

## تأثیر کودهای بیولوژیک بر صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و میزان اسانس گیاه دارویی *(Ocimum basilicum L.)*

وریا ویسانی<sup>۱</sup>، سعیده رحیم‌زاده<sup>۱</sup> و یوسف سهرابی<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

۲- نویسنده مستول، استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه کردستان، پست الکترونیک: y.sohrabi@uok.ac.ir

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۹

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۸۹

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۸۹

### چکیده

مدیریت کود یک عامل مهم در موفقیت کشت گیاهان دارویی می‌باشد. کاربرد کودهای زیستی در تولید این گیاهان با هدف حذف یا کاهش قابل ملاحظه مصرف نهاده‌های شیمیایی و همچنین افزایش حاصلخیزی خاک و بهبود رشد و کیفیت گیاه، از اهمیت زیادی برخوردار است. به همین منظور آزمایشی به صورت گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار و ۵ تیمار در گلخانه دانشکده کشاورزی کردستان بر روی گیاه دارویی ریحان (*Ocimum basilicum L.*) به اجرا درآمد. تیمارهای این آزمایش شامل کود بیولوژیک نیتروکسین، فسفاته بارور-۲، مخلوط نیتروکسین با فسفاته بارور-۲، کود شیمیایی (NP) و تیمار شاهد (عدم مصرف کود) بود. نتایج بدست آمده نشان داد که تیمارهای کودی اثر معنی‌داری بر صفات وزن خشک کل اندام هوایی، ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن خشک برگ، وزن خشک ریشه، تعداد سرشاخه گلدار فتوستنتر، تعرق و میزان و عملکرد اسانس در سطح احتمال ۰.۱٪ و صفت میزان کلروفیل در سطح احتمال ۰.۵٪ داشت، اما صفات طول ریشه، وزن خشک ساقه و  $\text{CO}_2$  زیر روزنهاي اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. کود شیمیایی و تیمار مخلوط نیتروکسین با فسفاته بارور-۲ بیشترین تأثیر را در افزایش صفات یاد شده داشتند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کودهای بیولوژیک می‌توانند به عنوان جایگزینی مناسب برای بخشی از کودهای شیمیایی در سیستم‌های کشاورزی پایدار مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، مورفولوژیک، فیزیولوژیک، ریحان (*Ocimum basilicum L.*), کودهای بیولوژیک.

### مقدمه

#### طیبیعی گیاهی، اهمیت مطالعه روی کشت و فرآوری

گیاهان دارویی و معطر را دوچندان نموده‌است (بقالیان و نقدي بادي، ۱۳۷۹).

ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاه دارویی و معطر

در حال حاضر یک سوم داروهای مورد استفاده بشر را داروهای با منشأ گیاهی تشکیل می‌دهند. نیاز روزافزون کارخانه‌های داروسازی به ماده اولیه و لزوم حفظ منابع

خواهند داشت. از طرف دیگر باعث کاهش کیفیت تولیدات کشاورزی و مشکلات زیست محیطی و آلودگی آب‌های زیرزمینی نیز می‌شوند (Wu *et al.*, 2004).

عنصر نیتروژن، بخش اصلی بسیاری از ترکیب‌های شیمیایی مانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک بوده و قسمتی از کلروفیل را نیز تشکیل می‌دهد و عنصری است که در بیشتر موارد، کاهش آن باعث کاهش رشد گیاهان سبز می‌شود. نیتروژن به‌طور مداوم توسط فرایندهایی مانند نیترات‌زدایی، فرسایش خاک و آبشویی از دسترس گیاهان خارج می‌شود (اوچاقلو، ۱۳۸۶).

فسفر نیز بعد از نیتروژن مهمترین عنصر مورد نیاز برای تولید محصول است. فسفر در کلیه فرایندهای بیوشیمیایی، واکنش‌های انتقال انرژی، فتوستز و انتقال خصوصیات ژنتیکی نقش دارد (حسن‌زاده و همکاران، ۱۳۸۶). مقادیر زیادی از فسفر موجود در کودهای شیمیایی بعد از ورود به خاک، نامحلول شده و از دسترس گیاه خارج می‌شود. از طرف دیگر تحرک این عنصر در خاک بسیار کم است و نمی‌تواند پاسخگوی جذب سریع آن توسط گیاه باشد (Wu *et al.*, 2004).

کودهای بیولوژیک از مؤثرترین راهکارها جهت تأمین این عناصر در سطح مطلوب هستند (حسن‌زاده و همکاران، ۱۳۸۶). امروزه با توجه به مشکلاتی که به دنبال مصرف بی‌رویه کودهای شیمیایی بوجود آمده، کاربرد کودهای بیولوژیک مورد توجه بیشتری قرار گرفته است. کودهای بیولوژیک به مجموعه مواد نگهدارنده با تعداد زیادی از یک یا چند میکروارگانیسم مفید خاکزی و یا فرآورده‌های متابولیک آنها اطلاق می‌شود که بیشتر به منظور تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاه و ایجاد شرایط فیزیکی و شیمیایی مناسب

مهمن است که در سراسر دنیا کشت می‌شود. گیاهی علفی، یکساله، معطر و به ارتفاع ۲۰-۶۰ سانتی‌متر است. منشأ آن شمال غرب هند، شمال شرق آفریقا و آسیای میانه گزارش شده است (Klimankova *et al.*, 2008). جنس *Ocimum* شامل ۳۰ گونه است که در میان آنها گونه *O. basilicum* مهمترین گونه اقتصادی بوده و امروزه تقریباً در تمام مناطق گرم و معتدل کشت و کار می‌شود. از ریحان به‌عنوان گیاهی دارویی، ادویه‌ای و همچنین به‌عنوان سبزی تازه استفاده می‌شود و کشت آن در بیشتر مناطق کشور رایج است (امیدبیگی، ۱۳۷۹). ریحان یکی از گیاهان مهم متعلق به خانواده نعناع است که در طب سنتی به‌عنوان خلط‌آور، ضدنفخ، جهت تسکین درد معده، ضدانگل، اشتها‌آور و محرک و مؤثر در بهبود بیماریهای ریوی و سینه‌ای شناخته شده است (Lima *et al.*, 2004). انسس ریحان خاصیت ضدقارچی و باکتریایی داشته و دفع‌کننده حشرات است، که به‌طور گسترده در صنایع غذایی، عطرسازی، فرآورده‌های دهانی و دندانی کاربرد دارد (دادوند سراب و همکاران، ۱۳۸۷).

