

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

حسنعلی نقدی‌بادی^۱، حشمت امیدی^{۲*}، علی گلزاده^۳، حسین ترابی^۲، محمدحسین فتوکیان^۴

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، صندوق پستی: ۱۵۹-۱۸۱۵۵

تلفن و دورنگار: ۰۲۱ ۵۱۲۱۳۱۱۳ - ۰۲۱ ۵۱۲۱۳۱۱۳

پست الکترونیک: Heshmatomidi@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۹۰/۹/۲۷

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۲۳

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 نظریر 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 آبرسد - تهران در سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۷ در قالب طرح بلوك‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار و چهار تیمار کودی اجرا شد. تیمارهای کودی شامل شاهد یا بدون مصرف کود فسفره (p_۱)، کود شیمیایی فسفات آمونیوم به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (p_۲)، کود زیستی بارور ۲ به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار (p_۳) 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_۴) 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 < 0.01). اگرچه عملکرد کلاله و خامه در تیمار p_۲ و تیمار p_۴ تفاوت معنی‌داری نداشت، ولی مصرف ۱۰۰ گرم کود زیستی در هکتار (p_۳) علاوه بر حصول بالاترین عملکرد زعفران، سبب افزایش حدود ۱۳/۷٪ درصدی عملکرد کلاله و خامه نسبت به تیمار کود شیمیایی فسفات آمونیوم (p_۲) شده است. تیمار p_۳ ۱۰۰ 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_۴) 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.

گل واژگان: زعفران، فسفر، کود زیستی، سافرانال، کروسین، پیکروسین



مقدمه

در صد کود مصرفی جذب گیاه نمی‌شود و یا در خاک تثیت می‌شود و یا باعث آلودگی محیط زیست و آب‌های راکد و جاری می‌شود. با وجودی که میزان غلظت فسفر موجود در خاک‌های مختلف از ۴۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (ppm) گزارش شده است [۶] ولی گیاهان میزان کمی از آن را به فرم یون فسفات بسته به میزان قلیابی بودن خاک و به ترتیب حلالیت آن به صورت آئیون یک ظرفیتی $H_2PO_4^-$ ، دو ظرفیتی HPO_4^{2-} و سه ظرفیتی PO_4^{3-} جذب می‌کنند [۶,۷]. 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 ریزاسازوارهای حل کننده فسفات است که با رهاسازی تدریجی یون فسفات، نیاز به کودهای فسفاته شیمیایی را کاسته و کارایی آنها را بالا می‌برند. این ریزاسازواره با استقرار در منطقه ریزوفسفر، از ترشحات ریشه استفاده نموده و با تعییر 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 اسیدهای 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، پتابسیم و آهن از ترکیبات نامحلول) تولید می‌شوند. این باکتری‌ها معمولاً

زعفران (Crocus sativus L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی چندساله خانواده زنبق (Iridaceae) 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 پیکرکروسین 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 [۲,۳,۴]. همچنین این عنصر از اجزای مهم تشکیل دهنده RNA، DNA، PNAD، فسفوپروتئین‌ها، فسفولیپیدها، کوآنزیم‌های ADP و ATP (آدنوزین تری فسفات) می‌باشد و در تمام فرآیندهای بیوشیمیایی، سازوکارهای انتقال انرژی و انتقال پیام‌ها نقش اساسی دارد [۵,۶,۷].

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)، تهويه خاک، رطوبت، دما، میزان مواد آلی، مقدار آهن، آلومینیم و منگنز محلول و غیر محلول، نوع ماده حاوی این عنصر، فعالیت ریزاسازواره‌ها و روش‌های زراعی بستگی دارد [۷].

فراآنی کربنات کلسیم خاک‌های نواحی نیمه خشک سبب جذب و تثیت فسفات به سطوح کربنات کلسیم و کاهش میزان دسترسی آن می‌گردد. ظرفیت تثیت فسفر در خاک‌های مختلف با توجه به خصوصیات فیزیکی، شیمیایی، زیستی، اقلیم و مدیریت زراعی متغیر است. به طور کلی، بیش از ۸۰



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، چغندر قند، نیشکر و ذرت و کاهش تحقیقات متعددی انجام شده است [۱۴ - 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 میزان در مراحل مختلف رشد انجام می‌گیرد [۱۵].

با توجه به اهمیت تولید گیاه 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 - ۱۳۸۶ در منطقه‌ی آبرسدن تهران به اجرا درآمد (جدول شماره ۱).

