

اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد کلاله و کیفیت زعفران (*Crocus sativus* L.) در شرایط اقلیمی اردبیل
Effect of biological and chemical fertilizers on stigma yield and quality of saffron (*Crocus sativus* L.) under climatic conditions of Ardabil

محمد باقر عالی زاده اولی کندی^۱، حسن مکاریان^۲، علی عبادی^۳، ابراهیم ایزدی دربندی^۴ و احمد غلامی^۵

چکیده

عالی زاده اولی کندی، م. ب.، ح. مکاریان، ع. عبادی، ا. ایزدی دربندی و ا. غلامی. ۱۳۹۷. اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد کلاله و کیفیت زعفران (*Crocus sativus* L.) در شرایط اقلیمی اردبیل. مجله علوم زراعی ایران. ۲۰(۱): ۲۹-۱۶.

کودهای زیستی در کشاورزی پایدار به عنوان جایگزین و یا مکمل کودهای شیمیایی مورد توجه بوده و باعث افزایش حاصلخیزی خاک و رشد گیاه و بهبود کیفیت محصول می‌شوند. به منظور بررسی اثر مصرف کودهای شیمیایی و تلقیح با باکتری‌های محرک رشد بر عملکرد و کیفیت زعفران، آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ و ۹۶-۱۳۹۵ در مرکز تحقیقات کشاورزی اردبیل انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل کودهای شیمیایی (N.P.K) در دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ درصد نیاز کودی (کرت‌های اصلی) و کود زیستی در پنج سطح شامل شاهد (بدون تلقیح با باکتری)، تلقیح با باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*)، ازتوباکتر (*Azotobacter chroococcum* PTCC1658)، سودوموناس آروژینوس (*Pseudomonas aeruginosa*) و تلفیق آن‌ها (کرت‌های فرعی) بودند. نتایج نشان داد که مصرف کودهای زیستی و کودهای شیمیایی باعث افزایش معنی‌دار طول گل و کلاله، عملکرد خشک کلاله و خامه و محتوای سافرانال، کروسین و پیکروکروسین نسبت به شاهد گردید. تأمین ۵۰ درصد نیاز کود شیمیایی همراه با مصرف تلفیقی کودهای زیستی (ازتوباکتر، سودوموناس آروژینوس و باسیلوس سوبتیلیس) باعث افزایش ۵۷ درصدی عملکرد خشک کلاله و خامه نسبت به شاهد گردید و مواد موثره پیکروکروسین، سافرانال و کروسین را به ترتیب ۴۴، ۶۲ و ۴۷ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. طول گل و کلاله در تیمار مصرف تلفیقی کودهای زیستی، به ترتیب ۳/۳۲ و ۱/۶۳ سانتی‌متر نسبت به شاهد افزایش نشان داد. نتایج این پژوهش نشان داد که با مصرف کودهای زیستی در زراعت زعفران می‌توان ضمن کاهش مصرف کودهای شیمیایی، عملکرد و کیفیت محصول را بهبود داد.

واژه‌های کلیدی: ازتوباکتر، باسیلوس سوبتیلیس، سودوموناس آروژینوس، زعفران و عملکرد کلاله

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی علفی، چندساله از خانواده Iridaceae، پیازدار و بدون ساقه هوایی است. این گیاه عمدتاً در غرب آسیا در مناطقی با بارندگی سالانه پایین، زمستان‌های سرد و تابستان‌های گرم گسترش دارد (Sepaskhah and Kamgar-Haghighi, 2009). ایران با سطح زیر کشت حدود ۹۲۸۲۲ هکتار و تولید سالانه ۳۵۱/۷ تن و میانگین عملکرد ۳/۷۹ کیلوگرم در هکتار، بزرگ‌ترین تولیدکننده زعفران از نظر کمیت و کیفیت در سطح جهان می‌باشد (Ministry of Agriculture- Jahad, 2016) با وجود اینکه ایران در بین کشورهای تولیدکننده زعفران مقام نخست را از نظر سطح زیر کشت و میزان تولید سالیانه دارد (FAO, 2014)، ولی میانگین عملکرد آن در مقایسه با میانگین عملکرد جهانی پایین است. به نظر می‌رسد که تفاوت معنی‌دار عملکرد زعفران در ایران با سایر کشورهای عمده تولیدکننده، به دلیل نامناسب بودن روش‌های تغذیه این گیاه و نیز تفاوت در ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مناطق تحت کشت این گیاه باشد (Koocheki, 2013).

مصرف کودهای شیمیایی جهت افزایش عملکرد محصولات کشاورزی، از عملیات متداول زراعی محسوب می‌شود که یکی از نتایج منفی آن طی سال‌های اخیر، بحران آلودگی‌های زیست محیطی، به‌ویژه آلودگی منابع خاک و آب بوده است که به صورت زنجیره‌ای به منابع غذایی انسان‌ها راه یافته و سلامت جامعه بشری را مورد تهدید قرار داده است. به منظور رفع این چالش، تلاش‌های گسترده‌ای با هدف یافتن راهکارهای مناسب برای بهبود کیفیت خاک و محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌ها از خاک، صورت گرفته است. کاهش این مخاطرات زیست محیطی همراه با افزایش عملکرد گیاهان زراعی، نیازمند استفاده از روش‌های نوین زراعی است

(Armak *et al.*, 2018). از جمله این روش‌ها، ارزیابی جامعه زنده و فعال خاک و شناسایی ریزجانداران خاکزی سودمند و استفاده از آن‌ها به‌عنوان کودهای زیستی است. کودهای زیستی حاوی ریز موجودات مفید خاکزی از قبیل باکتری‌ها، قارچ‌ها و اکتینومیسیت‌ها یا متابولیت‌های حاصل از آن‌ها می‌باشند که با تشکیل کلونی در بخش‌های داخلی گیاه و یا در ناحیه اطراف ریشه، باعث تحریک رشد گیاه می‌زبان می‌شوند (Zhang *et al.*, 2013). از توباکترها از جمله باکتری‌های مفید خاکزی هستند که به دلیل فراوانی و وسعت انتشار، بیش از سایر انواع تثبیت‌کننده‌های نیتروژن مورد توجه قرار گرفته‌اند. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که از توباکتر به عنوان مایه تلقیح بذر نه تنها در تثبیت نیتروژن بلکه بر تولید هورمون‌های رشد، ترکیبات ضد قارچی، سیدروفورها و حل‌کنندگی فسفات نیز مؤثر است (Hokmalipour, 2017).

