تغییرات میزان کروسین، پیکروسین و سافرانال و ویژگی‌های زراعی زعفران (*Crocus sativus* L.) تحت تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی فسفره

حسنعلی نقدی‌بادی[1]، حشمت امیدی[2]*، علی گلزاد[3]، حسین ترابی[2]، محمدحسین فتوکیان[2]

۱- دانشیار پژوهش، گروه پژوهشی کشت و توسعه، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
۲- استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران
*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه شاهد، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت، صندوق‌پستی: ۱۵۹-۱۸۱۵۵
تلفن و دورنگار: ٤ - ۵۱۲۱۳۱۱۳ (۰۲۱)
پست الکترونیک: Heshmatomidi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۲۳ تاریخ تصویب: ۹۰/۹/۲۷

چکیده

مقدمه: کودهای زیستی به عنوان جایگزینی برای کودهای شیمیایی در کشاورزی پایدار مطرح هستند که موجب حاصلخیزی خاک و رشد گیاه می‌شوند. بنابراین، بررسی اثر کودهای زیستی از جمله فسفر زیستی بر گیاهان دارویی مهم نظیر زعفران از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

هدف: ارزیابی تأثیر کودزیستی و شیمیایی فسفر بر عملکرد کمی و میزان ترکیبات موثره مهم زعفران (*Crocus sativus* L.).

روش بررسی: این مطالعه در منطقه‌ی آبسرد - تهران در سال‌های ۱۳۸٦ تا ۱۳۸۷ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار و چهار تیمار کودی اجرا شد. تیمارهای کودی شامل شاهد یا بدون مصرف کود فسفره (p_1)، کود شیمیایی فسفات آمونیوم به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (p_2)، کود زیستی بارور ۲ به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار (p_3) و تیمار مصرف تلفیقی کود شیمیایی فسفات آمونیوم به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود زیستی بارور ۲ به میزان ۵۰ گرم در هکتار (p_4) بودند.

نتایج: تیمارهای کودی بر طول کلاله و خامه تازه، طول و تعداد برگ، وزن کورم، عملکرد کلاله و خامه، میزان پیکروسین، سافرانال و کروسین زعفران تأثیر معنی‌داری داشته است ($p< ۰/۰۱$). اگرچه عملکرد کلاله و خامه در تیمار p_2 و تیمار p_4 تفاوت معنی‌داری نداشت، ولی مصرف ۱۰۰ گرم کود زیستی در هکتار (p_3) علاوه بر حصول بالاترین عملکرد زعفران، سبب افزایش حدود ۱۳/۷۷ درصدی عملکرد کلاله و خامه نسبت به تیمار کود شیمیایی فسفات آمونیوم (p_2) شده است. تیمار p_3 (۱۰۰ گرم کود زیستی در هکتار)، بهترین تیمار از نظر میزان پیکروسین بود. همچنین بیشترین میزان سافرانال و کروسین در تیمار تلفیقی فسفر به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود زیستی بارور ۲ به میزان ۵۰ گرم در هکتار (p_4) حاصل شد.

نتیجه‌گیری: عملکرد کمی و کیفی گیاه زعفران با کاربرد کودهای زیستی و شیمیایی فسفره افزایش یافت. همچنین با مصرف کود زیستی فسفره می‌توان مصرف کود شیمیایی فسفر را کاهش داد که حرکتی در راستای کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیستی می‌باشد.

گل‌واژگان: زعفران، فسفر، کود زیستی، سافرانال، کروسین، پیکروکروسین

www.SID.ir

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی چندساله خانواده زنبق (*Irridaceae*) **است که** نقش مهمی در صادرات غیرنفتی دارد. ارزش کیفی زعفران به علت وجود متابولیت‌های ثانویه اصلی و مشتقات آن می‌باشد. ترکیبات زردرنگ کروسین مسؤول رنگ زعفران، مواد تلخ پیکروکروسین مسؤول طعم و سافرانال مسؤول عطر و بوی آن می‌باشد. زعفران از ارزش تغذیه‌ای، دارویی و زراعی بسیار بالایی برخوردار است که کمیت و کیفیت آن بستگی به عوامل متعددی دارد [۱].

از نظر زراعی، فسفر یکی از عناصر پرمصرف موردنیاز گیاهان است که نقش اساسی در رشد و توسعه ریشه، رشد رویشی، پنجه زنی، مقاومت گیاه به سرمای زمستان، خوابیدگی و زودرسی، افزایش جذب نیتروژن، گلدهی، میوه‌دهی، رسیدن محصول و افزایش کیفیت گیاهان دارد [۲،۳،٤]. همچنین این عنصر از اجزای مهم تشکیل دهنده RNA، DNA، فسفوپروتئین‌ها، فسفولیپیدها، کوآنزیم‌های DNA و PNAD، مولکول‌های حامل انرژی ADP (آدنوزین دی فسفات) و ATP (آدنوزین تری فسفات) می‌باشد و در تمام فرآیندهای بیوشیمیایی، سازوکارهای انتقال انرژی و انتقال پیام‌ها نقش اساسی دارد [۵،٦،۷].

فسفر در ترکیبات آلی مانند بقایای گیاهی، جانوری و میکروبی خاک شامل فسفولیپیدها، اسید نوکلئیک و اسید فیتیک وجود دارد و مقدار آن در خاک به شدت وابسته به تجزیه میکروبی و معدنی شدن مواد آلی است. البته قابلیت دسترسی فسفر به عوامل متعددی نظیر اسیدیته (pH)، تهویه خاک، رطوبت، دما، میزان مواد آلی، مقدار آهن، آلومینیم و منگنز محلول و غیرمحلول، نوع ماده حاوی این عنصر، فعالیت ریزسازواره‌ها و روش‌های زراعی بستگی دارد [۷].