وجود مواد و عناصر غذایی کافی در خاک، نقش عمده‌ای در عملکرد ریحان دارد (دادوند سراب و همکاران، ۱۳۸۷). به منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی در واحد سطح، بیشتر تولیدکنندگان به کودهای شیمیایی روی آورده‌اند و تصور آنها بر این است که هرچه کود بیشتری مصرف کنند، عملکرد بیشتری خواهند داشت. این کودها در درازمدت خصوصیات فیزیکو‌شیمیایی خاک‌ها را تخرب کرده و با کاهش نفوذپذیری در خاک، نفوذ ریشه گیاهان را دچار مشکل ساخته و در نهایت کاهش عملکرد را به‌دنبال

سفر از ترکیبات آلی فسفره نقش مهمی داردند (عموآقایی و مستاجران، ۱۳۸۶).

امیدی و همکاران (۱۳۸۸) گزارش کردند که کاربرد نیتروکسین (به میزان ۵ لیتر در هکتار) در زعفران باعث افزایش ۸۳ درصدی عملکرد کلاله و خامه شد. فلاحتی و همکاران (۱۳۸۸) طی تحقیقی روی گیاه دارویی بابونه آلمانی نشان دادند که بیشترین عملکرد گل تر و خشک، عملکرد اسانس و کامازولن در تیمارهای نیتروکسین و باکتری حل کننده فسفات بدست آمد.

Fatma و همکاران (۲۰۰۶) بدنیال کاربرد کودهای بیولوژیک (باکتریهای ثبیت کننده نیتروژن و حل کننده فسفات) روی گیاه مرزنجوش، افزایش در شاخص‌های رشدی و میزان اسانس این گیاه را گزارش کردند. Darzi و همکاران (۲۰۰۶) در آزمایشی روی گیاه رازیانه نشان دادند که استفاده از کود فسفات زیستی، تأثیر معنی‌داری روی تعداد چتر در بوته، وزن هزاردانه، شاخص برداشت و عملکرد دانه نداشت ولی تأثیر آن روی ارتفاع بوته و عملکرد بیولوژیک معنی‌دار بود. Shah و همکاران (۲۰۰۱) بدنیال کاربرد کود فسفر همراه با باکتریهای حل کننده فسفات، تسريع در مراحل رشدی سویا را گزارش کردند. همچنین Azzaz و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که کاربرد کودهای بیولوژیک، رشد رویشی، عملکرد و میزان اسانس را در گیاه دارویی رازیانه افزایش داد.

به طور کلی این باکتریها بیش از یک نقش دارند، علاوه بر کمک به جذب عناصر غذایی خاص، به جذب سایر عناصر، افزایش رشد گیاه و در نهایت افزایش Wu et al., (۲۰۰۴). با توجه به اهمیت و نقش گیاهان دارویی در

خاک برای رشد و نمو گیاه مصرف می‌شود. کودهای زیستی به صورت مایه تلقیح زنده برای مصرف در خاک و یا مصرف همراه با بذر تولید می‌شوند (صالح راستین، ۱۳۸۰؛ حمیدی و همکاران، ۱۳۸۵). استفاده از منابع بیولوژیک به جای منابع شیمیایی، نقش مهمی در باروری و حفظ فعالیت‌های بیولوژیک خاک، افزایش کیفیت محصولات کشاورزی و سلامت اکوسیستم دارد (Zaidi et al., 2003).

نیتروکسین یکی از کودهای بیولوژیک می‌باشد که حاوی مؤثرترین باکتریهای ثبیت کننده نیتروژن (از توباساکتر (Azotobacter) و آزوسپریلیوم (Azospirillum)) است. این باکتریها جزو میکروارگانیسم‌های همیار با ریشه هستند. همیاری (Associative) بین باکتریها و گیاهان، به معنی ارتباط متقابل مفید بین آنها، بدون تشکیل اندام همزیستی (Symbiosis) خاص می‌باشد. این باکتریها، ازت موجود در اتمسفر را که به طور مستقیم برای گیاهان قابل استفاده نمی‌باشد، احیا کرده و به صورت آمونیم در اختیار گیاه قرار می‌دهند و انرژی مورد نیاز برای این فرایند را از ترشحات ریشه گیاه دریافت می‌کنند. این باکتریهای همیار علاوه بر ثبیت ازت با ترشح مواد محرك رشد، افزایش رشد گیاه را سبب می‌شوند (عموآقایی و مستاجران، ۱۳۸۶). کود بیولوژیک فسفاته بارور-۲ نیز حاوی باکتریهای حل کننده فسفات (پودوموناس (Pseudomonas) و باسیلوس (Bacillus)) می‌باشد. این باکتریها با مکانیسم‌هایی مثل تولید و ترشح اسیدهای آلی به‌ویژه اسید اگزالیک و اسید سیتریک، در حلایق فسفات‌های معادنی کم محلول و با تولید آنزیم‌های فسفاتاز در آزادشدن

ابتدا بذر ریحان با محلول ۱۰٪ ساکارز مخلوط شده و بعد با مایه تلقيق مذکور آغشته گردید و پس از تلقيق، بذرهای تیمار شده در سایه و به دور از نور خورشید خشک گردیدند. سپس بلافضلله بذرها درون گلدانهای پلاستیکی کشت شدند. عمق کاشت بذرها ۱-۱/۵ سانتی متر در نظر گرفته شد. پس از استقرار کامل گیاهچه‌ها ۶ بوته نگهداشته شد و بقیه حذف گردیدند. به منظور اندازه‌گیری میزان فتوستنتز در واحد سطح برگ (میکرومول  $\text{CO}_2$  بر مترمربع بر ثانیه)، میزان تعرق (میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) و غلظت  $\text{CO}_2$  زیر روزنه‌ای (میکرومول بر مول) از دستگاه LCA4 استفاده شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در ساعت ۱۱:۳۰-۹:۳۰ صبح و در شدت نور معادل ۱۴۵۰-۱۰۰۰ میکرومول فوتون بر (Yang et al., 2001) تیمار انجام شد (Gruters و همکاران ۱۹۹۵) گزارش کردند که هدایت روزنه‌ای در ۱۰۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه به حداقل می‌رسد. همچنین مشاهده شده است که هدایت روزنه‌ای در طی ساعت ۱۰ صبح تا ۱ بعدازظهر تغییرات قابل توجهی ندارد و این موضوع، امکان انجام تعداد زیادی از اندازه‌گیری را در طی روز فراهم می‌کند (Clarke & McCaig, 1982; Gruters et al., 1995).