فسفر دومین عنصر مهم در تغذیه گیاهی محسوب می‌شود که نقش چشمگیری در بسیاری از واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان دارد (Fageria *et al.*, 2013). فراهم بودن فسفر از مؤثرترین عوامل در بهبود عملکرد و کیفیت زعفران است (Koocheki *et al.*, 2014). مصرف فسفر و جذب آن توسط گیاه می‌تواند از طریق تحریک رشد گیاه، باعث افزایش جذب سایر عناصر از خاک شود (Simpson *et al.*, 2011)؛ Koocheki and Seyyedi, 2015). کوچکی و سیدی (Koocheki and Seyyedi, 2015) نشان دادند که افزایش جذب هر یک از عناصر نیتروژن یا فسفر از طریق تحریک رشد ریشه گیاه، ضمن تحریک گل‌انگیزی و رشد بنه‌های دختر زعفران، باعث جذب سایر عناصر از خاک می‌شود. چاجی و همکاران (Chaji *et al.*, 2013) گزارش دادند که فراهمی نیتروژن در خاک باعث افزایش تعداد بنه‌ها و فراهمی فسفر باعث افزایش وزن بنه‌ها در زعفران می‌شود. امیدی و

زعفران مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی اردبیل با طول جغرافیایی ۴۸ دقیقه و ۱۹ درجه شمالی و عرض جغرافیایی ۳۸ دقیقه و ۱۳ درجه شرقی و ارتفاع ۱۳۳۵ متر از سطح دریا در سال زراعی ۱۳۹۴-۹۵ و ۱۳۹۵-۹۶ اجرا شد. برخی ویژگی‌های اقلیمی محل اجرای آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل کود شیمیایی (N.P.K) در دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ درصد نیاز کودی (توصیه شده بر اساس آزمون خاک) در کرت‌های اصلی و کود زیستی

همکاران (Omidi *et al.*, 2011) با ارزیابی اثر مصرف کودهای شیمیایی فسفر و کود زیستی بارور ۲ بر عملکرد گیاه زعفران مشاهده نمودند که بیشترین عملکرد کلاله و خامه مربوط به گیاهان تیمار شده با کود زیستی بارور ۲ به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار بود. کرمی و همکاران (Karami *et al.*, 2013). طی آزمایشی اثر مثبت تلفیق نیمی از کودهای شیمیایی و باکتری‌های آزادکننده فسفر بر عملکرد گیاه گاوزبان را گزارش کردند.

با توجه به اینکه پژوهش‌های اندکی در خصوص کاربرد تلفیقی باکتری‌های محرک رشد و کودهای شیمیایی در زراعت زعفران انجام شده است، در این پژوهش هم‌راستا با اهداف کشاورزی پایدار، اثر مصرف کودهای زیستی حاوی ازتوباکتر، سودوموناس و باسیلوس و سطوح کود شیمیایی بر عملکرد و کیفیت

جدول ۱- میانگین دما و میزان بارندگی ماهانه محل اجرای آزمایش (۱۳۹۴-۹۶)

Table 1. Mean of monthly temperature and rainfall at experimental site (2015- 2017)

Month	ماه	میانگین حداکثر دما Max. temperature (°C)	میانگین حداقل دما Min. temperature (°C)	میانگین بارندگی Rainfall (mm)
2015 - ۱۳۹۴				
July	مرداد	26.7	12.6	2.6
Aug	شهریور	26.7	12.4	29.5
Sep	مهر	23.5	8.8	22.5
Oct	آبان	8.2	7.8	82.7
Nov	آذر	12	1.4	13.4
Dec	دی	3.8	- 6	32.0
Jan	بهمن	6.8	- 3.4	26.5
Feb	اسفند	9.3	- 1.4	18.9
2016 - ۱۳۹۵				
Mar	فروردین	12	4	30.0
Apr	اردیبهشت	16	3	54.0
May	خرداد	22	9	25.0
Jun	تیر	25.4	11.1	10.0
July	مرداد	24.8	13.6	3.3
Aug	شهریور	28.2	12.7	0.0
Sep	مهر	22.6	10.3	9.0
Oct	آبان	15.3	4.4	35.0
Nov	آذر	11.1	-0.7	8
Dec	دی	3.8	- 6	32.0
Jan	بهمن	5	-5.3	7.8
Feb	اسفند	0.9	- 7.9	27.6
2017 - ۱۳۹۶				
Mar	فروردین	11.7	0.6	20.7

فرعی بودند. بنه‌های زعفران با محلول صمغ عربی (۲۰ گرم صمغ عربی در یک لیتر آب) آغشته شده و سپس با محلول باکتریایی تلقیح و پس از خشکاندن در سایه بلافاصله کاشته شدند. به منظور حصول اطمینان از اثر تیمارها و نیز به دلیل اندک بودن عملکرد زعفران در سال‌های اول، تیمارهای آزمایشی به مدت دو سال بطور پیاپی اعمال شدند و داده‌های سال دوم بعنوان نتایج آزمایش، جمع‌آوری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک با نمونه‌برداری تصادفی از پنج نقطه مزرعه آزمایشی از عمق ۳۰ سانتی متری انجام شد (جدول ۲).

حاوی باکتری‌های محرک رشد در پنج سطح شامل شاهد (بدون تلقیح با باکتری)، تلقیح با باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*) (باکتری حل‌کننده فسفر که با ترشح اسیدهای آلی باعث افزایش حلالیت فسفر نامحلول خاک می‌شوند) (به تعداد 10^8 سلول زنده در هر میلی‌لیتر)، ازتوباکتر (*Azotobacter chroococcum* PTCC1658) (باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن)، سودوموناس آیروژینوس (*Pseudomonas aeruginosa*) (باکتری حل‌کننده فسفات) (به تعداد 10^8 سلول زنده در هر میلی‌لیتر) و تلقیح سه‌گانه آن‌ها (باسیلوس سوبتیلیس + ازتوباکتر + سودوموناس) در کرت‌های

جدول ۲ - خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 2. Physical and chemical properties of soil at experimental site

اسیدته	هدایت الکتریکی	نیتروژن کل	فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	ماده آلی	شن	سیلت	رس	بافت خاک
			Phosphorus	Potassium	Organic matter	Sand	Silt	Clay	
pH	EC (dS.m ⁻¹)	Nitrogen (%)	(mg.kg ⁻¹)			(%)			Soil texture
7.8	4.48	0.062	21	183	1.86	46.7	30.7	22.5	شنی لومی

