکسین ــ می‌شوند که باعث تحریک رشد گیاه، افزایش فتوسنتز و افزایش جذب عناصر غذایی از جمله نیتروژن و فسفر می‌شود؛ و این با نتایج مطالعات پیشین [۲۵] مطابقت دارد. محققان براین باورند [۵] که تلقیح ذرت با باکتری های محرک رشد (ازتوباکتر و آزوسپریلیوم) سبب افزایش معنی‌دار عناصر از جمله نیتروژن و فسفر در اندام‌های گیاه، در مقایسه با شاهد شد.

۳-۲-۳- غلظت پتاسیم برگ ریحان

نتایج حاصل از تحلیل واریانس داده‌ها در جدول ۳ نشان می دهد که اثر اصلی کودهای شیمیایی (NPK) و زیستی، بر غلظت پتاسیم برگ ریحان معنی‌دار است ($P<۰/۰۱$). چنان که در شکل ۱۰ مشاهده می‌شود با افزایش سطوح کودهای شیمیایی (NPK) از شاهد به سطوح $N_1P_1K_1$، $N_2P_2K_2$، $N_3P_3K_3$ و $N_4P_4K_4$ غلظت پتاسیم برگ به‌ترتیب به ۱۳/۵، ۳۵/۸، ۴۶/۷ و ۴۰/۶ درصد افزایش یافت به طوری که در تیمار شاهد و تیمار $N_3P_3K_3$، کم ترین میزان پتاسیم برگ برابر ۱/۵ درصد و بیشترین میزان آن برابر ۲/۳ به دست آمد.



شکل ۹– اثر کودهای زیستی بر غلظت پتاسیم برگ ریحان.



شکل ۱۰– اثر سطوح مختلف کودهایی شیمیایی (NPK) بر غلظت پتاسیم برگ ریحان.

$P_{41}AA$: *(Pseudomonas putida* strain 41+ *Azospirillum lipoferum* strain OF+ *Azotobacter chroococcum* strain 5)
$P_{187}AA$: *(Pseudomonas fluorescens* strain 187+*Azospirillum lipoferum* strain OF+*Azotobacter chroococcum* strain 5)
$N_1P_1K_1$: (45 mg.kg^{-1} **N** + 20 mg.kg^{-1} **P** + 20 mg.kg^{-1} **K**) **$N_2P_2K_2$:** (90 mg.kg^{-1} **N** + 40 mg.kg^{-1} **P** + 40 mg.kg^{-1} **K**)
$N_3P_3K_3$: (135 mg.kg^{-1} **N** + 60 mg.kg^{-1} **P** + 60 mg.kg^{-1} **K**) **$N_4P_4K_4$:** (180 mg.kg^{-1} **N** + 80 mg.kg^{-1} **P** + 80 mg.kg^{-1} **K**)

در این آزمایش اثر کودهای زیستی بر غلظت پتاسیم معنی‌دار شد ($P<0/01$)، به‌طوری‌که تیمار عدم تلقیح و کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) با مقدار ۱/۸ و ۲/۱ درصد به‌ترتیب کم‌ترین و بیشترین درصد پتاسیم برگ را داشتند که این افزایش معادل ۱۶/۶ درصد نسبت به عدم تلقیح بود (جدول ۳). کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) با افزایش ۱۶/۶ درصد نسبت به شاهد، غلظت پتاسیم را افزایش داد که با کود زیستی مرکب دو ($P_{187}AA$) این اختلاف معنی‌دار نبود. بنابراین نتایج نشان می‌دهد از نظر غلظت پتاسیم، گیاهان تلقیح شده با کودهای زیستی مقدار پتاسیم بیشتری دارند (شکل۹).

با توجه به این که، جذب عناصر غذایی توسط گیاه تابع دو عامل «رشد سیستم ریشه» و «فراهم بودن عناصر غذایی در خاک» به‌خصوص در ریزوسفر است. بنابراین کودهای زیستی از طریق ترشح اسیدهای آلی و معدنی باعث افزایش قابلیت جذب عناصر غذایی در ریزوسفر می‌شود. همچنین ریزجانداران موجود در کودهای زیستی با ترشح پیش‌ماده هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاه، کنترل پاتوژن‌های گیاهی، انحلال عناصر غذایی و قابل دسترس کردن عناصر غذایی برای گیاه باعث افزایش رشد ریشه گیاهان می‌شود. بررسی‌ها نشان داده که تلقیح با باکتری می‌تواند موجب افزایش رشد و افزایش مقدار پتاسیم در اجزاء گیاه شود [۹].