برای هر تیمار، نمونه‌های تصادفی برگ در داخل محفظه شیشه‌ای دستگاه قرار داده شدند و پس از ۴۵ ثانیه تا ۱ دقیقه داده‌های دستگاه ثبت گردیدند (Fisher et al., 1998). در مرحله گلدانی کلروفیل برگ با کلروفیل متر SPAD-502 اندازه‌گیری گردید و عدد کلروفیل متر یادداشت شد. اندام‌های هوایی از سطح خاک قطع شده و جهت توزین (وزن خشک اندام‌های مختلف) و تعیین درصد اسانس به آزمایشگاه منتقل

صنايع مختلف، نکته مهم در تولید اين گیاهان، افزایش تولید بیوماس آنها بدون کاربرد نهاده‌های شیمیایی است. به طوری که استفاده از گونه‌های میکروبی همیار با گیاهان دارویی در بهبود عملکرد و کیفیت آنها مؤثر خواهد بود (کوچکی و همکاران، ۱۳۸۷؛ Karthikeyan et al., 2008). به همین منظور تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد این گروه از میکرووارگانیسم‌ها روی برخی از صفات رشدی، فیزیولوژیک و درصد اسانس گیاه دارویی ریحان انجام گردید.

## مواد و روشها

به منظور مطالعه تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی بر خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و درصد اسانس گیاه دارویی ریحان سبز (*Ocimum basilicum*) آزمایشی در سال ۱۳۸۷ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار و ۵ تیمار انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه فیزیکوشیمیایی خاک محل آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. تیمارهای آزمایشی شامل کود شیمیایی (NP)، کودهای بیولوژیک نیتروکسین، فسفاته بارور-۲، نیتروکسین+ فسفاته بارور-۲ و شاهد (عدم مصرف کود) بودند. برای هر تیمار آزمایشی ۵ گلدان در نظر گرفته شد. ارتفاع گلدانهای آزمایشی ۳۵ سانتی متر و قطر دهانه آن ۳۰ سانتی متر بود. برای اعمال تیمارهای آزمایشی، در زمان کاشت، کود شیمیایی (NP) به مقدار ۰/۲۷ گرم در گلدان به خاک افزوده شد. کود بیولوژیک مایع (نیتروکسین) به میزان ۲ لیتر در هکتار بخوبی در سایه با بذر آغشته گردید. جهت اختلاط بهتر مایه تلقيق حاوی باکتریهای حل کننده فسفات‌های نامحلول با بذر،

بین تیمار کودی مخلوط نیتروکسین+ فسفاته بارور-۲ با تیمار کود شیمیایی اختلاف معنی داری مشاهد نگردید.

### کلروفیل

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده ها (جدول ۲) بیانگر آنست که تأثیر تیمارهای کودی بر میزان کلروفیل برگ در سطح احتمال ۵٪ معنی دار است. مقایسه میانگین داده ها (شکل ۱) نشان می دهد که تیمار کود شیمیایی، بیشترین (SPAD ۵۸/۵۰) و شاهد، کمترین (SPAD ۴۴/۹۷) میزان کلروفیل را داشتند. به علاوه اینکه تیمار کود شیمیایی با تیمارهای نیتروکسین و نیتروکسین+ فسفاته بارور-۲ اختلاف معنی داری نداشت.

### فتوصیتر

تجزیه واریانس داده ها حکایت از آن دارد که تأثیر تیمارهای کودی بر میزان فتوستز برگ در سطح احتمال ۱٪ معنی دار است (جدول ۲). مقایسه میانگین داده ها (شکل ۱) نشان می دهد که تیمار نیتروکسین+ فسفاته بارور-۲، بیشترین (۶/۹۱ میکرومول  $\text{CO}_2$  بر مترمربع بر ثانیه) و شاهد، کمترین (۲/۶۸ میکرومول  $\text{CO}_2$  بر مترمربع بر ثانیه) میزان فتوستز را داشتند. به علاوه اینکه تیمار کود شیمیایی با تیمارهای نیتروکسین و نیتروکسین+ فسفاته بارور-۲ اختلاف معنی داری نداشت.

### تعرق

به طوری که در نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها مشاهده می گردد، بین تیمارهای مورد مطالعه در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی داری از لحاظ تعرق

گردیدند. به منظور حفظ کمیت و کیفیت اسانس گیاه، نمونه های مذکور در سایه و در درجه حرارت محیط خشک شدند.

جهت استخراج اسانس از برگ های خشک شده، از روش تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر استفاده شد. پس از ۳ ساعت اسانس گیری، اسانس حاصل که به رنگ زرد بود جمع آوری شد و با سولفات سدیم بدون آب، رطوبت زدایی گردید و در ظروف شیشه ای دربسته و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شد. تجزیه و تحلیل داده ها، براساس مدل آماری SAS و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار آماری Excel انجام گردید. برای مقایسه میانگین ها از روش آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده گردید.

### نتایج

#### خصوصیات مورفولوژیک

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده ها (جدول ۲) حکایت از آن داشت که تأثیر تیمارهای مختلف کودی بر صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ، تعداد سرشاخه گلدار، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و وزن خشک برگ در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود. مقایسه میانگین داده ها نشان داد که در مقایسه با شاهد، بیشترین ارتفاع بوته، تعداد سرشاخه گلدار و تعداد برگ، به تیمار نیتروکسین+ فسفاته بارور-۲ و بیشترین وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و وزن برگ به تیمار کود شیمیایی (NP) تعلق داشت (جدول ۳). در ضمن، در مورد ارتفاع بوته، تعداد سرشاخه گلدار، تعداد برگ و وزن خشک اندام هوایی

بیولوژیک عملکرد اسانس را نسبت به شاهد افزایش داده است. با توجه به این که عملکرد اسانس از حاصلضرب درصد اسانس در عملکرد ماده خشک برگ بدست می‌آید، بنابراین برتری کود شیمیایی را می‌توان به بیشتر بودن عملکرد ماده خشک برگ در مقایسه با سایر تیمارها نسبت داد.