فراوانی کربنات کلسیم خاک‌های نواحی نیمه خشک سبب جذب و تثبیت فسفات به سطوح کربنات کلسیم و کاهش میزان دسترسی آن می‌گردد. ظرفیت تثبیت فسفر در خاک‌های مختلف با توجه به خصوصیات فیزیکی، شیمیایی، زیستی، اقلیم و مدیریت زراعی متغیر است. به طور کلی، بیش از ۸۰ درصد کود مصرفی جذب گیاه نمی‌شود و یا در خاک تثبیت می‌شود و یا باعث آلودگی محیط زیست و آب‌های راکد و جاری می‌شود. با وجودی که میزان غلظت فسفر موجود در خاک‌های مختلف از ٤۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (ppm) گزارش شده است [٦] ولی گیاهان میزان کمی از آن را به فرم یون فسفات بسته به میزان قلیایی بودن خاک و به ترتیب حلالیت آن به صورت آنیون یک ظرفیتی $H_2PO_4^{-1}$، دو ظرفیتی HPO_4^{-2} و سه ظرفیتی PO_4^{-3} جذب می‌کنند [٦،۷].

مصرف کودهای شیمیایی به منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی در واحد سطح، سبب ایجاد بحران آلودگی‌های محیط زیست و به ویژه آلودگی منابع خاک و آب شده که پیوسته به منابع غذایی انسان‌ها راه یافته و سلامت جامعه بشری را مورد تهدید قرار داده است. امروزه استفاده از کودهای زیستی در جهت گام برداشتن به سوی کشاورزی پایدار و استفاده از اثرات مفید آنها رو به افزایش است [۱]. به این منظور تلاش‌های گسترده‌ای با هدف یافتن راهکارهای مناسب برای بهبود کیفیت خاک، محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌ها آغاز شده است. از جمله این تکنیک‌ها، استفاده طبیعی گروهی از ریزسازواره‌های حل کننده فسفات است که با رهاسازی تدریجی یون فسفات، نیاز به کودهای فسفاته شیمیایی را کاسته و کارایی آنها را بالا می‌برند. این ریزسازواره با استقرار در منطقه ریزوسفر، از ترشحات ریشه استفاده نموده و با تغییر اسیدیته (pH) و یا ترشح آنزیم‌ها، شرایط را برای تبدیل فسفر نامحلول به شکل قابل استفاده گیاه فراهم می‌سازند. یکی از سازوکارهای تبدیل فسفات به شکل معدنی و محلول، ترشح اسیدهای آلی مانند اسیدهای استیک، پروپیونیک، لاکتیک، گلیکولیک، فوماریک و سوکسینیک است. نقش این اسیدها، کاهش pH به صورت موضعی و ترشح آنزیم‌های فسفاتاز توسط میکروارگانیسم‌ها و تجزیه ترکیبات فسفاته آلی و حتی معدنی است [۹].

برخی از کودهای زیستی از باکتری‌های مفیدی تشکیل شده‌اند که هر یک به منظور خاصی (مانند کمک به حلالیت و دسترسی بیشتر فسفر و رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیبات نامحلول) تولید می‌شوند. این باکتری‌ها معمولاً

Archive of SID
www.SID.ir

در اطراف ریشه مستقر شده و گیاه را در جذب عناصر همیاری می‌کنند [۷،۸،۹]. اکنون مسلم است این باکتری‌ها بیش از یک نقش دارند، یعنی علاوه‌بر کمک به جذب عنصری خاص باعث جذب سایر عناصر، کاهش بیماری‌ها، بهبود ساختمان خاک، تحریک بیشتر رشد گیاه و افزایش کمی و کیفی محصول می‌شوند. بدین لحاظ از نظر علمی این باکتری‌ها محرک رشد گیاه نامیده می‌شوند. این کودها، آلودگی زیست محیطی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی را کاهش داده و موجب احیا و حفظ محیط زیست می‌شوند [۳،٦].

اگرچه انواع این باکتری‌های حل کننده فسفات (به ویژه جنس‌های باسیلوس و سودوموناس) به طور طبیعی در خاک یافت می‌شوند ولی تعداد و جمعیت آنها برای رقابت با سایر باکتری‌های موجود در ریزوسفر کافی نیست [٦]. به علاوه ریچاردسون (Richardson) (۲۰۰۱) گزارش نمود که باکتری‌های درگیر در محلول سازی فسفر می‌توانند با روش‌هایی چون قابلیت دسترسی به عناصر غذایی مانند آهن و تولید مواد محرک رشد، عملکرد و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار دهند [۵].

فلاحی و همکاران (۱۳۸۸) در تحقیقی اعلام کردند که عملکرد کیفی (میزان کامازولن) و اجزاء عملکرد گیاه دارویی بابونه شیرازی تحت تأثیر باکتری‌های حل کننده فسفات افزایش یافت [۲]. کاپور (Kapoor) و همکاران (۲۰۰٤) گزارش کرده‌اند که همزیستی ریشه رازیانه با دو گونه قارچ VAM (Vesicular Arbuscular Mycorrhiza) به طور معنی‌داری سبب بهبود عملکرد و اجزای عملکرد رازیانه شد [۱۰]. رایی (Rai) و همکاران (۲۰۰٤) نیز در تحقیق خود بر روی گونه‌ای کهور (*Prosopis juliflora* L.) مشاهده کردند که کاربرد باکتری ریزوبیوم، ارتفاع بوته و بیوماس گیاهی را در مقایسه با شاهد افزایش داد [۱۱]. کومار (Kumar) و همکاران (۲۰۰۱) در تحقیقی بهبود رشد و عملکرد گندم و کاکمک (Cakmakc) و همکاران (۲۰۰۷) نیز بهبود رشد و عملکرد گیاهچه جو را همگام با مصرف باکتری‌های حل کننده فسفات گزارش کرده‌اند [۱۳]. در زمینه استفاده از کودهای زیستی برای بهبود جذب عناصر و کاهش مصرف کودهای شیمیایی بر روی گیاهان زراعی از قبیل زعفران، گندم، جو، سیب‌زمینی، چغندرقند، نیشکر و ذرت و کاهو تحقیقات متعددی انجام شده است [۱٤ – ۱۱، ۱]. به هر حال تحریک رشد گیاهان توسط باکتری‌های ریزوسفری از طریق تثبیت نیتروژن اتمسفر، افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی در ناحیه ریزوسفر، افزایش سطح تماس ریشه، تولید تنظیم‌کننده‌های رشد و بهبود هم‌زیستی مفید با گیاه میزبان در مراحل مختلف رشد انجام می‌گیرد [۱۵].