سوپرفسفات تریپل) و ۵۰ کیلوگرم در هکتار پتاس (از منبع کود سولفات پتاسیم) برای تیمارهای ۱۰۰ درصد نیاز کودی و نصف این مقدار برای تیمارهای ۵۰ درصد نیاز کودی به خاک افزوده شد. آبیاری اول بعد از کاشت و سپس سه شکنی خاک انجام شد. بعد از برداشت گل‌ها کودهای شیمیایی همزمان با آبیاری دوم به خاک اضافه شد. مصرف کود نیتروژن با مقادیر ذکر شده طی هر سال آزمایش، تکرار شد. در سال دوم بعد از کاشت نیز کودهای زیستی به صورت یکنواخت همراه با آب آبیاری قبل از ظهور گل‌ها در مهرماه به کرت‌های حاوی تیمارهای مربوطه افزوده شد. عملیات زراعی مانند آبیاری، کنترل علف‌های هرز و سه‌شکنی در همه تیمارها به صورت یکسان انجام شد. گل‌های زعفران در اولین ساعات صبح از نیمه مهرماه تا نیمه

کشت در ۱۵ شهریور سال ۱۳۹۴ انجام شد. پيازهای زعفران برای کاشت از شهرستان قاینات تهیه و بنه‌های ۸ تا ۱۰ گرمی انتخاب و پس از آماده‌سازی بستر در کرت‌هایی به ابعاد ۵ × ۱٫۸ متر کاشته شدند. بنه‌ها با تراکم ۶۶ عدد در مترمربع در ردیف‌های ۳۰ سانتی متری با فواصل پنج سانتی متر در عمق ۲۰ سانتی متر با دست کاشته شدند. باکتری‌های ازتوباکتر، سودوموناس و باسیلوس سوبتیلیس به صورت مایع از آزمایشگاه مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه و در سال اول قبل از کشت، تلقیح بنه‌ها با سوسپانسیون آماده باکتری‌های ازتوباکتر، سودوموناس آیروژینوس و باسیلوس سوبتیلیس انجام شد. براساس نتایج آزمون خاک، ۵۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن (از منبع کود اوره)، ۴۰ کیلوگرم در هکتار فسفر (از منبع کود

Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

با توجه به اینکه شاخص‌های عملکرد گل زعفران در سال اول در ارتباط مستقیم با میزان اندوخته غذایی در بنه بوده و فراهمی عناصر غذایی در خاک، به‌ویژه مصرف کودهای زیستی از اهمیت چندانی برخوردار نمی‌باشد (Koocheki et al., 2014)، عملکرد گل زعفران در سال اول تجزیه نشد و نتایج ارائه شده مربوط به سال دوم آزمایش می‌باشد.

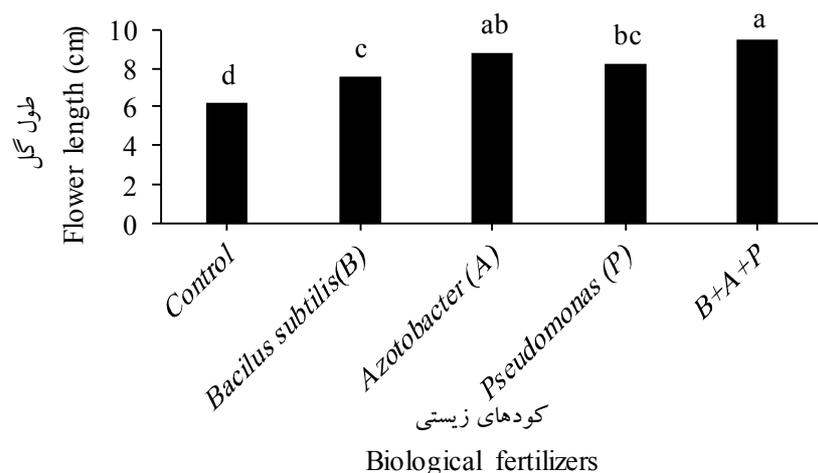
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کودهای زیستی در سطح احتمال یک درصد بر طول گل زعفران معنی‌دار بود و با مصرف کودهای زیستی، طول گل زعفران به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۱). بر اساس نتایج بدست آمده مصرف تلفیقی کودهای زیستی (ازتوباکتر، سودوموناس و باسیلوس سوبتیلیس) باعث افزایش طول گل تا ۵۴ درصد نسبت به شاهد (بدون تلقیح) شد که با تیمار ازتوباکتر به‌تنهایی (۴۳ درصد افزایش نسبت به شاهد) تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۱). نتایج نشان داد که طول گل به فراهمی مواد مغذی مانند نیتروژن و فسفر وابسته است و تثبیت و انحلال آن‌ها توسط باکتری‌ها اثر معنی‌داری بر طول گل دارد. آنچه حائز اهمیت است، تأثیر مثبت کودهای زیستی بر طول گل با افزایش تثبیت نیتروژن است، زیرا طول گل در تیمار ازتوباکتر به‌تنهایی در حد تیمار تلفیقی کودهای زیستی بود و این احتمال وجود دارد که ازتوباکتر با ترشح هورمون‌های رشد، باعث افزایش طول گل شده است. احتمالاً ازتوباکتر باعث افزایش جذب عناصر غذایی از خاک شده و با افزایش جذب عناصر، بهره‌وری آنها نیز افزایش می‌یابد. این موضوع ارتباط میان تغذیه صحیح با رشد گیاه و ترکیبات فیتوشیمیایی آن را نشان می‌دهد. بنا به گزارش حیدری و همکاران (Heidari et al., 2014) به نظر می‌رسد که توانایی ازتوباکتر در تثبیت نیتروژن و

آبان ماه سال ۱۳۹۵، با در نظر گرفتن حاشیه (نیم متر فاصله با هر ضلع کرت)، از کل سطح کرت‌ها برداشت و وزن تر آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس کلاله زعفران از گل‌های برداشت شده جدا و پس از خشکاندن در آون، توزین شد.

جهت اندازه‌گیری ترکیبات کلاله زعفران، محتوای کرووسین (عامل ایجاد رنگ)، پیکروکروسین (عامل ایجاد طعم) و سافرانال (عامل ایجاد عطر)، کلاله‌های مربوط به هر تیمار در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه در آون خشک و سپس توزین و پودر شده و برای تجزیه به آزمایشگاه انتقال داده شد. تجزیه شیمیایی براساس روش ایزو ۳۶۳۲ که استاندارد ملی ایران به شماره ۲-۲۵۹ از آن اقتباس شده است، انجام گرفت. براساس این روش، ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه کلاله پودر شده با استفاده از آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد، سپس ترکیب به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی با دور متوسط همزن مغناطیسی حل شد. در ادامه یک میلی‌لیتر از محلول مجدداً به حجم یک لیتر رسانده و میزان جذب در طیف‌های ۲۵۷، ۳۳۰ و ۴۴۰ نانومتر (به‌ترتیب برای تعیین میزان پیکروکروسین، سافرانال و کرووسین) در دستگاه اسپکتروفتومتر (T80 + UV. Vis; PG Instruments LTD, UK) اندازه‌گیری شد (ISO 3632, 2003). برای محاسبه از رابطه ۱ استفاده شد:

$$E^{1\%}_{1cm} = 10000 \times OD / m (100 - H) \quad (\text{رابطه ۱})$$

$E^{1\%}_{1cm}$: میزان جذب عصاره آبی زعفران و نشان دهنده ضریب خاموشی در طول موج خاص است، OD: جذب ویژه (عدد اسپکتروفتومتر)، m: وزن نمونه بر حسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر و H: مقدار رطوبت کلاله خشک است که معمولاً ۸ تا ۱۰ درصد در نظر گرفته می‌شود (Rohi et al., 2014). داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 تجزیه شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) و شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار 2013