٤- نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این تحقیق حاکی از آن است که کاربرد کودهای بیولوژیک حاوی ریزموجودات باکتریایی در ترکیب با یکدیگر، در بهبود ویژگی‌های رشدی و عملکرد گیاه دارویی ریحان، تأثیر مثبتی داشته است. تیمارهای کود بیولوژیک اعمال شده در اکثر موارد قابل رقابت با تیمار کود شیمیایی و در برخی شاخص‌ها مقادیر بیشتری را نسبت به مصرف کود شیمیایی نشان دادند. همچنین در بین دو نوع کود زیستی مورد استفاده، کود زیستی مرکب یک ($P_{41}AA$) عملکرد بهتری در افزایش صفات مورد بررسی و بهبود تغذیه‌ای گیاه ریحان داشت. لذا با توجه به ضرورت تولید این قبیل گیاهان در نظام‌های زراعی از یک طرف، و لزوم توجه به کشت این گیاهان در نظام‌های کم نهاده از سوی دیگر، به نظر می‌رسد کودهای بیولوژیک در راستای کمینه‌سازی آلودگی محیط‌زیست وکشاورزی پایدار جایگزین مناسبی برای کودهای شیمیایی در تولید این قبیل گیاهان باشند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین آزمایشگاه تکنولوژی بذر و همچنین آزمایشگاه شیمی خاک که در طول انجام مراحل این آزمایش نهایت همکاری را مبذول داشتند، کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

پی‌نوشت‌ها

1. Lamiaceae
2. Sustainable agriculture
3. Biofertilizers
4. Plant Growth Promoting Rhizobacteria
5. No inoculation
6. *Azotobacter chroococcum* strain 5
7. *Azospirillum lipoferum* strain OF
8. *Pseudomonas putida* strain 41
9. *Pseudomonas fluorescens* strain 187
10. Colony-forming unit
11. Kjeltec 8100, 91712891, Sweden
12. Spectrophotometer
13. Flame 110 series
14. Phosphat-Solubilizing Bacteria
15. Rhizosphere
16. Dillution Effect

منابع

[1] Akbari, G, Arab M, Alikhani H A, Allahdadi I, Arzanesh M H. Isolation and selection of indigenenous Azospirillum spp. And the iaa of superior strains on wheat roots; Journal of Agricultural Sciences; **2007**; **3**: 523-529. **[In Persian]**

[2] Aroiee H, Omidbaigi R. Effects of nitrogen fertilizer on productivity of medicinal pumpkin; Acta Horticulturae; **2004**; **629**: 415-419. **[In Persian]**

[3] Azzaz N A, Hassan E A, Hamad E H. The chemical constituent and vegetative and yielding characteristics of Fennel plants treated with organic and biofertilizer instead of mineral Fertilizer; Australian Journal of Basic and Applied Sciences; **2009; 3**: 579-587.

[4] Bhaskara Rao K V, Charyulu P B B N. Evaluation of effect of inoculation of Azospirillum on the yield of Setaria italica (L.); African Journal of Biotechnology; **2005; 4**(9): 989-995.

[5] Biyari A, Gholami A, Asadi Rahmani H. Sustainable production and improvement of nutrient absorption by maize in reaction to seed inoculation by PGPR. Proceeding of the 2nd National Irania Agroecology Conference, Gorgan, Iran, **2008**: 8. **[In Persian]**

[6] Chen Y P, Rekha P D, Arun A B, Shen, F T, Lai W A, Young C C. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solublizing abilites. Department of Soil and Environmental Sciences; National Chung Hsing University; **2005**.

[7] Copetta A, Lingua G, Berta G. Effects of three AM fungi on growth, distribution f glandular hairs, and essential oil peoduction in Ocimum basilicum L. var. Genovese. Mycorrhiza; **2006**; **16**: 485-494.

[8] Desmarest P. New aspects of fennel cultivation in France. *Acta Horticulturae* Journal; **1978**; **73**: 289-295.