با توجه به اهمیت تولیدگیاه دارویی زعفران و مصارف گسترده آن در صنایع مختلف، این تحقیق در راستای کشاورزی پایدار با هدف حصول عملکرد کمی و کیفی مطلوب همگام با کاهش تدریجی مصرف کود شیمیایی انجام شده است که طی آن، تأثیر کودهای زیستی و شیمیایی فسفره بر عملکرد کمی و کیفی زعفران ارزیابی شده است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کود شیمیایی و زیستی فسفره بر عملکرد و بعضی ویژگی‌های کیفی زعفران در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در سال زراعی ۸۷ – ۱۳۸٦ در منطقه‌ی آبسرد تهران به اجرا درآمد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- مشخصات اقلیمی مزرعه تحقیقاتی منطقه آبسرد تهران

بارندگی سالیانه (میلی‌متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	میانگین دمای سالیانه (درجه سانتی‌گراد)
۳۰۹	۵۲° ۷′	۳۵° ٤۱′	۲۳۳۳	۹

www.SID.ir

تیمارهای کودی شامل p_1 (شاهد یا عدم مصرف کود فسفره شیمیایی و زیستی)، p_2 (کود شیمیایی فسفات آمونیوم به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار)، p_3 (کود زیستی فسفره بارور ۲ به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار) و p_4 (ترکیب کود شیمیایی فسفات آمونیوم به مقدار ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود زیستی بارور ۲ به مقدار ۵۰ گرم در هکتار) بودند. هر کرت آزمایشی دارای ابعادی معادل ۲ m × ۷ m (۱۴ مترمربع) بود. فواصل ردیف کاشت ۳۰ سانتی‌متر، فاصله بوته روی ردیف نیز ۱۰ سانتی‌متر و عمق کاشت کورم‌ها حدود ۱۰ سانتی‌متر بود.

کود زیستی فسفره بارور ۲ (از شرکت زیست فناور سبز) مورد استفاده در این تحقیق، دارای مجموعه‌ای از موثرترین باکتری‌های حل کننده فسفر به نام‌های *Pantoea agglomerans* strain *P5* و *Pseudomonas putida* strain *P13* است. تعداد اسپور و سلول زنده هر یک از جنس‌های باکتری در در هر گرم ماده خشک حدود 10^8 سلول زنده (CFU) می‌باشد. این دو نوع باکتری با استفاده از سازوکار ترشح اسیدهای آلی و اسید فسفاتاز باعث تجزیه ترکیبات فسفره نامحلول و در نتیجه قابل جذب شدن آن برای گیاه می‌گردند [۱،۱۵].

قبل از کاشت زعفران در سال اول، از خاک مزرعه جهت انجام تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌برداری شد (جدول شماره ۲) و نیازهای کودی آن تعیین شد. جهت رشد و نمو مناسب گیاه و تولید محصول مرغوب و مطلوب، مزرعه در پاییز سال قبل از کاشت، شخم عمیق زده شد و در اواسط بهار نیز مزرعه دوبار در جهات عمود بر هم شخم زده شد. در پاییز در هر هکتار ۳۰ تن کود حیوانی پوسیده پخش و با خاک مخلوط شد.

از آنجایی‌که انتخاب کورم مرغوب جهت کاشت در ایجاد عملکرد بالا حائز اهمیت است لذا کورم مناسب و یکنواخت (با وزن متوسط ٦ گرم برای هر کورم، سالم و بدون زخم و خراشیدگی و عاری از هر نوع بیماری) برای کاشت تهیه شد. تیمارهای کودی طی دوره‌ی خواب یا استراحت (اواخر مرداد) مزرعه زعفران اعمال شدند.

هر سال در شروع فصل رشد جدید، برای سله شکنی از کج بیل و چهار شاخ فلزی با عمق کم استفاده شد تا جوانه‌های گل با سهولت بیشتری از خاک بیرون آمده و رشد مطلوبی داشته باشند. محتوای بسته ۱۰۰ گرمی کود بارور ۲ را با مقداری آب مرطوب و سپس مخلوط را با آب آبیاری به مزرعه داده شد. حدود ۱۵ تا ۲۰ روز پس از آبیاری اول، اولین گل‌های زعفران ظاهر شدند. اولین وجین مزرعه زعفران بعد از برداشت گل‌ها (پس از آبیاری دوم) و دومین وجین به فاصله حدود یک ماه قبل از آبیاری سوم انجام شد. برداشت گل در ساعات اول روز انجام می‌شد.

پارامترهای اندازه‌گیری شده شامل قطر کورم، طول کلاله و خامه تازه، وزن کورم، طول برگ، وزن گل تازه بدون کلاله و خامه برحسب کیلوگرم در هکتار و وزن خشک کلاله و خامه (عملکرد برحسب کیلوگرم در هکتار) بود. البته به منظور تعیین صفات کمی و کیفی، برداشت از هر کرت پس از حذف اثر حاشیه‌ای انجام شد. پس از جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی، نمونه‌ها در دمای اطاق و به دور از نور خشک شدند.

محتوی عناصر نیتروژن، فسفر و پتاسیم به ترتیب به روش کجلدال، اولسن و فتومتری اندازه‌گیری شدند [١٦]. متابولیت‌های ثانویه اصلی کروسین (عامل رنگ)، پیکروکروسین (عامل طعم) و سافرانال (عامل عطر) به روش اسپکتروفتومتری طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲ - ۲۵۹ اندازه‌گیری شدند [١٦].

داده‌های این مطالعه توسط نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (Least Significant Difference) (LSD) انجام شد.