در اطراف ریشه مستقر شده و گیاه را در جذب عناصر همیاری می‌کنند [۷۸، 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 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، ۶].

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 [۶]. 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 با بونه شیرازی تحت تأثیر باکتری‌های حل کننده فسفات افزایش یافت [۲]. کاپور (Kapoor) و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کرده‌اند که هم‌زیستی ریشه رازیانه با دو گونه قارچ (Vesicular Arbuscular Mycorrhiza) VAM معنی داری سبب بهبود عملکرد و اجزای عملکرد رازیانه شد [۱۰]. رای (Rai) و همکاران (۲۰۰۴) نیز در تحقیق خود بر روی گونه‌ای کهور (Prosopis juliflora L.) مشاهده کردند که کاربرد باکتری ریزوبیوم، ارتفاع بوته و بیوماس گیاهی را در

جدول شماره ۱- مشخصات اقلیمی مزرعه تحقیقاتی منطقه آبرسدن تهران

بارندگی سالیانه (میلی متر)	طول جغرافیایی	عرض جغرافیایی	ارتفاع از سطح دریا (متر)	میانگین دمای سالیانه (درجه سانتی‌گراد)
۳۰۹	۵۲° ۷'	۳۵° ۴۱'	۲۳۳۳	۹



خراشیدگی و عاری از هر نوع بیماری) برای کاشت تهیه شد. تیمارهای کودی طی دوره‌ی خواب یا استراحت (واخر 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 ساعت‌های 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 کجلدا، اولسن و فتوомتری اندازه‌گیری شدند [۱۶]. متabolیت‌های ثانویه اصلی کروسین (عامل رنگ)، پیکر و کروسین (عامل طعم) و سافرانال (عامل عطر) به روش اسپکتروفوتومتری طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲ - ۲۵۹ اندازه‌گیری شدند [۱۶].

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

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

کلاس بافت خاک	درصد اجزاء			پتابیل درصد آهک (ppm)	پتابیل درصد جب (ppm)	پتابیل درصد جب (ppm)	پتابیل درصد جب (ppm)	پتابیل درصد جب (ppm)
	رس	سیلت	شن					
لوم رسی	۳۶	۳۹	۲۵	۲/۶۹	۲۴۶	۰/۰۹	۰/۹۱	۰/۷۳
آهک (pH)	۷/۶۲							

تیمارهای کودی شامل p₁ (شاهد یا عدم مصرف کود فسفره شیمیایی و زیستی)، p₂ (کود شیمیایی فسفات آمونیوم به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار)، p_۳ (کود زیستی فسفره بارور ۲ به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار) و p_۴ (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 m × ۲ m × ۷ (۱۴ مترمربع) بود. فواصل ردیف کاشت ۳۰ سانتی‌متر، فاصله بوته روی ردیف نیز ۱۰ سانتی‌متر و عمق کاشت کورمهای 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* و *Pseudomonas putida* strain P5 و *agglomerans* strain P5 است. تعداد اسپور و سلول زنده هر یک از جنس‌های باکتری در هر گرم ماده خشک حدود ۱۰^۸ 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 می‌گردد [۱۱، 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 آنچایی 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



نتايج

و يزگى هاي مرفلولزيكى و زراعي

صرف کود شيميايی و زيسنی بر طول کالله و خامه تازه تأثير معنی داری داشت ($p_{(2)} < 0.01$) و با صرف اين کودها، طول کالله و خامه به طور معنی داری افزایش یافت (جدوال شماره ۳ و ۴). بيشترین طول کالله و خامه تازه در تيمارهای مصرف کود شيميايی ($p_{(2)} < 0.01$) به دست آمد. جالب آنکه طول کالله و خامه در تيمار کود زيسنی بارور ۲ ($p_{(2)} < 0.01$) و ۱۵۰ کيلوگرم کود شيميايی فسفات آمونيوم ($p_{(2)} < 0.01$) تفاوت معنی داری نداشت. به هر حال، بالاترین عملکرد کالله و خامه در تيمار ۱۰۰ گرم کود زيسنی بالاترین عملکرد کالله و خامه در تيمار ۱۰۰ گرم کود زيسنی یافت. به هر حال، بالاترین عملکرد کالله و خامه در تيمار ۱۰۰ گرم کود زيسنی با تيمار بارور ۲ ($p_{(2)} < 0.01$) حاصل شد که از نظر آماری ميزان آن با تيمار مصرف کود شيميايی و زيسنی مصروف تلفيقی فسفر برابر بود ($p_{(2)} < 0.01$). البته مصرف کود زيسنی بارور ۲ ($p_{(2)} < 0.01$) علاوه بر حصول بالاترین عملکرد زعفران، سبب افزایش حدود ۱۳/۷٪ درصدی عملکرد ماده خشك کالله و خامه نسبت به تيمار کود شيميايی فسفات آمونيوم ($p_{(2)} < 0.01$) شده است (جدوال شماره ۴).

تأثير کود فسفر بر ويزگى هاي كيفي زعفران

تيمارهای کودی بر ميزان پيكروکروسین (طعم) تأثير معنی داری ($p_{(2)} < 0.05$) داشت (جدوال شماره ۵) و بيشترین ميزان پيكروکروسین (حداکثر جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵۴ نانومتر - بر حسب ماده خشك) در تيمار ۱۰۰ گرم بارور ۲ ($p_{(2)} < 0.05$) و کمترین آن در تيمار ۱۵۰ کيلوگرم در هكتار فسفات آمونيوم ($p_{(2)} < 0.05$) به دست آمد (جدوال شماره ۶). البته ميزان پيكروکروسين در تيمار شاهد از نظر آماری مشابه تيمارهای کود زيسنی بوده است. بنابراین کود زيسنی بارور ۲ بر طعم زعفران (ميزان پيكروکروسين) تأثير مثبت داشته است و کود شيميايی فسفات آمونيوم بر طعم زعفران تأثير منفي داشته است. اگرچه نوع کود فسفر بر ميزان سافرانال يا عطر (جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر - بر حسب ماده خشك) زعفران از نظر آماری تأثير معنی داری نداشته است (جدوال شماره ۴) ولی بيشترین ميزان سافرانال در تيمارهای کودی ($p_{(2)} < 0.05$ و $p_{(2)} < 0.01$) و کمترین آن در تيمار عدم مصرف کود فسفر يا تيمار شاهد ($p_{(1)} < 0.01$) حاصل شد (جدوال شماره ۶).

صرف کود شيميايی و زيسنی بر طول برگ تأثير معنی داری داشت ($p_{(2)} < 0.05$) و با صرف اين کودها، طول برگ به طور معنی داری افزایش یافت (جدوال شماره ۴). اگرچه ميانگين طول برگها در تيمارهای کودی (شيميايی و زيسنی) از نظر آماری تقاوت معنی داری نداشت اما به طور معنی داری نسبت به تيمار شاهد بيشتر بود (جدوال شماره ۴).

اگرچه تيمارهای کودی بر قطر کورم تأثير معنی داری نداشت (جدوال شماره ۳) ولی بيشترین ميزان قطر کورم در تيمار کود زيسنی فسفره و کمترین آن نيز در تيمار شاهد حاصل شد (جدوال شماره ۴). تيمارهای کودی بر وزن کورمهای تأثير معنی داری ($p_{(2)} < 0.05$) داشت (جدوال شماره ۳) و بيشترین وزن کورمهای در تيمار ۱۵۰ کيلوگرم کود شيميايی فسفات آمونيوم ($p_{(2)} < 0.05$) مشاهده شد که از نظر آماری با وزن کورمهای در تيمار ۱۰۰ گرم بارور ۲ ($p_{(2)} < 0.05$) و تيمار تلفيقی ۵۰ گرم بارور ۲ و ۷۵ کيلوگرم فسفات آمونيوم ($p_{(2)} < 0.05$) تفاوت معنی داری نداشت. کمترین وزن کورمهای در تيمار شاهد ($p_{(1)} < 0.01$) حاصل شد (جدوال شماره ۴).

صرف کود شيميايی و زيسنی بر وزن تازه گل بدون کالله و خامه تأثير معنی داری داشت ($p_{(2)} < 0.01$) و با صرف اين کودها، اين صفت به طور معنی داری تغيير یافت (جدوال شماره ۳ و ۴). بيشترین وزن تازه گل بدون کالله و خامه در تيمارهای مصرف کود به دست آمد. جالب آنکه وزن تازه گل بدون کالله و خامه در تيمار کود زيسنی بارور ۲ ($p_{(2)} < 0.01$) و ۱۵۰

جدول شماره ۳- تجزیه واریانس میانگین مربuat ویژگی های 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**	۷/۸۳*	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	۷/۶۸	۴/۶	۳/۱۷	۱۶/۴۸	۱۲/۹۹*	۸/۱۹

