

تأثیر مصرف برخی کودهای شیمیایی و بیولوژیک بر خصوصیات کمی و کیفی زعفران زراعی

زهرا حیدری^۱، حسین بشارتی^۲ و سعیده ملکی فراهانی^{۳*}

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۵

چکیده

این مطالعه باهدف بررسی خصوصیات کیفی و کمی زعفران (*Crocus sativus* L.) تحت تأثیر مصرف کود شیمیایی نیتروژن و نیز تلقیح با باکتری‌های محرک رشد به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ در مزرعه تحقیقاتی زعفران دانشگاه شاهد انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل کود شیمیایی نیتروژن در سه سطح صفر، ۲۵ و ۵۰ کیلوگرم در هکتار و دو سطح کاربرد و عدم کاربرد کود زیستی شامل سودوموناس پوتیدا و باسیلوس لنتوس بودند. صفات مورد بررسی شامل وزن اندام هوایی، وزن تازه گل، تعداد گل در واحد سطح و وزن تر و خشک کلاله، میزان پروتئین، فسفر، آهن و روی، سطح و محتوی کلروفیل برگ، سافرانال، پیکروکروسین و کروسین کلاله بودند. نتایج نشان داد که تلفیق ۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی نیتروژن به همراه کود زیستی باعث افزایش حدود ۲۱۷ درصدی عملکرد خشک کلاله نسبت به شاهد شد. با مصرف ۲۵ کیلوگرم کود شیمیایی نیتروژن سافرانال و کروسین کلاله به ترتیب ۵/۱۳ و ۱۰/۹ درصد کاهش یافت. کاربرد تلفیقی ۲۵ کیلوگرم کود شیمیایی نیتروژن و کود زیستی بر مقدار پیکروکروسین به میزان ۱۱/۹۰ درصد نسبت به تیمار شاهد افزود. مصرف همزمان ۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی نیتروژن و کود زیستی کارآمدترین تیمار در افزایش عملکرد کلاله و خصوصیات کیفی برگ زعفران بود. در این تیمار میزان فسفر، روی و مس برگ زعفران به ترتیب ۸۳/۰۵، ۶۹/۳۶ و ۸۶/۶ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. به طور کلی تلقیح بنه‌های زعفران با باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس با اثر بر جذب عناصر غذایی باعث بهبود اکثر صفات کمی و کیفی زعفران شد.

کلمات کلیدی: باکتری‌های محرک رشد، تلقیح، سافرانال، کود تلفیقی، کروسین، کلاله.

مقدمه

مناسب، آن را به عنوان انتخاب نخست کشاورزان استان خراسان مطرح کرده است (Daneshvar Kakhki & Farahmand, 2012). زعفران مصارف مختلفی در صنایع غذایی و درمانی دارد که از آن جمله در طب سنتی به عنوان آرام‌بخش، ضدنفخ، مقوی معده و ایجاد قاعدگی زودرس استفاده می‌شود (Kumaret al., 2001). با وجود این که ایران در بین کشورهای تولیدکننده زعفران مقام نخست را از نظر سطح زیرکشت و میزان تولید سالانه دارد، ولی میانگین عملکرد آن در مقایسه با متوسط عملکرد جهانی این محصول اندک می‌باشد (Kumar et al., 2009). به نظر می‌رسد که تفاوت معنی‌دار عملکرد تولیدی در ایران و سایر کشورهای عمده تولیدکننده، به دلیل نامناسب بودن راه‌های تغذیه این گیاه و نیز تفاوت در

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. متعلق به خانواده زنبقیان، گیاهی علفی، چندساله، بدون ساقه هوایی و کورم‌دار است. ویژگی‌های خاص این محصول از جمله امکان بهره‌برداری چندساله در یک نوبت کاشت، نیاز به آب کم، آبیاری آن در زمان‌های غیر بحرانی نیاز آبی سایر گیاهان و نیز بازار فروش داخلی و خارجی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر.

۲- دانشیار موسسه تحقیقات خاک و آب.

۳- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد.

(Email: maleki@shahed.ac.ir)

* نویسنده مسئول:

و زایشی زعفران معنی‌دار ارزیابی شده‌اند. همچنین نتیجه کاربرد ازتوباکتر در زعفران نشان داده است که مصرف منفرد این کود زیستی اثری بر رشد زعفران نداشته؛ ولی کاربرد تلفیقی آن با ۹۰ کیلوگرم کود شیمیایی نیتروژن باعث افزایش عملکرد زعفران شده است (Kirmani et al., 2014).

در مجموع در بررسی‌های محدودی که بر روی تأثیر کاربرد ریز- موجودات مختلف بر رشد و عملکرد زعفران انجام شده است مشخص گردیده که کاربرد این کودها در بسیاری از موارد باعث افزایش عملکرد زعفران شده است که این افزایش عملکرد با افزایش تعداد گل، ارتفاع بوته و تعداد برگ همبستگی داشته است (Aytekin & Ackikgoz, 2008). از سوی دیگر کاربرد منفرد یا تلفیقی این قبیل کودها به همراه کودهای شیمیایی می‌تواند از میزان مصرف کودهای شیمیایی بکاهد و بدین ترتیب ضمن کمک به کاهش اثرات منفی مصرف کودهای شیمیایی، بر خصوصیات کیفی زعفران تولیدشده نیز تأثیر مثبتی برجا گذارد. از آنجاکه کاربرد تلفیقی باکتری- های محرک رشد به همراه کودهای شیمیایی نیتروژن‌دار در کشت زعفران مورد مطالعه قرار نگرفته است و باتوجه به اهمیت گیاه دارویی زعفران و مصارف گسترده آن در صنایع مختلف، این تحقیق در راستای اهداف کشاورزی پایدار با هدف حصول عملکرد کمی و کیفی قابل قبول همگام با کاهش مصرف کود شیمیایی انجام شد و طی آن، تأثیر کودهای زیستی حاوی باکتری سودوموناس و باسیلوسوس مقادیر مختلف کود شیمیایی نیتروژن بر عملکرد کمی و کیفی زعفران ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

این پژوهش باهدف ارزیابی اثر کاربرد کود زیستی محرک رشد (باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس) به‌صورت جداگانه یا تلفیق با کود شیمیایی نیتروژن بر میزان عملکرد کمی و کیفی گیاه زعفران در مزرعه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۸ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۱۰۶۲ متر از سطح دریا، طی سال زراعی ۹۲-۱۳۹۱ به اجرا درآمد. در سال زراعی مذکور میانگین دمای ماهیانه در محل اجرای آزمایش ۱۵/۳ درجه سانتی‌گراد، بارش ماهیانه ۱۴/۲ میلی‌متر، رطوبت نسبی ۳۹/۴ درصد و مجموع تبخیر سالیانه ۱۱۱۵/۸ میلی‌متر بود.

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مناطق رشد باشد. بر این اساس ضروری به‌نظر می‌رسد که با به‌کارگیری فناوری‌های نوین تغذیه گیاه، شرایط را برای بهبود عملکرد زعفران فراهم نمود.