### بحث

در خصوص اثر کودهای زیستی بر افزایش ارتفاع بوته (جدول ۳)، باید اظهار داشت که این امر احتمالاً ناشی از افزایش جذب عناصر غذایی، بهویژه فسفر و نیتروژن و تأثیر آن بر بهبود فتوستتر و در نتیجه افزایش رشد بوته است. نتایج این آزمایش با نتایج تحقیقات روی گیاه چای (Hazarika *et al.*, 2000)؛ روی رازیانه (Azzaz *et al.*, 2009) و روی گیاه نعناع فلفلی (Swaefy Hend *et al.*, 2007) مطابقت دارد، ولی با نتایج تحقیقات کوچکی و همکاران (۱۳۸۷) روی گیاه دارویی زوفا در تضاد است. آنها نشان دادند که کاربرد کودهای زیستی تأثیری بر ارتفاع بوته این گیاه نداشت. کودهای زیستی با جذب بهتر عناصر غذایی و تغذیه مناسب و در نتیجه افزایش میزان فتوستتر و رشد گیاه، در نهایت باعث بهبود گلدهی و افزایش تعداد سرشاخه گلدار در بوته گردیده است (جدول ۳). این نتیجه با نتایج Darzi و همکاران (۲۰۰۶) در رازیانه، فلاخی و همکاران (۱۳۸۸) در بابونه آلمانی مطابقت دارد. همچنین Azzaz و همکاران (۲۰۰۹) و Badran و Safwat (۲۰۰۴) افزایش در رشد و تعداد چتر در بوتهای رازیانه را بدبناه کاربرد کودهای بیولوژیک گزارش کردند و نشان دادند که کاربرد این کودها

وجود داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد که بیشترین میزان تعرق به تیمار کود شیمیایی (۱/۴۶ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) و کمترین میزان آن به تیمار شاهد (۰/۵۹۷ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) مربوط بود (شکل ۱).

### CO<sub>2</sub> زیر روزنه‌ای

نتایج تجزیه واریانس میان آن بود که بین تیمارهای مورد مطالعه در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌داری از لحاظ CO<sub>2</sub> زیر روزنه‌ای وجود نداشت (جدول ۲).

### میزان اسانس

نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تأثیر تیمارهای کودی بر میزان اسانس برگ ریحان در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. همان‌طوری که در شکل ۲ مشاهده می‌گردد، تیمار نیتروکسین+فسفاته بارور-۲، بیشترین (۰/۸۷۹٪) و شاهد کمترین (۰/۴۲۷٪) میزان اسانس را داشتند. بین تیمار نیتروکسین+فسفاته بارور-۲ با تیمارهای کود شیمیایی و کود زیستی فسفاته بارور-۲ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.

### عملکرد اسانس

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان می‌دهد که عملکرد اسانس گیاه ریحان تحت تأثیر تیمارهای مختلف کودی قرار گرفت. به‌طوری که بیشترین عملکرد اسانس به تیمار کود شیمیایی (۰/۵۸٪) گرم در گلدان) و کمترین عملکرد اسانس به تیمار شاهد (۰/۹۳٪ گرم در گلدان) تعلق داشت (شکل ۲). نتایج حکایت از آن دارد که کاربرد کودهای شیمیایی و

بنابراین بدنبال استفاده از کود شیمیایی و زیستی (باکتریهای ثبیت‌کننده ازت) میزان کلروفیل افزایش پیدا کرد (شکل ۱). با توجه به این که نیتروژن بخشی از کلروفیل را تشکیل می‌دهد (یک اتم نیتروژن و چهار اتم کربن در حلقه‌های درون کلروفیل جای گرفته‌اند) (اوجاقلو، ۱۳۸۶)، و همچنین با توجه به شرکت آن در ساختمان اسیدهای آمینه، افزایش جذب این عنصر بدنبال استفاده از کود شیمیایی حاوی نیتروژن و یا باکتریهای ثبیت‌کننده ازت (نیتروکسین)، در افزایش میزان این صفت نقش مهمی داشته‌است. تبدیل آمونیاک در چرخه فعالیت گلوتامین سنتاز و گلوتامات سنتاز خیلی سریع می‌تواند میزان کلروفیل را بالا ببرد (Rawia & Dey, 1997) و همکاران (Celosia argentea) (۲۰۰۶) در آزمایشی روی گیاه (*Celosia argentea*) نشان دادند که افزایش سطح برگ و میزان کلروفیل در گیاهان تلقیح شده با باکتریهای ثبیت‌کننده نیتروژن، ناشی از افزایش جذب ازت است.

به طوری که قبلاً نیز اشاره شد استفاده از کودهای شیمیایی و زیستی (باکتریهای ثبیت‌کننده ازت) باعث افزایش تعداد برگ و میزان کلروفیل آنها گردید (جدول ۳ و شکل ۱). برگ به عنوان اصلی ترین اندام گیاهی جهت انجام عمل فتوستتر و تولید آسمیلات در گیاه، از نقش مهمی برخوردار است. با افزایش تعداد برگ و سطح آن، گیاه می‌تواند از نور به حد کافی در ساخت و ساز مواد غذایی بهره گرفته و میزان فتوستتر افزایش پیدا کند (شکل ۱). بنابراین برتری تیمار کود شیمیایی می‌تواند به دلیل اثر مثبت ازت روی رشد رویشی باشد. به نحوی که برتری کاربرد نیتروکسین نسبت به سایر تیمارها را می‌توان به اثرهای مثبت باکتریهای موجود در

نسبت به عدم مصرف کود، برتری قابل ملاحظه‌ای را موجب شد.

تأثیر ازت به عنوان محرك رشد رویشی در افزایش تعداد و سطح برگ، توسط Gelder و VanGelder (۱۹۹۸) و همچنین Niakan و همکاران (۲۰۰۴) روی گیاه نعناع فلفلی گزارش شده‌است. کودهای بیولوژیک به‌ویژه نیتروکسین با کمک به افزایش جذب نیتروژن و با توجه به نقش این عنصر در فرایند فتوستتر و تولید و گسترش سطح سبز برگی، نقش مهمی در افزایش تعداد برگ نشان داده‌اند (جدول ۳) که با نتایج امیدی و همکاران (۱۳۸۸) کاملاً مطابقت دارد.

اثر هورمونی القاشه در گیاه توسط ثبیت‌کننده‌های نیتروژن (از توباکتر و آزوسپریلیوم)، ممکن است یا به طور مستقیم تغییراتی در مورفولوژی ساقه گیاهان تلقیح شده (قطور شدن ساقه، افزایش شاخ و برگ و تعداد سرشاخه‌های گلدار ایجاد کند) و یا با ازدیاد رشد ریشه و به تبع آن افزایش زمینه دسترسی به آب و املاح، رشد بیشتر بخش هوایی گیاه را ممکن سازد (عموآقایی و مستاجران، ۱۳۸۶). نتایج این تحقیق با نتایج بدست آمده توسط Ribaudo و همکاران (۲۰۰۶) در گوجه‌فرنگی و Azzaz و همکاران (۲۰۰۹) در گیاه دارویی رازیانه مطابقت دارد. راشی‌پور و علی‌اصغر زاده (۱۳۸۶) در تحقیقی روی اثر متقابل باکتریهای حل‌کننده فسفات و برادری ریزوبیوم ژاپونیکوم (*Bradyrhizobium japonicum*) در سویا اظهار کردند که باکتریهای حل‌کننده فسفات باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی و همچنین وزن تر و خشک گره‌های ریشه می‌شود.

