بررسی اثر باکتری باسیلوس سوبتیلیس بر عملکرد اکوتیپ‌ها و صفات مورفوفیزیولوژیک زعفران (*Crocus sativus* L.)

فهیمه صالحی[۱]، میترا اعلایی*[۲]، سید نجم الدین مرتضوی[۳]، سید علیرضا سلامی[۴]، حسن رضا دوست[۵]

[۱،۲و۳] دانشجوی دکتری، استادیار و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

[۴]. دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، البرز، ایران.

[۵]. استادیار، پژوهشکده گیاهان دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول:maelaei@znu.ac.ir

چکیده

یکی از عوامل مهم در افزایش عملکرد زعفران، تعیین نوع و میزان کود برای کشت این گیاه است. به‌منظور بررسی اثر باکتری (*Bacillus subtilis*) بر عملکرد اکوتیپ‌ها و صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران آزمایشی در دو سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۶در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان به صورت طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. تیمار ها شامل غلظت‌های مختلف باکتری باسیلوس سوبتیلیس در ۵ سطح (عدم باکتری،$۱۰^{۸}$،$۱۰^{۶}$، $۱۰^{۵}$،$۱۰^{۲}$cfu/ml) و اکوتیپ‌های زعفران در ۲ سطح (نظنز، زنجان) بودند. صفات مورد ارزیابی شامل صفات مورفولوژیکی (وزن تر و خشک گل، عملکرد تر و خشک کلاله، طول گل و طول دمگل)، صفات فیزیولوژی(کلروفیل کل، آنتی اکسیدان برگ و آنتی اکسیدان گلبرگ) و میزان فسفر برگ بودند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که کاربرد باکتری باسیلوس سوبتیلیس رشد و عملکرد گیاه زعفران را بهبود بخشید و تمامی صفات رویشی و فیزیولوژی گیاه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. بیشترین میزان عملکرد تر و خشک کلاله در تیمار ۱۰۸ cfu/ml (به‌ترتیب ۲/۰۳ و ۰/۴۶ گرم بر متر مربع) و کمترین میزان در تیمار شاهد (به‌ترتیب ۱/۵۵ و ۰/۳۳ گرم بر متر مربع) بدست آمد. همچنین بالاترین میزان فسفر نیز در این غلظت (۲۰۶۱/۶۶ پی‌پی ام) و در تیمار زنجان به دست آمد. بنابراین می‌توان باکتری باسیلوس سوبتیلیس را به‌عنوان یک کود زیستی مناسب در راستای افزایش صفات کمی و کیفی در گیاهان به کار برد.

واژه‌های کلیدی: باکتری باسیلوس سوبتیلیس، زعفران، عملکرد کلاله، فسفر.

مقدمه

زعفران با نام علمی (*Crocus sativus* L.) از خانواده زنبق، گیاهی علفی، چند ساله، بدون ساقه و کورم‌دار است (Rios *et al*., 1996). علیرغم اینکه سهم عمده تولید زعفران جهان به ایران اختصاص دارد، اما نگاهی به آمار تولید زعفران در کشور حاکی از پایین بودن عملکرد در واحد سطح مزرعه نسبت به کشورهایی از قبیل اسپانیا و ایتالیا می‌باشد (Permeh *et al*., 2009). از آن جایی که عملکرد کمی و کیفی زعفران تحت تاثیر عوامل مختلفی از جمله نوع کود و میزان کوددهی می‌باشد (بهدانی و همکاران، ۱۳۸۴). در نتیجه مدیریت صحیح کوددهی یکی از ابزارهای لازم برای برخورداری از یک نظام اگرواکولوژیکی پایدار و پرسود است. در این راستا مطالعه و بررسی تأثیر انواع و مقادیر منابع کودی مختلف ضروری می‌باشد. چون که کودهای شیمیایی پرمصرف‌ترین کودهای موجود در مزارع زعفران می‌باشند و مصرف بی رویه آن‌ها می‌تواند خطرات جدی را برای آب و خاک مناطق کشت ایجاد کند. بنابراین باید از منابع کودی سالم، کم هزینه و در دسترس مانند کودهای زیستی که حاصل از فعالیت میکروارگانیسم‌هاست و در سیستم‌های پایدار مورد توجه قرار گرفته‌اند، استفاده کرد (Nehvi *et al*., 2009; Seneviratne *et al*.,2009). استفاده از جانداران مفید خاکزی تحت عنوان کودهای زیستی، طبیعی‌ترین و مطلوب‌ترین راه حل برای زنده و فعال نگه داشتن سیستم حیاتی خاک و عرضه مواد آلی به خاک می‌باشد (درزی، ۱۳۸۶). این کودها که متشکل از باکتری‌های مفیدی هستند و به طور معمول در اطراف ریشه مستقر می‌باشند، به‌منظور خاصی تولید می‌شوند مانند تثبیت ازت، رهاسازی یون‌های فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیب‌های نامحلول خاک که در نهایت به گیاه در جذب عناصر همیاری می‌کنند. علاوه بر آن باکتری‌ها تنها یک نقش ندارند، می‌توانند در کنار جذب عنصری خاص، باعث جذب سایر عناصر، کاهش بیماری‌ها، بهبود ساختمان خاک و در نتیجه تحریک رشد بیش‌تر گیاه و افزایش کمی و کیفی محصول شوند (ملبویی و همکاران، ۱۳۸۱). طی تحقیق صورت گرفته بر روی علف لیمو مشاهده شد که کاربرد باکتری‌های حل‌کننده فسفات، ارتفاع بوته و بیوماس گیاهی