از منابع نوین و ارزان کودی که در تغذیه گیاهان استفاده می‌شود، می‌توان به کودهای زیستی اشاره کرد. کودهای زیستی حاوی ریز موجودات مفید خاکزی از قبیل باکتری‌ها، قارچ‌ها و اکتینومیسیت‌ها یا متابولیت‌های حاصل از آن‌ها می‌باشند که به طرق مختلف رشد گیاه میزبان را تحریک می‌کنند (Zhang et al., 2013). باکتری‌های محرک رشد از دسته کودهای زیستی هستند که در اطراف ریشه مستقر شده و بدون تشکیل اندام همزیستی خاص، گیاه را در جذب عناصر یاری می‌نمایند (Hatmann & Bashan, 2009). باوجود این- که مقدار موفقیت این کودها ابهام‌برانگیز است، ولی با توجه به این امر که اکوسیستم خاک به‌عنوان یک مجموعه تحت تأثیر میکروارگانیسم‌ها تعریف می‌شود، پژوهشگران استفاده از آن‌ها را به دلیل عدم وجود آثار مخرب زیست‌محیطی قابل توجه می‌پندارند (Douds & Millner, 1999; Berg et al., 2002).

در دهه اخیر، مطالعات فراوانی بر روی تأثیر کودهای زیستی در رشد و تولید گیاهان متمرکز شده‌اند که در این بین مطالعات اندکی به زعفران اختصاص دارد. برخی مطالعات تأثیر نیتروکسین (ازتوباکتر و آزوسپریلیوم) را بر زعفران فاقد ارزش معنی‌دار بیان کرده و بازده مخلوط کودهای شیمیایی حاوی عناصر پر و کم مصرف را مؤثرترین تیمار کودی بر رشد بنبه و عملکرد گل و کلاله دانسته‌اند (Koocheki & Jahan, 2009). درحالی‌که امیدی و همکاران (Omidi et al., 2010) تأثیر نیتروکسین را بر رشد بنبه و کیفیت کلاله بسیار بیشتر و در مورد سایر صفات رویشی و زایشی مساوی با کود شیمیایی برآورد کردند. در این مطالعه کاربرد ۵ کیلوگرم در هکتار نیتروکسین توانست درصد سافرانال و پیکروکروسین را ارتقا بخشد و اعمال تیمار ترکیبی ۲/۵ کیلوگرم در هکتار نیتروکسین و ۷۵ کیلوگرم در هکتار اوره درصد کروسین را بالا برد. به‌طور مشابه در مطالعه دیگری شرف‌الدین و همکاران (Sharaf-Eldin et al., 2008)، تأثیر مثبت تیمار باکتری باسیلوسوس-سوبتیلیس را بر کلیه صفات رویشی و زایشی زعفران گزارش نمودند، به‌گونه‌ای که این کود عملکرد کلاله خشک را ۱۲ درصد افزایش داد. افزون بر این، اثر تریکودرما و آزوسپریلیوم (Parshad, 2009)، تریکودرما (Nehvi et al., 2009) و سودوموناس (Fiori et al., 2007) بر کمیت و کیفیت صفات رویشی

به منظور حصول اطمینان از اثر تیمارها و نیز به دلیل اندک بودن عملکرد زعفران در سال‌های اولیه، تیمارهای آزمایشی به مدت سه سال پیاپی اعمال شدند و داده‌های سال سوم (۹۲-۱۳۹۱) به عنوان نتایج آزمایش، جمع‌آوری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و تعیین مقدار کود لازم برای هر تیمار، در سال اول پیش از کاشت (سال ۹۰-۱۳۸۹)، از پنج نقطه به طور تصادفی تا عمق ۳۰ سانتی متری نمونه برداری خاک به عمل آمد و به آزمایشگاه مؤسسه تحقیقات خاک و آب واقع در کرج، ارسال شد که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است.

آزمایش مزرعه‌ای کشت زعفران به صورت فاکتوریل دو عاملی در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار به اجرا درآمد. عامل اول شامل کود زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد (*Bacillus lentus* و *Pseudomonas potida*) در دو سطح بدون تلقیح و با تلقیح و عامل دوم کاربرد کود شیمیایی نیتروژن در سه سطح (صفر، ۲۵ و ۵۰ کیلوگرم در هکتار) بود. مقادیر صفر، ۲۵ و ۵۰ کیلوگرم نیتروژن بر اساس سه سطح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ درصد مقدار توصیه شده بر اساس آزمون خاک اعمال شدند. برای کاشت، بنه‌های بین ۸-۱۰ گرم انتخاب و پس از آماده‌سازی بستر در کرت‌هایی با مساحت ۱۰ مترمربع (دو متر عرض و پنج متر طول) کشت شدند. بنه‌ها با تراکم ۱۰۰ عدد در مترمربع، بلافاصله بین و روی ردیف به ترتیب ۲۰ و ۵ سانتی متر و عمق ۱۵ سانتی متر با دست کاشته شدند. باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس که از باکتری‌های محرک رشد می‌باشند، به صورت مایع از آزمایشگاه مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شدند و در سال اول قبل از کاشت، عملیات تلقیح بنه‌ها با سوسپانسیون آماده باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس در تراکم 10^8 -CFU L^{-1} آب مقطر انجام شده و پس از خشک شدن در سایه، در ۲۰ مهرماه کاشته شد. در سال‌های بعد نیز این کود زیستی به صورت یکنواخت همراه با آب آبیاری در مهرماه قبل از ظهور گل‌ها به کرت‌های تیمارهای مربوطه با تراکم 10^8 -CFU L^{-1} آب مقطر افزوده شد. همه عملیات زراعی مانند آبیاری، مبارزه با علف‌های هرز و سله‌شکنی در همه تیمارها به صورت یکسان اعمال شد. بر اساس آزمون خاک، ۱۰۰ کیلوگرم کود اوره (۴۶ درصد نیتروژن) تقریباً معادل ۵۰ کیلوگرم نیتروژن، به صورت تقسیطی در دو قسمت به تیمارهای ۱۰۰ درصد نیاز کودی داده شد و نصف این میزان به تیمارهای ۵۰ درصد کودی به خاک افزوده شد. قسمت اول کود همراه آب آبیاری (پس از برداشت گل) و قسمت دوم در اسفندماه به کرت‌های مربوطه افزوده شد (مصرف کود نیتروژنه با مقادیر ذکر شده در طی هر سه سال انجام آزمایش، تکرار شد).

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه (عمق ۰-۳۰ سانتی متر)

Table 1 - Physical and chemical properties of soil (0-30 cm depth)

شاخص واکنش pH	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس متر ^{-۱}) EC (dS. m ^{-۱})	درصد مواد خنی شونده (درصد) T. N. V (%)	کربن (درصد) C (%)	نیتروژن (درصد) N (%)	فسفر (میلی گرم بر کیلوگرم) P (mg. kg ^{-۱})	پتاسیم (میلی گرم بر کیلوگرم) K (mg. kg ^{-۱})	آهن (میلی گرم بر کیلوگرم) Fe (mg. kg ^{-۱})	روی (میلی گرم بر کیلوگرم) Zn (mg. kg ^{-۱})	منگنز (میلی گرم بر کیلوگرم) Mn (mg. kg ^{-۱})	مس (میلی گرم بر کیلوگرم) Cu (mg. kg ^{-۱})
7.5	3.5	19.3	1.05	0.07	25	507	4.52	2.14	9.2	1.3
	25.4									

هوایی زعفران در تیمارهای مختلف، نمونه‌های سبز برگ (در اوایل اردیبهشت ماه) و برگ خشک (اواخر اردیبهشت ماه ۱۳۹۲، قبل از ریزش برگ) از سطح یک مترمربع در هر کرت برداشت و توزین شدند.