(*et al.*, 2001). نیتروژن نیز از طریق افزایش تعداد برگ و سطح برگ و فراهم نمودن زمینه مناسب جهت دریافت انرژی نورانی خورشید و نیز شرکت در ساختار کلروفیل و آنزیم‌های درگیر در متابولیسم کربن فتوستزی، موجب افزایش بازده فتوستزی شده و نقش کلیدی در افزایش میزان اسانس دارد (*Niakan et al.*, 2004).

به طور کلی باکتریهای محرک رشد گیاه از طریق تثبیت ازت مولکولی موجود در اتمسفر، حلالیت فسفر نامحلول، افزایش دسترسی به عناصر غذایی در ناحیه ریزوفسفر، توسعه سیستم ریشه‌ای و افزایش سطح جذب یون‌ها و ترشح هورمون‌های رشدی در مراحل مختلف رشدی باعث تحریک رشد گیاه می‌شوند و با تولید بیشتر مواد فتوستزی در افزایش تولید نقش مهمی دارند (*Glick*, 1995).

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد اگرچه در اغلب صفات، کود شیمیایی NP بر کودهای زیستی برتری داشت ولی اختلاف چندانی با هم نداشتند. به علاوه اینکه دو تیمار کود شیمیایی و مخلوط کودهای زیستی نیتروکسین + فسفاته بارور-۲ در اغلب موارد اختلاف معنی‌داری با همدیگر نداشتند. بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق و تحقیقات اندکی که در این زمینه روی گیاهان دارویی به‌ویژه ریحان صورت گرفته، به نظر می‌رسد کودهای بیولوژیک می‌توانند جایگزین مناسبی برای بخشی از مصرف کودهای شیمیایی در تولید گیاهان دارویی باشند که بهبود تغذیه گیاه و کاهش آسیب‌های زیست محیطی و اقتصادی را بدنبال خواهد داشت.

آن (ازتوباکتر و آزوسپریلیوم) نسبت داد که علاوه بر تأمین کافی ازت، از طریق سنتز و ترشح مواد محرک رشد، موجبات رشد و توسعه گیاه را فراهم می‌آورند (*Tilak et al.*, 2005).

با توجه به تأثیری که کودهای شیمیایی و زیستی در افزایش جذب عناصر غذایی و سطح برگ و به تبع آن افزایش فتوستزی دارند، می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش میزان فتوستزی گیاه، میزان تعرق برگ‌ها نیز افزایش پیدا می‌کند (شکل ۱). *EL-Gahadban* و *Abdelaziz* همکاران (۲۰۰۲) در گیاه مرزنجوش و *Kader* و همکاران (۲۰۰۷) در گیاه دارویی رزماری، در بررسی اثر تلقیح با تثبیت کننده‌های نیتروژن، افزایش غلظت برخی از عناصر ماکرو در گیاه را ناشی از افزایش سطح جذبی ریشه به‌ازای هر واحد از حجم خاک، افزایش جذب آب، فعالیت فتوستزی و تعرق بیان کردند، که مستقیماً روی فرایندهای فیزیولوژیکی و مصرف کربوهیدرات‌ها مؤثر است. *Kader* و همکاران (۲۰۰۲) اظهار داشتند که افزایش درصد نیتروژن در گندم بدنبال استفاده از ازتوباکتر، به علت تثبیت ازت و در نتیجه توسعه سیستم ریشه‌ای، افزایش جذب  $\text{NO}_3^-$  و  $\text{NH}_4^+$  و افزایش فعالیت نیترات ردوکتاز بوده است.

در رابطه با افزایش میزان اسانس (شکل ۲) می‌توان اظهار داشت که افزایش جذب عناصر نیتروژن و فسفر بدنبال کاربرد کودهای بیولوژیک و شیمیایی نسبت به شاهد، در بهبود میزان اسانس مؤثر بوده است. این عناصر به‌ویژه فسفر نقش مهمی در ساختار واحدهای سازنده اسانس‌ها یعنی ایزوپتنیل پیروفسفات (IPP) و دی‌متیل آلیل پیروفسفات (DMAPP) دارند (*Sangwan*

جدول ۱ - خصوصیات فیزیکو شیمیایی خاک محل آزمایش

الکتریکی (EC×1)	اسیدیته کل اشبع (PH)	کربن آلی (O.C)	ازت کل (%/N)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	شن (%)	لای (%)	رس (%)	بافت خاک (Soil text)
۰/۶	۷/۹	۰/۹	۰/۰۹	۶	۲۷۵	۲۹	۳۰	۴۱	لومی رسی

خشک کل اندام هوایی، وزن خشک ریشه، وزن خشک ساقه، طول ریشه، ارتفاع بوته، تعداد برگ، تعداد سرشاخه گلدار، CO<sub>2</sub> زیر روزنها، میزان کلروفیل، اسانس و عملکرد اسانس گیاه ریحان تحت تأثیر تیمارهای مختلف کودی