شکل ۱- اثر کودهای زیستی (B: باسیلوس سوبتیلیس، A: ازتوباکتر و P: سودوموناس) بر طول گل زعفران

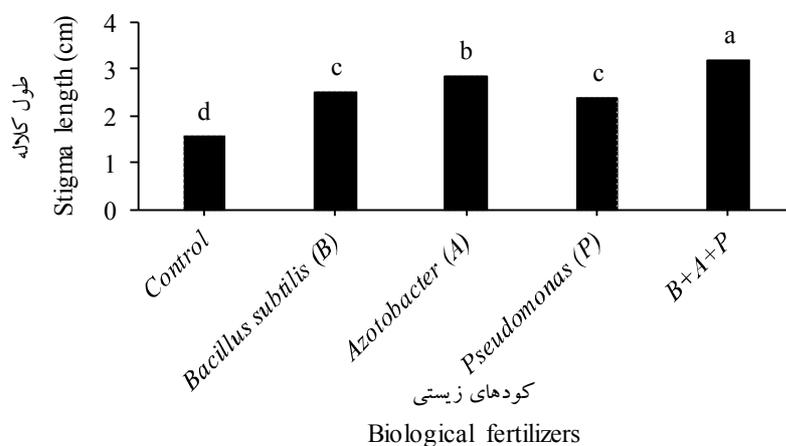
Fig. 1. Effect of biological fertilizers on flower length of saffron (B: *Bacillus subtilis*, A: *Azotobacter* and P: *Pseudomonas*)

افزایش ظرفیت جذب عناصر توسط باکتری‌های محرک رشد می‌باشد. گزارش شده است که ترشح هورمون‌هایی از قبیل جیبرلین، سیتوکنین، اکسین و ایندول ۳-استیک اسید توسط باکتری‌های محرک رشد می‌تواند باعث افزایش رشد و تقسیم سلول شود (Rivandi *et al.*, 2016).

فیوری و همکاران (Fiori *et al.*, 2007) و شرف‌الدین و همکاران (Sharaf- Eldin *et al.*, 2008) نیز تأثیر مثبت تیمار باکتری‌های باسیلوس سوبتیلیس و

توانمندی سودوموناس در کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی و نیز انحلال فسفات‌های نامحلول خاک، باعث افزایش این صفت شده است.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کودهای زیستی و شیمیایی بر طول کلاله معنی‌دار بود و اثر متقابل بین تیمارها بر این صفت معنی‌دار نشد. با مصرف همزمان باسیلوس سوبتیلیس، ازتوباکتر و سودوموناس طول کلاله ۵۱ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت (شکل ۲). این موضوع نشان دهنده اثر

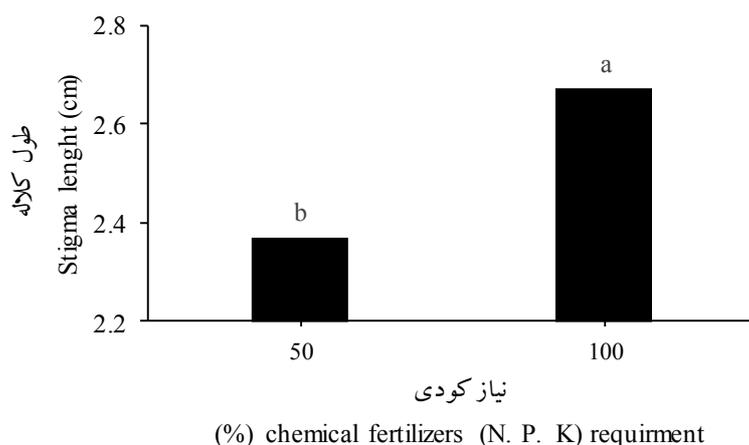


شکل ۲- اثر کودهای زیستی (B: باسیلوس سوبتیلیس، A: ازتوباکتر و P: سودوموناس) بر طول کلاله زعفران

Fig. 2. Effect of biological fertilizers on stigma length of saffron (B: *Bacillus subtilis*, A: *Azotobacter* and P: *Pseudomonas*)

بیشترین طول کلاله (۲/۶۷ سانتی‌متر) در تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده بدست آمد که اختلاف معنی‌داری با تیمار تأمین ۵۰ درصد نیاز کودی داشت. رسولی و همکاران (Rasouli *et al.*, 2015) نیز نتایج مشابهی از افزایش طول کلاله در تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی در مقایسه با تیمار ۵۰ درصد گزارش کردند.

سودوموناس را بر کلیه صفات رویشی و زایشی زعفران گزارش نموده‌اند. بنابراین به نظر می‌رسد که برای تولید کلاله و گل بزرگ‌تر می‌توان از کود زیستی به جای کود شیمیایی استفاده نمود که این موضوع می‌تواند در افزایش دسترسی به نیتروژن موثر واقع شده و موجب افزایش طول کلاله و گل زعفران شود.