گل‌های زعفران در اولین ساعات صبح از نیمه آبان ماه تا نیمه آذرماه سال ۱۳۹۱، با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای (نیم متر فاصله با هر ضلع کرت)، از کل سطح کرت‌ها برداشت و وزن تر آن‌ها تعیین شد. سپس کلاله زعفران از گل‌های برداشت‌شده جدا گردید و پس از خشک کردن در سایه وزن آن تعیین شد. به‌منظور بررسی رشد اندام

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر کودهای شیمیایی و زیستی بر صفات کمی گل و کلاله زعفران

Table 2 – Analysis of variance for quantitative traits of saffron flower and stigma as affected by chemical and bio-fertilizers

میانگین مربعات
Mean of square

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	تعداد گل Number of flower	عملکرد گل تر Fresh flower yield	عملکرد کلاله خشک Dry stigma yield	عملکرد کلاله تر Fresh stigma yield
تکرار Replicate	2	97020972 ^{ns}	1.715 ^{ns}	0.002 ^{ns}	0.198 ^{ns}
کود شیمیایی Chemical fertilizer	2	5847895972 ^{**}	92.46 ^{**}	0.122 ^{**}	8.29 ^{**}
کود زیستی Bio-fertilizer	1	5254833472 ^{**}	2447.76 ^{**}	2.151 ^{**}	11.33 ^{ns}
کود شیمیایی × کود زیستی Biofertilizer × Chemical fertilizer	2	9915145972 ^{**}	691.07 ^{**}	0.054 [*]	2.73 ^{**}
خطای آزمایش Error	10	121220972	26.2	0.009	0.166
ضریب تغییرات (%) CV (%)	-	6.02	7.66	9.77	10.66

** و * نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد و ^{ns} به معنی تفاوت غیر معنی‌دار است.

** and * means significant at 0.01 and 0.05 probability level and ^{ns} means non-significant, respectively.

به طوری که نمونه برگ کاملاً بی‌رنگ گردید. این عصاره نیز بر روی عصاره قبلی، صاف شد و سپس به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسید. مقدار جذب توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Model T80+ UV-Vis; PG Instruments Ltd., UK) در طول موج‌های ۶۴۴/۶، ۶۶۳/۶ و ۴۷۰ نانومتر ثبت گردید. سپس محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل با استفاده از روش پرا (Porra, 2002) محاسبه شد (معادلات ۱، ۲ و ۳). در نهایت برای تعیین غلظت رنگ‌دانه‌ها با واحد میکروگرم بر گرم برگ، نتیجه حاصل از روابط در ۲۰ میلی‌لیتر حجم محلول ضرب شد.

$$\text{Chlorophyll a } (\mu\text{g/ml}) = (A_{663/6} - 2/55 (A_{644/6})) \times V \text{ (mL)} \quad (1)$$

$$\text{Chlorophyll b } (\mu\text{g/ml}) = (A_{644/6} - 4/91 (A_{663/6})) \times V \text{ (mL)} \quad (2)$$

$$\text{Totl Chlorophyll } (\mu\text{g/ml}) = 17/76 (A_{644/6}) + 7/34 (A_{663/6}) \times V \text{ (mL)} \quad (3)$$

علاوه بر این مقدار برخی از عناصر غذایی موجود در برگ نیز اندازه‌گیری شد. عناصر اندازه‌گیری شده در برگ، شامل آهن، فسفر، مس، منیزیم و نیتروژن بودند. به‌منظور اندازه‌گیری میزان نیتروژن از روش کج‌لدال (Cottenie et al., 1982)، غلظت فسفر از روش وانادات-مولیبدیت (Page et al., 1982) و غلظت آهن، روی، مس و منیزیم پس از تهیه عصاره از طیف‌سنجی جذب اتمی شعله‌ای^۱ (Model AA-670; Shimadzu Co., Japan) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری میزان رنگ‌دانه‌های موجود در برگ از روش آرنن (Arnon, 1994) استفاده شد. بر اساس روش آرنن، یک گرم از برگ تازه هر نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون ساییده شد. این عصاره از کاغذ واتمن شماره دو عبور داده و بخش باقیمانده روی کاغذ صافی دوباره با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد.

1- Atomic absorption spectrophotometry

نیترژنه در عملکرد زعفران حاکی از آن است که مصرف اوره بیشترین تأثیر را در افزایش محصول گل زعفران داشت.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل کود نیترژن و زیستی بر عملکرد ماده خشک کلاله در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار بود (جدول ۲). بالاترین عملکرد خشک با ۱/۴۹ کیلوگرم و بالاترین عملکرد تر کلاله با ۵/۶۸ کیلوگرم در هکتار در تیمار کاربرد تلفیقی کود زیستی و ۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی نیترژن حاصل شد و کمترین عملکرد تر و خشک کلاله نیز در تیمار شاهد به‌دست آمد. اثر متقابل کودزیستی و شیمیایی بر عملکرد تر کلاله نیز در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین مقدار این شاخص در تیمار مصرف تلفیقی کودزیستی با ۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی نیترژن حاصل شد و کمترین عملکرد در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳). به‌طورکلی نتایج کاربرد کود شیمیایی نیترژن بر عملکرد خشک کلاله نشان داد که با افزایش مقدار کود شیمیایی عملکرد افزایش یافت، اما تلقیح با باکتری‌ها در کنار مصرف کودهای شیمیایی باعث افزایش بیشتر عملکرد شد (جدول ۳).

در صفت عملکرد خشک و تر کلاله مشاهده شد که مصرف منفرد کود زیستی سبب افزایش عملکرد نسبت به شاهد شد. همچنین عملکرد کلاله خشک زعفران در تیمارهای تلفیقی کود زیستی و شیمیایی بیشتر از تیمارهای مصرف منفرد کود شیمیایی بود. این نتایج مطابق با نتایج تحقیق دیگری بود که در آن کار برد تلفیقی کود شیمیایی نیترژن و ازتوباکتر بر عملکرد کلاله بهتر از کاربرد منفرد هریک بود (Kirmani, 2014).

این امر می‌تواند مبین اثر مثبت کودهای زیستی بر جذب و افزایش کارایی کود شیمیایی نیترژن به کار رفته باشد. همچنین این موضوع نشان‌دهنده آن است که افزایش کود شیمیایی نیترژن به تنهایی نمی‌تواند تأمین‌کننده نیازهای غذایی گیاه زعفران باشد، بلکه افزایش ظرفیت جذب نیز مهم می‌باشد. گزارش شده است که ترشح هورمون‌هایی از قبیل جیبرلین (Probanza et al., 2002)، سیتوکینین (Nieto & Frankenberger, 1989)، اکسین (Muscolo et al., 1999) و ایندول-۳-استیک اسید (Loper & Schroth, 1986) توسط باکتری‌های باسیلوس می‌تواند باعث افزایش رشد و تقسیم سلول شود.

