

تأثیر کود شیمیایی و زیستی نیتروژن بر عملکرد کمی و کیفی زعفران (*Crocus sativus* L.)حشمت امیدی<sup>۱</sup>، حسنعلی نقدی بادی<sup>۲\*</sup>، علی گلزاد<sup>۳</sup>، حسین ترابی<sup>۱</sup>، محمدحسین فتوکیان<sup>۱</sup>

۱- استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران

۲- استادیار پژوهش کشاورزی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، تهران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران

\* آدرس مکاتبه: کرج، کیلومتر ۵۵ جاده تهران قزوین، مجتمع تحقیقاتی جهاددانشگاهی، پژوهشکده گیاهان

دارویی جهاددانشگاهی، صندوق پستی: ۱۴۴۶ - ۱۳۱۴۵

تلفن: ۹ - ۴۷۶۴۰۱۰ (۰۲۶۱)، نمابر: ۴۷۶۴۰۲۱ (۰۲۶۱)

پست الکترونیک: Naghdibadi@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۸/۳/۲۵

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۹

## چکیده

مقدمه: کودهای زیستی در کشاورزی پایدار به عنوان یک جایگزین برای کودهای شیمیایی مطرح هستند و سبب افزایش حاصلخیزی خاک و رشد گیاه می‌شوند. بنابراین، اثر کودهای زیستی بر گیاهان دارویی مهم نظیر زعفران بایستی ارزیابی شود. هدف: تعیین اثر کودهای شیمیایی و زیستی نیتروژن بر عملکرد کمی و کیفی زعفران.

روش بررسی: این مطالعه در منطقه‌ی آبسرد - تهران در سال‌های ۱۳۸۵ 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 (N<sub>۰</sub>)، کود شیمیایی اوره به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (N<sub>۱</sub>)، کود بیولوژیک نیتروکسین به میزان ۵ لیتر در هکتار (N<sub>۲</sub>) و تیمار مصرف تلفیقی کود شیمیایی اوره به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود بیولوژیک نیتروکسین به میزان ۲/۵ لیتر در هکتار (N<sub>۳</sub>) بودند.

نتایج: تیمارهای کودی بر طول کلالة و خامه تازه، طول برگ، تعداد برگ، وزن کورم، عملکرد کلالة و خامه، میزان پیکروسین، سافرنال و کروسین زعفران تأثیر معنی‌داری داشته است (p < ۰/۰۱). اگرچه حداکثر عملکرد کلالة و خامه در تیمار N<sub>۲</sub> (۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) و تیمار N<sub>۳</sub> (تیمار تلفیقی نیتروژن به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود بیولوژیک نیتروکسین به میزان ۲/۵ لیتر در هکتار) حاصل شد، ولی مصرف ۵ کیلوگرم نیتروکسین در هکتار (N<sub>۲</sub>) سبب افزایش حدود ۸۳ درصد عملکرد کلالة و خامه نسبت به تیمار شاهد شده است. تیمار N<sub>۲</sub> (۵ کیلوگرم نیتروکسین در هکتار)، بهترین تیمار از نظر پیکروسین و سافرنال بود. همچنین بیشترین میزان کروسین در تیمار تلفیقی نیتروژن به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود بیولوژیک نیتروکسین به میزان ۲/۵ لیتر در هکتار (N<sub>۳</sub>) حاصل شد.

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

گل‌واژگان: زعفران، نیتروژن، عملکرد، کود زیستی، سافرنال، کروسین، پیکروکروسین



## مقدمه

به منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی در واحد سطح، عملیات زراعی متعددی نظیر مصرف کودهای شیمیایی صورت می‌گیرد. نتیجه این فعالیت‌ها طی سال‌های اخیر بحران آلودگی‌های محیط زیست و به ویژه آلودگی منابع خاک و آب بوده که زنجیره‌وار به منابع غذایی انسان‌ها راه یافته و سلامت جامعه بشری را مورد تهدید قرار داده است. به این منظور تلاش‌های گسترده‌ای با هدف یافتن راهکارهای مناسب برای بهبود کیفیت خاک، محصولات کشاورزی و حذف آلاینده‌ها آغاز شده است. کاهش این مخاطرات زیست محیطی همگام با افزایش عملکرد گیاهان زراعی نیازمند به کارگیری تکنیک‌های نوین زراعی است. از جمله این تکنیک‌ها، بررسی و ارزیابی جامعه زنده و فعال خاک به منظور شناسایی ریزموجودات خاکری سودمند و استفاده از آنها به عنوان کودهای زیستی است. کودهای زیستی (بیولوژیک) شامل مواد نگهدارنده با تراکم زیاد از یک یا چند نوع میکروارگانیسم مفید خاکری و یا به صورت فرآورده متابولیت این موجودات می‌باشند که در ناحیه اطراف ریشه<sup>۱</sup> و یا بخش‌های داخلی گیاه تشکیل کلونی داده و رشد گیاه میزبان را با روش‌های مختلف تحریک می‌کنند [۶]. در بین ریزجانداران خاک که توانایی تبدیل به کود زیستی را دارند می‌توان به باکتری‌های ریزوسفری اشاره نمود. به دلیل وجود ترشحات ریشه‌ای و مواد غذایی فراوان، حضور و فعالیت جامعه زنده میکروارگانیسم‌ها در ریز و سفر بسیار بیشتر از خاک اطراف می‌باشد. کودهای زیستی از باکتری‌ها و هم‌چنین قارچ‌های مفیدی تشکیل شده‌اند که هر یک به منظور خاصی (مانند تثبیت نیتروژن و رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیبات نامحلول) تولید می‌شوند. این باکتری‌ها معمولاً 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 علاوه بر 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