جدول شماره ۲ - خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه تحقیقاتی تا عمق ۳۰ سانتی‌متری

کلاس بافت خاک	درصد اجزاء			درصد آهک	پتاسیم قابل جذب (ppm)	فسفر قابل جذب (ppm)	ازت کل (درصد)	کربن آلی (درصد)	شوری (dS/m)	اسیدیته (pH)
	رس	سیلت	شن							
لوم رسی	۳٦	۳۹	۲۵	۲/٦۹	۳٤٦	۳۰/۹	۰/۰۹	۰/۹۱	۰/۷۳	۷/٦۲

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج

ویژگی‌های مرفولوژیکی و زراعی

مصرف کودشیمیایی و زیستی بر طول کلاله و خامه تازه تأثیر معنی‌داری داشت ($p< ۰/۰۱$) و با مصرف این کودها، طول کلاله و خامه به طور معنی‌داری افزایش یافت (جداول شماره ۳ و ٤). بیشترین طول کلاله و خامه تازه در تیمارهای مصرف کود شیمیایی ($p_۲$) به دست آمد. جالب آنکه طول کلاله و خامه در تیمار کود زیستی بارور ۲ ($p_۳$) و ۱۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی فسفات آمونیوم ($p_۲$) تفاوت معنی‌داری نداشت. به هرحال کمترین طول کلاله و خامه تازه بوته در تیمار شاهد یا بدون کود فسفر ($p_۱$) حاصل شد.

مصرف کودشیمیایی و زیستی بر طول برگ تأثیر معنی‌داری داشت ($p< ۰/۰۵$) و با مصرف این کودها، طول برگ به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول شماره ٤). اگرچه میانگین طول برگ‌ها در تیمارهای کودی (شیمیایی و زیستی) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت اما به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد بیشتر بود (جدول شماره ٤).

اگرچه تیمارهای کودی بر قطر کورم تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول شماره ۳) ولی بیشترین میزان قطر کورم در تیمار کود زیستی فسفره و کمترین آن نیز در تیمار شاهد حاصل شد (جدول شماره ٤). تیمارهای کودی بر وزن کورم‌ها تأثیر معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) داشت (جدول شماره ۳) و بیشترین وزن کورم‌ها در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی فسفات آمونیوم ($p_۲$) مشاهده شد که از نظر آماری با وزن کورم‌ها در تیمار ۱۰۰ گرم بارور ۲ ($p_۳$) و تیمار تلفیقی ۵۰ گرم بارور ۲ و ۷۵ کیلوگرم فسفات آمونیوم ($p_٤$) تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین وزن کورم‌ها در تیمار شاهد ($p_۱$) حاصل شد (جدول شماره ٤).

مصرف کودشیمیایی و زیستی بر وزن تازه گل بدون کلاله و خامه تأثیر معنی‌داری داشت ($p< ۰/۰۱$) و با مصرف این کودها، این صفت به طور معنی‌داری تغییر یافت (جداول شماره ۳ و ٤). بیشترین وزن تازه گل بدون کلاله و خامه در تیمارهای مصرف کود به دست آمد. جالب آنکه وزن تازه گل بدون کلاله و خامه در تیمار کودزیستی بارور ۲ ($p_۳$) و ۱۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی فسفات آمونیوم ($p_۲$) تفاوت معنی‌داری نداشت. به هرحال کمترین طول کلاله و خامه تازه بوته در تیمار شاهد یا بدون کود فسفر ($p_۱$) حاصل شد.

تیمارهای کودی بر عملکرد ماده خشک کلاله و خامه زعفران در واحد سطح تأثیر معنی‌داری ($p< ۰/۰۱$) داشت (جدول شماره ۳) و عملکرد ماده خشک کلاله و خامه با مصرف کودهای شیمیایی و زیستی افزایش یافت. به هر حال، بالاترین عملکرد کلاله و خامه در تیمار ۱۰۰ گرم کود زیستی بارور۲ ($p_۳$) حاصل شد که از نظر آماری میزان آن با تیمار مصرف کود شیمیایی و یا تیمار مصرف تلفیقی فسفر برابر بود (جدول شماره ٤). البته مصرف کود زیستی بارور ۲ ($p_۳$) علاوه بر حصول بالاترین عملکرد زعفران، سبب افزایش حدود ۱۳/۷۷ درصدی عملکرد ماده خشک کلاله و خامه نسبت به تیمار کود شیمیایی فسفات آمونیوم ($p_۲$) شده است (جدول شماره ٤).

تأثیر کود فسفر بر ویژگی‌های کیفی زعفران

تیمارهای کودی بر میزان پیکروکروسین (طعم) تأثیر معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) داشت (جدول شماره ۵) و بیشترین میزان پیکروسین (حداکثر جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵٤ نانومتر – بر حسب ماده خشک) در تیمار ۱۰۰ گرم بارور ۲ ($p_۳$) و کمترین آن در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار فسفات آمونیوم ($p_۲$) به دست آمد (جدول شماره ٦). البته میزان پیکروسین در تیمار شاهد از نظر آماری مشابه تیمارهای کود زیستی بوده است. بنابراین کود زیستی بارور ۲ بر طعم زعفران (میزان پیکروسین) تأثیر مثبت داشته است و کود شیمیایی فسفات آمونیوم برطعم زعفران تأثیر منفی داشته است.

اگرچه نوع کود فسفر بر میزان سافرانال یا عطر (جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر – بر حسب ماده خشک) زعفران از نظر آماری تأثیر معنی‌داری نداشته است (جدول شماره ٤) ولی بیشترین میزان سافرانال در تیمارهای کودی ($p_۲$، $p_۳$ و $p_٤$) و کمترین میزان آن در تیمار عدم مصرف کود فسفر یا تیمار شاهد ($p_۱$) حاصل شد (جدول شماره ٦).

www.SID.ir

جدول شماره ۳- تجزیه واریانس میانگین مربعات ویژگی‌های مرفولوژیک و زراعی زعفران.