جهت اندازه‌گیری ترکیبات کیفی موجود در کلاله، روش استاندارد ملی ایران (INS, 2006) مورد استفاده قرار گرفت. بر اساس این روش، ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه کلاله پودر شده با استفاده از آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد؛ سپس این ترکیب به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی با کمک دور متوسط همزن مغناطیسی حل شد و میزان جذب در طیف های ۲۵۷ (پیکروکروسین)، ۳۳۰ (سافرانال) و ۴۴۰ (کروسین) نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Model T80+ UV.Vis; PG Instruments Ltd., UK) قرائت شدند. عدد به‌دست‌آمده در معادله شماره ۴ قرار گرفته و به ترتیب مقادیر پیکروکروسین، سافرانالوکروسین محاسبه گردید. در این رابطه، X مقدار ترکیب کیفی مشخص با واحد درصد، A میزان جذب خوانده شده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج مربوطه و M وزن خشک کلاله با واحد میلی‌گرم می‌باشد (INS, 2006).

$$X = \frac{A}{M} \times 100 \quad (4)$$

در پایان تجزیه واریانس داده‌های آزمایش با نرم‌افزار-MSTAT C انجام شد و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

خصوصیات کمی گل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کودشیمیایی نیترژن و کود زیستی و نیز اثر متقابل آن‌ها تقریباً بر تمامی صفات کمی از جمله تعداد گل معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین تعداد گل نشان داد که با مصرف توأم ۲۵ کیلوگرم کود شیمیایی نیترژن به-همراه کود زیستی تعداد گل به طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشینه تعداد گل در این تیمار به‌دست آمد که با کمینه آن در تیمار شاهد به‌صورت معنی‌داری تفاوت نشان داد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل کود زیستی و کود شیمیایی بر عملکرد تر گل در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). بیشترین میزان عملکرد گل در تیمارهای کود زیستی و نیز مصرف تلفیقی ۵۰ کیلوگرم کود نیترژن و کود زیستی با ۷۹/۸۸ کیلوگرم بر هکتار به‌دست آمد (جدول ۳).

در تحقیقی در خصوص زعفران کودهای شیمیایی کمترین اثر را بر تعداد گل و بیشترین اثر بر وزن تر گل را دارا بودند (Jahan & Jahani, 2007). نتایج تحقیق اونال و کاوسوگلو (Ünal & Çavuşoğlu, 2005) در طرح بررسی تأثیر کودهای مختلف

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات برهم کنش کود شیمیایی و زیستی بر خصوصیات کمی گل و کلاله زعفران

Table 3 – Mean comparison for interaction effects of chemical and bio-fertilize on flower and stigma characteristics of saffron

تیمار		ویژگی های گل			
Treatment		Flower characteristics			
کود شیمیایی نیتروژن Nitrogen chemical fertilizer (kg.ha ⁻¹)	کود زیستی Bio-fertilizer	تعداد گل در هکتار Number of flower per ha	عملکرد گل تر (کیلوگرم در هکتار) Fresh flower yield (kg.ha ⁻¹)	عملکرد کلاله خشک (کیلوگرم در هکتار) Dry stigma yield (kg.ha ⁻¹)	عملکرد کلاله تر (کیلوگرم در هکتار) Fresh stigma yield (kg.ha ⁻¹)
0	بدون تلقیح No inoculation	123733 e	34.143 c	1.407 d	4.45 d
	با تلقیح Inoculation	170000 c	76.038 a	1.672 c	8.73 b
25	بدون تلقیح No inoculation	227500 b	79.883 a	1.789 c	8.73 b
	با تلقیح Inoculation	175000 c	79.707 a	2.207 b	6.16 c
50	بدون تلقیح No inoculation	146250 d	51.584 b	1.502 c	8.7 b
	با تلقیح Inoculation	255000 a	79.833 a	2.490 a	10.5 a

میانگین های دارای حرف مشترک در هر ستون از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری باهم ندارند.

Within each column, means followed by the same letter do not differ significantly at $P < 0.05$.

مصرف کود شیمیایی نیتروژن از صفر به ۵۰ کیلوگرم و استفاده توأم با کودهای زیستی مقدار عملکرد گل و کلاله زعفران افزایش قابل توجهی نشان داد.

صفات کیفی کلاله

اثر مصرف کود شیمیایی نیتروژن و کود زیستی بر شاخص های کیفی کلاله شامل مؤلفه های رنگ (کروسین)، طعم (پیکروکروسین) و عطر (سافرانال) معنی دار بود (جدول ۴). بیشترین میزان پیکروکروسین در تیمار مصرف ۵۰ کیلوگرم کود نیتروژن و در شرایط عدم تلقیح باکتریایی حاصل شد. بیشترین میزان سافرانال در تیمارهای مصرف کود زیستی و در سطح کمتر کود شیمیایی نیتروژن به دست آمد. بیشترین مقدار کروسین نیز در تیمار شاهد یعنی عدم مصرف کود زیستی و شیمیایی حاصل شد (جدول ۴). همچنین کمترین مقدار ترکیبات مؤثره در تیمار کود شیمیایی کامل به دست آمد (جدول ۴). در تحقیق مشابهی در گیاه نیشکر بیان شد که احتمالاً باکتری های آزادکننده فسفر خاک از طریق افزایش فعالیت بیولوژیک خاک، بهبود

در مطالعه دیگری در زعفران، مصرف کود زیستی خالص توانست ۸۳ درصد افزایش عملکرد را نسبت به شاهد سبب شود؛ این نرخ رشد معنی دار به دلیل کاهش pH خاک و انحلال بیشتر ترکیبات حاوی عناصر غذایی بیان شده است (Rojas et al., 2001)؛ اما در مطالعه کوچکی و همکاران (Koocheki et al., 2011) عدم تأثیر معنی دار کود زیستی نیتروکسین در افزایش وزن کلاله خشک زعفران گزارش شده است. کود زیستی نیتروکسین، برخلاف کود زیستی به کاررفته در این مطالعه، حاوی باکتری های ازتوباکتر و آزوسپریلیوم بوده است که احتمالاً سازوکار متفاوت این باکتری ها باعث ایجاد اثرات متفاوت در زعفران شده است.

شرف الدین و همکاران (Sharaf-Eldin et al., 2008)، تأثیر مثبت تیمار باکتری باسیلوس سوبتیلیس و فیوری و همکاران (Fiori et al., 2007) نیز تأثیر مثبت سودوموناس را بر کلیه صفات رویشی و زایشی زعفران گزارش نمودند. به طور کلی از تحلیل نتایج مربوط به خصوصیات زایشی زعفران چنین برمی آید که زعفران تحت تأثیر باکتری های باسیلوس و سودوموناس قرار گرفته و با افزایش مقدار

حلالیت فسفر در ناحیه ریزوسفر ریشه و جذب بیشتر فسفر توسط گیاه، سبب افزایش مواد مؤثره می‌شوند (Sundara et al., 2002). ساخت ترپنوئیدها نیاز مبرم به ترکیبات فسفردار دارد، لیکن جهت تأمین انرژی لازم (ATP و NADPH) برای چرخه‌های آن به نیتروژن وابسته است (Loomis & Corteau, 1972). کودهای شیمیایی بالاترین اثرگذاری را بر درصد پیکروکروسین دربرداشتند. بنابراین احتمالاً می‌توان گفت بهترین طعم زعفران در نتیجه کاربرد کودهای نیتروژن‌دار به‌دست می‌آید.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس تأثیر کودهای شیمیایی و زیستی بر صفات کیفی کلاله زعفران
Table 4 – Analysis of variance for quantitative traits of saffron stigma as affected by chemical and bio-fertilizers

میانگین مربعات				
Mean of square				
منابع تغییر	درجه آزادی	پیکروکروسین	سافراناال	کروسین
S.O.V	df	Picrocrocin	Safranal	Crocin
تکرار	2	0.067 ^{ns}	0.062 ^{ns}	0.257 ^{ns}
Replicate				
کود شیمیایی	2	2.965 ^{**}	5.306 ^{**}	2.353 ^{**}
Chemical fertilizer				
کود زیستی	1	9.444 ^{**}	0.618 ^{**}	8.059 ^{**}
Bio-fertilizer				
کود شیمیایی × کود زیستی	2	2.63 ^{**}	0.037 ^{**}	6.828 ^{**}
Biofertilizer × Chemical fertilizer				
خطای آزمایش	10	0.075	1.94	0.127
Error				
ضریب تغییرات (%)	-	2.26	1.94	2.56
CV (%)				

** و * نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد و ^{ns} به معنی تفاوت غیر معنی‌دار است.

** and * means significant at 0.01 and 0.05 probability level and ^{ns} means non-significant, respectively.

افزایش عملکرد سایر مواد مؤثره خواهد بود. مجموعه این فرضیات نیاز به انجام مطالعات جامع و دقیق‌تری جهت درک روابط موجود بین خصوصیات کمی و کیفی گیاه زعفران دارد.