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. از خانواده زنبق<sup>۱</sup>، گیاهی علفی، چند ساله، بدون ساقه و کورم‌دار است. در حال حاضر محصول زعفران یکی از اقلام مهم صادراتی کشور محسوب می‌شود که تنها ۲۰ درصد آن در داخل مصرف و مابقی آن به سایر کشورهای جهان صادر می‌شود. در بازار جهانی، زعفران ایران هر کیلو ۵۰۰ - ۳۵۰ دلار و در حالی که زعفران ممتاز ۱۲۰۰ - ۱۰۰۰ دلار و پودر آن در کشور آمریکا ۶۶۰۰ دلار به فروش می‌رسد [۱]. بدیهی است که با افزایش تولید و توسعه صادرات زعفران به روش صحیح می‌توان درآمد ارزی قابل اطمینانی را برای کشور تامین کرد.

زعفران در طب سنتی به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد و از عصاره و فرآورده‌های آن به عنوان ضداسپاسم، کمک به هضم طبیعی غذا، تسکین‌دهنده ناراحتی‌های لته، ضدآبریزش، آرام بخش، ضدنفخ، افزایش‌دهنده تعریق، خلط‌آور، مقوی معده، محرک تمایلات جنسی و ایجاد قاعدگی زودرس استفاده می‌شود [۲]. هم‌چنین عصاره کلاله و گلبرگ زعفران اثر ضدالتهابی، ضددردی و ضدافسردگی در مدل‌های حیوانی از خود نشان داده است [۳، ۴].

ارزش زعفران [کلاله خشک شده] به علت وجود سه متابولیت ثانویه اصلی و مشتقات آن می‌باشد. ترکیبات زردرنگ کروسین که در آب محلول‌اند، مسؤو رنگ زعفران، ترکیبات تلخ پیکروکروسین مسؤو طعم و سافرانال مسؤو عطر و بوی آن می‌باشد [۴]. ترکیبات گوناگونی از دسته کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها و ترپنوئیدها در کلاله و گلبرگ زعفران شناسایی شده است که از میان آنها می‌توان کروسین، دلفینیدین و سافرانال را نام برد [۵]. ترکیباتی از زعفران که واجد اثرهای فارماکولوژیکی می‌باشند، مواد تلخی هستند که از سافرانال و پیگمان‌های مربوط به کاراتنوئید کروستین مشتق می‌شوند. تجزیه گلوکوزید پیکروکروسین به روش هیدرولیز اسیدی، موجب تولید گلوکز، آگلیکون فرار و سافرانال می‌شود [۵].

<sup>1</sup> Iridaceae<sup>1</sup> Rhizosphere

۸۷ - ۱۳۸۶ در منطقه‌ی آبسرد تهران به اجرا درآمد (جدول شماره ۱).

تیمارهای کودی شامل n<sub>۱</sub> (شاهد یا عدم مصرف کود نیتروژن و بیولوژیک)، n<sub>۲</sub> (کود شیمیایی اوره به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار)، n<sub>۳</sub> (کود زیستی نیتروکسین به میزان ۵ لیتر در هکتار) و n<sub>۴</sub> (ترکیب کود شیمیایی اوره به مقدار ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود زیستی نیتروکسین به مقدار ۲/۵ لیتر 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 بیولوژیک نیتروکسین مورد استفاده در این تحقیق، دارای مجموعه‌ای از موثرترین باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس‌های *Azotobacter/Azospirillum* است که توسط موسسه فن‌آوری زیستی آسیا تولید شده است. سهم هر یک از جنس‌های باکتری در هر میلی‌لیتر نیتروکسین به تعداد (CFU) ۱۰<sup>۸</sup> سلول زنده است.

قبل از کاشت زعفران، 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 طرح 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 شخم مجدد با خاک مخلوط شد.

از آنجایی که انتخاب کورم مرغوب جهت کاشت در ایجاد عملکرد بالا حائز اهمیت است لذا کورم مناسب و یکنواخت (با وزن متوسط ۶ 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.

گیاه<sup>۱</sup> نامیده می‌شوند. این کودها، آلودگی زیست محیطی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی را کاهش داده و موجب احیا و حفظ محیط زیست می‌شوند.