[9] Egamberberdiyeva D, Hoflich G. Influence of growth- promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures; Soil Biology and Biochemistry; **2003**; **35**: 973-978.

[10] Eid R A, Abo-Sedera S A, Attia M. Influence of Nitrogen Fixing Bacteria Incorporation with Organic and/or Inorganic Nitrogen Fertilizers on Growth, Flower Yield and Chemical Composition of *Celosia argenta* . *World J. Agriculture Sci*.; **2006**; **2**(4): 450-458.

[11] Emtiazi G, Naderi A, Etemadifar Z. Effect of Nitrogen fixing bacteria on growth of potato tubers; Food Science; **2004**; **26**: 56-58. **[In Persian]**

[12] Gad W M. Physiological studies on Foeniculum vulgare Mill and Anethum graveolens L; M.Sc. Thesis; Faculty Agric., Kafr El-Sheikh, Tanta Univ., Egypt; **2001**.

[13] Ganjali A, Majidi Harvan A. Effect of planting pattern and plant density on yield, yield components, and morphological characteristics of soybean cultivar Williams; **1999**; **15**: 142-155. **[In Persian]**

[14] Kapoor R., B. Giri and K.G. Mukerji (2002). Glomus macrocarpum: potential bioinoculant to improve essential oil quality and concentration in dill (Anethum gravolens L.) and carum (Trachyspermum ammi (Linn.) Sprague). World Journal of Microbiology and Biotechnology, 18: 459-463.

[15] Kapoor R, Giri B, Mukerji K G. Improved growth and essential oil yield and quality in Foeniculum vulgare mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. Bioresource Technology; **2004**; **93**: 307-311.

[16] Kapoor R, Chaudhary V, Bhatnagar A K. Effects of arbuscular mycorrhiza and phosphorus application on artemisinin concentration in Artemisia annua L. Mycrrhiza; **2007**; **17**: 581-587.

[17] Kaymak H C, Yarali F, Guvenc I, Donmez M F. The effect of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on root formation of mint (Mentha piperita L.) cuttings. African Journal of Biotechnology; **2008**; **7**(24): 4479-4483.

and Nutrients Uptake of Sweet Basil. *Advances in Environmental Biol*; **2011**; **5**(4): 672-7.

[30] Prakash V. Leafy spices. CRC Press; **1990:** 114P.

[31] Rajendran K, Devaraj P. Biomass and nutrient distribution and their return of Casuarina equisetifolia inoculated with biofertilizers in farm land; Biomass and Bioenergy; **2004**; **26**: 235-249.

[32] Ribaudo C M, Krumpholz E M, Cassa F, Bottini R, Cantore M L, Cura J A. Azospirillum sp. Promotes root hair development in tomato plants through a mechanism that involves ethylene; Journal of Plant Growth Regulation; **2006**; **24**: 175-185.

[33] Richter J, Stutzer M, Schellenberg I. Effects of mycorrhization on the essential oil content and composition of aroma components of marjoram (Marjorana hortensis), thyme (Thymus vulgaris L.) and caraway (Carum carvi L.). 36th International Symposium on Essential Oils, 4-7 September, Budapest, Hungary; **2005.**

[34] Saikia S P, Dutta S P, Goswami, A, Bhau B S, Kanjilal P B. Role of Azospirillum in the Improvement of Legumes. Microbes for Legume Improvement; **2010**: 389-408.

[35] Sayyari-zahan M H, Sadana U S, Steingrobe B, Claassen N. Manganese efficiency and manganese-uptake kinetics of raya (Brassica juncea), Weat (Triticum aestivum), and oat (Avena sativa) grown in nutrient solution and soil. J. Plant Nutrition. Soil Science; **2009**; **172**: 425-434. **[In Persian]**

[36] Shaalan M N. Effect of compost and different sources of biofertilizers, on borage plants (Borago officinalis). Egypt Journal of Agriculture Research; **2005**; **83**(1): 271.

[37] Tilak, K V B R, Singh C S, Roy V K, Rao N S S. Azospirillum brasilense and Azotobacter chroococcum inoculum: effect on yield of maize (Zea mays L.) and sorghum (Sorghum bicolor); Soil Biology and Biochemistry; **1982**; **14**: 417-418.