خصوصیات برگ

اثر کاربرد کودهای زیستی بر شاخص سطح برگ و عملکرد خشک برگ معنی‌دار بود. همچنین اثر سطوح نیتروژن و اثر برهم-کنش کودهای زیستی و شیمیایی بر شاخص سطح برگ زعفران در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود (جدول ۶). بیشترین شاخص سطح برگ در تیمار مصرف ۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۷). با افزایش نیتروژن شاخص سطح برگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشینه شاخص سطح برگ در تیمار مصرف ۵۰ کیلوگرم نیتروژن و کمینه آن در تیمار شاهد به‌دست آمد (جدول ۷).

تأثیر دو نوع کود زیستی و شیمیایی بر کیفیت زعفران تولیدی متفاوت بوده است. به هر حال نتایج بیانگر آن است که کود زیستی احتمالاً به سبب تأثیر بر فراهمی عناصر غذایی، مواد هورمونی و ویتامین‌های محلول در آب، ایجاد حالت همکاری با سایر میکروارگانیسم‌ها و تولید ترکیبات اولیه مؤثر در بیوسنتز گلوکوزیدها و تجزیه آن‌ها به ترکیبات ثانویه ممکن است بر عملکرد کیفی زعفران تأثیر گذاشته باشد.

آنچه در نتایج این تحقیق دیده می‌شود، این حقیقت است که در گل‌های بزرگ‌تر و یا کلاله‌های سنگین‌تر، می‌بایست انتظار درصد سافراناال، کروسین و پیکروکروسین کمتر و لذا کاهش عطر و طعم کلاله را داشته باشیم. چراکه با مصرف کودها و افزایش سطوح آن سرعت و میزان رشد گیاه افزایش می‌یابد، لیکن افزایش میزان مواد مؤثره تا غلظت معینی میسر است. به طوری که ممکن است سرعت رشد بیشتر از سرعت و میزان ساخت اسانس به‌وسیله گیاه باشد و سبب کاهش غلظت آن در کلاله شود؛ اما می‌توان گفت که اگر عاملی منجر به ارتقاء عملکرد یک ترکیب در واحد سطح شود، بر

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات برهم کنش کود شیمیایی و زیستی بر ویژگی‌های کیفی کلاله زعفران

Table 5 – Mean comparison for interaction effect of chemical and bio-fertilize on characteristics of saffron stigma

تیمار Treatment	ویژگی‌های کلاله Stigma characteristics	درصد کروسین Crocine (%)	درصد سافراناال Safranal (%)	درصد پیکروکروسین Picrocrocin (%)
کود شیمیایی نیتروژن Nitrogen chemical fertilizer (kg/ha)	بدون تلقیح No inoculation	16.4a	10.6 b	12.6 b
	با تلقیح Inoculation	15 b	11.4 a	11.5 c
0	بدون تلقیح No inoculation	13.7 c	9.2 c	14.1 a
	با تلقیح Inoculation	12.9 d	10.5 b	11.0 c
25	بدون تلقیح No inoculation	14.6 b	9.1 c	12.8 b
	با تلقیح Inoculation	5.7 a	11.1 e	8.4 e
50	بدون تلقیح No inoculation			
	با تلقیح Inoculation			

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

Within each column, means followed by the same letter do not differ significantly at P<0.05.

به دلیل این که نیتروژن یکی از مهم‌ترین عناصر در ترکیب رشد رویشی گیاه است، افزودن آن به خاک موجب تحریک رشد رویشی برگ‌ها و افزایش سطح برگ می‌شود. زمانی که گیاه با کمبود نیتروژن مواجه است، نسبت رشد برگ و شاخص سطح برگ کاهش می‌یابد که این موضوع می‌تواند به علت کاهش فتوسنتز خالص و یا عدم گسترش سلولی باشد (Gastal & Nelson, 1994). در مورد اندازه-گیری‌های مربوط به وزن، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات متقابل نیتروژن در کود زیستی بر وزن تر برگ معنی‌دار بود (جدول ۶). همچنین نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کود زیستی بر وزن خشک برگ در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود.

جدول ۶ - نتایج تجزیه واریانس اثر کودهای شیمیایی و زیستی بر صفات کمی برگ زعفران

Table 6 - Analysis of variance for qualitative traits of saffron leaf as affected by chemical and biological fertilizer

منبع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of square	شاخص سطح برگ LAI	عملکرد برگ تر Fresh leaf yield	عملکرد برگ خشک Dry leaf yield
تکرار Replicate	2	9.09 ^{ns}	0.143 ^{ns}	0.11 ^{ns}	
کود شیمیایی Chemical fertilizer	2	0.13 ^{**}	0.182 ^{ns}	1.06 ^{ns}	
کود زیستی Bio-fertilizer	1	0.18 ^{**}	0.099 ^{ns}	0.06 ^{**}	
کود شیمیایی × کود زیستی Biofertilizer × Chemical fertilizer	2	0.75 ^{**}	2.037 ^{**}	0.06 ^{ns}	
خطای آزمایش Error	10	0.006	0.612	0.12	
ضریب تغییرات CV	-	25.68	10.67	10.31	

** و * نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد و ^{ns} به معنی تفاوت غیر معنی‌دار است.

** and * means significant at 0.01 and 0.05 probability level and ^{ns} means non-significant, respectively.

باسیلیو و همکاران (Bacilio et al., 2004) در گندم نیز گزارش شده است. نتایج این مطالعه نیز نشان داد که کاربرد تنه‌های زیستی وزن تر برگ زعفران را نسبت به شاهد افزایش داد اما باعث کاهش وزن خشک برگ شد اگرچه این کاهش معنی‌دار نبود (جدول ۷).

بیشترین وزن تر و خشک برگ در تیمار مصرف ۲۵ کیلوگرم کود نیتروژن به‌دست‌آمد (جدول ۷). کاپولینک و همکاران (Kapulink et al., 1982) و هراندز و همکاران (Hernandez et al., 1995) در بررسی‌های جداگانه‌ای افزایش وزن تر و خشک برگ‌های بوته ذرت را در اثر تلقیح بذر با باکتری‌های محرک رشد گزارش کرده‌اند. افزایش وزن خشک برگ به‌دنبال تلقیح بذر با باکتری آروسپریلوم توسط

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش کودهای شیمیایی و زیستی بر خصوصیات برگ زعفران

Table 7 - Mean comparison for interaction effect of chemical and bio-fertilizer on leaf characteristics of saffron

تیمار Treatment		ویژگی‌های برگ Leaf characteristics		
کود شیمیایی نیتروژن (کیلوگرم بر هکتار) Nitrogen chemical fertilizer (kg.ha ⁻¹)	کود زیستی Bio-fertilizer	شاخص سطح برگ LAI	عملکرد برگ تر (تن در هکتار) Fresh leaf yield (t.ha ⁻¹)	عملکرد برگ خشک (تن در هکتار) Dry leaf yield (t.ha ⁻¹)
0	بدون تلقیح No inoculation	1.38 e	6.54 c	4.27 a
	با تلقیح Inoculation	1.52 c	8.50 ab	3.11 a
25	بدون تلقیح No inoculation	1.6 b	9.53 a	4.44 a
	با تلقیح Inoculation	1.6 b	4.82 d	2.42 a
50	بدون تلقیح No inoculation	1.74 a	6.63 c	4.34 a
	با تلقیح Inoculation	1.4 d	7.96 bc	3.292a

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

Within each column, means followed by the same letter do not differ significantly at P<0.05.