شکل ۳- اثر کودهای شیمیایی (N.P.K) بر طول کلاله زعفران

Fig. 3. Effect of chemical fertilizer (N.P.K) on stigma length of saffron

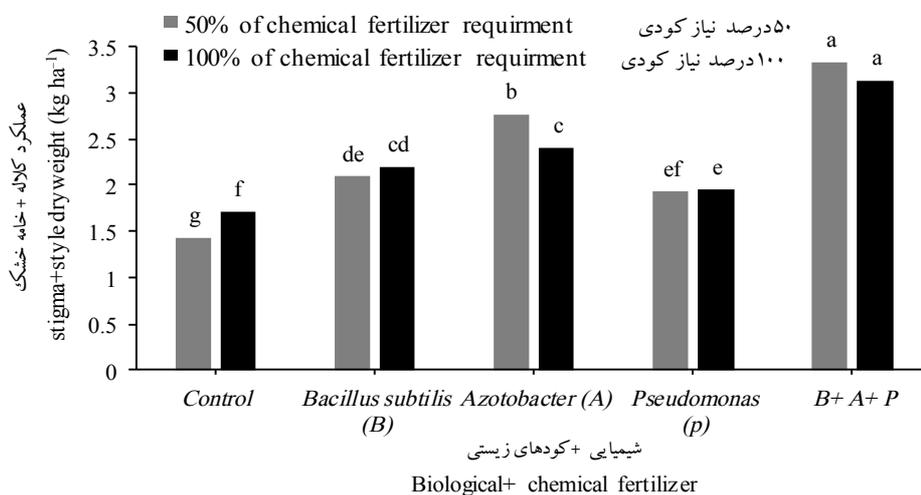
(به ترتیب ۱۳۱ و ۸۲ درصد) نسبت به شاهد (بدون مصرف باکتری) شد. در مقایسه بین تیمارهای کود زیستی، بیشترین عملکرد در تیمار ازتوباکتر با ۵۰ درصد میزان کود شیمیایی توصیه شده بدست آمد (شکل ۴). مقایسه ازتوباکتر در تیمارهای کود شیمیایی نشان داد که کارایی ازتوباکتر در تیمار ۵۰ درصد نسبت به تیمار ۱۰۰ درصد کودی توصیه شده، بیشتر بود که علت آن می‌تواند افزایش کارایی ازتوباکتر در تثبیت بیشتر نیتروژن و تولید برخی هورمون‌ها، سیدروفورها و ویتامین‌ها باشد (Omid *et al.*, 2011). بر اساس این نتایج به نظر می‌رسد که می‌توان همان مقدار افزایش عملکرد زعفران را با مصرف نصف کود شیمیایی مورد نیاز (۵۰ درصد مقدار توصیه شده) در تیمارهای تلقیح

نیتروژن یکی از مهم‌ترین عناصر لازم برای رشد گیاه بوده و افزودن آن به خاک می‌تواند باعث تحریک رشد رویشی و توسعه سلول شود، بنابراین فراهمی سریع و آسان عناصر غذایی توسط کودهای شیمیایی را می‌توان دلیل اصلی افزایش قابل ملاحظه در افزایش طول کلاله زعفران در تیمارهای کود شیمیایی دانست (Alipoor *et al.*, 2014).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کودهای زیستی و اثر متقابل کودهای شیمیایی و زیستی بر عملکرد ماده خشک کلاله و خامه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که تلقیح با باکتری‌های محرک رشد در کنار مصرف کودهای شیمیایی (۵۰ و ۱۰۰ درصد مقدار توصیه شده) باعث افزایش عملکرد (کلاله + خامه خشک)

شیمیایی را به نصف کاهش داده و ضمن افزایش عملکرد زعفران، اهداف کشاورزی پایدار را نیز تامین کرد.

با باکتری‌های محرک رشد در مقایسه با مصرف ۱۰۰ درصد کود شیمیایی بدست آورد. به عبارت دیگر مصرف کودهای زیستی می‌تواند نیاز به کودهای



شکل ۴- عملکرد کلالة + خامه خشك زعفران در برهمکنش تیمارهای کودهای زیستی (B: باسیلوس سوبتیلیس، A: ازتوباکتر و P: سودوموناس) و شیمیایی (N.P.K)

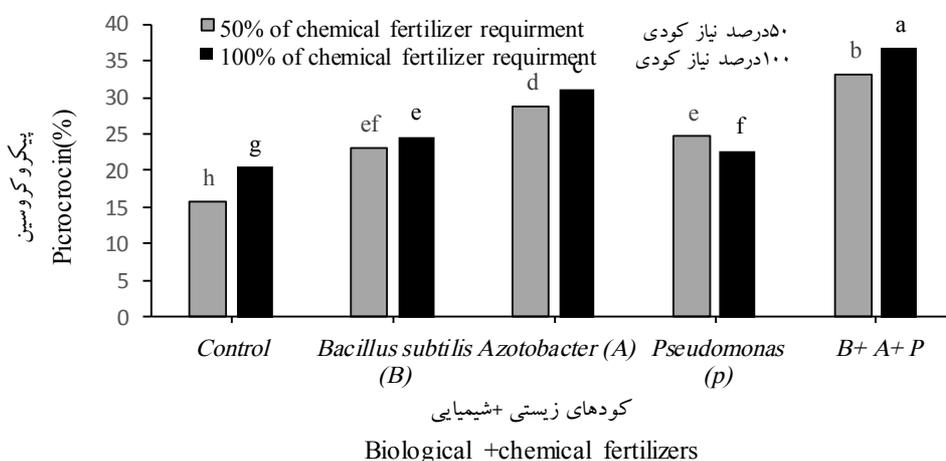
Fig. 4. Stigma + style dry weight of saffron in interaction effect of biological (B: *Bacillus subtilis*, A: *Azotobacter* and P: *Pseudomonas*) and chemical fertilizers (N.P.K)

مربوط به ترکیبات کاروتنوئیدی محلول در آب کلالة است. این ترکیبات، شامل کروستین و رنگدانه‌های کروستینی (حاصل پیوندهای گلیکوزیدی کروستین با واحدهای گلوکز، ژنتیبیوز و نئاپولیتانوز) هستند (Mousavi and Bathaie, 2009).

کودهای شیمیایی بیشترین اثرگذاری را بر محتوای پیکروکروسین کلالة داشت، بنابراین شاید بتوان اظهار داشت که بهترین طعم زعفران در نتیجه مصرف کودهای نیتروژن دار به دست می‌آید. طبق نتایج این آزمایش به نظر می‌رسد که در تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی، مواد غذایی مورد نیاز گیاه با این کود تامین شده است که در نتیجه اضافه نمودن کودهای زیستی، محتوای پیکروکروسین کلالة بیش از آن افزایش نمی‌یابد، ولی با کاستن از مصرف کودهای شیمیایی، مصرف کودهای زیستی باعث افزایش محتوای

کرمانی (Kirmani, 2014) نیز نشان داد که اثر مصرف تلفیقی کودهای شیمیایی و زیستی بر عملکرد کلالة زعفران بهتر از کاربرد منفرد هر یک از آنها بود که این موضوع می‌تواند نشان دهنده اثر مثبت کودهای زیستی بر جذب و افزایش کارایی کودهای شیمیایی مورد استفاده محسوب شود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده و متقابل کودهای زیستی و شیمیایی بر میزان پیکروکروسین کلالة در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای کودی نشان داد که بیشترین میزان پیکروکروسین به ترتیب در تیمار ۱۰۰ درصد نیاز کودی شیمیایی توأم با کودهای زیستی (باسیلوس سوبتیلیس + ازتوباکتر و سودوموناس) و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد (عدم استفاده از کود زیستی) به دست آمد (شکل ۵). شدت رنگ‌دهی زعفران

پیکروکروسین خواهد شد. ضمن اینکه مصرف کود زیستی ازتوباکتر در مقایسه با سایر کودهای مصرف شده، تأثیر بیشتری بر میزان پیکروکروسین کلاله خواهد داشت (Heidari et al., 2014).