*، ** و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی دار

جدول شماره ۴- مقایسه میانگین اثرات فسفر بر ویژگی های 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 _۱)	۷/۱ b	۲۱/۱۶ b	۲/۳۴ b	۱۷/۷۷ b	۱۵/۰۴ c	۱/۸۵۷ c
۱۵۰ کیلوگرم فسفات آمونیوم (P _۲)	۷/۰۷ a	۲۴/۱۵ ab	۲/۰۹ a	۱۸/۲۹ ab	۲۴/۱۱ ab	۴/۳۷۱ b
۱۰۰ گرم بارور ۲ (P _۳)	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 _۴)	۶/۷۹ a	۲۴/۵۳ a	۲/۴۵ ab	۱۸/۵۳ ab	۲۰/۳۹ bc	۴/۷۷۸ b
حداقل اختلاف معنی دار (LSD)	۰/۳۲	۳/۱۱	۰/۲۲	۱/۱۶	۷/۴۹	۰/۹۷

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

جدول شماره ۵- تجزیه واریانس میانگین مربuat ویژگی های کیفی و محتوی عناصر غذایی زعفران

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی D.f	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)	پیکروکروسین	سافرانال	کروسین	فسفر	پتاسیم	نیتروژن	درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)
تکرار (R)	۲	۹/۸۸	۱۲/۶۶	۱۳۲/۷۸	۰/۴۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۱			
نوع کود فسفر (P)	۳	۷۷/۷۷*	۲۴/۳۴ ns	۳۰۸/۳۲*	۰/۳۱ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۲*			
خطای آزمایش (Error)	۶	۲۶/۶۳	۹/۰۲	۱۱۱/۹۱	۰/۱۴	۰/۰۲	۰/۰۰۶			
ضریب تغییرات CV %	۷/۹۹	۶/۷۶	۵/۶۴	۲۵/۶۶	۱۲/۴۱	۱۷/۷۴				

*، ** و ns به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و غیرمعنی دار



جدول شماره ۶- مقایسه ميانگين اثرات فسفر بر ويژگي هاي كيفي و محتوى عناصر غذائي زعفران

فسفر (درصد)	پتاسيم (درصد)	نيتروزن (درصد)	سافرانال		پيكروكروسين		نوع کود فسفر / ويژگي
			کروسين جذب محلول آبي ۱	درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	جذب محلول آبي ۱	درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	
۰/۴ b	۱/۱۷ a	۱/۱۳ a	۱۷۴/۰۶ b	۴۶/۷۳ b	۷۳/۵۲ ab	(P _۱) (بدون کود فسفر)	شاهد (بدون کود فسفر)
۰/۴۹ a	۱/۲۳ a	۱/۳۱ a	۱۹۲/۱۷ ab	۴۹/۰۷ ab	۷۰ b	(P _۲) (کيلوگرم فسفات آمونيوم)	۱۵۰ گرم بارور ۲
۰/۵۳ a	۱/۴ a	۱/۹۸ a	۱۸۵/۶۱ ab	۴۸/۹۹ ab	۸۰/۳۴ a	(P _۳) (۷۵+۲ کيلوگرم فسفات آمونيوم)	۱۰۰ گرم بارور ۵
۰/۴۱ ab	۱/۱۴ a	۱/۳۶ a	۱۹۷/۶۲ a	۵۰ a	۷۳/۵۲ ab	(LSD) (حداقل اختلاف معنی دار)	۵۰ گرم بارور ۵
۰/۱۵	۰/۳	۰/۷۶	۲۱/۱۳	۶/۰۰	۱۰/۳۱		ميانگين هاي داراي حروف مشترك در هر ستون مطابق آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.