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی D.f	طول کلاله و خامه تازه	طول برگ	وزن کورم	قطر کورم	وزن تازه گل بدون کلاله و خامه	وزن خشک کلاله و خامه (عملکرد)
تکرار (R)	۲	۰/۰۱	۰/۷۲	۰/۰۰۳	۱/۳	۱۲۷/۹۹*	۲/۱۱*
نوع کود فسفر (P)	۳	۰/۶۲**	۶/۸۳*	۰/۰۳*	۰/۷۳ ns	۱۴۳/۲۸**	۱۷/۹۵**
خطای آزمایش (Error)	۶	۰/۰۲	۲/۴۳	۰/۰۱	۰/۳۴	۱۴/۰۷	۰/۲۳
ضریب تغییرات (CV) درصد		۲/۴۳	۶/۶۸	۴/۶	۳/۱۷	۱۶/۴۸	۸/۱۹

*،**و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

جدول شماره ۴- مقایسه میانگین اثرات فسفر بر ویژگی‌های مرفولوژیک و زراعی زعفران

نوع کود فسفر	طول کلاله و خامه تازه (cm)	طول برگ (cm)	وزن کورم (gr)	قطر کورم (mm)	وزن تازه گل بدون کلاله و خامه (gr)	وزن خشک کلاله و خامه (kg/ha)
شاهد (بدون کود فسفر) (P_1)	۶/۱ b	۲۱/۱۶ b	۲/۳۴ b	۱۷/۷۷ b	۱۵/۰۴ c	۱/۸۵۷ c
۱۵۰ کیلوگرم فسفات آمونیوم (P_2)	۷/۰۷ a	۲۴/۱۵ ab	۲/۵۹ a	۱۸/۲۹ ab	۲۴/۱۱ ab	۴/۳۷۱ b
۱۰۰ گرم بارور ۲ (P_3)	۷/۰۶ a	۲۳/۵۱ ab	۲/۳۸ ab	۱۸/۹۶ a	۳۱/۴۹ a	۶/۰۲۱ a
۵۰ گرم بارور ۲ + ۷۵ کیلوگرم فسفات آمونیوم (P_4)	۶/۷۹ a	۲۴/۵۳ a	۲/۴۵ ab	۱۸/۵۳ ab	۲۰/۳۹ bc	۴/۷۷۸ b
حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)	۰/۳۲	۳/۱۱	۰/۲۲	۱/۱۶	۷/۴۹	۰/۹۷

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند

جدول شماره ۵- تجزیه واریانس میانگین مربعات ویژگی‌های کیفی و محتوی عناصر غذایی زعفران

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی D.f	پیکروکروسین جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵۴ نانومتر(بر حسب ماده خشک)	سافرانال جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	کروسین جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	نیتروژن	پتاسیم	فسفر
تکرار (R)	۲	۹/۸۸	۱۲/۶۶	۱۳۲/۷۸	۰/۴۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۱
نوع کود فسفر (P)	۳	۷۷/۷۲*	۲۴/۳۴ ns	۳۰۸/۳۲*	۰/۳۱ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۲۶*
خطای آزمایش Error	۶	۲۶/۶۳	۹/۰۲	۱۱۱/۹۱	۰/۱۴	۰/۰۲	۰/۰۰۰۶
ضریب تغییرات CV %		۶/۹۹	۶/۲۶	۵/۶۴	۲۵/۶۶	۱۲/۴۱	۱۷/۷۴

*،**و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ٦- مقایسه میانگین اثرات فسفر بر ویژگی‌های کیفی و محتوی عناصر غذایی زعفران

نوع کود فسفر/ ویژگی	پیکروکروسین جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵٤ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	سافرانال جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	کروسین جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ٤٤۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	نیتروژن (درصد)	پتاسیم (درصد)	فسفر (درصد)
شاهد(بدون کود فسفر) (P_1)	۷۳/۵۲ ab	٤٦/۷۳ b	۱۷٤/۰٦ b	۱/۳۳ a	۱/۱۷ a	۰/٤ b
۱۵۰ کیلوگرم فسفات آمونیوم (P_2)	۷۰ b	٤۹/۰۷ ab	۱۹۲/۱۷ ab	۱/۳۱ a	۱/۲۳ a	۰/٤۹ a
۱۰۰ گرم بارور ۲ (P_3)	۸۰/۳٤ a	٤۸/۹۹ ab	۱۸۵/٦۱ ab	۱/۹۸ a	۱/٤ a	۰/۵۳ a
۵۰ گرم بارور ۲+۷۵ کیلوگرم فسفات آمونیوم (P_4)	۷۳/۵۲ ab	۵۰ a	۱۹۷/٦۲ a	۱/۳٦ a	۱/۱٤ a	۰/٤۱ ab
حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)	۱۰/۳۱	٦/۰۰	۲۱/۱۳	۰/۷٦	۰/۳	۰/۱۵

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول شماره ۷- ضرایب همبستگی ساده پیرسون صفات مورد بررسی آزمایش مزرعه‌ای

صفت	وزن گل تازه بدون کلاله و خامه	قطر کورم	طول کلاله و خامه تازه	ماده خشک کلاله و خامه (عملکرد)	طول برگ	وزن کورم	پیکروکروسین	سافرانال	کروسین	نیتروژن	پتاسیم
قطر کورم	۰/۲۷	۱									
طول کلاله و خامه تازه	۰/۷۱**	۰/۲۸	۱								
ماده خشک کلاله و خامه (عملکرد)	۰/۸۲**	۰/۵۵	۰/۸۵**	۱							
طول برگ	۰/۳۳	۰/۲۵	۰/۵۷	۰/۵۵	۱						
وزن کورم	-۰/۰۷	۰/۰۸	۰/٤	۰/۱	۰/۳	۱					
پیکروکروسین	۰/۰۹	۰/۳۲	۰/۰۱	۰/۲۸	-۰/۱۷	-۰/۲۸	۱				
سافرانال	-۰/۱٤	۰/۳۳	۰/۲٤	۰/۱۵	۰/٤۷	۰/۱٤	۰/۱۳	۱			
کروسین	۰/۲٦	-۰/۳۱	۰/٦*	۰/٤۱	۰/٦۳*	۰/۳٤	-۰/۱۱	۰/۳۱	۱		
نیتروژن	۰/۷۰۳**	۰/۳۲*	۰/۳٤۹**	۰/۵٤**	۰/۰٦۷	۰/۲۲۷	۰/۳۹۹**	۰/۱۷۲	۰/۰۸	۱	
پتاسیم	۰/٤۹**	۰/۲۵	۰/۲۹*	۰/٤۷٤**	۰/۱۰۷	۰/۱٤٤	۰/۲۰٦	۰/۰۱	۰/۰۱٤	۰/٦۵۵**	۱
فسفر	۰/۱۰۹	۰/۰۵	۰/۲۵٤	۰/۱۷٤	۰/۱۹۲	۰/۰۰۷	۰/۰۸۸	۰/۵۱۲**	۰/۳٤٦**	۰/۱۵۹	۰/۰۹٦