را در مقایسه با شاهد افزایش داد (Ratti *et al*., 2001). همچنین در پژوهشی دیگر، مشخص گردید که کاربرد این باکتری‌ها در مقایسه با شاهد، موجب افزایش معنی‌دار ارتفاع بوته در گیاه چای می‌گردد (Hazarika *et al*., 2000). در نتیجه با توجه به عدم اطلاعات کافی در زمینه غلظت مناسب باکتری باسیلوس سوبتیلیس به‌عنوان یک کود زیستی، این تحقیق با هدف تعیین غلظت مناسب باکتری و تاثیر آن بر صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه زعفران انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر باکتری (*Bacillus subtilis*) بر عملکرد اکوتیپ‌ها و صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران آزمایشی در دو سال زراعی ۹۸-۹۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان (عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۲۵ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی و در طول ۴۷ درجه و ۱ دقیقه تا ۴۹ درجه و ۵۲ دقیقه شرقی با ارتفاع ۱۶۶۳ متر از سطح دریا) به ابعاد ۱۹/۵×۱۲ متر مربع به‌صورت طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. غلظت‌های مختلف باکتری باسیلوس سوبتیلیس در ۵ سطح (عدم باکتری^{۶}۱۰،^{۸}۱۰، ^{۵}۱۰،^{۲}۱۰cfu/ml) و اکوتیپ‌های زعفران در ۲ سطح (نطنز، زنجان) در نظر گرفته شد. اندازه بنه‌ها در دامنه بزرگ (۸-۱۰ گرم) انتخاب و پس از آماده‌سازی بستر در کرت‌هایی با مساحت ۱/۵×۳ متر مربع کشت شد. غلظت‌های مختلف باکتری به صورت تزریقی در کنار هر بنه در مهر ماه همراه آبیاری اول (بسار آب) اعمال شد. حدود ۱۵ تا ۲۰ روز پس از آبیاری اول، اولین گل‌های زعفران ظاهر شدند. همزمان با شروع گلدهی، گل‌ها به صورت روزانه در ساعات اول روز جمع‌آوری شدند. کلاله‌های جمع آوری شده، به وسیله ترازوی میلی‌گرمی توزین شد. کلاله‌ها در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و به دور از نور مستقیم خورشید در محیط سایه به طور کامل خشک شدند و وزن آن‌ها نیز ثبت گردید و عملکرد تر و خشک کلاله محاسبه شد. وزن تر و خشک تک گل نیز به کمک ترازوی میلی‌گرمی اندازه‌گیری و ثبت شد. اندازه‌ی طول گل و طول دمگل نیز با استفاده از خط کش اندازه‌گیری شد صفات فیزیولوژی نیز شامل: کلروفیل کل برگ به روش Arnon (1967)، آنتی اکسیدان گلبرگ و برگ به روش Brand-Williams *et al* (1995) و میزان فسفر به روش(1954) Olsen *et al* اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

نتایج صفات مورفولوژیکی اکوتیپ‌های زعفران تحت تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اکوتیپ‌های زعفران و تلقیح غلظت‌های مختلف باکتری بر صفت وزن تر و خشک تک گل، عملکرد خشک و تر کلاله و همین‌طور طول گل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). عملکرد تر و خشک کلاله، وزن تر گل و طول گل تحت تاثیر سال اختلاف معنی‌داری را در سطح یک درصد نشان داد (جدول ۱). طول دمگل تحت تاثیر سال کشت در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). اثر متقابل اکوتیپ و باکتری تاثیر معنی‌داری در سطح ۱ درصد روی وزن خشک تک گل و عملکرد خشک کلاله نشان داد (جدول ۱). برهمکنش سال و اکوتیپ بر وزن تر تک گل و عملکرد خشک و تر کلاله در سطح یک درصد معنی‌دار بود، اما بر روی صفت طول دمگل تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). برهمکنش سه جانبه (سال و باکتری و اکوتیپ) بر روی وزن تر تک گل و عملکرد خشک کلاله و طول گل در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول۱- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری *Bacillus subtilis* بر عملکرد اکوتیپ‌ها و صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن‌تر تک گل	وزن خشک تک گل	عملکرد تر کلاله	عملکرد خشک کلاله
تکرار	۲	۲۷۱/۳۵^{ns}	۴۶/۳۶^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۲^{ns}
سال	۱	۲۳۹۱۴۹/۰۶**	۲۷۱۱/۵۲*	۱۲۴/۶**	۷/۰۰۴**
سال×تکرار	۲	۱۹/۴۵^{ns}	۲۸/۹۰^{ns}	۰/۰۰۰۳^{ns}	۰/۰۰۰۲^{ns}
اکوتیپ	۱	۲۹۰۰/۶۵**	۳۲۸/۹۵**	۳۱/۳۰**	۰/۸۷**
باکتری	۴	۱۷۵۶۹/۵۷**	۲۲۲/۰۲**	۰/۴۵**	۰/۰۲**
سال×اکوتیپ	۱	۲۶۴۱۳/۸۲**	۸۶/۹۰*	۲۹/۲۱**	۰/۶۷**
سال×باکتری	۴	۶۸۸/۳۶^{ns}	۲۱/۵۴^{ns}	۰/۲۷**	۰/۰۱**
اکوتیپ ×باکتری	۴	۱۲۰۹/۵۴*	۲۱/۷۳**	۰/۰۴^{ns}	۰/۰۰۶**
سال×اکوتیپ×باکتری	۴	۹۱۵/۶۷*	۲۸/۱۳^{ns}	۰/۰۵^{ns}	۰/۰۰۳*
خطا	۳۶	۳۲۳/۹۴	۱۷/۶۸	۰/۰۲	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات	–	۴/۱۹	۸/۳۳	۹/۶۲	۸/۷۷

**، * و ns به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد

جدول۱- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری *Bacillus subtilis* بر عملکرد اکوتیپ‌ها و صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران

منابع تغییرات	درجه آزادی	طول گل	طول دمگل	کلروفیل کل	آنتی اکسیدان برگ	آنتی اکسیدان گلبرگ	میزان فسفر
تکرار	۲	۰/۶۸^{ns}	۰/۸۰^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۳/۳۴^{ns}	۱۹/۲۳^{ns}	۴۱۰۰/۰۰۲^{ns}
سال	۱	۶۳۹/۳۵**	۰/۸۳*	۰/۰۱^{ns}	۲۵۰۸/۵۴**	۵۸۲/۳۸^{ns}	۷۲۶۰۰۰/۰۰**
سال×تکرار	۲	۳/۳۹*	۰/۴۳^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۲۱/۸۳^{ns}	۱۱۵/۶۰*	۶۰۰۰/۰۰^{ns}
اکوتیپ	۱	۱۴۱/۹۲**	۰/۷۳^{ns}	۰/۰۲^{ns}	۲۷/۶۶^{ns}	۳۵۸/۹۲**	۲۵۳۰۱۴/۰۳**
باکتری	۴	۱۵۳/۱۱**	۲۳/۸۵**	۰/۳۸**	۲۶۷۵/۲۰**	۱۱۸۲/۸۳**	۹۵۴۰۹۶/۷۵**
سال×اکوتیپ	۱	۶۰/۷۲**	۰/۰۳^{ns}	۰/۰۰۷^{ns}	۸۷۱/۸۸**	۲۴۱/۲۴**	۸۰۶۶۶/۶۶**
سال×باکتری	۴	۱/۱۵^{ns}	۱/۸۱*	۰/۰۰۶^{ns}	۳۰۸/۰۹**	۱۶۲/۹۴**	۸۹۱۶/۶۶^{ns}
اکوتیپ ×باکتری	۴	۱/۸۱^{ns}	۱/۷۰*	۰/۰۱^{ns}	۷۶/۲۶^{ns}	۱۵/۰۳^{ns}	۸۹۷۲۹/۸۴**
سال×اکوتیپ×باکتری	۴	۱۴/۳۵**	۰/۷۲^{ns}	۰/۰۰۸^{ns}	۴۱/۸۵^{ns}	۲۲/۵۴^{ns}	۳۱۰۸۳/۳۳**
خطا	۳۶	۰/۹۲	۰/۵۳	۰/۰۱	۳۸/۴۶	۲۴/۲۲	۷۴۸۱/۰۹
ضریب تغییرات	–	۱/۵۵	۳/۰۰	۹/۵۷	۱۶/۶۹	۷/۴۲	۵/۱۸

**، * و ns به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد

کلیه صفات رویشی گیاه زعفران در اثر تلقیح با باکتری به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند (جدول ۲). این آزمایش نشان داد که کاربرد باکتری‌های محرک رشد به عنوان یک کود زیستی باعث اثرات مثبتی بر روی رشد گیاه می‌شود. بیش‌ترین وزن‌تر و خشک تک گل مربوط به غلظت 10^{8} cfu/ml باکتری باسیلوس سوبتیلیس بود که به ترتیب وزن تر تک گل ۴۸۰/۹۴ میلی‌گرم و وزن خشک تک گل ۵۶/۸۷ میلی‌گرم شد (جدول ۲). درواقع کاربرد غلظت بالای باکتری باسیلوس باعث بهبود این صفت گردید (جدول ۲). بیشترین میزان عملکردتر و خشک کلاله نیز در بالاترین غلظت باکتری (به ترتیب ۲/۰۳ و ۰/۴۶ گرم بر متر مربع) و کمترین در شاهد (به‌ترتیب

۱/۵۵ و ۰/۳۳ گرم بر متر مربع) مشاهده شد (جدول ۲).کاربرد باکتری باسیلوس سوبتیلیس تا حدود زیادی صفت طول گل و طول دمگل را بهبود بخشید (جدول ۲). بیش‌ترین میزان صفات رویشی در سال دوم و بر روی اکوتیپ زنجان مشاهده شد به‌طوری که طول گل و دمگل در اکوتیپ زنجان به ترتیب ۶۳/۶۱ و ۲۴/۵۵ سانتی‌متر ولی در نظنز به‌ترتیب ۶۰/۵۴ و ۲۴/۳۳ سانتی‌متر شد(جدول ۲). با توجه به این موضوع که باکتری‌های محرک رشد در تولید هورمون اکسین نقش دارند. به نظر می‌رسد با افزایش میزان اکسین تولیدی توسط باکتری، با افزایش انبساط‌پذیری یاخته‌ها و همچنین افزایش غالبیت انتهایی موجب افزایش ارتفاع و طول گیاه می‌شود. با افزایش ارتفاع بوته، شمار برگ‌ها و اندام‌های رویشی گیاه نیز افزایش یافته در نتیجه افزایش عملکردتر و خشک گیاه را سبب می‌گردد (Ehteshami *et al*., 2013). افزایش عملکرد دانه گندم در پی کاربرد بهنگام باکتری‌های حل کننده فسفات در این آزمایش به طور کامل تایید می‌شود. افزایش رشد و عملکرد گیاه گندم در پی کاربرد باکتری‌های (*Pseudo monassp*)، (*Pseudomonas putida*) و (*Bacillus megaterium*) دیده شده است(Marulanda *et al*., 2009). Kapoor *et al*. (2004) افزایش رشد اندام‌های هوایی در حضور باکتری‌های موثر بر رشد را قبلاً گزارش کردند. در واقع انواعی از جیبرلیک اسید شناسایی شده که توسط *Bacillus sp*. تولید می‌شوند و تاثیر مثبتی بر بیشتر شدن رشد اندام‌های هوایی دارند.

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری *Bacillus subtilis* بر عملکرد اکوتیپ‌ها و صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران.

سال	وزن تر تک گل (mg)	وزن خشک تک گل (mg)	عملکرد تر کلاله (gr/m^2)	عملکرد خشک کلاله (gr/m^2)	طول گل (cm)
سال اول	۳۶۵/۵۴^{b}	۴۳/۷۲^{b}	۰/۳۳^{b}	۰/۰۶^{b}	۵۸/۸۱^{b}
سال دوم	۴۹۱/۸۰^{a}	۵۷/۱۶^{a}	۳/۲۲^{a}	۰/۷۴^{a}	۶۵/۳۴^{a}
اکوتیپ					
نظنز	۴۲۱/۷۲^{b}	۴۲/۷۸^{a}	۲/۵۰^{a}	۰/۵۲^{a}	۶۰/۵۴^{b}
زنجان	۴۳۵/۶۲^{a}	۴۸/۱۰^{b}	۱/۰۵^{b}	۰/۲۸^{b}	۶۳/۶۱^{a}
باکتری					
۰Cfu/ml	۳۷۸/۴۶^{d}	۴۵/۴۹^{d}	۱/۵۵^{c}	۰/۳۳^{c}	۵۶/۶۵^{e}
۱۰^{۲}Cfu/ml	۴۰۹/۷۰^{c}	۴۸/۰۱^{cd}	۱/۶۳^{c}	۰/۳۸^{b}	۶۱/۰۱^{d}
۱۰^{۵}Cfu/ml	۴۳۰/۰۲^{b}	۴۹/۹۶^{bc}	۱/۷۸^{b}	۰/۴۰^{b}	۶۲/۵۴^{c}
۱۰^{۶}Cfu/ml	۴۴۴/۲۴^{b}	۵۱/۸۷^{b}	۱/۸۸^{b}	۰/۴۳^{a}	۶۴/۰۷^{b}
۱۰^{۸}Cfu/ml	۴۸۰/۹۴^{a}	۵۶/۸۷^{a}	۲/۰۳^{a}	۰/۴۶^{a}	۶۶/۱۲^{a}

میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری *Bacillus subtilis* بر عملکرد اکوتیپ‌ها و صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران.

سال	طول دمگل (cm)	کلروفیل کل (mg/gr Fw)	آنتی اکسیدان برگ (mg/g Fwt)	آنتی اکسیدان گلبرگ (mg/g Fwt)	میزان فسفر (ppm)
سال اول	۲۳/۶۲^{b}	۱/۳۰^{a}	۳۰/۶۷^{b}	۶۳/۱۶^{a}	۱۵۵۷/۹۷^{b}
سال دوم	۲۵/۲۷^{a}	۱/۳۳^{a}	۴۳/۶۰^{a}	۶۹/۳۹^{a}	۱۷۷۷/۹۷^{a}
اکوتیپ					
نظنز	۲۴/۳۳^{a}	۱/۳۰^{a}	۳۷/۸۱^{a}	۶۸/۷۲^{a}	۱۶۰۳/۰۴^{b}
زنجان	۲۴/۵۵^{a}	۱/۳۴^{a}	۳۶/۴۵^{a}	۶۳/۸۲^{b}	۱۷۳۲/۹۱^{a}
باکتری					
۰Cfu/ml	۲۲/۳۸^{d}	۱/۱۱^{c}	۱۹/۰۸^{e}	۵۲/۴۴^{e}	۱۳۱۴/۴۲^{e}
۱۰^{۲}Cfu/ml	۲۳/۹۳^{c}	۱/۲۱^{bc}	۲۸/۵۶^{d}	۶۱/۶۶^{d}	۱۵۳۳/۴۷^{d}
۱۰^{۵}Cfu/ml	۲۴/۷۳^{b}	۱/۲۷^{b}	۳۵/۰۶^{c}	۶۶/۵۴^{c}	۱۶۲۷/۱۵^{c}
۱۰^{۶}Cfu/ml	۲۵/۰۱^{b}	۱/۴۷^{a}	۴۵/۳۲^{b}	۷۲/۴۸^{b}	۱۸۰۳/۱۸^{b}
۱۰^{۸}Cfu/ml	۲۶/۱۸^{a}	۱/۵۴^{a}	۵۷/۶۵^{a}	۷۸/۲۴^{a}	۲۰۶۱/۶۶^{a}

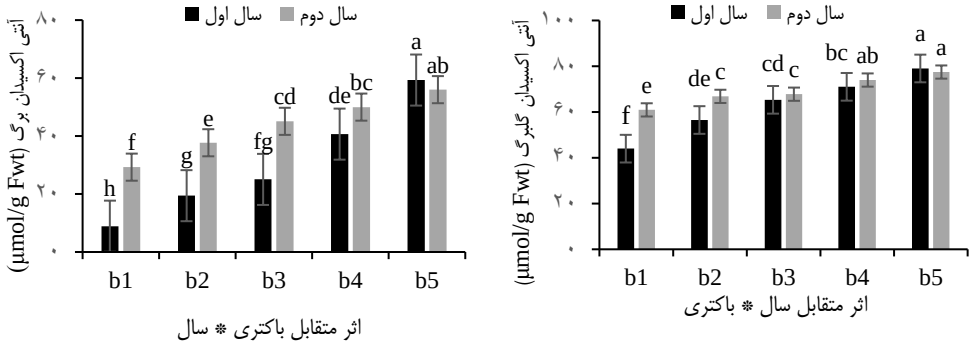
میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

کلروفیل کل

براساس جدول تجزیه واریانس کلروفیل کل تحت تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). اما تحت تاثیر اکوتیپ و یا سال و اثر متقابل آن‌ها معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱). بیشترین میزان کلروفیل که در غلظت cfu/ml ۱۰ ۸ (mg/gr Fw ۱/۵۴) و کمترین آن در شاهد(عدم کاربرد باکتری) (mg/gr Fw ۱/۱۱) مشاهده شد. نتایج تحقیق نعمتی و همکاران (۱۳۹۴) بیانگر آن بود که استفاده از کود زیستی افزایش غلظت کلروفیل را در برگ چای ترش به همراه داد که با نتایج آزمایش ما هم‌خوانی داشت. همین‌طور Kennedy و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که در گندم تلقیح شده با باکتری غلظت کلروفیل و میزان فتوسنتز افزایش یافت. گیاهان تحت تاثیر باکتری‌ها به‌طور قابل ملاحظه‌ای میزان جذب عناصر فسفر، پتاسیم و ازت را در استرومای برگ و تیلاکوئید بالا برده که به دنبال آن عملکرد محوری در بیوسنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی بیشتر می‌گردد (Hong *et al*., 2010).

آنتی اکسیدان برگ و گلبرگ

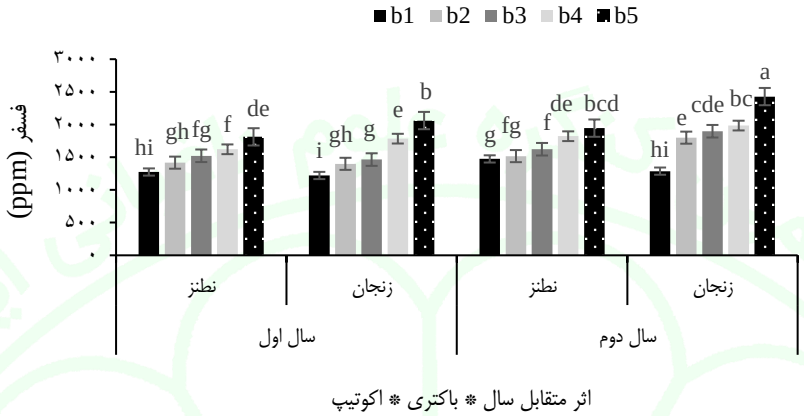
در طول دو سال آزمایش بین اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری برای صفت آنتی‌اکسیدان گلبرگ مشاهده گردید. همین طور اثرات متقابل سال × اکوتیپ و سال × باکتری برای هر دو صفت در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری بر روی صفات آنتی اکسیدان برگ و گلبرگ معنی‌دار شد به طوری که بیشترین میزان این صفات در غلظت cfu/ml ۱۰ ۸ مشاهده شد که به ترتیب ۵۷/۶۵ و ۷۸/۲۴ (mg/g Fwt) حاصل گردید. میزان آنتی‌اکسیدان‌ها ارتباط مستقیمی با غلظت عناصر کم مصرف دارد. لذا به نظر می‌رسد که کودهای زیستی با تولید اسیدهای آلی و تغییرات pH در اطراف ریشه گیاه و به دنبال آن افزایش حلالیت عناصر کم مصرف و جذب بالاتر آن توسط گیاهان موجب بیشتر شدن قدرت آنتی اکسیدانی در گیاهان می‌شوند (Zare *et al*., 2019).



شکل ۱- اثر متقابل سال و باکتری باسیلوس سوبتیلیس بر میزان آنتی اکسیدان برگ و گلبرگ گیاه زعفران.
(b1=0, b2= 10^2, b3= 10^5, b4= 10^6, b5= 10^8 cfu/ml)

میزان فسفر

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف باکتری در سطح یک درصد، همچنین اثر سال کشت و اکوتیپ بر میزان فسفر برگ معنی‌دار شد. همینطور اثر متقابل دو جانبه (سال × اکوتیپ، اکوتیپ × باکتری) و اثر متقابل سه جانبه (باکتری × سا ل × اکوتیپ) بر روی این میزان فسفر برگ گیاه زعفران معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین میزان فسفر تحت تاثیر غلظت cfu/ml ۱۰ ۸ مشاهده شد که ppm ۲۰۶۱/۶۶ بود و در بین اکوتیپ‌ها نیز مربوط به اکوتیپ زنجان شد که میزان فسفر در آن ۱۷۳۲/۹۱ می‌باشد (شکل ۲). تلقیح کودهای زیستی منجر به افزایش میزان فسفر در چای ترش شد (نعمتی و همکاران، ۱۳۹۴). Abo-Baker and Mostafa (2011) در بررسی‌های خود روی چای ترش دریافتند که تلقیح بذرها با باکتری‌های آزوسپریلیوم (تثبیت‌کننده نیتروژن) و باسیلوس (تثبیت‌کننده فسفات) میزان فسفر و پتاسیم را در گیاه افزایش می‌دهد. باکتری‌ها با آزاد کردن اسیدهای آلی و کاهش pH خاک و یا کلاته کردن یون‌های کلسیم باعث تثبیت فسفر در خاک و افزایش جذب این عناصر می‌گردند. که در این راستا طبق بررسی های انجام شده توسط Mehboob *et al*. (2009) گزارش شد که باسیلوس از مهم‌ترین باکتری‌های حل کننده فسفات می‌باشد.



شکل ۲- اثر متقابل سال و باکتری باسیلوس سوبتیلیس و اکوتیپ بر میزان فسفر برگ گیاه زعفران.

(b1=0, b2= 10^2, b3= 10^5, b4= 10^6, b5= 10^8 cfu/ml)

منابع

درزی، م.ح. ۱۳۸۶. بررسی تاثیر کودهای زیستی بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی رازیانه به منظور دستیابی به یک سیستم زراعی پایدار. رساله دکتری زراعت. دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.

صفاری، ع.ر.، جلینی، م.، آرین نژاد، م.ر. و اسماعیل زاده، ح. ۱۳۸۸ . بررسی تبدیل ضایعات آلی مختلف (شامل کمپوست زباله، برگ و مقوای خرد شده و کود گاوی) با استفاده از کرم خاکی به ورمی کمپوست .اولین همایش ملی اصلاح الگوی مصرف با محوریت منابع طبیعی، کشاورزی و دامپزشکی، دانشگاه زابل ۱۴۶۱: ۲۷-۲۹.

عاطفی، م.، تسلیمی، ا.، حساس، م.ر. و مظلومی، م.ت. ۱۳۸۳ بررسی اثرات خشک کردن انجمادی بر ویژگی های کیفی زعفران. علوم و صنایع غذایی ایران. (۲): ۴۹-۴۱.

ملبویی، م.، اولیا، ع.پ.، شریفی، م. ساروخانی، ا.، ورنی، ح.، یخچالی، ب.، بهبهانی، م.، دلجو، ع.، مرادی، م.، نوشاد، ح.، حسن آبادی، ح.، رزاقی، ر. و مرادی، س. ۱۳۸۱. گزارش طرح ملی افزایش میزان فسفات قابل جذب برای گیاه سیب‌زمینی از طریق معرفی سویه‌های مناسب ارگانیسم‌ها. جهاد دانشگاهی دانشکده علوم دانشگاه تهران. میکروبیولوژی کاربردی.

نعمتی، م.، دهمرده، م.، خمری، ع. و نجاتی یزدی‌نژاد، م. ۱۳۹۴. تاثیر کاربرد کودهای زیستی و کود دامی بر عملکرد اقتصادی و ویژگی‌های کیفی چای ترش (*Hibiscus sabdariffa* L.). دوماهنامه علمی- پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۳۱، شماره (۴): ۶۱۰-۶۲۵ .

Abo-Baker, A.A., Mostafa, G.G. 2011. Effect of bio-and chemical fertilizers on growth, sepals yield and chemical composition of *Hibiscus sabdariffa* at new reclaimed soil of south valley area. Asian Journal of Crop Science, 3: 16-25.

Ahmad, M., Zaffar, G., Mir, S.D., Razvi, S.M., Rather, M.A., Mir, M.R. 2011. Saffron (*Crocus sativus* L.) strategies for enhancing productivity. Research Journal of Medicinal Plant, 5(6): 630-649.

Arnon, A. N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23:112-121.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, Lebensmittel Wissenschaft und Technologie, 28:25-30.

Crespo, J.M., Boiardi, J.L., Luna, M.F. 2011. Mineral phosphate solubilization activity of *Gluconacetobacter diazotrophicus* under P-limitation and plant root environment. Agricultural Sciences 2011 Vol. 2 No. 1 pp. 16-22.

Ehteshami, S. M. R., Hakimian, F., Yousefi Rad, M., Chaichi, M. R. 2013. Effect of Integrated management of phosphorus fertilizer on grain yield and its components in two varieties of winter barley. *Pajohesh and Sazandegi*, 101, 193-201. (in Farsi).

Hazarika, D.K., Taluk Dar, N.C., Phookan, A.K., Saikia, U.N., Das, B.C., Deka, P.C. 2000. Influence of vesicular arbascular mycorrhizal fungi and phosphate solubilizng bacteria on nursery establishment and growth of tea seedlings in assam. Symposium no. 12, Assam Agricultural University, Jorhat- Assam, India.

Hong, L., Li, M., Luo, J., Cao, X., Qu, L., Gai, Y., Jiang, X., Liu, T., Janz, H., Bai, D., Polle, A., Peng, C. and Luo, ZB. (2012). fertilization has different effects on the growth, carbon and nitrogen physiology, and wood properties of slow- and fastgrowing *Populus* species. Journal of experimental botany. 63; 6173–6185.

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

Kennedy, I.R., Choudhury, A.T.M.A., Kecskes, M.L. 2004. Non- symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? Soil Biology & Biochemistry, 36(8): 1229-1244.

Mehboob, I., Naveed, M. and Zahir, Z.A. (2009). Rhizobial association with non-legumes: Mechanismsand application, *Critical Reviews in Plant Science*, 28, 432-456.

Marulanda, A., Bareal, J.M., Azcón, R. 2009. Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM Fungi and Bacteria) from dry environments: Mechanisms related to bacterial effectiveness. Journal Plant Growth Regulation. *28, 115-124*

Nehvi, F.A., Khan, M.A., Lone, A.A., Maqhdoomi, M.I. 2009. Impact of microbial inoculation on growth and yield of saffron in Kashmir. 3rd International Symposium on Saffron: Forthcoming Challenges in Cultivation, Research and Economics, Krokos, Greece. 20-24 May: 171-174.

Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanabe, F.S., Dean, L.A. 1954. Estimation of Available Phosphorous in Soils by Extraction with Sodium Bicarbonate; U.S. Department of Agriculture: Washington, D.C., USDA Circ. 939.

Permeh, Z., Hosseini, M.R., Nabizadeh, A. Mohebbi, H.R. 2009. Export potential and goal markets of Iran saffron. *Iranian Journal of Trade Studies*, 51, 59-95. (In Farsi)

Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N., Gautam, S.P. 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii var. motia* by *rhizobacteria*, AMF and *Azospirillum* inoculation. Microbiological Research, 156: 145-149.

Rios, JL., Recio, M.C., Giner, R.M., Manez, S. 1996. An update review of saffron and its active constituents. Phytotherapy Research 10: 189- 93.

Seneviratne, G., Thilakaratne, R.M.M.S., Jayasekara, A.P.D.A., Seneviratne, K.A.C.N., Padmathilake, K.R.E., De Silva, M.S.D.L. 2009. Developing beneficial microbial biofilms on roots of nonlegumes: a novel biofertilizing technique: 51-62. In: Khan, M.S., Zaidi, A. and Musarrat, J., (Eds.). Microbial Strategies for Crop Improvement. Springer-Verlag, Germany, 358p.

Zare, A.A., Malakouti, M. J., Bahrami, J.A. And bleach, f. (2019). The effect of biofertilizer application on quantitative and qualitative characteristics of lemon (Lippia citriodora). Nutrition of garden plants, first volume, number 1. pp. 29-40.

The effect of Bacillus subtilis on the performance of ecotypes and morphophysiologic traits of saffron (*Crocus sativus* L.)

Fahimeh salehi[1], Mitra Aelaei[2*], Seyed Najmedin Mortazavi[3], Seyed Alireza Salami[4], Hassan Rezadoost[5]

[1, 2 and 3]. Ph.D. Candidate, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Horticultural, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan 45371-38791, Iran

[4]. Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture and Nutural Resource, Karaj, Iran.

[5]. Assistant Professor, Medicinal Plants Research Institute, Shahid Beheshti University. Tehran, Iran

[*]*Corresponding Author:maelaei@znu.ac.ir*

Abstract

Determining type and amount of fertilizer for cultivation of saffron plays an essential role in increasing its yield. To assess the effects of bacteria (Bacillus subtilis) on the yield of ecotypes and morphophysiological traits of saffron, a factorial experiment of randomized complete block with 3 replications was accomplished for two 2018-2019 successive cropping years in the research farm of Zanjan University. The used treatments were various concentrations of Bacillus subtilis for 5 levels (no bacteria 108,106, 102,105 cfu / ml) and saffron ecotype for 2 levels (Natanz, Zanjan). Morphological traits (fresh and dry weight of flowers, wet and dry yield of stigma, flower length and petal length), physiological traits (total chlorophyll, leaf antioxidant and petal antioxidant) and leaf phosphorus content were evaluated. The results of analysis of variance test (ANOVA) showed that the application of Bacillus subtilis not only enhanced the growth and yield of saffron plant but also led to being significance level for all vegetative traits and physiology of the plant at probability level of one percent. The highest wet and dry stigma yield were observed in 108 cfu / ml treatment (2.03 and 0.46 g / m2, respectively) and the lowest ones appeared in control treatment (1.55 and 0.33 g / m2, respectively). Also, Zanjan treatment experienced the highest amount of phosphorus concentration (2061.66 ppm). Therefore, the use of Bacillus subtilis is beneficial in achieving optimal growth indices in this plant.

***Keywords*:** Bacillus subtilis, Phosphorus, Saffron, Stigma yield.