در تیمار مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی اگرچه مقدار این شاخص افزایش یافت؛ ولی اثر آن معنی‌دار نبود (جدول ۹). نتایج نشان داد کلروفیل به مواد مغذی مثل نیتروژن وابسته است و افزایش نیتروژن اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل b برگ دارد. پنولاس و همکاران (Penuelas et al., 1994) نیز نشان داده‌اند که محدودیت نیتروژن به‌عنوان محرک کاهش محتوای کلروفیل می‌باشد؛ اما آنچه در این مطالعه حائز اهمیت است، تأثیر مثبت کودهای زیستی بر افزایش اثر کود شیمیایی نیتروژن بر مقدار کلروفیل برگ می‌باشد. چراکه مقدار کلروفیل b در تیمار کاربرد کود زیستی به همراه ۲۵ کیلوگرم کود شیمیایی نیتروژن در حد تیمار مصرف ۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی بود و این امر بدان معنی است که چنانچه کود زیستی به همراه کود شیمیایی به کار گرفته شود می‌توان میزان مصرف کود

رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی برگ

اثر متقابل کودهای شیمیایی و زیستی بر مقدار کلروفیل b در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار بود (جدول ۸). اثر تیمارهای آزمایشی بر محتوای کلروفیل a و کلروفیل کل برگ معنی‌دار نشد. در تیمار کودی مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن بیشترین مقدار کلروفیل b (۵۹۴/۳ میکروگرم بر گرم) حاصل شد و کمترین میزان آن نیز در تیمار شاهد به دست آمد.

با افزایش مقدار کود نیتروژن بر مقدار کلروفیل b افزوده شد، اما شدت افزایش کلروفیل زمانی که کود زیستی به همراه کود شیمیایی به کار رفت، بیشتر از کاربرد منفرد کودهای شیمیایی بود؛ به‌طوری‌که در تیمار کاربرد نصف کود شیمیایی به همراه کود زیستی، مقدار کلروفیل نسبت به کاربرد تنه‌هایی این کود افزایش معنی‌دار یافت، اما

عناصر شیمیایی برگ

اثر متقابل کود شیمیایی نیتروژن و کود زیستی بر مقدار نیتروژن، فسفر، منگنز، روی و مس موجود در برگ زعفران در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار بود. همچنین اثر کود شیمیایی و کود زیستی بر مقدار آهن برگ نیز معنی دار بود (جدول ۸).

شیمیایی را به نصف کاهش داد بدون اینکه مقدار کلروفیل برگ کاهش معنی داری یابد. این احتمال وجود دارد که کودهای زیستی با ترشح هورمون‌های رشد میزان سنتز کلروفیل را بالا ببرند. اثر مثبت کودهای زیستی بر رنگ‌دانه‌های برگ قبلاً نیز توسط خرم‌دل و همکاران (Khoramdel et al., 2011) در گیاه کنجد به اثبات رسیده است.

جدول ۸- نتایج تجزیه واریانس اثر کودهای شیمیایی و زیستی بر میزان کلروفیل و برخی از عناصر برگ زعفران
Table 8 - Analysis of variance of leaf chlorophyll and some elements of saffron leaves as affected by chemical and bio-fertilizers

منبع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean of square						
		کلروفیل b Chlorophyll b	سدیم N	فسفر P	آهن Fe	منگنز Mn	روی Zn	مس Cu
تکرار Replicate	2	2606.9 ^{ns}	0.053 [*]	0.000 ^{ns}	5453.99 ^{ns}	5.15 ^{ns}	0.429 ^{ns}	3.50 ^{ns}
کود شیمیایی Chemical fertilizer	2	56471.1 ^{**}	0.030 ^{ns}	0.001 [*]	78993.32 [*]	19.88 ^{ns}	47.26 ^{**}	41.55 ^{**}
کود زیستی Bio-fertilizer	1	4162.4 ^{**}	0.016 ^{ns}	0.000 ^{ns}	323342 ^{**}	28.30 ^{ns}	28.93 ^{**}	2.52 ^{ns}
کود شیمیایی × کود زیستی Chemical fertilizer × Biofertilizer	2	332222.6 ^{**}	0.090 ^{**}	0.002 ^{**}	19492.06 ^{ns}	123.06 ^{**}	23.69 ^{**}	17.37 ^{**}
خطای آزمایش Error	10	1919.69	0.009	0.000	16103.3	7.34	2.27	1.41
ضریب تغییرات CV	-	8.14	11.06	12.77	1	6	10.05	12.66

^{**} و ^{*} نشان دهنده معنی داری در سطح یک و پنج درصد و ^{ns} به معنی تفاوت غیر معنی دار است.
^{**} and ^{*} means are significant at 0.01 and 0.05 probability level and ^{ns} means non-significant, respectively.

تلفیق ۵۰ کیلوگرم کود نیتروژن با کود زیستی بیشترین و در تیمار مصرف منفرد کود شیمیایی به مقدار ۵۰ و ۲۵ کیلوگرم کمترین غلظت را دارا بود. تأثیر کاربرد کودهای شیمیایی بر غلظت مس نیز معنی دار بود (جدول ۸)، به گونه‌ای که غلظت مس در همه سطوح کاربرد کود شیمیایی افزایش یافته و همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند، اما در میان این کودها، مصرف تلفیقی ۵۰ کیلوگرم نیتروژن با کود زیستی بیشترین غلظت مس را سبب شد (جدول ۹). کاربرد تلفیقی کودهای زیستی و شیمیایی باعث افزایش بیشتر عناصر غذایی در برگ‌های زعفران شد که این نتیجه بر روی عملکرد کلاله نیز به دست آمد. کاربرد کود شیمیایی اوره با تغییر در اسیدیته خاک باعث کاهش کمبود آهن و منگنز در خاک می‌شود (Moez Ardalan &

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار مصرف تلفیقی ۵۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی نیتروژن با کود زیستی بیشترین تیمار شاهد کمترین غلظت نیتروژن را داشت. تیمار مصرف تلفیقی ۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی و کود زیستی بیشترین و تیمار شاهد کمترین غلظت فسفر را داشت و با افزایش مقدار مصرف نیتروژن به خصوص در شرایط تلقیح بنه توسط کودهای زیستی مقدار این عنصر در برگ‌ها افزایش نشان داد. در بررسی مقادیر آهن، بیشترین غلظت آهن در کاربرد کامل کود شیمیایی و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد به دست آمد. بیشترین غلظت منگنز در تیمار کودی تلفیق ۵۰ کیلوگرم کود نیتروژن و کود زیستی و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد به دست آمد. غلظت روی نیز در تیمار

شامل باکتری‌های حل‌کننده فسفر و تثبیت‌کننده نیتروژن توانست درصد فسفر دانه جور افزایش دهد؛ اما افزایش مقدار نیتروژن تنها با اعمال کودهای شیمیایی کامل ممکن شد (Maleki Farahani et al., 2011). این نتایج ارتباط میان تغذیه صحیح گیاه بار شد و ترکیب فیتوشیمیایی آن‌را به اثبات می‌رساند. افزایش قابلیت استفاده از فسفر (DeChatelet & Alpers, 1970) و درنهایت کمک به تغذیه گیاه (Wu et al., 2005) تحت تأثیر کودهای زیستی قبلاً به اثبات رسیده است.