شکل ۵ - محتوای پیکروکروسین کلاله زعفران در برهمکنش تیمارهای کودهای زیستی (B: باسیلوس سوبتیلیس، A: ازتوباکتر و P: سودوموناس) و شیمیایی (N.P.K)

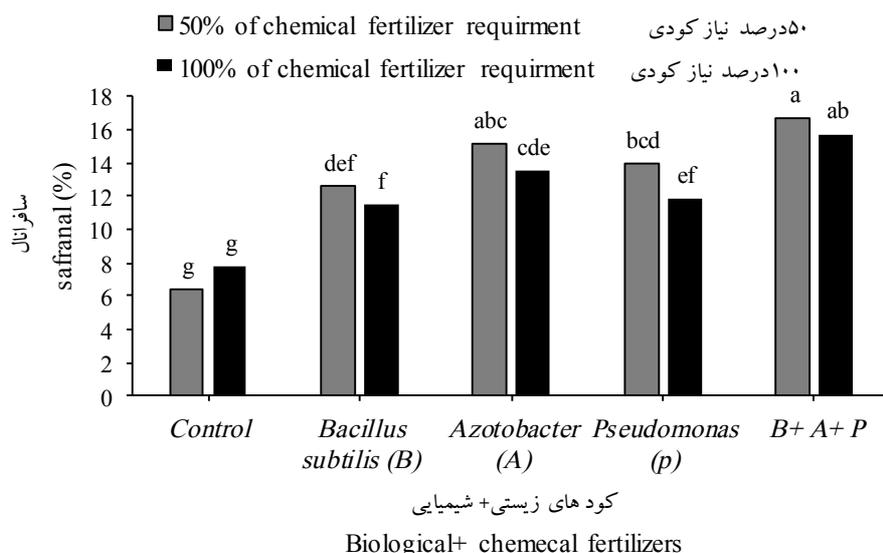
Fig. 5. Picrocrocin content of stigma of saffron in interaction effects of biological (B: *Bacillus subtilis*, A: *Azotobacter* and P: *Pseudomonas*) and chemical fertilizers (N.P.K)

لازم (ATP و NADPH) برای چرخه‌های آن، به نیتروژن وابسته است، بنابراین به نظر می‌رسد که بهترین عطر زعفران در تیمارهای کودهای تثبیت کننده نیتروژن (ازتوباکتر و سودوموناس) به دست می‌آید و احتمالاً تأثیر باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس (به‌تنهایی) بر میزان سافرانال کلاله و عدم تفاوت معنی‌دار آن‌ها با تیمار تلفیقی کودهای زیستی، به علت کارایی بالاتر باکتری‌های ازتوباکتر و سودوموناس در مقایسه با باکتری باسیلوس سوبتیلیس در تثبیت نیتروژن و انحلال فسفر باشد.

اثر تیمار ۵۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده با تیمار ۱۰۰ درصد بر میزان سافرانال کلاله که در یک گروه آماری قرار داشتند، نشان می‌دهد که می‌توان مصرف کود شیمیایی را به نصف کاهش داد، بدون اینکه میزان سافرانال کلاله کاهش معنی‌داری یابد (Heidari et al., 2014). اثر مثبت ازتوباکتر در افزایش

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمارهای کود شیمیایی و کود زیستی بر محتوای سافرانال کلاله در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین میزان سافرانال کلاله در تیمارهای کود زیستی و در سطح کمتر کود شیمیایی به دست آمد (شکل ۶). مقایسه هر کدام از تیمارهای کود زیستی به‌تنهایی نشان داد که بین تیمارهای کود زیستی، ازتوباکتر و باسیلوس با تیمار تلفیقی کودهای زیستی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۶).

اسانس سافرانال ($C_{10}H_{14}O$) یک ترکیب ترپنوئیدی و عامل بو و عطر کلاله زعفران است که در اثر جدا شدن قند از پیکروکروسین که یک ترکیب گلیکوزیدی است، تولید می‌شود (Mousavi and Bathaie, 2009). در بیوستنز ترپنوئیدها ترکیبات فسفردار نقش اساسی دارند، لیکن تأمین انرژی



شکل ۶- محتوای سافرئال کلاله زعفران در برهمکنش تیمارهای کودهای زیستی (B: باسیلوس سوبتیلیس، A: ازتوباکتر و P: سودوموناس) و شیمیایی (N.P.K)

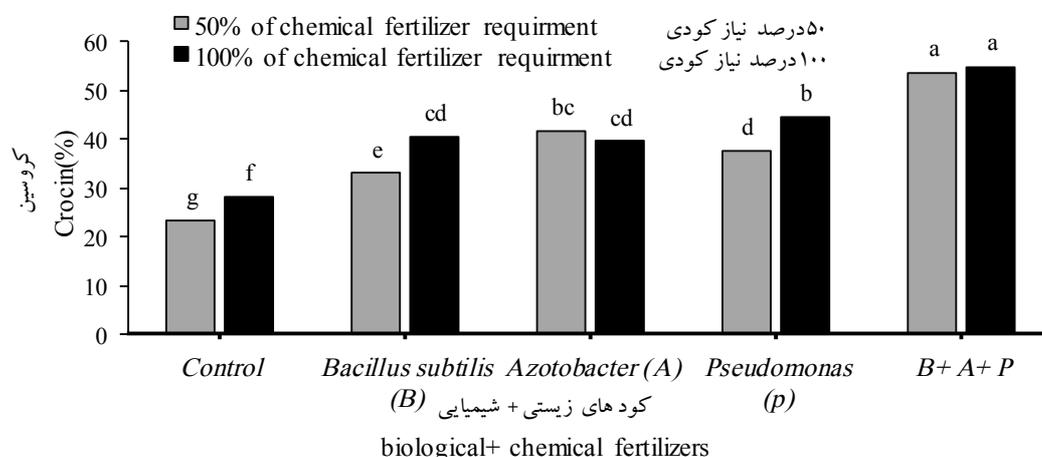
Fig. 6. Safranal content of stigma of saffron in interaction effects of biological (B: *Bacillus subtilis*, A: *Azotobacter* and P: *Pseudomonas*) and chemical fertilizers (N.P.K)

براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی توصیه شده همراه با تیمار تلفیقی کودهای زیستی، باعث تولید بیشترین میزان کروسین شد، ولی با کاهش مصرف کودهای شیمیایی به نصف، در میزان کروسین تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۷). نتایج مقایسه میانگین تیمار ازتوباکتر به تنهایی با تیمارهای کود شیمیایی توصیه شده نشان داد که بیشترین میزان کروسین کلاله در تیمار ۵۰ درصد کودی بدست آمد (شکل ۷). این موضوع می‌تواند به دلیل افزایش کارایی ازتوباکتر در تثبیت نیتروژن باشد. به طور کلی ترکیب کودهای زیستی و شیمیایی نسبت به عدم مصرف کودهای زیستی، می‌تواند با کاهش مصرف کودهای شیمیایی باعث افزایش میزان کروسین کلاله زعفران شود. نتایج تحقیقات نشان داده است که دی‌اکسید کربن و گلوکز به عنوان پیش ماده مناسب برای بیوسنتز اسانس‌ها هستند، بنابراین فتوسنتز و تولید فرآورده‌های فتوسنتزی ارتباط مستقیمی

میزان اسانس و برخی از ترکیب‌های عمده اسانس در گیاه رزماری و مریم‌گلی نیز گزارش شده است. ترکیب اصلی اسانس‌ها ترپنوئیدها هستند که بیوسنتز آن‌ها بستگی به فراهم بودن استیل کوآنزیم آ، ATP و NADPH دارد که خود وابسته به محتوای فسفر معدنی در گیاه هستند (Ghorbanpour *et al.*, 2014). کودهای زیستی در ترکیب با کودهای شیمیایی، می‌توانند بر فراهمی ترکیبات، مواد هورمونی و ویتامین‌های محلول در آب، ایجاد حالت همکاری متقابل با سایر میکروارگانیسم‌ها و تولید ترکیبات اولیه مؤثر در بیوسنتز گلوکوزیدها و تجزیه آن‌ها به ترکیبات ثانویه زعفران، نقش داشته باشد (Naghbi *et al.*, 2012).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر کودهای شیمیایی بر محتوای کروسین کلاله در سطح پنج درصد و اثر کود زیستی و اثرات متقابل تیمارهای کود شیمیایی و کود زیستی بر این شاخص در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود.

با تولید اسانس دارند. به نظر می‌رسد که کودهای زیستی از طریق کمک به جذب نیتروژن و فسفر و نقشی که این عناصر در تولید کلروفیل و تأمین



شکل ۷- محتوای کرو سین کلاله زعفران در برهمکنش تیمارهای کودهای زیستی (B: باسیلوس سوبتیلیس، A: ازتوباکتر و P: سودوموناس) و شیمیایی (N.P.K)

Fig. 7. Crocin content of stigma of saffron in interaction effects of biological (B: *Bacillus subtilis*, A: *Azotobacter* and P: *Pseudomonas*) and chemical fertilizers (N.P.K)

کودهای زیستی به تنهایی یا مصرف توام آن با مقادیر کمتر کود شیمیایی (حداکثر ۵۰ درصد مقدار توصیه شده منطقه)، نتیجه بهتری نسبت به مصرف ۱۰۰ درصد نیاز کودی شیمیایی به تنهایی خواهد داشت. با این وجود، جایگزینی تدریجی کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی، می‌تواند نویدبخش تحقق کشاورزی پایدار و پیشگیری از آلودگی‌های زیست محیطی باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از موسسه تحقیقات خاک و آب کرج و کلیه کارشناسانی که در تهیه کودهای زیستی همکاری داشتند، کمال تشکر را داریم. همچنین از ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرستان اردبیل به ویژه کارشناسان محترم ایستگاه که نهایت همکاری را در اجرای این پژوهش داشتند، کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

آنزیم‌های مورد نیاز گیاه دارند، می‌توانند باعث افزایش بافت‌های فتوستتری و افزایش تولید اسانس شوند (Mohammadpoor *et al.*, 2015).

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که مصرف ترکیبی کودهای زیستی و شیمیایی بر عملکرد و کیفیت گیاه زعفران اثر مثبت و معنی‌داری داشت. در خصوص برخی صفات مانند عملکرد ماده خشک کلاله و خامه، میزان کرو سین و سافرانال، تأمین ۵۰ یا ۱۰۰ درصد نیاز کودی شیمیایی در تلفیق با کودهای زیستی، اثر معنی‌داری بر افزایش این صفات نداشت، بنابراین با در نظر گرفتن ملاحظات زیست محیطی، ترکیب کودهای زیستی با تأمین ۵۰ درصد نیاز کودی شیمیایی مناسب‌تر به نظر می‌رسد. بعلاوه جهت تولید حداکثر عملکرد ماده خشک و کیفیت زعفران در واحد سطح، مصرف

References

- Alipoor Miandehi, Z., S. Mahmoudi, M. A. Behdani and M. H. Sayyari. 2014.** Effect of manure, bio-and chemical fertilizers and corm size on saffron (*Crocus sativus* L.) yield and yield components. *J. Saffron Res.* 1(2): 73-84.
- Armak, A., H. Farzi and M. Alipanah. 2018.** Impact of use of different sources of humic, bio and nano fertilizers and nitrogen levels on saffron (*Crocus sativus* L.) flower yield. *Saffron Agron. Technol.* 5(4): 329-344.
- Chaji, N., R. Khorassani, A. R. Astarai and A. Lakzian. 2013.** Effect of phosphorous and nitrogen on vegetative growth and production of daughter corms of saffron. *J. Saffron Res.* 1 (1): 1-12. (In Persian with English abstract).
- Fageria, N. K., A. Moreira and A. B. Dos Santos. 2013.** Phosphorus uptake and use efficiency in field crops. *J. Plant Nutr.* 36: 2013–2022.
- FAO, 2014.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.faostat.fao.org>.
- Fiori, M., Falchi, G., Quaglia, M., and Cappelli, C. 2007.** Saffron (*CROCUS SATIVUS* L.) diseases in Italy. *Plant Pathology* 89: 27-68.
- Ghorbanpour, M., N. Hosseini, M. Khodaie Motlagh and M. Solgi. 2014.** The Effects of inoculation with *Pseudomonads* rhizobacteria on growth, quantity and quality of essential oils in sage (*Salvia officinalis* L.) plant. *J. Medic. Plants.* 13(4): 89- 100.
- Heidari, Z., H. Besharati and S. M. Farahani. 2014.** Effect of some chemical fertilizer and biofertilizer on quantitative and qualitative characteristics of saffron. *Saffron Agron. Technol.* 2(3):177- 189. (In Persian with English abstract).
- Hokmalipour, S. 2017.** Evaluate the effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and nitrogen fertilizer on yield and some agronomic and physiological traits of medicinal plant of Peppermint (*Mentha piperita* L.). *J. Plant Ecophysiol.* 9(28):133- 144. (In Persian with English abstract).
- ISO/TS. 2003.** Technical Specification Saffron (*Crocus sativus* L.) Ed. ISO, Geneva, Switzerland.
- Karami, A., and A. Sepehri. 2013.** Effects of application of nitroxin and biophosphate on the nutrient use efficiency and harvest index of (*Borago officinalis* L.) under water deficit stress. *J. Agric. Sci. Sustain. Prod.* 23(3): 143- 156.
- Kirmanji, N. A., J. A. Sofi, M. A. Bhat and S. Ansar-Ul-Haq. 2014.** Sustainable saffron production as influenced by integrated nitrogen management in typic hapludalfs of NW Himalayas. *Commun. Soil Sci. Plant Analysis.* 45: 653-668.
- Koocheki, A. 2013.** Research on production of saffron in Iran: Past trend and future prospects. *Saffron Agron. Technol.* 1(1): 3-21. (In Persian with English abstract).
- Koocheki, A. and S. M. Seyyedi. 2015.** Relationship between nitrogen and phosphorus use efficiency in saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by mother corm size and fertilization. *Industrial Crops Prod.* 71: 128–137.