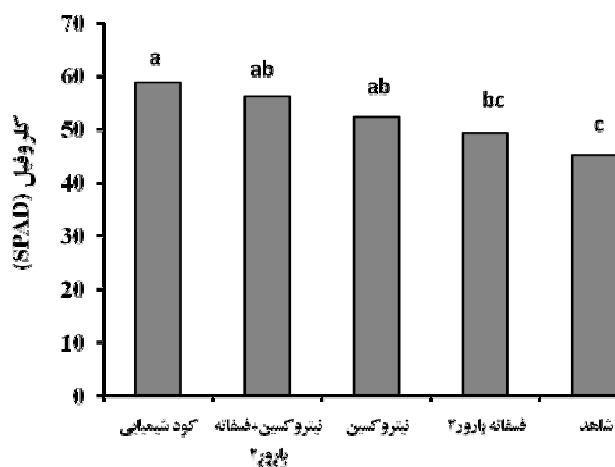
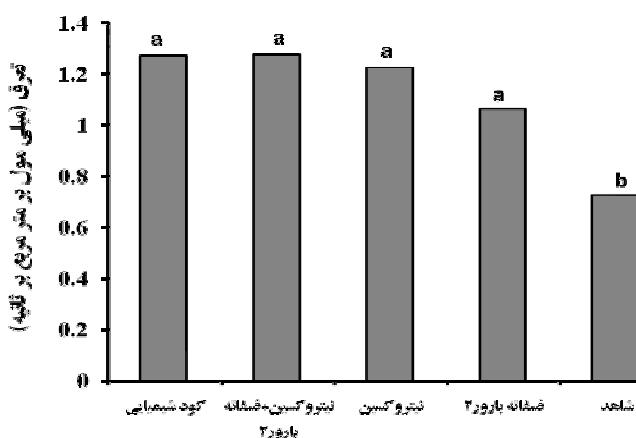
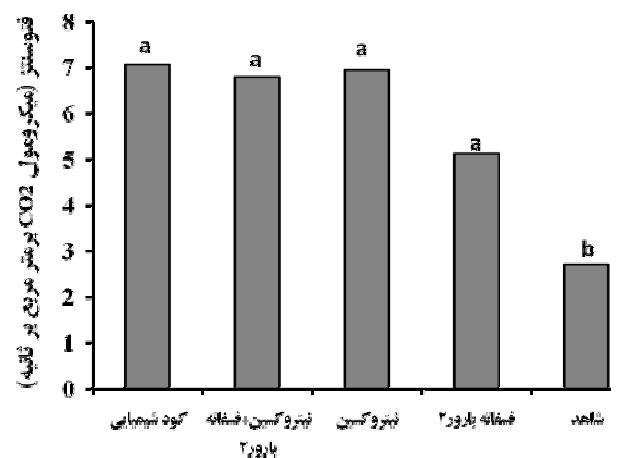
میانگین مربعات											
عملکرد اسانس	میزان اسانس	کلروفیل	CO <sub>2</sub> زیر روزنها	تعرق	فتوستز	تعداد سرشاخه گلدار	تعداد برگ	ارتفاع بوته	وزن خشک برگ	طول ریشه	وزن خشک ساقه
۵۱/۱۵	۰/۱۳۶ **	۱۱۷/۹۷ *	۳۶/۳۴ ns	۰/۰۱۵ **	۱۱/۹۴	**	۶/۳۰ **	۱۸۶۳/۱ **	۲۰۹/۸۹	۱۱۵/۸ **	۶۳/۶۳ ns
۳/۱۳	۰/۰۰۶	۲۶/۷۲	۴۶/۷۵	۰/۰۸۹	۱/۶۲	۱/۲۰	۳۵۲/۱	۲۴/۶۹	۱۱/۸۹	۳۴/۳۲	۵۷/۵
۲۲/۸۷	۱۰/۷۰	۹/۹۱	۱/۸۸	۲۵/۶۳	۲۳/۱۷	۱۲/۴۴	۲۳/۱۶	۱۳/۵۹	۱۶/۹۴	۱۶/۰۷	٪۱ و

تأثیر کودهای بیولوژیک بر صفات مورفولوژیک...

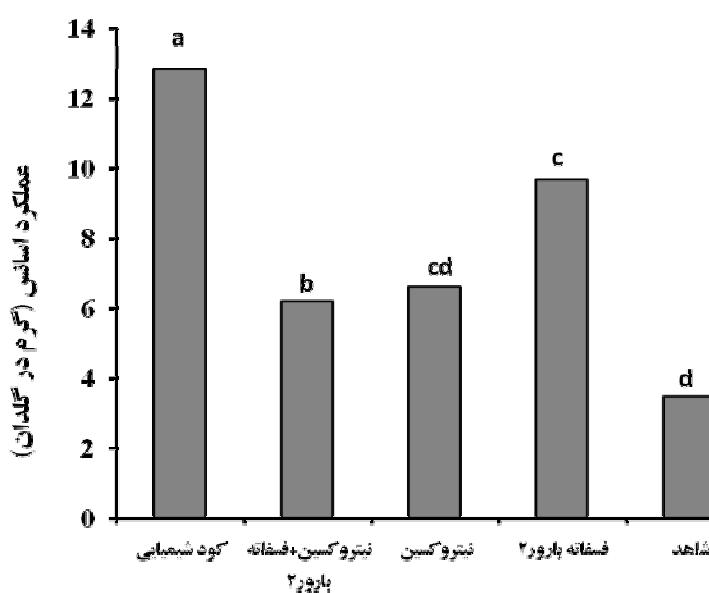
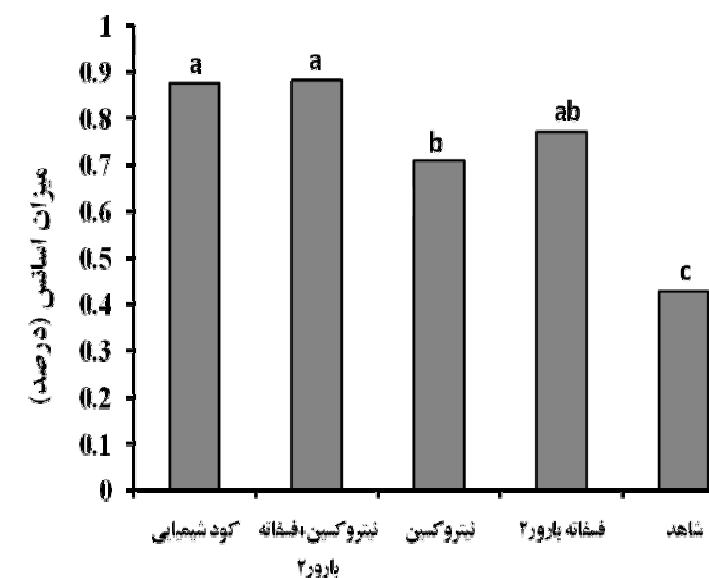
### ۳- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی تحت تأثیر کاربرد کودهای شیمیایی و بیولوژیک در گیاه ریحان

سرشاخه گلدار (در هر بوته)	تعداد برگ (در هر بوته)	وزن خشک اندام هوایی (گرم در گلدان)	ارتفاع بوته (سانتی متر)	وزن خشک ریشه (گرم در گلدان)	وزن خشک برگ (گرم در گلدان)
۹ ab	۸۳/۲۵ abc	۶۵/۱۰ a	۴۱/۸۵ a	۱۳/۱۵ a	۲۹/۰۸ a
۱۰/۵ a	۱۱۱ a	۵۷/۷۹ a	۴۳/۲ a	۹/۵۱ b	۲۲/۰۵ b
۹ ab	۹۰ ab	۳۴/۱۵ b	۳۶/۶۷ ab	۸/۰۳ b	۱۷/۲۷ bc
۸/۵ bc	۶۴ bc	۳۰/۳۰ b	۲۲/۳۰ bc	۸/۳۹ b	۱۷/۰۸ bc
۷ c	۵۶/۷۵ c	۳۰/۵۳ b	۲۶/۳۲ c	۷/۱۴ b	۱۶/۲۸ c

فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح ۵٪ می باشند.