(Savaghebi, 2002). لذا بر این اساس احتمالاً افزایش کود شیمیایی در این مطالعه باعث افزایش این عناصر در گیاه شده است. اثر مثبت کود زیستی بر افزایش عناصر شیمیایی در برگ با افزایش کود نیتروژن مبین آن است که احتمالاً کود زیستی شرایطی را در خاک فراهم می‌نماید که جذب عناصر غذایی بالا می‌رود و با افزایش جذب عناصر، میزان بهره‌وری از کود نیتروژن نیز بالا می‌رود. تجزیه مواد آلی خاک توسط کودهای زیستی منجر به آزادسازی و چرخه عناصر نیتروژن، فسفر و گوگرد می‌شود (Asadi Rahmani et al., 2006). همانند نتایج به دست آمده در این مطالعه، کاربرد کود زیستی خالص

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر برهم‌کنش کودهای شیمیایی و زیستی بر میزان کلروفیل و برخی از عناصر برگ زعفران
Table 9 - Mean comparison for interaction effect of chemical and bio-fertilizers on leaf chlorophyll and some elements of saffron leaves

کود شیمیایی نیتروژن (کیلوگرم بر هکتار) Nitrogen chemical fertilizer (kg.ha ⁻¹)	کود زیستی Bio-fertilizer	کلروفیل b (میکروگرم بر لیتر) Chlorophyll b (µg/L)	سدیم	فسفر	آهن	منگنز	روی	مس
			N	P	Fe	Mn	Zn	Cu
0	بدون تلقیح No inoculation	330.4 c	0.50 d	0.059 e	885 d	28.82 e	12.86 b	7.87 bc
	با تلقیح Inoculation	521.4 b	0.67 c	0.065 d	898 c	44.88 bc	13.65 b	7.17 c
25	بدون تلقیح No inoculation	543.7 b	0.83 bc	0.068 c	1045 bc	38.85 d	12.65 c	9.03 bc
	با تلقیح Inoculation	586.7a	0.81 bc	0.071 b	888 c	51.71 a	13.38 b	7.347 c
50	بدون تلقیح No inoculation	591.2 ab	0.87 b	0.069 bc	1327 a	43.9 bcd	12.70 c	10.06 b
	با تلقیح Inoculation	594.4 ab	1.03 a	0.108 a	1064 bc	42.52 cd	21.78 a	14.69 a

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون از نظر آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.
Within each column, means followed by the same letter do not differ significantly at P<0.05.

همزمان کود زیستی و شیمیایی عملکرد کمی و کیفی زعفران را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار داد، به‌طوری‌که کاربرد ۵۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی نیتروژن همان‌قدر بر عملکرد کلاله مؤثر بود که کاربرد نصف مقدار کود شیمیایی (۲۵ کیلوگرم) به همراه کود زیستی مؤثر بود. همچنین کاربرد همزمان کود شیمیایی و زیستی عملکرد کلاله را نسبت به کاربرد منفرد کود شیمیایی به‌طور معنی‌داری افزایش داد. از این‌رو، چنین می‌توان گفت که کاربرد

نتیجه‌گیری

از مجموع نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق مشخص می‌شود که عملکرد کمی و کیفی زعفران تحت تأثیر نوع و مقدار کودهای به‌کاررفته قرار گرفت. کود زیستی حاوی باکتری‌های سودوموناس و باسیلوس که از سویه‌های محرک رشد گیاه هستند، به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای عملکرد زعفران را تحت تأثیر قرار داد؛ همچنین کود شیمیایی نیتروژن نیز باعث افزایش عملکرد کلاله زعفران شد. کاربرد

سپاس‌گزاری

بودجه این طرح از دانشگاه شاهد و موسسه تحقیقات خاک و آب کرج تأمین شده است که بدین وسیله سپاسگزاری می‌شود.

کودهای شیمیایی به‌تنهایی مناسب نبوده و با کاربرد تلفیقی کودهای شیمیایی می‌توان هم‌کارایی کودهای شیمیایی را بالا برد و هم‌اکنون میزان کاربرد کودهای شیمیایی کاست که این امر منجر به کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی اعم از خاک و آب شده و به تولید محصول سالم کمک شایانی خواهد نمود.

منابع

- Asadi Rahmani, H., Asgharzadeh, A., Khavazi, K., Rejali, F., and Savaghebi, G. 2007. Soil biological fertility, a key to sustainable land use in agriculture. Jihade Daneshgahi Press. Tehran. (In Persian).
- Aytekin, A., and Acikgoz, A.O. 2008. Hormone and microorganism treatments in the cultivation of saffron (*Crocus sativus* L.) plants. *Molecules* 13: 1135-1146.
- Bacilio, M., Rodriguez, H., Mereno, M., and Hernandez, J.P. 2004. Mitigation of salt stress in wheat seedling by *Azospirillum lipferum*. *Soil Biology* 40: 188-193.
- Berg, G., Roskot, N., Steidle, A., Eberl, L., Zock, A., and Smalla, K. 2002. Plant dependent genotypic and phenotypic diversity of antagonistic rhizobacteria isolated from different *Verticillium* host plants, *Journal of Applied Environmental Microbiology* 68: 3328-3338.
- Cottenie A., Verloo, M., Kiekens, L., Velgh G., and Camerlynch, R. 1982. Chemical analysis of plants and soils, Lab, Anal Agrochem. State Univ. Ghent Belgium 63.
- Daneshvar Kakhki, M., and Farahmand Gelyan, K. 2012. Review of interactions between e-commerce, brand and packaging on value added of saffron: A structural equation modeling approach. *African Journal of Business Management* 6: 7924-7930.
- DeChatelet, L., and Alpers, J.B. 1970. Phosphoribokinase from *Pseudomonas saccharophila*. *Biological Chemistry* 245: 3161-3166.
- Douds, J.R., and Millner, D.D. 1999. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystem. *Journal of Agriculture Ecosystem and Environment* 74: 77-93.
- Fiori, M., Falchi, G., Quaglia, M., and Cappelli, C. 2007. Saffron (*Crocus sativus* L.) diseases in Italy. *Plant Pathology* 89: 27-68.
- Gastal, F., and Nelson. C.J. 1994. Nitrogen use within the growth leaf blade of tall fescue. *Plant Physiology* 15: 191-197.
- Hartmann, A., and Bashan, Y. 2009. Ecology and application of *Azospirillum* and other plant growth-promoting bacteria (PGPB), *European Journal of Soil Biology* 45: 1-2.
- Hernandez, A.N., Hernandez A., and Heydrich M. 1995. Selection of rhizobacteria for use in maize cultivation. *Cultivos Tropicales* 6: 5-8.
- INS (IRAN NATIONAL STANDARD). 2006. Research Institute of Standard and Iran. Saffron Bulletin, No. 259.
- Kapulnik, Y., Sarig, S. Nur, A., Okon, Y., and Henis, Y. 1982. The effect of *Azospirillum* inoculation on growth and yield of corn. *Israel Journal of Botany* 31: 247-255.
- Khoramdel, S., Amin Ghafoori, A., Rezvani Moghaddam, P., and Nasiri Mahalati, M. 2011. Evaluation different irrigation regimes along with biofertilizer on grain yield, Chlorophyll and relative water content of sesame. First congress of sustainable agriculture and healthy food. 10-11 November, Isfahan. (In Persian).
- Kirmani, N.A., Sofi, J.A., Bhat, M.A., and Ansar-UI-Haq, S. 2014. Sustainable saffron production as influenced by integrated nitrogen management in typic hapludalfs of NW Himalayas. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 45: 653-668.
- Koocheki, A., and Jahan, M. 2009. Effect of biofertilizer and inorganic fertilizer on generative growth and yield of saffron under high corn density. 3rd International Symposium on Saffron: Forthcoming Challenges in Cultivation, Research and Economics. Krokos, Greece, 20-24 May.
- Kumar, R., Singh, V., Devi, K., Sharma, M., Singh, M.K., and Ahuja, P.S. 2009. State of art of saffron (*Crocus sativus* L.) agronomy: A comprehensive review. *Food Reviews International* 25: 44-85.