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

Archive of SID
www.SID.ir

تیمارهای کودی بر میزان کروسین یا رنگ زعفران (جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ٤٤٠ نانومتر بر حسب ماده خشک) تأثیر معنی‌داری (p< ۰/۰۵) داشته است (جدول شماره ۵). بالاترین میزان کروسین در تیمارهای کودی (شیمیایی و زیستی) و کمترین مقدار آن در تیمار عدم مصرف کود فسفر (p_1) حاصل شد (جدول شماره ٦).

محتوی عناصر غذایی

تیمارهای کودی بر میزان فسفر اندام هوایی زعفران در واحد سطح تأثیر معنی‌داری (p< ۰/۰۵) داشت (جدول شماره ۵) و میزان فسفر اندام هوایی با مصرف کودهای شیمیایی و زیستی افزایش یافت. به هر حال، بالاترین میزان فسفر اندام هوایی در تیمار ۱۰۰ گرم کود زیستی بارور ۲ (p_3) حاصل شد که با مصرف کود شیمیایی و مصرف تلفیقی فسفر از نظر آماری برابر بود (جدول شماره ٦).

تیمارهای کودی بر میزان نیتروژن و پتاسیم اندام هوایی زعفران در واحد سطح تأثیر معنی‌داری (p< ۰/۰۵) نداشت (جدول شماره ۵) و میزان این عناصر در اندام هوایی در تیمارهای کودی از نظر آماری مشابه تیمار شاهد یا عدم مصرف کود بود (جدول شماره ٦).

همبستگی بین پارامترها

عملکرد ماده خشک کلاله و خامه با طول کلاله و خامه تازه و وزن گل تازه بدون کلاله و خامه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. همچنین طول کلاله و خامه با وزن گل تازه بدون کلاله و خامه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت. در بین صفات کیفی، میزان کروسین با طول برگ و طول کلاله و خامه همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت و محتوی فسفر اندام هوایی با خصوصیات کیفی نظیر میزان عطر (سافرانال) و رنگ (کروسین) همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد (جدول شماره ۷).

بحث

نتایج نشان داد که تیمارهای کودی بر طول کلاله و خامه، طول برگ، وزن کورم، وزن تازه گل بدون کلاله و خامه و همچنین وزن خشک کلاله و خامه در واحد سطح تأثیر معنی‌داری داشته است (جدول شماره ۳) و با اعمال تیمارهای کودی، میزان آنها به طور معنی‌داری افزایش یافته است. همچنین این تحقیق نشان داد که اگرچه بیشتر صفات مرفولوژیکی و زراعی در تیمارهای کود فسفره زیستی و شیمیایی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند ولی بیشترین میزان عملکرد اقتصادی (وزن خشک کلاله و خامه در هکتار) در تیمار کود زیستی به دست آمده است (جدول شماره ٤). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که برای افزایش تولید، نیاز به مصرف کود به فرم زیستی یا شیمیایی می‌باشد و برای تامین نیاز گیاه به کود فسفره می‌توان از کود زیستی فسفره به جای کود شیمیایی فسفره استفاده نمود و حتی عملکرد اقتصادی در تیمار استفاده از کود فسفره زیستی نسبت به کودهای شیمیایی فسفره بیشتر بوده است. فلاحی و همکاران (۱۳۸۸) در تحقیقی مشابه اعلام کردند عملکرد کیفی و کمی بابونه تحت تأثیر باکتری‌های حل کننده فسفات افزایش یافت [۲]. همچنین عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین نتایج داده‌های کود زیستی در مقایسه با کود شیمیایی فسفات در برخی از صفات در تحقیقات جداگانه بر گیاهان کهور [۱۱]، گندم [١٤]، جو [۱۳]، زعفران [۱]، رازیانه [۱۰] قبلاً گزارش شده است.

یکی از دلایل افزایش رشد و عملکرد زعفران در تیمارهای کودی می‌تواند افزایش دسترسی گیاه به عنصر فسفر باشد که میزان فسفر اندام‌های گیاه این مسأله را نشان داده است و با اعمال تیمارهای کودی، میزان فسفر در گیاه نیز افزایش نشان داده‌است (جدول شماره ٦). فاتما (Fatma) و همکاران (۲۰۰٦) در آزمایشی گلخانه‌ای روی گیاه مرزنجوش (*Majorana hortensis* L.) نشان دادند که کودهای بیولوژیک شامل ازتوباکتر، آزوسپریلیوم و باکتری‌های حل‌کننده فسفات روی شاخص‌های رشدی و میزان اسانس آن اثرات قابل توجهی دارد [٢٤]. نتایج مشابهی توسط سایر محققین به دست آمده است [۱،۱۰،۱۱،۱۵].

به هر حال نتایج نشان داد که اکثر صفات مرفولوژیکی و زراعی در تیمار کود فسفره شیمیایی و زیستی کودی تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول شماره ٤) که بیانگر نقش مثبت کود فسفره زیستی در فراهمی فسفر مورد نیاز گیاه است که در نهایت موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه زعفران شده است.