جدول شماره ۷- ضرائب همبستگي ساده پيرسون صفات مورد بررسى آزمایش مزرعه‌اي

صفت	وزن کل تاže بدون کلاله و خامه	قطر کورم	طول کلاله و خامه تاže	۰/۲۷	ماده خشک							پيكروكروسين کورم	وزن کل تاže بدون کلاله و خامه	
					پيكروكرو سين	کروسين	نيتروزن	سافرانال	پتاسيم	کلاله و خامه (عملکرد)	طول برگ	وزن کورم	قطر کورم	
قطر کورم	۱	۰/۲۷	طول کلاله و خامه تاže	۰/۷۱**										طول کلاله و خامه تاže
ماده خشک کلاله و خامه (عملکرد)	۱	۰/۸۵**	۰/۵۵	۰/۸۲**										۰/۸۵**
طول برگ	۱	۰/۵۵	۰/۵۷	۰/۲۵	۰/۳۳									۰/۳۳
وزن کورم	۱	۰/۳	۰/۱	۰/۰۸	-۰/۰۷									۰/۰۷
پيكروكروسين	۱	-۰/۲۸	-۰/۱۷	۰/۰۱	۰/۳۲	۰/۰۹								۰/۰۹
سافرانال	۱	۰/۱۳	۰/۱۴	۰/۴۷	۰/۱۵	۰/۲۴	۰/۳۳	-۰/۱۴						۰/۱۴
کروسين	۱	۰/۳۱	-۰/۱۱	۰/۳۴	۰/۶۳*	۰/۴۱	۰/۶*	-۰/۳۱	۰/۲۶					۰/۲۶
نيتروزن	۱	۰/۰۸	۰/۱۷۲	۰/۳۹۹**	۰/۲۲۷	۰/۰۷۷	۰/۵۴**	۰/۳۴۹**	۰/۳۲*	۰/۷۰۳**				۰/۷۰۳**
پتاسيم	۱	۰/۶۵۵**	۰/۰۱۴	۰/۰۱	۰/۲۰۶	۰/۱۴۴	۰/۱۰۷	۰/۴۷۴**	۰/۲۹*	۰/۲۵	۰/۴۹**			۰/۴۹**
فسفر	۰/۰۹۶	۰/۱۵۹	۰/۳۴۶**	۰/۵۱۲**	۰/۰۸۸	۰/۰۰۷	۰/۱۹۲	۰/۱۷۴	۰/۲۵۴	۰/۰۵	۰/۱۰۹			

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

معنی داری داشته است (جدول شماره ۳) و با اعمال تیمارهای کودی، میزان آنها به طور معنی داری افزایش یافته است. همچنین این تحقیق نشان داد که اگرچه بیشتر صفات مرفوژیکی و زراعی در تیمارهای کود فسفره زیستی و شیمیایی از نظر آماری تفاوت معنی داری با هم نداشتند ولی بیشترین میزان عملکرد اقتصادی (وزن خشک کالله و خامه در هکتار) در تیمار کود زیستی به دست آمده است (جدول شماره ۴). بنابراین می توان نتیجه گرفت که برای افزایش تولید، نیاز به مصرف کود به فرم زیستی یا شیمیایی می باشد و برای تامین نیاز گیاه به کود فسفره می توان 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. فلاحتی و همکاران (۱۳۸۸) در تحقیقی مشابه اعلام کردند عملکرد کیفی و کمی با بونه تحت تأثیر باکتری های حل کننده فسفات افزایش یافت [۲]. همچنین عدم وجود اختلاف معنی دار بین نتایج داده های کود زیستی در مقایسه با کود شیمیایی فسفات در برخی از صفات در تحقیقات جداگانه بر گیاهان برگیاهان کهور [۱۱]، گندم [۱۴]، جو [۱۳]، زعفران [۱]، رازیانه [۱۰] قابل گزارش شده است.

یکی از دلایل افزایش رشد و عملکرد زعفران در تیمارهای کودی می تواند افزایش دستررسی گیاه به عنصر فسفر باشد که میزان فسفر اندام های گیاه این مسئله را نشان داده است و با اعمال تیمارهای کودی، میزان فسفر در گیاه نیز افزایش نشان داده است (جدول شماره ۶). فاتما (Fatma) و همکاران (۲۰۰۶) در آزمایشی گلخانه ای روی گیاه مرزنجوش (*Majorana hortensis* L.) نشان دادند که کودهای بیولوژیک شامل ازتوپاکتر، آزو سپریلیوم و باکتری های حل کننده فسفات روی شاخص های رشدی و میزان اسانس آن اثرات قابل توجهی دارد [۲۴]. نتایج مشابهی توسط سایر محققین به دست آمده است [۱۰، ۱۱، ۱۵].

به هر حال نتایج نشان داد که اکثر صفات مرفوژیکی و زراعی در تیمار کود فسفره شیمیایی و زیستی کودی تفاوت معنی داری نداشتند (جدول شماره ۴) که بینگر نقش مثبت کود فسفره زیستی در فراهمی فسفر مورد نیاز گیاه است که در نهایت موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه زعفران شده است.