شکل ۱- میانگین میزان فتوستتر، تعرق و کلروفیل برگ‌های گیاه ریحان تحت تأثیر تیمارهای مختلف کودی شامل کود شیمیایی (NP)، کودهای زیستی نیتروکسین، فسفاته بارور ۲، نیتروکسین + فسفاته بارور ۲ و عدم استفاده از کود (شاهد)



شکل ۲- میانگین میزان و عملکرد اسانس گیاه ریحان تحت تأثیر تیمارهای مختلف کودی شامل کود شیمیایی (NP)، کودهای زیستی نیتروکسین، فسفاته بارور ۲، نیتروکسین + فسفاته بارور ۲ و عدم استفاده از کود (شاهد)

- عموقایی، ر. و مستاجران، ا.، ۱۳۸۶. همزیستی (سیستم‌های همیاری گیاه و باکتری) (جلد سوم). انتشارات دانشگاه اصفهان، اصفهان، ۲۳۷ صفحه.
- فلاحتی، ج.، کوچکی، ع.ر. و رضوانی مقدم، پ.، ۱۳۸۸. بررسی تأثیر کودهای بیولوژیک بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla*). پژوهش‌های زراعی ایران، ۷(۱): ۱۲۷-۱۳۵.
- کوچکی، ع.ر.، تبریزی، ل. و قربانی، ر.، ۱۳۸۷. ارزیابی اثر کودهای بیولوژیکی بر ویژگی‌های رشد، عملکرد و خصوصیات کیفی گیاه دارویی زوفا. پژوهش‌های زراعی ایران، ۶(۱): ۱۳۷-۱۲۷.
- Abdelaziz, M.E., Pokluda, R. and Abdelwahab, M.M., 2007. Influence of compost, microorganisms and NPK fertilizer upon growth, chemical composition and essential oil production of *Rosmarinus officinalis* L. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici cluy, 35: 86-90.
- Azzaz, N.A., Hassan, E.A. and Hamad, E.H., 2009. 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, 3(2): 579-587.
- Badran, F.S. and Safwat, M.S., 2004. Response of fennel plants to organic manure and biofertilizers in replacement of chemical fertilization. Egypt Journal Agriculture Research, 82(2): 247-256.
- Clarke, J.M. and McCaig, T.N., 1982. Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat. Crop Science, 22(3): 503-505.
- Darzi, M.T., Ghalavand, A., Rejali, F. and Sefidkon, F., 2006. Effects of biofertilizers application on yield and yield components in Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 22(4): 276-292.
- EL-Gahadban, E.A., Ghallab, A.M. and Abdelwahab, A.F., 2002. Effect of organic fertilizer (Biogreen) and biofertilization on growth, yield and chemical composition of Marjoram plants growth under newly reclaimed soil conditions. 2<sup>nd</sup> Congress of Recent Technologies in Agriculture. Cairo University, 28-30 October, 345-359.
- Fatma, E.M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H.I., Abd El-Fattah, L. and Seham Salem, H., 2006. Efficiency of biofertilizers, organic and inorganic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous. Zagazig University and

## منابع مورد استفاده

- امیدی‌یگی، ر.، ۱۳۷۹. تولید و فرآوری گیاهان دارویی (جلد سوم). انتشارات آستان قدس رضوی، مشهد، ۳۹۷ صفحه.
- امیدی، ح.، نقدی بادی، ح.ع.، گلزاد، ع.، ترابی، ح. و فتوکیان، م.ح.، ۱۳۸۸. تأثیر کود شیمیایی و زیستی نیتروژن بر عملکرد کمی و کیفی زعفران (*Crocus sativus* L.). گیاهان دارویی، ۹(۳۰): ۹۸-۱۰۹.
- اوچاقلو، ف.، ۱۳۸۶. تأثیر تلقیح با کودهای زیستی (از توباكتر و فسفاته بارور) بر رشد، عملکرد و اجزای عملکرد گلنگ. پایان‌نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز.
- بقالیان، ک. و نقدی بادی، ح.ع.، ۱۳۷۹. گیاهان انسان‌دار (ترجمه). انتشارات نشر اندرز، تهران، ۲۳۶ صفحه.
- حسن‌زاده، ا.، مظاہری، د.، چایی‌چی، م.ر. و خوازی، ک.، ۱۳۸۶. کارایی مصرف باکتریهای تسهیل‌کننده جذب فسفر و کود شیمیایی فسفر بر عملکرد و اجزا عملکرد جو. پژوهش سازندگی، ۷۷: ۱۱۱-۱۱۸.
- حمیدی، ا.، هادی، ح. و بابائی، ن.، ۱۳۸۵. کاربرد کودهای زیستی در راستای نیل به کشاورزی پایدار. کشاورزی و توسعه پایدار، ۲۸: ۲۰-۲۱.
- دادوند سراب، م.ر.، نقدی بادی، ح.ع.، نصری، م.، مکی‌زاده، م. و امیدی ح.، ۱۳۸۷. تغییرات میزان انسان‌سازی و عملکرد گیاه دارویی ریحان تحت تأثیر تراکم و کود نیتروژن. گیاهان دارویی، ۲۷: ۶۱-۷۰.
- راثی‌پور، ل. و علی‌اصغر زاده، ن.، ۱۳۸۶. اثرات متقابل باکتریهای حل‌کننده فسفات و *(Bradyrhizobium japonicum)* بر شاخص‌های رشد، غده‌بندی و جذب برخی عناصر غذایی در سویا. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۴۰: ۶۳-۵۳.
- صالح راستین، ن.، ۱۳۸۰. کودهای بیولوژیک و نقش آنها در راستای نیل به کشاورزی پایدار: ۱-۵۴. در: خوازی، ک.، اسدی رحمانی، ه. و ملکوتی، م.ج. (تلوین و تألیف). مجموعه مقالات ضرورت تولید صنعتی کودهای بیولوژیک در کشور. نشر آموزش کشاورزی، تهران، ۶۱۰ صفحه.