Archive of SID
www.SID.ir

وو (Wu) و همکاران (۲۰۰۵) در آزمایشی بر روی گیاه ذرت (*Zea mays*) گزارش کردند که مصرف کودهای بیولوژیک علاوه‌بر بهبود وضعیت غذایی گیاه باعث بهبود خصوصیات خاک هم شد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت ندارد [۲۵].

به طور کلی افزایش رشد و عملکرد در تیمار کود زیستی می‌تواند به دلایل متعددی باشد از جمله:

– کود فسفره زیستی سبب افزایش قابلیت دسترسی فسفر و در نتیجه افزایش جذب آن شده است (جدول شماره ٦) ممکن است این امر به دلیل نقش موثر فسفر در تامین انرژی مورد نیاز گیاه باشد که از طریق کاربرد کودهای زیستی سبب افزایش ویژگی‌های زراعی و عملکرد کمی و کیفی گیاه زعفران شده باشند [۱،۵].

– ممکن است باکتری‌های موجود در کود زیستی بارور ۲، علاوه‌بر تامین فسفر موردنیاز و متعادل کردن جذب عناصر اصلی پرمصرف و ریز مغذی موردنیاز گیاه، با سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاه نظیر انواع هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد مانند اکسین، همچنین ترشح اسیدهای آمینه مختلف، انواع آنتی‌بیوتیک، موجب رشد و توسعه ریشه و قسمت‌های هوایی زعفران شده باشند. همچنین برخی از انواع باکتری‌های محرک رشد، آنزیم ACC deaminase را تولید می‌کنند که فعالیت این آنزیم سبب کاهش تولید اتیلن ریشه و در نتیجه رشد بیشتر ریشه گیاه می‌شود [۱۷].

– باکتری‌های موجود در کود زیستی از طریق تولید مواد مترشحه [۱۸] و کاهش اسیدیته می‌توانند عناصر غذایی بیشتری را به صورت محلول در اختیار گیاه قرار دهد [۱۵، ۷] و در نتیجه سبب تولید بیشتر مواد فتوسنتزی و افزایش عملکرد شوند [۱،۸].

– میکروارگانیسم‌های مفید خاکزی کود زیستی فسفره در ناحیه اطراف ریشه و یا بخش‌های داخلی گیاه تشکیل کلونی داده و با تولید آنزیم فسفاتاز [۱۹، ۸] ترکیبات نامحلول فسفات (مانند تری‌کلسیم فسفات) را به صورت محلول و قابل جذب گیاه در می‌آورند و رشد گیاه میزبان را با روش‌های مختلف تحریک می‌کنند [۹]. همچنین به دلیل وجود ترشحات ریشه‌ای و مواد غذایی فراوان، حضور و فعالیت جامعه زنده میکروارگانیسم‌ها در ریزوسفر بسیار بیشتر از خاک اطراف می‌باشد. ترشحات ریشه‌ای شامل تولید و ترشح اسیدهای آلی اعم از مالیک، سوکسینیک، پیروپیونیک، لاکتیک، سیتریک، کتوگلونیک موثر در حلالیت فسفات‌های معدنی و کم محلول موثر است [۸،۹،۱۹].

– علاوه بر تأثیر غیرمستقیم باکتری‌ها بر جذب عناصر غذایی، میکروارگانیسم‌های کودهای زیستی از روش‌های دیگری مانند تولید سیتوکینین از پیش ماده آدنین [۲۰]، تولید سیتوکینین از آدنین و الکل ایزوپنتیل (IA) در حضور *Azotobacter* و *Pseudomonas* [۲۱]، سنتز ویتامین‌های محلول در آب شامل نیاسین، اسید پنتوتنیک، تیامین (B1)، ریبوفلاوین (B2)، سیانوکوبالامین (B12)، پیریدوکسین (B6)، فراهمی یون آهن و تشکیل کلات آهن از طریق اتصال سیدروفور تولید شده توسط باکتری‌ها [۱،۲۲] نیز بر رشد گیاه تأثیر مثبت دارند. بنابراین باکتری‌های موجود در کود زیستی می‌توانند با سایر میکروارگانیسم‌های ریزوسفر اثر هم‌افزایی (سینرژیست) مفیدی بر گیاهان داشته باشند.

در خصوص تأثیر نوع کود مصرفی بر خصوصیات کیفی زعفران بایستی بیان نمود که کیفیت شامل مولفه‌های رنگ (کروسین)، طعم (پیکروکروسین) و عطر (سافرانال) است و تیمارهای کودی بر این مولفه‌ها (کیفیت) تأثیر معنی‌داری داشته است (جدول شماره ۵). نتایج این تحقیق نشان داد که:

– بیشترین میزان پیکروکروسین (طعم زعفران) در تیمارهایی حاصل شده است که حاوی کود زیستی فسفره بوده‌اند و کمترین میزان پیکروکروسین در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم فسفات آمونیوم (p_2) حاصل شده است.

– بیشترین میزان سافرانال (میزان عطر زعفران) و گلوکوزید کروسین (رنگ زعفران) در تیمار مصرف تلفیق ۵۰ گرم بارور ۲ و ۷۵ کیلوگرم فسفات آمونیوم (p_3) به دست آمده است که با سایر تیمارهای کودی تفاوت معنی‌داری نداشته است. به عبارت دیگر، تیمارهای کود زیستی و شیمیایی بر عطر زعفران تأثیر مثبت و مشابه داشته‌اند (جدول شماره ٦). با توجه به این نتایج، مشخص است که تیمارهای کودی بر کیفیت زعفران تأثیر معنی‌داری داشته‌اند و تاثیر دو نوع کود فسفر زیستی و شیمیایی بر کیفیت زعفران تولیدی متفاوت بوده است. به هر حال نتایج بیانگر

www.SID.ir

آن است که کود زیستی فسفر به سبب تاثیر بر فراهمی ترکیبات، مواد هورمونی و ویتامین‌های محلول در آب، ایجاد حالت همکاری برهمکنش با سایر میکروارگانیسم‌ها و تولید ترکیبات اولیه موثر در بیوسنتز گلوکوزیدها و تجزیه آنها به ترکیبات ثانویه ممکن است بر عملکرد کیفی زعفران تاثیر گذاشته باشد [۲۵– ۱۹].