- Koocheki, A., S. M. Seyyedi, H. Azizi and R. Shahriyari. 2014.** The effects of mother corm size, organic fertilizers and micronutrient foliar application on corm yield and phosphorus uptake of saffron (*Crocus sativus* L.). Saffron Agron. Technol. 2: 3–16. (In Persian with English abstract).
- Ministry of Agriculture-Jahad. 2016.** Agricultural Statistics (Vol. 2). Islamic Republic of Iran, Ministry of Agriculture-Jahad, Press. (In Persian).
- Mohammadpoor Vashvaei, R., M. Ghloy, M. Rmroodi and B. Fakheri. 2015.** Effects of drought and inoculation with biofertilizers on growth, yield and essential oil of (*Thymus vulgaris* L.). J. Agroecol. 7 (2): 237- 253. (In Persian with English abstract).
- Mousavi, S. Z, Bathaie S. Z. 2009.** New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. Critic. Rev. Food Sci. Nutr. 50(8): 761-786.
- Naghibi, M. 2012.** The effects of biological and chemical fertilizers sprayed on performance and features corms flower (*Crocus sativus* L.). National Conference on Environment and Plant Production, 6-7 Sep. 2012, Semnan, Iran. (In Persian).
- Omidi, H., H. Naghdi-Badi, A. Golzad, H. Torabi and M. Fotoukian. 2011.** Biological effects of phosphate fertilizer on yield and quality and quantity of saffron. J. Medic. Plants. 30: 4-15. (In Persian with English abstract).
- Rasouli, Z., S. Maleki Farahani and H. Besharati. 2015.** Saffron (*Crocus sativus* L.) yield as affected by different fertilizing systems. Iran. J. Medic. Aroma. Plants. 31(2): 204- 219.
- Rivandi, H., H. Marvi and J. Moeini. 2016.** The effect of soil and foliar application of effective microorganisms on growth characteristics of saffron in the presence of chemical and organic fertilizers. Saffron Agron. Technol. 4(2): 105- 117. (In Persian with English abstract).
- Rohi, M., H. Amirshkari and A. Kordenaeej. 2014.** Effect of corm density and watermelon sowing date as live mulch on quantitative and qualitative yield of saffron (*Crocus sativus* L.). J. Crop Prod. Res. 6(1): 1-17.
- Sepaskhah, A. R. and A. A. Kamgar- Haghghi. 2009.** Saffron irrigation regime. Int. J. Plant Prod. 3: 1-16.
- Sharaf- Eldin, M. A., S. Elkholy, J. A. Fernández, H. Junge, R. D. Cheetham, J. L. Guardiola and P. J. Weathers. 2008.** The effect of *Bacillus subtilis* FZB24 on flowers quantity and quality of saffron (*Crocus sativus* L.). Planta Medica. 74: 1316 – 1320.
- Simpson, R. J., A. Oberson, R. A. Culvenor, M. H. Ryan, E. J. Veneklaas, H. Lambers, J. P. Lynch, P. R. Ryan, E. Delhaize, F. A. Smith, S. E. Smith, P. R. Harvey and A. E. Richardson. 2011.** Strategies and agronomic interventions to improve the phosphorus-use efficiency of farming systems. Plant Soil. 349: 89–120.
- Zhang, N., D. Wang, Y., Liu, S., Li, Q., Shen and R. 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 Soil. 374: 689-700.

Effect of biological and chemical fertilizers on stigma yield and quality of saffron (*Crocus sativus* L.) in climatic conditions of Ardabil

Aalizadeh, M. B.¹, H. Makarian², A. Ebadi³, E. Eizadi Darbandi⁴ and A. Gholami⁵

ABSTRACT

Aalizadeh, M. B., H. Makarian, A. Ebadi, E. Eizadi Darbandi and A. Gholami. 2018. Effect of biological and chemical fertilizers on stigma yield and quality of saffron (*Crocus sativus* L.) in climatic conditions of Ardabil. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 20(1): 16-29. (In Persian).

Biofertilizers are promising in sustainable agriculture as an alternative to chemical fertilizers and increase soil fertility and plant growth. In this study, effects of chemical and biological fertilizers (PGPR) on quality and quantitative traits of saffron were evaluated. A field experiment was conducted as split plots arrangements using randomized complete block design with three replications at Research Farm of Ardebil Agricultural Research Center, Iran during two growing seasons of 2015-2016 and 2016- 2017. Experimental factors were chemical fertilizers NPK (50 and 100% of required chemical fertilizers) assigned to the main plots, and plant growth promoting rhizobacteria including *Azotobacter Chrococum* Sp, *Pseudomonas aeruginosus*, *Bacillus subtilis* and their combination and control treatment randomized subplots. The results indicated that bio- and chemical fertilizers significantly increased flower and stigma length, dry yield of style and stigma and quality traits such as crocin, picocrocine and safranal contents as compared with control. Application of 50% of required chemical fertilizer with application of combined biofertilizer (*A. Sp.*, *P. aeruginosus* and *B. subtilis*) increased dry yield of stigma and style by 57% when compared with control. Also, the same treatment increased picocrocine, safranal and crocin contents with 44, 62 and 47 percent, respectively, in comparison to control. The length of flower and stigma were increased by application of combined bio-fertilizers up to 3.32 and 1.63 cm, respectively, in comparison with control. In conclusion, application of bio-fertilizers can reduce the use of chemical fertilizers and it can be a suitable ecological strategy for achieving sustainable agriculture and reducing environmental effects.

Key words: *Azotobacter*, *Bacillus subtilis*, Stigma yield, *Pseudomonas aeruginosus* and Saffron

Received: November 2017 Accepted: April 2018

1. PhD Student, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
2. Associate Prof. Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
3. Professor, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran (Corresponding author) (Email: ebadi@uma.ac.ir)
4. Associate Prof. Ferdowsi University of Mashhad. Mashhad, Iran
5. Associate Prof. Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran