



مقاله علمی - پژوهشی

اثر کودهای زیستی و نیتروژن بر خصوصیات کمی و کیفی گلبرگ زعفران  
(*Crocus sativus* L.)

عزیزاله خیری<sup>۱\*</sup>، هاجر پارسا<sup>۲</sup>، محسن ثانی خانی<sup>۱</sup> و فرهنگ رضوی<sup>۱</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۹ شهریور ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۲۵ تیر ۱۳۹۶

خیری، ع.، پارسا، ه.، ثانی خانی، م.، و رضوی، ف. ۱۳۹۷. اثر کودهای زیستی و نیتروژن بر خصوصیات کمی و کیفی گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.). زراعت و فناوری زعفران، ۶(۳): ۳۰۹-۳۲۲.

چکیده

به منظور بررسی صفات کمی و کیفی گلبرگ زعفران تحت تأثیر منابع مختلف نیتروژن، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۵-۱۳۹۴ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل، کود ازتوبارور-۱ (حاوی ازتوباکتر وینلندی) در دو سطح (۰/۱ و ۰/۲ درصد)، کود نیتروکارا (حاوی باکتری آزورایزوبیوم کائولینودا) در دو سطح (۱ و ۲ درصد)، ترکیب هر دو کود زیستی در چهار سطح { (۱ درصد نیتروکارا + ۰/۱ درصد ازتوبارور-۱)، (۱ درصد نیتروکارا + ۰/۲ درصد ازتوبارور-۱)، (۲ درصد نیتروکارا + ۰/۱ درصد ازتوبارور-۱)، (۲ درصد نیتروکارا + ۰/۲ درصد ازتوبارور-۱) }، یک سطح نیتروژن (۴۰ کیلوگرم در هکتار) و شاهد بودند. بررسی صفات نشان داد بالاترین عملکرد گلبرگ و کلاله خشک در کاربرد ۰/۲ درصد ازتوباکتر به دست آمد. همچنین در تیمار ۲ درصد آزورایزوبیوم بیشترین وزن خشک تک گل مشاهده شد. بالاترین میزان نیتروژن برگ و کلروفیل کل در تیمارهای ۰/۲ درصد ازتوباکتر و ۴۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن به دست آمد. همچنین بیشترین سطح برگ در تیمار ۴۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن حاصل شد. در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشخص گردید که بیشترین فنل و آنتوسیانین کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدان گلبرگ در تیمار ازتوباکتر ۰/۱ درصد و بالاترین میزان فلاونوئید در تیمار ۱ درصد آزورایزوبیوم مشاهده شدند. نتایج حاکی از آن بود که کاربرد تیمارهای استفاده شده سبب افزایش عملکرد گلبرگ زعفران شد و تیمار ۰/۲ درصد ازتوباکتر جهت افزایش عملکرد کمی و تیمار ۰/۱ درصد ازتوباکتر برای بالا بردن خواص آنتی‌اکسیدانی قابل توصیه می‌باشند.

**کلمات کلیدی:** آنتوسیانین، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل، کلروفیل.

۱- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، فیزیولوژی و اصلاح گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(\* نویسنده مسئول: kheiry@znu.ac.ir)

## مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی چندساله و ژئوفیت-تریپلوئیدی است که به دلیل عقیم بودن، تکثیر آن به صورت رویشی و از طریق بنه‌های آن انجام می‌شود. گل‌ها در این گیاه از کاسبرگ و گلبرگ هم‌رنگ تشکیل شده‌اند که در اصطلاح عامیانه به‌عنوان گلبرگ<sup>۱</sup> در نظر گرفته می‌شوند. از مادگی گل زعفران، گران‌بهارترین ادویه‌ی جهان استحصال می‌شود. پس از جدا کردن مادگی، گلبرگ‌ها به‌عنوان ضایعات دور ریخته می‌شوند و با بالا بودن میزان تولید سالانه‌ی زعفران در ایران حجم بالایی از این ماده‌ی ارزشمند بدون استفاده در طبیعت رها می‌شود و از آنجا که از هر ۷۸ کیلوگرم گل به‌طور معمول ۱ کیلو زعفران دسته‌ای (کلاله همراه با خامه) حاصل می‌شود. از این‌رو سالانه حدود ۲۹۶۱۵۴ کیلوگرم گلبرگ زعفران بر اساس وزن خشک به‌عنوان محصول جانبی تولید می‌شود (Kazuma et al., 2003).

زعفران در طب سنتی دارای خواص دارویی بی‌شماری است که عمده تحقیقات دارویی روی کلاله انجام شده‌است علاوه بر این شواهد گوناگونی مبنی بر وجود ترکیباتی با اثرات دارویی مختلف در گلبرگ زعفران وجود دارد. در مطالعات گوناگون کاهش کلسترول، اثرات ضدالتهابی، اثرات ضدافسردگی، کاهش علائم قاعدگی و اثر بر فشارخون عصاره گلبرگ زعفران مورد توجه قرار گرفته است (Basti et al., 2007).

از ترکیبات مهم موجود در گلبرگ زعفران می‌توان به فنل و فلاونوئیدها اشاره کرد که به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی دارای پتانسیل قوی برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد هستند. آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است به‌طور طبیعی و یا سنتزی به مواد غذایی اضافه شوند. امروزه استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی

به دلیل خطراتی که برای سلامتی دارند، محدود شده است. از این‌رو تلاش جهت یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با منشأ گیاهی افزایش یافته است (Kosar et al., 2011). از دیگر ترکیبات مهم گلبرگ زعفران، آنتوسیانین‌ها هستند که بر اساس بررسی‌های انجام‌شده در ۷۰ گونه گل و ۴۳ زیر گونه، آنتوسیانین‌های اصلی موجود در گلبرگ زعفران شامل، ۳، ۵ دی‌اُبتا گلیکوزید دلفینیدین (بیش از ۳۰ درصد از کل آنتوسیانین موجود)، ۳-اُبتا روتینوزید دلفینیدین و ۳، ۵ دی‌اُبتا گلیکوزید پتونیدین (هر یک به‌میزان بیش از ۱۰ درصد کل آنتوسیانین موجود) و انواع دیگر دلفینیدین، پتونیدین و مالویدین (هریک به مقدار کمتر از ۱۰ درصد)، شناسایی کردند (Norbaek & Kondo, 2002).

یکی از نیازهای مهم در برنامه‌ریزی زراعی به‌منظور دستیابی به عملکرد بالا، کیفیت مطلوب گیاهان دارویی و افزایش غلظت متابولیت‌های ثانویه، ارزیابی سیستم‌های تغذیه است که با مدیریت صحیح خاک و تغذیه گیاه می‌توان کارایی نهاده‌ها را افزایش داد. برای کاهش این مخاطرات باید از نهاده‌هایی استفاده کرد که علاوه بر تأمین نیازهای فعلی گیاه، پایداری سیستم‌های کشاورزی را نیز به‌دنبال داشته باشد (Wani et al., 2016). از آنجا که استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی، موجب ایجاد آلودگی‌های محیطی و صدمات اکولوژیکی می‌شود. لذا استفاده از کودهای زیستی در اکوسیستم‌های زراعی باهدف کاهش مصرف نهاده‌های شیمیایی و در برخی موارد به‌عنوان جایگزین کودهای شیمیایی در پایداری تولید نظام‌های کشاورزی مطرح شده است (Han et al., 2006).

کودهای زیستی حاوی ریز موجودات مفید خاک‌زی هستند که به‌طریق مختلف رشد گیاه میزبان را تحریک می‌کنند. از باکتری‌های موجود در کودهای زیستی می‌توان به باکتری‌های

که این افزایش عملکرد با افزایش تعداد گل، ارتفاع بوته و تعداد برگ همبستگی داشته است (Aytekin & Ackikgoz, 2008).

علی‌رغم این نکته که گلبرگ زعفران یک منبع گیاهی غنی از مواد فنلی است متأسفانه موردتوجه قرار نگرفته است و تحقیقات بسیار اندکی بر روی گلبرگ آن انجام شده است. هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر کودهای زیستی حاوی باکتری‌های ازتوباکتر و آزورایزوبیوم بر عملکرد و خواص بیوشیمیایی گلبرگ زعفران می‌باشد.

### مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر کودهای میکروبی حاوی باکتری‌های ازتوباکتر، آزورایزوبیوم و کود شیمیایی اوره بر صفات کمی و بیوشیمیایی گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.) آزمایشی در سال زراعی ۱۳۹۴ و ۱۳۹۵ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان به اجرا درآمد. مشخصات محل اجرای مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است.

تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن اشاره کرد که دارای میکروارگانیسم‌های مفید برای تأمین مواد مغذی به‌ویژه نیتروژن هستند که از طریق فرآیند تثبیت بیولوژیکی نیتروژن و سنتز مواد محرک رشد گیاهی سبب بهبود رشد گیاه می‌شوند. از این دسته از باکتری‌ها، می‌توان به ازتوباکتر اشاره کرد که مواد مغذی خاصی مانند نیتروژن، فسفر و گوگرد را از طریق تسریع معدنی شدن، در دسترس می‌سازد و از جذب فلزات سنگین جلوگیری می‌کند (Wani et al., 2016). یکی دیگر از این باکتری‌ها آزورایزوبیوم است که توانایی منحصر به فردی برای تثبیت نیتروژن به دو صورت آزاد زی و همزیست دارد (Lee et al., 2008). برخی مطالعات تأثیر نیتروکسین را بر رشد بانه و کیفیت کلاله بسیار بیشتر و در مورد سایر صفات رویشی و زایشی مساوی با کود شیمیایی برآورد کردند و کاربرد ۵ کیلوگرم در هکتار نیتروکسین توانست درصد مواد مؤثره زعفران را ارتقا بخشد (Omidi et al., 2010). در مجموع در بررسی‌های که بر روی تأثیر کاربرد ریز-موجودات مختلف بر رشد و عملکرد زعفران انجام شده است مشخص گردید که کاربرد این کودها در بسیاری از موارد باعث افزایش عملکرد زعفران شده است

جدول ۱- مشخصات جغرافیایی و اقلیمی مزرعه پژوهشی

Table 1- Geographical and climatic characteristics of the farm

طول جغرافیایی Longitude-e	عرض جغرافیایی Latitude-n	ارتفاع از سطح دریا Elevation (m)	درجه حرارت بیشینه Maximum temperature (°c)	درجه حرارت کمینه Minimum temperature (°c)	بارندگی Rainfall (mm)	ارتفاع از سطح دریا Elevation (m)
47°1'	35°25'	1663	39.3	-15.6	231.3	1663

ازتوباکتر وینلندی<sup>۱</sup> (سویه O<sub>4</sub>) که شامل ۱۰<sup>۸</sup> CFU/G در هر میلی‌لیتر است و کود نیتروکارا حاوی آزورایزوبیوم کاتولینودا<sup>۲</sup> که جمعیت این باکتری ۱۰<sup>۸</sup> سلول در هر میلی‌لیتر است. عملیات

تیمارها شامل: کود زیستی ازتوبارور-۱، نیتروکارا و نیتروژن در فرم اوره بود که در سطوح مختلف مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲). کود زیستی ازتوبارور-۱، دارای مجموعه‌ای از مؤثرترین باکتری‌های تثبیت‌کننده‌ی نیتروژن با نام علمی

<sup>۱</sup> *Azotobacter vinlandii*

<sup>۲</sup> *Azorhizobium caulinoda*

سایر تیمارها، به صورت سرک در سه مرحله (هنگام کاشت، همراه با آبیاری اول و اواخر بهمن ماه) اعمال شدند.

تلقیح بنه‌ها با تهیه سوسپانسیون باکتری‌های فوق در ترکیب با آب مقطر قبل از کاشت انجام شد و سپس بنه‌ها در سایه خشک و آماده کشت گردیدند. تیمار نیتروژن جداگانه بدون ترکیب با

جدول ۲- تیمارهای مورد استفاده در آزمایش

Table 2- Treatments used in experiment

C	U	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub>
شاهد	۴۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن	۰/۱ درصد ازتوبارور-۱	۰/۲ درصد ازتوبارور-۱	۱ درصد نیتروکارا	۲ درصد نیتروکارا	۰/۱ درصد ازتوبارور-۱ +	۰/۱ درصد ازتوبارور-۱ +	۰/۲ درصد ازتوبارور-۱ +	۰/۲ درصد ازتوبارور-۱ +
Control	40 kg.ha <sup>-1</sup> N	0.1% Azotobar var-1	0.2% Azotobar var-1	0.1% Nitrokara	2% Nitrokara	Azotobacter-1 +1% Nitrokara	Azotobacter-1 +2% Nitrokara	Azotobacter +1% Nitrokara	Azotobacter +2% Nitrokara

آزمایشگاه منتقل و وزن خشک آن‌ها با ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شدند. پس از جمع‌آوری گل‌ها از مزرعه پرچم و مادگی جدا شد و در سایه با دمای حدود  $25 \pm 5$  درجه سانتی‌گراد، تا خشک شدن کامل قرار گرفته و طی این مدت، زیر و رو شدند. گل‌های خشک‌شده با آسیاب خانگی، آسیاب و الک شدند و در ظروف تیره با درب کاملاً بسته، تا انجام آزمون‌های بعدی در یخچال نگهداری شدند.

بنه‌های زعفران با متوسط وزن  $11 \pm 2$  گرم جهت کشت انتخاب و در عمق ۲۰ سانتی‌متری از سطح زمین کشت (در اوایل مرداد سال ۹۴) شدند. هر واحد آزمایش شامل ۵ خط کاشت بافاصله‌ی  $20 \times 5$  سانتی‌متر و تراکم ۱۰۰ بنه در مترمربع در نظر گرفته شد. قبل از کاشت، از خاک مزرعه تا عمق ۳۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری شد (جدول ۳). جهت بررسی تأثیر تیمارها، گل‌های ظاهر شده (در ۲۱ مهر ۹۵ شروع گلدهی) به صورت روزانه (بین ساعات ۶ تا ۸ صبح) جمع‌آوری، شمارش و جهت توزین وزن، به

جدول ۳- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام تحقیق

Table 3 - Physico-chemical properties of soil in the site of experiment

منیزیم Mg (meq.l <sup>-1</sup> )	پتاسیم K (mg.kg <sup>-1</sup> )	فسفر P (mg.kg <sup>-1</sup> )	نیتروژن N (%)	شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC (dS.m <sup>-1</sup> )
1.1	286	9.6	0.09	40	27	33	8.28	0.72

رادیکالی و با ۲،۲-دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH) (Miliauskas et al., 2004) به کمک اسپکتروفتومتر (UV-) (6505, Germany) انجام گرفت. هم‌چنین برای تعیین کلروفیل کل از روش آرنون (Arnon, 1967) و جهت اندازه‌گیری عنصر نیتروژن از نمونه‌های برگی استفاده شد و با دستگاه کج‌لدال

میزان آنتوسیانین گلبرگ‌ها بر اساس روش pH افتراقی (Giusti & Wrolstad, 2003)، سنجش فنلی کل بر اساس روش فولین-سیوکالچو (Meda et al., 2005)، محتوای فلاونوئید با روش کلرید آلومینیوم (Chang et al., 2002) و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت

رشد و عملکرد زعفران انجام شده است مشخص گردید که باکتری‌های ریزوسفری از طریق تثبیت نیتروژن اتمسفر، افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی در ناحیه ریزوسفر، افزایش سطح تماس ریشه و بهبود همزیستی مفید با گیاه میزبان در مراحل مختلف رشد، سبب افزایش رشد و عملکرد می‌شوند (Wani et al., 2016).