کاپور<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کرده‌اند که هم‌زیستی ریشه رازیانه با دو گونه قارچ VAM به طور معنی‌داری سبب بهبود عملکرد و اجزای عملکرد رازیانه شد [۱۰]. رائی<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۴) نیز در تحقیق خود بر روی گونه‌ای کهور مشاهده کردند که کاربرد باکتری ریزوبیوم، ارتفاع بوته و بیوماس گیاهی را در مقایسه با شاهد افزایش داد [۱۱]. کومار<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۰۱) در تحقیقی بهبود رشد و عملکرد گندم و لین<sup>۵</sup> و همکاران (۱۹۸۳) نیز بهبود رشد و عملکرد ذرت و سورگوم را همگام با مصرف باکتری‌های محرک رشد گزارش کرده‌اند. در زمینه استفاده از کودهای زیستی برای بهبود جذب عناصر و کاهش مصرف کودهای شیمیایی بر روی گیاهان زراعی از قبیل گندم، جو، سیب‌زمینی، چغندرقتد، نیشکر و ذرت و کاهو تحقیقات متعددی انجام شده است [۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴]. 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 گیاه دارویی زعفران و مصارف گسترده آن در صنایع مختلف، این تحقیق در راستای کشاورزی پایدار با هدف حصول عملکرد کمی و کیفی قابل قبول همگام با کاهش مصرف کود شیمیایی انجام شده است که طی آن، تاثیر کودهای بیولوژیک و شیمیایی نیتروژن بر عملکرد کمی و کیفی زعفران ارزیابی شده است.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق با هدف بررسی تاثیر کود شیمیایی و زیستی نیتروژن بر عملکرد و بعضی ویژگی‌های کیفی زعفران در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در سال زراعی

<sup>1</sup> Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

<sup>2</sup> Kapoor

<sup>3</sup> Rai

<sup>4</sup> Kumar

<sup>5</sup> Lin



جدول شماره ۱ - مشخصات اقلیمی منطقه مزرعه تحقیقاتی

بارندگی سالانه (میلی متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	میانگین دمای سالانه (درجه سانتی گراد)
۳۰۹	۵۲° و ۰۷'	۳۵° و ۴۱'	۲۳۳۳	۹

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

کلاس بافت خاک	درصد اجزاء			فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	درصد آهک	شوری (dS/m)	اسیدیته (pH)
	رس	سیلت	شن					
لوم رسی	۲۸	۴۰	۳۲	۱۴۸۳	۱۲۸۰	۲/۶۹	۲/۱۶	۷/۳۵

مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD<sup>۱</sup>) انجام شد.

## نتایج

### تأثیر کود نیتروژن بر ویژگی‌های مرفولوژیک طول کلاله و خامه تازه

مصرف کود شیمیایی و زیستی بر طول کلاله و خامه تازه تأثیر معنی‌داری داشت ( $p < 0/01$ ) و با مصرف این کودها، طول کلاله و خامه به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول شماره ۳ و ۴). بیشترین طول کلاله و خامه تازه در تیمار تلفیقی ۲/۵ لیتر نیتروکسین و ۷۵ کیلوگرم اوره ( $n_4$ ) به دست آمد. جالب آن‌که طول کلاله و خامه در تیمار کودزیستی نیتروکسین ( $n_3$ ) و ۱۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی اوره ( $n_2$ ) تفاوت معنی‌داری نداشت. به هر حال کمترین طول کلاله و خامه تازه بوته در تیمار شاهد یا بدون کود نیتروژن ( $n_1$ ) حاصل شد.

### تعداد برگ در بوته

تعداد برگ کورم از نظر آماری به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای کودی قرار گرفت (جدول  $p < 0/01$ )

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. 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 در موارد لزوم 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، تعداد برگ در بوته و وزن خشک کلاله و خامه (عملکرد برحسب کیلوگرم در هکتار) بود. البته به منظور تعیین عملکرد کمی و کیفی، از هر کرت پس از حذف اثر حاشیه‌ای، ۲ خط برداشت شد. پس از جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی، نمونه‌ها در دمای اتاق و به دور از نور خشک شدند.

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 [۱۶].

داده‌های این مطالعه توسط نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و

<sup>1</sup> Least Significant Difference



جدول شماره ۳- تجزیه واریانس میانگین مریعات ویژگی‌های مورفولوژیک و زراعی زعفران

عسکرد زعفران	وزن گل تازه - بدون کلاله و خامه	وزن کورم	طول برگ	تعداد برگ	طول کلاله و خامه تازه	قطر کورم	درجه آزادی D.f	منابع تغییرات (S.O.V)	تکرار (R)
۱/۸۵۵	۴۰/۳۵۷۱۵۸۳۳	۰/۰۰۸۶۳۳۳۳	۰/۸۲۱۷۷۵۰۰	۱/۱۷۴۳۵۸۳۳**	۰/۰۴۰۳۰۸	۰/۴۲۹۷۵۸۳۳	۲		
۹/۲۳۳۶**	۳۰/۴۵۷۲۲۲۲۲	۰/۰۵۱۲۲۲۲۲**	۱۳/۶۲۵۹۲۲۲۲**	۲/۸۸۹۲۲۲۲۲**	۱/۲۹۳۳۶۴**	۰/۱۹۱۳۴۴۴۴	۳		نوع کود نیتروژن (N)
۰/۴۷۱۸۸۰۵۶	۸۹/۰۹۷۶۱۳۹	۰/۰۱۴۸۵۵۵۶	۰/۵۴۵۷۳۳۸۹	۰/۱۳۳۳۲۵۰۰	۰/۰۹۱۹۹۷۲۲	۰/۲۹۵۳۳۹۴۴	۶		خطای آزمایش (Error)
۱۳/۸۰	۱۳/۷۵	۴/۹۶	۲/۰۵	۶/۸۷	۴/۳۸	۲/۹۷			ضریب تغییرات (CV)%

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

جدول شماره ۴ - مقایسه میانگین اثرات تیمارهای کودی بر ویژگی‌های مورفولوژیک و زراعی زعفران

عملکرد زعفران - کلاله و خامه خشک (kg/ha)	وزن گل تازه - بدون کلاله و خامه (kg/ha)	وزن کورم (gr)	طول برگ (cm)	تعداد برگ	طول کلاله و خامه تازه (cm)	قطر کورم (mm)	نوع کود نیتروژن
۲/۶۰ c	۱۹/۷۸۸	۲/۲۹b	۲۱/۱۵c	۴/۲۲c	۶/۱۰ c	۱۸/۰۰۳ a	شاهد (بدون کود نیتروژن) (n <sub>1</sub> )
۶/۵۹ a	۲۲/۴۰ a	۲/۵۱ab	۲۵/۸۲a	۶/۰۰ a	۶/۸۲۳ b	۱۸/۱۰۰ a	۱۵۰ کیلوگرم اوره (n <sub>2</sub> )
۴/۸۶ b	۲۵/۶۶a	۲/۵۹a	۲۵/۵۰ab	۶/۳۳a	۷/۰۳۷ b	۱۸/۴۰۰ a	۵ لیتر نیتروکسین (n <sub>3</sub> )
۵/۹۵ ab	۱۸/۴۴a	۲/۴۱ab	۲۴/۲۷b	۵/۰۰ b	۷/۶۹۷ a	۱۸/۵۴۳ a	۲,۵ لیتر نیتروکسین+۷۵ کیلوگرم اوره (n <sub>4</sub> )
۱/۳۷۲	۱۸/۸۵۸	۰/۲۴۳۵	۱/۴۷۶	۰/۷۴۰۴	۰/۶۰۶	۱/۰۸۵۸	حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)

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



اوره ( $n_2$ ) و تیمار مصرف تلفیقی کود زیستی و شیمیایی اوره ( $n_4$ ) حاصل شد (جدول شماره ۴). البته مصرف به تنهایی کود بیولوژیک نیتروکسین ( $n_3$ ) سبب افزایش ۸۳ درصدی عملکرد ماده خشک کلاله و خامه نسبت به تیمار شاهد شد و کمترین عملکرد ماده خشک کلاله و خامه در تیمار شاهد حاصل شد (جدول شماره ۴).

### تأثیر کود نیتروژن بر ویژگی‌های کیفی زعفران

#### میزان پیکروکروسین (طعم)

نتایج نشان داد که تیمارهای کودی بر میزان پیکروکروسین تأثیر معنی‌داری ( $p < 0/01$ ) داشت (جدول شماره ۴) و بیشترین میزان پیکروکروسین (حداکثر جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵۴ نانومتر - بر حسب ماده خشک) در تیمار ۵ لیتر نیتروکسین ( $n_3$ ) و کمترین آن در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره ( $n_2$ ) به دست آمد (جدول شماره ۵). جالب آن‌که با مقایسه جذب محلول آبی ۱ درصد زعفران در تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها مشخص است که کود زیستی نیتروکسین بر طعم زعفران (میزان پیکروکروسین) تأثیر مثبت داشته است در حالی‌که کود شیمیایی اوره بر طعم زعفران تأثیر منفی داشته است.

#### میزان سافرانال (عطر)

نوع کود نیتروژن بر میزان سافرانال (جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر - بر حسب ماده خشک) زعفران تأثیر معنی‌داری ( $p < 0/01$ ) داشته است (جدول شماره ۴). بیشترین میزان سافرانال (بالاترین میزان جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر - بر حسب ماده خشک) در تیمارهای ۵ لیتر نیتروکسین ( $n_3$ )، ۱۵۰ کیلوگرم اوره ( $n_2$ ) و تلفیق ۲/۵ لیتر نیتروکسین و ۷۵ کیلوگرم اوره ( $n_4$ ) و کمترین میزان آن در تیمار عدم مصرف کود نیتروژن یا تیمار شاهد ( $n_1$ ) حاصل شد (جدول شماره ۵).

شماره ۳). به طوری‌که بیشترین تعداد برگ کورم در تیمار کود زیستی ۵ لیتر نیتروکسین در هکتار ( $n_3$ ) و تیمار ۱۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی اوره ( $n_2$ ) به ترتیب با ۶/۳۳ و ۶ عدد حاصل شد و کمترین تعداد برگ کورم در تیمار شاهد یا بدون مصرف کود نیتروژن با ۴/۲۲ عدد برگ مشاهده شد (جدول شماره ۴).

### طول برگ

مصرف کود شیمیایی و زیستی بر طول برگ تأثیر معنی‌داری داشت ( $p < 0/01$ ) و با مصرف این کودها، طول برگ به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول شماره ۳). در این تحقیق در تیمارهای ۱۵۰ کیلوگرم اوره (با میانگین طول برگ ۲۵/۸۲ سانتی‌متر) و ۵ لیتر نیتروکسین (با میانگین طول برگ ۲۵/۵۰ سانتی‌متر)، میانگین طول برگ‌ها به طور معنی‌داری نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود (جدول شماره ۴). به هر حال در تیمار شاهد یا بدون مصرف کود نیتروژن (با میانگین طول برگ ۲۱/۱۵ سانتی‌متر)، میانگین طول برگ‌ها نسبت به سایر تیمارها کمتر بود (جدول شماره ۴).

### تأثیر کود نیتروژن بر ویژگی‌های زراعی

#### وزن کورم

نوع کود مصرفی بر وزن کورم‌ها تأثیر معنی‌داری ( $p < 0/01$ ) داشته است (جدول شماره ۳). بیشترین وزن کورم‌ها در تیمار ۵ لیتر نیتروکسین مشاهده شد که از نظر آماری با وزن کورم‌ها در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی اوره و تیمار تلفیقی ۲/۵ لیتر نیتروکسین و ۷۵ کیلوگرم اوره ( $n_4$ ) تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول شماره ۴). کمترین وزن کورم‌ها در تیمار شاهد حاصل شد.

#### عملکرد ماده خشک کلاله و خامه

تیمارهای کودی بر عملکرد ماده خشک کلاله و خامه زعفران در واحد سطح تأثیر معنی‌داری ( $p < 0/01$ ) داشت (جدول شماره ۳) و عملکرد ماده خشک کلاله و خامه با مصرف کودهای شیمیایی و زیستی به طور معنی‌داری افزایش یافت. به هر حال، بالاترین عملکرد در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم کود



میزان کروسین (رنگ)

تیمارهای کودی بر میزان کروسین یا رنگ زعفران (جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر بر حسب ماده خشک) تاثیر معنی داری ( $p < 0.01$ ) داشته است (جدول شماره

۵). بالاترین میزان کروسین در تیمار تلفیقی ۲/۵ لیتر نیتروکسین و ۷۵ کیلوگرم اوره ( $n_4$ ) و کمترین مقدار آن در تیمار عدم مصرف کود نیتروژن ( $n_1$ ) حاصل شد (جدول شماره ۶).

جدول شماره ۵ - تجزیه واریانس میانگین مربعات ویژگی های کیفی زعفران

کروسین	ساقزاتال	پیکروکروسین	درجه آزادی D.F	منابع تغییرات (S.O.V)
جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵۴ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	۲	تکرار (R)
۵۴۷/۹۸۳۶**	۶۱/۸۱۹۰**	۲۵/۵۵۴۱	۳	نوع کود نیتروژن (N)
۳۳۶/۶۰۴۰**	۷/۹۴۶۹**	۱۳/۴۹۷۱**	۶	خطای آزمایش Error
۲/۳۱۵۷۵۶	۰/۸۱۷۱۵۱	۱۶/۸۶۸۲۹		ضریب تغییرات CV %
۰/۸۱۷۱	۱/۸۳۸	۵/۶۵۷		

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول شماره ۶ - مقایسه میانگین اثرات تیمارهای کودی بر ویژگی های کیفی زعفران

کروسین	ساقزاتال	پیکروکروسین	شاهد (بدون کود نیتروژن) ( $n_1$ )
جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵۴ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	
۱۷۴/۰۶۱ c	۴۶۳۳۷ b	۱۳/۵۲۱ ab	
۱۸۵/۶۹۸ b	۴۹/۹۹۱ a	۷۰/۲۴ c	۱۵۰ کیلوگرم اوره ( $n_4$ )
۱۸۵/۲۹۶ b	۴۹/۹۹۴ a	۷۷/۱۶۷ a	۵ لیتر نیتروکسین ( $n_2$ )
۱۹۹/۵۳۷ a	۴۹/۹۹۱ a	۷۰/۸۲۲ bc	۲/۵ لیتر نیتروکسین+۷۵ کیلوگرم اوره ( $n_5$ )
۳/۰۴۰۳	۱/۸۰۶	۶/۲۵۳۱	حد اقل اختلاف معنی دار (LSD)

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون مطابق آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.



همبستگی بین پارامترها

عملکرد ماده خشک کلاله و خامه با قطر کورم، طول کلاله و خامه تازه، طول برگ و وزن گل تازه همبستگی مثبت و معنی داری داشت. هم چنین طول کلاله و خامه تازه با

قطر/وزن کورم همبستگی مثبت و معنی داری داشت (جدول شماره ۷).

در بین صفات کیفی، میزان کروسین با میزان ساقرنال و طول کلاله و خامه همبستگی مثبت و معنی داری داشت (جدول شماره ۷).

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

سافرئال	پیکروکروسین	تعداد برگ	عملکرد خشک کلاله و خامه	وزن گل تازه	طول برگ	طول کورم	وزن کورم	خامه تازه و کلاله	قطر کورم	صفت
۰/۸۰۰۷۶**	-۰/۳۷۸۹۰	-۰/۰۸۳۹۸	۰/۳۷۰۷۱	-۰/۰۴۵۳۱	۰/۲۱۲۰۵	۰/۱۳۰۰۶	-۰/۱۴۱۷۱	۰/۳۵۸۴۹**	-۰/۰۴۵۳۱	طول کلاله و خامه تازه
-۰/۳۸۸۰۱	-۰/۳۸۸۰۱	۰/۱۹۸۷۷	۰/۳۷۸۹	-۰/۳۴۰۰۸	۰/۲۴۷۹۱	۰/۱۱۳۰۶	۰/۳۰۵۸۰	-۰/۳۴۰۰۸	۰/۱۷۰۴۴	وزن کورم
-۰/۰۸۴۰۶	-۰/۰۸۴۰۶	-۰/۰۸۴۰۶	-۰/۰۸۴۰۶	۰/۱۷۰۴۴	-۰/۰۱۴۹۴۷	-۰/۰۴۹۶۱۱	-۰/۰۳۳۸۷	-۰/۰۳۳۸۷	۰/۰۷۱۳۰	طول برگ
۰/۲۸۸۰۰	۰/۲۸۸۰۰	۰/۲۸۸۰۰	۰/۲۸۸۰۰	-۰/۰۱۰۷۲۱	۰/۳۰۲۸۳*	-۰/۰۱۱۴۷	۰/۰۷۱۳۰	۰/۰۷۱۳۰	-۰/۰۴۷۹۱۴	وزن گل تازه
۰/۵۷۱۵۴*	۰/۵۷۱۵۴*	۰/۵۷۱۵۴*	۰/۵۷۱۵۴*	-۰/۰۳۱۱۵۰	-۰/۰۳۱۱۵۰	-۰/۰۳۱۱۵۰	-۰/۰۳۱۱۵۰	-۰/۰۳۱۱۵۰	۰/۲۱۲۲۳*	عملکرد خشک کلاله و خامه
۰/۰۹۹۷۹*	۰/۰۹۹۷۹*	۰/۰۹۹۷۹*	۰/۰۹۹۷۹*	۰/۰۹۹۷۹*	۰/۰۹۹۷۹*	۰/۰۹۹۷۹*	۰/۰۹۹۷۹*	۰/۰۹۹۷۹*	۰/۰۹۹۷۹*	تعداد برگ
۰/۰۷۵۲۸*	۰/۰۷۵۲۸*	۰/۰۷۵۲۸*	۰/۰۷۵۲۸*	۰/۰۷۵۲۸*	۰/۰۷۵۲۸*	۰/۰۷۵۲۸*	۰/۰۷۵۲۸*	۰/۰۷۵۲۸*	۰/۰۷۵۲۸*	تعداد برگ

\* و \*\* به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد





## بحث

نیتروژن توسط کود اوره است و کود زیستی (باکتری‌های محلول‌کننده) تاثیر مثبت و مطلوبی بر رشد داشته است [۵]. به عبارت دیگر، کودزیستی با افزایش جذب نیتروژن و کارایی این عنصر در فرآیند فتوسنتز و تولید سطح سبز نقش به‌سزایی را ایفا نموده است.

بیشترین وزن کورم در تیمار کود زیستی مشاهده شده است (جدول شماره ۴) می‌توان به به تاثیر مثبت کود زیستی بر فراهمی ترکیبات متعدد برای ریشه نسبت داد که موجب افزایش رشد و وزن کورم شده است. زیرا باکتری‌های موجود در کود بیولوژیک نیتروکسین، علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا 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 (IAA)، هم‌چنین ترشح اسیدهای آمینه مختلف، انواع آنتی‌بیوتیک و ... موجب رشد و توسعه ریشه و قسمت‌های هوایی زعفران شده است. این مسأله سبب تولید آسمیلات بیشتر و انتقال آنها به اندام‌های زیرزمینی و کورم زعفران شده است و در نتیجه باعث افزایش وزن کورم در مقایسه با سایر تیمارها (تیمار شاهد و کود شیمیایی) شده است. هم‌چنین برخی از انواع باکتری‌های محرک رشد، آنزیم ACC deaminase را تولید می‌کنند که فعالیت این آنزیم سبب کاهش تولید اتیلن در ریشه گیاه می‌شود و در نتیجه رشد ریشه بیشتر می‌شود [۱۸].

به طور کلی می‌توان بیان کرد که کودهای زیستی نیتروژن با افزایش جذب عنصر نیتروژن [۱۹] توانسته در افزایش رشد اندام‌های هوایی گیاه نقش مثبت داشته باشد. هم‌چنین کود زیستی از طریق ترشحات حل‌کننده باکتری‌ها و کاهش pH توانسته است عناصر مختلف غذایی بیشتری را به صورت محلول در اختیار گیاه قرار دهد [۷، ۱۵] و با تولید بیشتر مواد فتوسنتزی در افزایش تولید موثر واقع شده‌اند [۸].

تیمار نوع کود نیتروژن بر عملکرد زعفران (وزن خشک کلاله و خامه) تاثیر معنی‌داری ( $p < 0/01$ ) داشت و بیشترین عملکرد ماده خشک در مصرف تلفیقی یا به تنهایی کود اوره حاصل شده است. هم‌چنین مصرف به‌تنهایی کودزیستی، ۸۳ درصد افزایش عملکرد نسبت به شاهد را باعث شده است.