[38] Titulaer H. Research on Florence fennel. For good yield nitrogen and potash are necessary. Groenten Fruit Vollegrondsgroenten; **1991**; **33**: 12-13.

[39] Umar I, Wali VK, Rehman M U, Mir M M, Banday S A, Bisati I A. Effect of Subabul (Leucaena Leucocephala), Urea and Biofertilizer Application on Growth, Yield and Quality of Strawberry cv. Chandler; *Applied Biological Res*; **2010**; **12**(2): 121-91.

[18] Kennedy I R, Choudhury A T A M, Kecskes M L. Non-symbiotic bacterial daizotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? Soil Biology and Biochemistry; **2004**; **36**: 1229-1244.

[19] Khalid A, Hendawy S F, El-Gezawy E. Ocimum basilicum L. production under organic farming; Research Journal of Agriculture and Biological Sciences; **2006**; **2**(1): 25-32.

[20] Khorramdel S. Application effects of biofertilizers nitrogen and phosphore on the quality characteristics of black cumin (Nigella sativa L.) M.Sc. Thesis, Fac. Agric. Ferdowsi Univ. of Mashhad; Iran; **2008. [In Persian]**

[21] Kumar V, Behl R.K, Narula N. Establishment of phosphate solubilizing strains of Azotobacter chroococcum in rhizosphere and their effect on wheat under green house conditions; Microbiology Research; **2001**; **156**: 87-93.

[22] Lakshmanan A, Govindarajan K, Kumar K. Effect of seed treatment with native diazotrophs on the seedling parameters of senna and Ashwagaudha. Tami Nadu Agricultural University, India; **2005.**

[23] Leithy S, El-Meseiry T A, Abdallah E F. Effect of biofertilizer, cell stabilizer and irrigation regime on rosemary herbage oil yield and quality; Journal of Applied Sciences Research; **2006**; **2**: 773-779.

[24] Maff. The analysis of agricultural materials. Ministry of Agricuture. Fisheries and food, London, UK; **1985.**

[25] Mahfouz S A, Sharaf-Eldin M A. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth, yield, and essential oil content of fennel (Foeniculum vulgare Mill.); Agrophysics Journal; **2007**; **21**: 361-366.

[26] Mozafar A. Nitrogen fertilization and the amount of vitamins in plant; A reveiew. J. Plant Nuttition; **1993**; **16**: 2479-2506.

[27] Nassiri Mahallati M, Koocheki A, Rezvani Moghaddam P, Beheshti A. Agroecology; Ferdowsi Mashhad University Press; **2001**. **[In Persian]**

[28] Omidbaigi R. Approaches to Production and Processing of Medicinal Plants.Vol two. Tarrahan e Nashr Publication. Tehran, Iran; **1997**. **[In Persian]**

[29] Ordookhani K, Sharafzadeh Sh, Zare M. Influence of PGPR on Growth, Essential Oil

[40] Vande Broek A. Auxins upregulate expression of the indol-3-pyruvate decarboxylase gene in Azospirillum brasilense. Journal of Bacteriology; **1999**; **181**: 1338-1342.

[41] Vanschaik A H, Struik P C, Damian T G. Effect of irrigation and N on the vegetative growth of Aloe barbadensis mill in aruba. Tropical Agriculture; **1997**; **74**(2): 104-109.

[42] Vessey J K. Plant growth promoting Rhizobacteria as biofertilizer; Plant and Soil; **2003**; **255**: 271-586.

[43] Vestberg M, Saari K, Kukkonen S, Hurme T. Mycotrophy of crops in rotation and soil amendment with peat influence the abundance and effectiveness of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi in field soil; Mycorrhiza; **2005**; **15**: 447-458.

[44] Vital W M, Teixeira N T, Shigihara R, Dias A F M. Organic manuring with pig biosolids with applications of foliar biofertilizers in the cultivation of Thyme (Thymus vulgaris L.); Ecossistema; **2002**; **27**: 69-70.

[45] Wu SC, Caob Z H, Lib Z G, Cheunga K C, Wong M H. Effects of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. Geoderma; **2005**; **125**: 155-166.

[46] Youssef A A, Edris A E, Gomaa A M. A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L. *Plant Annals of Agricultural Science*; **2004**; **49**: 299-311.