- Kumar, V., Behl, R.K., and Narula, N. 2001. Effect of phosphate solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* on yield traits and their survival in the rhizosphere of wheat genotypes under field conditions. *Acta Agronomy Hungry* 49: 141-149.
- Loomis, W.D., and Corteau, 1972. Essential oil biosynthesis. *Journal of Recent Advance in Phytochemistry* 6: 147-185.
- Loper, J.E., and Schroth, M.N. 1986. Influence of bacterial sources of indole-3-acetic acid on root elongation of sugar beet. *Physiology and Biochemistry* 76: 386-389.
- Maleki Farahani, S., Chaichi, M.R., Mazaheri, D., Tavakkol Afshari, R., and Savaghebi, G. 2011. Barley grain mineral content as affected by different fertilizing systems and drought stress. *Journal of Agricultural Science and Technology* 13: 315-326.
- Moez Ardalan, M., and Savaghebi, G. 2002. Soil fertility management for sustainable agriculture, Tehran University Press. Tehran. (In Persian).
- Muscolo, A., Bovalo, F., Gionfriddo, F., and Nardi, F. 1999. Earthworm humic matter produces auxin-like effects on *Daucus carota* cell growth and nitrate metabolism. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1303-1311.
- Nehvi, F.A., Khan, M.A., Lone, A.A., and Maqhdoomi, M.I. 2009. Impact of microbial inoculation on growth and yield of saffron in Kashmir. 3rd International Symposium on Saffron: Forthcoming Challenges in Cultivation, Research and Economics. Krokos, Greece, 20-24 May 2009.
- Nieto, K.F., and Frankenberger, W.T. 1989. Biosynthesis of cytokinins in soil. *Soil Science Society of America Journal* 53: 735-740.
- Omidi, H., Naghdi Buddy, H., Golzad, A. Torabi, H., and Fotokyan, M. 2010. Biological effects of nitrogen fertilizer on yield and quality and quantity of saffron. *Journal of Medicinal Plants* 30: 4-15. (In Persian with English Summary).
- Page, A.L., Miller, R.H., and Keeney, D.R. 1982. *Methods of Soil Analysis. Part II - Chemical and Microbiological Properties*, 2nd Edition. Agronomy Society of America. Madison, WI.
- Parshad, R., 2009. Process development impact on industries and awards. Microbial Biotechnology Division, India.
- Penuelas, J., Gamon, J.A. Freeden, A. Merino, J., and Field, C. 1994. Reflectance indices associated with physiological changes in N and water-limited sunflower leaves. *Remote Sensing and Environment* 46: 100-118.
- Porra, R.J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research* 73: 149-156.
- Probanza, A., Lucas-García, J.A., Ruiz Palomino, M., Ramos, B., and Gutiérrez-Mañero, F.J. 2002. *Pinus pinea* L. seedlings growth and bacterial rhizosphere structure after inoculation with PGPR *Bacillus* (*B. licheniformis* CECT 5106 and *B. pumilus* CECT 5105). *Applied Soil Ecology* 20: 75-84.
- Rojas, A., Holguin, G., Glick, B., and Bashan, Y. 2001. Synergism between *Phyllobacterium* sp. (N₂-Fixer), and *Bacillus licheniformis* (P-Solubilizer), both from a semiarid mangrove rhizosphere, *Journal of FEMS Microbial Ecology* 35: 181-187.
- Sharaf-Eldin, M.A., Elkholy, S., Fernández, J.A., Junge, H., Cheetham, R.D., Guardiola, J.L., and Weathers, P.J. 2008. The effect of *Bacillus subtilis* FZB24 on flowers quantity and quality of saffron (*Crocus sativus* L.). *Planta Medica* 74: 1316-1320.
- Sundara, B., Natarajan, V., and Hari, K. 2002. Influence of phosphorus solubilizing bacteria on the changes in soil available phosphorus and sugar cane and sugar yields. *Journal of Field Crops Research* 3: 43-49.
- Unal, M., and Cavusoglu, A. 2005. The effect of various nitrogen fertilizers on saffron (*Crocus sativus* L.) yield. *Akdeniz Üniv. Ziraat Fak. Dergisi* 18 (2): 257-260.
- Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., and Wong, M.H. 2005. Effects of biofertilizer containing N-fixers, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma* 125 (2): 155-166.
- Zhang, N., Wang, D., Liu, Y., Li, S., Shen, Q., and Zhang, R. 2013. Effects of different plant root exudates and their organic acid components on chemotaxis, biofilm formation and colonization by beneficial rhizosphere-associated bacterial strains. *Plant and Soil* 374: 689-700.

Effect of some chemical fertilizer and biofertilizer on quantitative and qualitative characteristics of Saffron

Zahra Heidari¹, Hossein Besharati² and Saeideh Maleki Farahani^{3*}

Received: 15 February, 2014

Accepted: 22 February, 2014

Abstract

In this research, effects of chemical and biological fertilizers on qualitative and quantitative traits of saffron, were evaluated in a field experiment as randomized complete block design with three replications at Saffron Research Farm of Shahed University during growing season of 2012-2013. Experimental factors were chemical nitrogen fertilizer (0, 25 and 50 kg.ha⁻¹) and plant growth promoting rhizobacteria including *Pseudomonas* and *Bacillus* as biofertilizer (inoculation and uninoculation). The results indicated that complete application of chemical fertilizer with biofertilizer enhanced yield of saffron, up to 217%, compared to control. The highest yield obtained in application of biofertilizer and 50 kg.ha⁻¹ chemical fertilizer. It is worth noting that control (no inoculation) resulted in highest percentage of ingredients of stigma. Application of 50 kg.ha⁻¹ of fertilizer was caused severe loss of quality traits in stigma, as safranal and crocin contents decreased by 5.13% and 10.9%, respectively. Integrated application of 25 kg.ha⁻¹ nitrogen fertilizer and bio-fertilizer increased the picrocrocin up to 11.9% compared to control. Application of 50 kg.ha⁻¹ nitrogen fertilizer along with biofertilizer was the efficient treatment in increment of stigma yield and qualitative characteristics of saffron leaves. The concentration of phosphorus, zinc and copper increased up to 83.05, 69.36 and 86.6%, respectively compared to control. Totally, *Pseudomonas* and *Bacillus* inoculation increased most of the qualitative and quantitative traits of saffron through nutrients uptake.

Keywords: Crocin, Inoculation, Integrated fertilizer management, Plant growth promoting rhizobacteria, Safranal, Stigma.

1- Graduate Student Department of Crop production, Department of Crop Production and Plant Breeding, Islamic Azad University of Islamshahr.

2- Associate professor of Soil and Water Research Institute.

3- Assistant professor of Department of Crop Production and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Science, Shahed University.

(*- Corresponding author Email: maleki@shahed.ac.ir)