- Niakan, M., Khavarynejad, R.A. and Rezaee, M.B., 2004. Effect of different rates of N/P/K fertilizer on leaf fresh weight, dry weight, leaf area and oil content in *Mentha piperita* L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 20(2): 131-148.
- Rawia, A., Eid, S., Abo-sedera, A. and Attia, M., 2006. Influence of nitrogen fixing bacteria incorporation with organic and/or inorganic nitrogen fertilizers on growth, flower yield and chemical composition of *Celosia argentea*. World Journal of Agricultural Sciences, 2(4): 450-458.
- Ribaldo, C.M., Krumholz, E.M., Cassan F.D., Bottini, R., Cantore, M.L. and Cura, J.A., 2006. Azospirillum sp. promotes root hair development in tomato plants through a mechanism that involves ethylene. Journal of Plant Growth Regulation, 24: 175-185.
- Sangwan, N.S., Farooqi, A.H.A., Shabih, F. and Sangwan, R.S., 2001. Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regulation, 34: 3-21.
- Shah, P., Kakar, K.M. and Zada, K., 2001. Phosphorus use efficiency of soybean as affected by phosphorus application and inoculation. Plant Nutrition, 92(9): 670-671.
- Swaefy Hend, M.F., Weaam, R.A., Sabh, A.Z. and Ragab, A.A., 2007. Effect of some chemical and biofertilizers on peppermint plants grown in sandy soil. Agricultural Science, 52(2): 451-463.
- Tilak, K.V.B.R., Ranganayaki, N., Pal, K.K., De, R., Saxena, A.K., Shekhar Nautiyal, C., Mittal, S., Tripathi, A.K. and Johri, B.N., 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. Current Science, 89: 136-150.
- Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C. and Wong, M.H., 2004. Effect of biofertilizer containing N-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth. Geoderma, 125: 155-166.
- Yang, J., Zhang, J., Wang, Z., Zhu, Q. and Wang, W., 2001. Remobilization of carbon reserves in response to water deficit during filling of rice. Field Crop Research, 71: 47-55.
- Zaidi, A., Khan, M.S. and Amil, M.D., 2003. Interactive effect of rhizotrophic microorganisms on yield and nutrient uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). European Journal of Agronomy, 19: 15-21.
- Soil Fertility and Microbiology Department, Desert Research Center, Cairo, Egypt.
- Fisher, R.A., Rees, D., Sayre, K.D., Lu, Z.M., Candon, A.G. and Saavedra, A.L., 1998. Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. Crop Science, 1467-1475.
- Gelder, H.V. and VanGelder, H.H.M., 1988. Influence of nitrogen fertilizer application level on oil production and quality in *Mentha piperita* L. Applied Plant Science, 2: 68-71.
- Glick, B.R., 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Canadian Journal of Microbiology, 41(2): 109-117.
- Gruters, U., Fangmeire, A. and Jager, H.J., 1995. Modeling stomatal responses of wheat (*Triticum aestivum* L. CV. Turbo) to ozone and different levels of water supply. Environmental Pollution, 87(2): 141-149.
- Harbone, J.B. and Dey, P.M., 1997. Plant Biochemistry. Academic Press, New York, 554p.
- Hazarika, D.K., Taluk Dar, N.C., Phookan, A.K., Saikia, U.N., Das, B.C. and Deka, P.C., 2000. Influence of Vesicular arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate solubilizing bacteria on nursery establishment and growth of tea seedlings in Assam. Symposium no. 12, Assam Agriculture University, Jorhat Assam, India.
- Kader, M.A., Mian, M.H. and Hoque, M.S., 2002. Effects of Azotobacter inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. Journal of Biological Sciences, 2(4): 259-261.
- Karthikeyan, B., Abdul Jaleel, C., Lakshmanan, G.M.A. and Deiveekasundaram, M., 2008. Studies on rhizosphere microbial diversity of some commercially important medicinal plants. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 62: 143-145.
- Klimankova, E., Holadova, K., Hajsova, J., Cajka, T., Poustka, J. and Koudela, M., 2008. Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions. Food Chemistry, 107: 464-472.
- Lima, R.J.C., Moreno, A.J.D., Diniz, E.M., Oléa, R.S.G., Sasaki, J.M., Mendes Filho, J., Freire, P.T.C., Pontes, F.M., Leite E.R. and Longo, E., 2004. Characterization of a crystal grown from *Ocimum Basilicum* leaves and branches. Crystal Research and Technology, 39(10): 864-867.

## Effect of biofertilizers on morphological, physiological characteristic and essential oil content in basil (*Ocimum basilicum* L.)

W. Weisany<sup>1</sup>, S. Rahimzadeh<sup>1</sup> and Y. Sohrabi<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>-MSc. Student, Department of Agronomy, University of Kurdistan, Kurdistan, Iran

<sup>2</sup>\*- Corresponding Author, Assistant Professor, Department of Agronomy, University of Kurdistan, Kurdistan, Iran

E-mail: y.sohrabi@uok.ac.ir

Received: July 2010

Revised: February 2011

Accepted: February 2011

### Abstract

Fertilizer management is utmost important factor in success of pharmaceutical crops cultivation. Application of biological fertilizers is important in production of these plants with the aim of elimination or significant reduction of chemical inputs and also increase of soil fertility and improvement of plant growth and quality. Therefore, an experiment was conducted on basil (*Ocimum basilicum* L.) in greenhouse of Agriculture Faculty of Agriculture of Kurdistan University. A complete randomized design with five treatments and four replications were used. Treatments were nitroxin, biological phosphorus, nitroxin+biological phosphorus, chemical origin of nitrogen+phosphorus and control (no fertilizer). The results indicated significant effect of treatments on the dry weight of total shoots, plant height, number of leaves, leaf dry weight, photosynthesis, transpiration, essential oil content and yield, root dry weight, number of flowering branches and chlorophyll content. But, this effect was not significant on root length, stem dry weigh and sub-stomata CO<sub>2</sub>. The plant performed better with application of chemical fertilizer and a mixture of nitroxin and biological phosphorus in terms of the mentioned criteria. Therefore, it could be concluded that biological fertilizers may be considered as a suitable replacement for a lot of chemical fertilizers consumption in sustainable agricultural systems.

**Key words:** Essential oil, *Ocimum basilicum* L., biofertilizer, morphologic, physiologic.