تیمارهای کودی بر میزان کروسین یا رنگ زعفران (جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر بر حسب ماده خشک) تأثیر معنی داری ($p < 0.05$) داشته است (جدول شماره ۵). بالاترین میزان کروسین در تیمارهای کودی (شیمیایی و زیستی) و کمترین مقدار آن در تیمار عدم مصرف کود فسفر (p₁) حاصل شد (جدول شماره ۶).

محتوی عناصر غذایی

تیمارهای کودی بر میزان فسفر اندام هوایی زعفران در واحد سطح تأثیر معنی داری ($p < 0.05$) 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 کود زیستی بارور (۲) در تحقیقی فسفر از نظر آماری برابر بود (جدول شماره ۶).

تیمارهای کودی بر میزان نیتروژن و پتاسیم اندام هوایی زعفران در واحد سطح تأثیر معنی داری ($p < 0.05$) 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 ۶).

همبستگی بین پارامترها

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

بحث

نتایج نشان داد که تیمارهای کودی بر طول کالله و خامه، طول برگ، وزن کورم، وزن تازه گل بدون کالله و خامه و همچنین وزن خشک کالله و خامه در واحد سطح تأثیر



ميکروارگانيسمها در ريزوسفر بسيار بيشتر از خاک اطراف می باشد. ترشحات ريشهای شامل تولید و ترشح اسیدهای آلی اعم از مالیک، سوکسینيك، پيروپيونيك، لاكتيك، سيتريک، کتوگلونينيك موثر در حلالیت فسفات‌های معدنی و کم محلول موثر است [۱۹، ۸، ۹].

- علاوه بر تأثير غيرمستقيم باکتری‌ها بر جذب عناصر غذایي، ميکروارگانيسم‌های کودهای زیستی از روش‌های دیگری مانند تولید سیتوکینین از پیش ماده آدنین [۲۰]، تولید سیتوکینین از آدنین و الكل ايزوپنتیل (IA) در حضور *Pseudomonas* و *Azotobacter* [۲۱]، سنتز ویتامین‌های محلول در آب شامل نیاسین، اسید پتوتنيک، تیامین (B1)، ریبوفلافوین (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 ميکروارگانيسم‌های ريزوسفر اثر هم‌افزایی (سینزیست) 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_۲) 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_۳) 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 ۶). با توجه به این نتایج، مشخص است که تیمارهای کودی بر کیفیت زعفران تأثیر معنی‌داری داشته‌اند و تأثیر دو نوع کود فسفر زیستی و شیمیایی بر کیفیت زعفران تولیدی متفاوت بوده است. به هر حال نتایج بیانگر

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 ۶) 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 باشد [۱، ۵].

- ممکن است باکتری‌های موجود در کود زیستی بارور ۲ علاوه‌بر تامین فسفر موردنیاز و متعادل کردن جذب عناصر اصلی پرصرف و ریز مغذی موردنیاز گیاه، با سنتز و ترشح مواد محرك 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 باشد. همچنین برخی از انواع باکتری‌های محرك 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 فتوستزی و افزایش عملکرد شوند [۱۸].

- ميکروارگانيسم‌های 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

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که نوع کود فسفره بر عملکرد کمی و کیفی گیاه زعفران تأثیر معنی داری داشته است و جهت حصول حداقل 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 می شود. مهم تر آنکه، جایگزینی کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی، نویدبخش کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی های زیست محیطی در آینده می باشد.

آن است که کود زیستی فسفر به سبب تاثیر بر فراهمی ترکیبات، مواد هورمونی و ویتامین های محلول در آب، ایجاد حالت همکاری برهمکنش با سایر میکرووارگانیسم ها و تولید ترکیبات اولیه موثر در بیوسنتر 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 می توان با استفاده بهینه از نهاده های زیستی در راستای کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی ناشی از مصرف کودهای شیمیایی فسفری مانند فسفات آمونیوم گام بردشت.

منابع

- 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.
- 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.
- 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.
- Hartemink AE. Nutrient stocks, nutrient cycling, and soil changes in cocoa ecosystems: a review. *Adv. Argon.* 2005; 86: 227 – 53.
- Richardson AE. Prospects for using soil microorganisms to improve the acquisition of phosphorus by plants. *Aust. J. Plant. Physiol.* 2001; 28: 897 – 906.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.** 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 application 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 trial. *Geoderma* 2005; 125: 155 - 66.