نتایج نشان داد که تیمارهای کودی بر طول کلاله و خامه تاثیر معنی‌داری داشته است (جدول شماره ۳) و بیشترین طول کلاله و خامه در تیمارهای حاصل شده که کود زیستی یا شیمیایی مصرف شده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که [۱] برای تولید کلاله و خامه بزرگ‌تر بایستی کود نیتروژن به فرم زیستی یا شیمیایی مصرف شود [۲] برای تامین نیاز گیاه به کود نیتروژن می‌توان از کود زیستی به جای کود شیمیایی استفاده نمود. این مسأله را می‌توان به افزایش دسترسی نیتروژن (نیترات) در هر دو نوع تیمار کودی نسبت داد که در نهایت موجب افزایش طول کلاله و خامه شده است. کاپور و همکاران (۲۰۰۴) و گلیک<sup>۱</sup> (۱۹۹۵)، افزایش رشد اندام‌های هوایی در حضور باکتری‌های موثر بر رشد را قبلاً گزارش کرده‌اند [۱۰، ۱۵] که با نتایج این تحقیق تطابق دارد. اگرچه فراهمی نیترات موجود در انواع کودها در رشد و نمو اندام‌های هوایی تاثیر به‌سزایی داشته است علاوه بر آن در کودزیستی نیتروکسین، فعالیت میکروارگانیسم‌های کود سبب تولید هورمون‌ها به ویژه جیبرلین می‌شوند که در طول کلاله و خامه نمود پیدا کرده است. البته مستندات مبنی بر تولید جیبرلیک اسید (GA) توسط باکتری‌های محرک رشد بسیار کم است [۱۷]، هرچند که برخی از مطالعات نشان داده‌اند که میکروارگانیسم‌های تولیدکننده این هورمون، قادر به تحریک رشد گیاه میزبان خود از طریق سنتز GAS فعال آزاد شده، هستند. گوتیرز-مانرو و همکاران [۱۸] انواعی از GA را شناسایی نمودند که توسط *Bacillus sp.* تولید شده‌اند و تاثیر مثبتی بر بیشتر شدن رشد ریشه و اندام‌های هوایی *Alnus glutinosa* داشته‌اند.

تیمارهای کودی بر تعداد برگ تاثیر معنی‌داری ( $p < 0/01$ ) داشت (جدول شماره ۳) و بیشترین تعداد برگ در تیمار ۵ کیلوگرم کودزیستی نیتروکسین و تیمار ۱۵۰ کیلوگرم کود اوره مشاهده شد (جدول شماره ۴). این مسأله بیانگر نقش موثر کود زیستی در تامین نیتروژن موردنیاز گیاه مشابه تامین

<sup>1</sup> Glick



۱ درصد تأثیر معنی داری داشته است (جدول شماره ۵). نتایج این تحقیق نشان داد که:

- بیشترین میزان پیکروکروسین (طعم زعفران) در تیمار ۵ کیلوگرم کود زیستی نیتروکسین و کمترین میزان پیکروکروسین در تیمار ۱۵۰ کیلوگرم اوره حاصل شده است.

- بیشترین میزان سافرانال (میزان عطر زعفران) در تیمار ۵ کیلوگرم نیتروکسین، ۱۵۰ کیلوگرم اوره و تیمار تلفیقی ۲/۵ کیلوگرم نیتروکسین و ۷۵ کیلوگرم اوره به دست آمده است. به عبارت دیگر، تیمارهای کود زیستی و شیمیایی بر عطر زعفران تأثیر مثبت یکسانی داشته‌اند.

- بیشترین میزان گلوکوزید کروسین (رنگ زعفران) در تیمار تلفیقی ۲/۵ کیلوگرم نیتروکسین و ۷۵ کیلوگرم اوره حاصل شده است (جدول شماره ۶).

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که: اول آن‌که تیمارهای کودی بر کیفیت زعفران تأثیر معنی داری داشته‌اند، دوم آن‌که نوع کود نیتروژن مصرفی بر کیفیت زعفران تولیدی موثر بوده است و کود زیستی بر سه مولفه کیفیت (رنگ، طعم و عطر) تأثیر مثبت داشته است. این مسأله ممکن است به این دلیل باشد که کود زیستی نیتروژن بر فراهمی ترکیبات، مواد هورمونی و ویتامین‌های محلول در آب، ایجاد حالت همکاری متقابل با سایر میکروارگانیسم‌ها و تولید ترکیبات اولیه موثر در بیوسنتز گلوکوزیدها و تجزیه آنها به ترکیبات ثانویه زعفران نقش داشته باشد [۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳].

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که جای مصرف مداوم کود شیمیایی می‌تواند با استفاده بهینه از نهاده‌های بیولوژیک در راستای کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی نیتروژنی مانند اوره گام برداشت.

## نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که نوع کود نیتروژنه بر عملکرد کمی و کیفی گیاه زعفران تأثیر معنی داری داشته است و جهت حصول حداکثر عملکرد ماده خشک و کیفیت زعفران در واحد سطح، مصرف کود زیستی نیتروکسین به تنهایی یا مصرف توأم آن با مقادیر کمتر کود شیمیایی اوره (حداکثر

این نقش کود زیستی را در افزایش عملکرد می‌توان به توانایی این گروه از میکروارگانیسم‌ها در تامین نیاز غذایی گیاه نسبت داد که در بالا بحث شد.

علاوه بر تأثیر غیرمستقیم باکتری‌ها بر جذب عناصر غذایی، میکروارگانیسم‌های کودهای زیستی از روش‌های دیگری نیز بر رشد گیاه تأثیر مثبتی دارند که به برخی از آن‌ها در ذیل اشاره شده است: انواعی از میکروارگانیسم‌ها قادرند سیتوکینین را از پیش ماده آدنین<sup>۱</sup> تولید نمایند [۲۱] و تولید سیتوکینین از آدنین و الکل ایزوپنتیل (IA) در حضور *Azotobacter* و *Pseudomonas* در محیط کشت به اثبات رسیده است [۲۲]. هم‌چنین کاربرد توأم ADE، IA و *Azotobacter* تأثیر معنی داری بر رشد دارد زیرا این باکتری توانایی تبدیل ADE+IA به سیتوکینین قبل از جذب از طریق ریشه گیاه را دارد که در تحقیقی بر روی ذرت در مقایسه با شاهد این مسأله مشخص شده است [۲۳]. هم‌چنین محققین گزارش کردند که ازتوباکتر، آزوسپیریوم و سویه‌های ریزوبیوم قادر به سنتز برخی و یا تمام ویتامین‌های گروه B محلول در آب شامل نیاسین، اسید پنتوتیک، تیامین (B1)، ریبوفلاوین (B2)، سیانوکوبالامین (B12)، پیریدوکسین (B6) و بیوتین در محیط کشت مشخص شده هستند. از طرفی اتصال سیدروفور تولید شده توسط باکتری‌ها به یون آهن و تشکیل کلات آهن، این عنصر غذایی را از دسترس انواع عوامل بیماری‌زای گیاهی خارج کرده و به این ترتیب رشد گیاه را مورد حمایت قرار می‌دهند [۲۴]. برای نمونه، *P. fluorescens* می‌تواند با تولید چنین ترکیباتی به عنوان عامل کنترل‌کننده *Pythium ultimum* عمل کند [۲۵]. بنابراین باکتری‌های موجود در کود زیستی می‌توانند با سایر میکروارگانیسم‌های ریزوسفر اثر هم‌افزایی (سینرژیست) مفیدی بر گیاهان داشته باشند.

درخصوص 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) در سطح آماری

<sup>۱</sup> ADE



نویسندگان کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی در آینده می‌باشد.

نصف مقدار توصیه منطقه) توصیه می‌شود. مهم‌تر آن‌که، جایگزینی کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی،

## منابع

1. Paseban f. Effective factors on exporting Iranian saffron. *The Economic Res.* 2006; 6 (2): 1 - 15.
2. Rios JL, Recio MC, Giner RM and Manez S. An update review of saffron and its active constituents. *Phytother. Res.* 1996; 10: 189 - 93.
3. Karimi G, Hosseinzadeh H, Khaleghpanah P. Study of antidepressant effect of aqueous and ethanolic extract of *Crocus sativus* in mice. *Irn. J. Basic Med. Sci.* 2001; 4: 11 - 15.
4. Hosseinzadeh H, Younesi H. Petal and stigma extracts of *Crocus sativus* L. have antinociceptive and anti-inflammatory effects in mice. *BMC Pharmacol.* 2002; 2, 7.
5. 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.
6. Singh S and Kapoor KK. Inoculation with phosphate solubilizing microorganisms and a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biol. Fertil. Soils.* 1998; 28: 139 - 44.
7. Han HS, Supanjani and Lee KD. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant soil Environ.* 2006; 52 (3): 130 - 6.
8. Kucey RMN. Effect of *penicillium bilaji* on the yield and uptake of P and, micronutrients from soil by wheat. *Canadian J. soil sci.* 1988; 68: 261 - 70.
9. Dokora FD, Matiru V, King M and Phillips DA. Plant growth promotion in legumes and cereals by lumichrome, a rhizobial signal metabolite. In: Finan TM, O'Brain MR, Layzell DB, Vessey K, Newton WE, eds. Nitrogen fixation: global perspectives. Wallingford, UK: CABI publishing, 2002; 321 - 2.
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.
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. Lin W, Okon Y, Hardy RWF. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1983; 45: 1775 - 9.
14. Oda Steenhoudt, Jos Vanderleyden. *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. Rademacher W. Gibberellin formation in microorganisms. *Plant Growth Regul.* 1994; 15:



303 – 14.

**18.** Gutierrez-Manero FJ, Ramos-Solano B, Probanza A, Mehouchi 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.

**19.** 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.

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

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

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

**23.** Nieto KF and Frankenberger WT. Influence of adenine, isopentyl alcohol and *Azotobacter chroococcum* on vegetative growth of *Zea mays*. *Plant. Soil.* 1991; 135: 213 - 21.

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

**25.** 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.