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد به جای مصرف مداوم کود شیمیایی می‌توان با استفاده بهینه از نهاده‌های زیستی در راستای کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی فسفری مانند فسفات آمونیوم گام برداشت.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که نوع کود فسفره بر عملکرد کمی و کیفی گیاه زعفران تأثیر معنی‌داری داشته است و جهت حصول حداکثر عملکرد ماده خشک و کیفیت زعفران در واحد سطح، مصرف کود زیستی فسفره به تنهایی یا مصرف توام آن با مقادیر کمتر کود شیمیایی فسفات آمونیوم (نصف مقدار توصیه منطقه) توصیه می‌شود. مهم‌تر آنکه، جایگزینی کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی، نویدبخش کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیست محیطی در آینده می‌باشد.

منابع

1. Omidi H, Naghdi Badi HA, Golzad A, Torabi H, and Footoukian MH. The Effect of Chemical and Bio-fertilizer Source of Nitrogen on Qualitative and Quantitative Yield of Saffron (*Crocus sativus* L.). *J. Medicinal Plants* 2009; 8 (30): 98 - 109.

2. Fallahi J, Koocheki A, and Rezvani Moghaddam P. Effects of biofertilizers on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria recutita*) as a medicinal plant. *Iranian J. Field Crops Res.* 2009; 7 (1): 127 - 35.

3. Leticia AF, Pablo Z, Gomez MA and Sagardoy MA. Phosphate-solubilization activity of bacterial strains in soil and their effect on soybean growth under greenhouse conditions. *Biology and Fertility of Soils* 2007**;** 43.

4. Hartemink AE. Nutrient stocks, nutrient cycling, and soil changes in cocoa ecosystems: a review. *Adv. Argon.* 2005**;** 86: 227 – 53.

5. Richardson AE. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust. J. Plant. Physiol*. 2001**;** 28: 897 – 906.

6. Han HS, Supanjani and Lee KD. Effect of co-in coculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant soil Environ* 2006; 52 (3): 130 - 6.

7. Rodriguez H, Fraga R, Gonzalez T, Bashan Y. Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant Soil* 2006**;** 287: 15 – 21.

8. Dakora FD, Matiru V, King M and Phillips DA. Plant growth promotion in legumes and cereals by lumichrome, a rhizoidal signal metabolite. In: Finan TM, Obrian MR, Layzell DB, Vessey K, Newton WE, eds. *Nitrogen fixation: global perspectives*. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2002; 321 – 2.

9. Gull M, Hafee FY, Saleem M and Malik K. Phosphorus uptake and growth promotion of chickpea by co- inoculation of mineral phosphate solubilising bacteria and mixed rhizobial culture. *Australian J. Experimental Agriculture* 2004**;** 44: 623 - 8.

10. Kapoor R, Giri B, Mukerji KG. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare mill* on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technol*. 2004; 93: 307 – 11.

11. Rai UN, Pandey K, Sinha S, Singh A, Saxena R and Gupta DK. Revegetating fly ash landfills with *Prosopis juliflora* L.: impact of different amendments and *Rhizobium* inoculation. *Environ. Int.* 2004; 30: 293 – 300.

Archive of SID
www.SID.ir

12. Kumar V, Behl RK and Narula N. Effect of phosphate solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* on yield traits and their survival in the rhizosphere of wheat genotypes under field conditions. *Acta Agron. Hung.* 2001; 49: 141 – 9.

13. Cakmakc R, Donmez Mf and Erdogan U. The effect of plant growth promoting Rhizobacteria on barley seeding growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacteria Counts. *Turk J. Agric. for.* 2007; 31: 189 - 99.

14. Oda S, Jos V. Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *Fems Microbiol. Rev.* 2000; 24: 487 - 506.

15. Glick BR. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 1995; 41: 109 – 17.

16. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Saffron – Test methods. Isiri Number: 259-2. 1st. Revision,
http://www.isiri.org/asp/account/checklog.asp?ID=259-2.doc

17. Gutierrez-Manero FJ, Ramos-Solano B, Probanza A, Mehouachi J, Tadeo FR and Talon M. The plant-growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiol. Plant*. 2001; 111: 206 – 11.

18. Rojas A, Holguin G, Glick B and Bashan Y. Synergism between *Phyllobacterium* sp. (N2 – Fixer), and *Bacillus licheniformis* (P-Solubilizer), both from a Semiarid mangrove rhizosphere, *Fems Microbiol. Ecol*. 2001; 35: 181 - 7.

19. Patten CL and Glick BR. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol.* 1996; 42: 207 - 20.

20. Nieto KF and Frankenberger WT. Biosynthesis of cytokines in soil. *Soil. Sci. Soc. Am. J.* 1989; 53: 735 - 40.

21. Nieto KF and Frankenberger WT. Biosynthesis of cytokines produced by *Azotobacter chroococcum*. *Soil. Biol. Biochem.* 1989; 21: 967 - 72.

22. Kloepper JW, Lifshitz R and Novacky A. *Pseudomonas* inoculation to benefit plant production. *Anim. Plant. Sci.* 1988; 60 - 4.

23. Kumar RN, Thirumalai Arasu V and Gunasekaran P. Genotyping of antifungal compounds producing plant growth-promoting rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescens. Cur. Sci*. 2002; 82: 12 - 25.

24. Fatma EM, El-Zamik I, Tomader T, El-Hadidy HI, Abd El-Fattah L and Seham Salem H. Efficiency of biofertilizers, organic and in organic amendments app.lication on growth and essential oil pf marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous .Agric. Microbiology Dept., Faculty of Agric., Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Dept., Desert Research Center, Cairo, Egypt. 2006.

25. Wu SC, Cao ZH, Li ZG, Cheung KC and Wong MH. Effects of biofertilizers containing N-fixer, P and K solubilizer and AM fungi on maize growth: a greenhouse trail. *Geoderma* 2005; 125: 155 - 66.

Archive of SID

www.SID.ir