می‌توان افزایش وزن گل با افزایش درصد نیتروژن را به‌نقش این عنصر در ساختار ماکرو مولکول‌هایی مانند پروتئین، اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک نسبت داد. همچنین محققین گزارش کردند که ازتوباکتر، آزوسپیریوم و سویه‌های ریزوبیوم قادر به سنتز برخی ویتامین‌های گروه B محلول در آب شامل، نیاسین، اسید پنتوتنیک، تیامین، ریبوفلاوین، سیانو کوبالامین، پیریدوکسین و بیوتین در محیط هستند. از طرفی نیز مصرف نیتروژن با کاهش نسبت اسید آسبازیک/جیبرلین باعث افزایش رشد گیاه می‌گردد (Marzec et al., 2013).

در تحقیق بر روی گیاه دارویی بادرشو<sup>۱</sup> مشخص شده است که با توجه به تأثیر باکتری‌های افزاینده‌ی رشد بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر و دیگر عناصر، سرانجام موجب افزایش تجمع ماده‌ی خشک گیاه از جمله وزن خشک گل می‌شود (Rahimzadeh et al., 2011) در تحقیقی که بر روی گیاه اسپاتی‌فیلوم<sup>۲</sup> انجام گرفت مشخص شد که استفاده از کود نیتروکارا (حاوی آزورایزوبیوم) وزن خشک این گیاه را در مقایسه با شاهد افزایش داد (Abbasniyazare et al., 2012). نایک و برمن (Naik & Barman, 2006) ارتباط مثبتی بین محتوای نیتروژن برگ و تعداد گل در گیاه ارکید<sup>۳</sup> مشاهده کردند.

(PGU - 500) برحسب درصد اندازه‌گیری شدند (Kalra, 1998). برای اندازه‌گیری سطح برگ نیز از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (DELTA-T, DEVICEC LTD, English) استفاده شد. آنالیز داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9.1، همبستگی با نرم‌افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام گرفت.

## نتایج و بحث

**عملکرد گلبرگ، وزن خشک تک‌گل و عملکرد کلاله خشک**  
 با مصرف کودهای حاوی ازتوباکتر، آزورایزوبیوم و اوره عملکرد گلبرگ خشک و وزن خشک تک‌گل به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری که بالاترین عملکرد گلبرگ خشک (۲/۳۱ گرم در مترمربع) و عملکرد کلاله خشک (۳۰۴ میلی‌گرم در مترمربع) در تیمار A<sub>2</sub> و پایین‌ترین مقدار عملکرد گلبرگ (۱/۱۰ گرم در مترمربع) و عملکرد کلاله (۲۲۱ میلی‌گرم در مترمربع) در C به‌دست آمد. همچنین بیشترین وزن خشک تک‌گل (۴۷/۹۳ میلی‌گرم) در تیمار B<sub>2</sub> و پایین‌ترین میزان (۴۰ میلی‌گرم) در C حاصل شد (جدول ۴). نتایج همبستگی، ارتباط مثبت و معنی‌داری را بین عملکرد گلبرگ خشک، وزن تک‌گل و عملکرد کلاله با میزان نیتروژن برگ نشان داد (جدول ۵).

تحقیقات نشان داده است که مصرف منابع مختلف نیتروژن بر سرعت فتوسنتز و رشد گیاه تأثیر می‌گذارد به‌طوری‌که سطوح بالاتر عرضه نیتروژن سبب تحریک رشد رویشی، کاهش ذخیره‌سازی منبع کربن و افزایش تخصیص ماده خشک گیاه می‌شود. ارتباط نیتروژن، کلروفیل برگ تأکید بر این دارد که افزایش نیتروژن برای تولید ماده خشک لازم است درواقع این باکتری‌ها، با افزایش سرعت تقسیم و رشد سلول‌ها، ماده خشک را افزایش می‌دهند (Fageria, 2007). درمجموع بررسی‌هایی که بر روی تأثیر کاربرد ریز موجودات مختلف بر

۱- *Dracocephalum moldavica* L.

۲- *Spathiphyllum*

۳- *Cymbidium orchid*

جدول ۴- تأثیر تیمارهای مورد بررسی بر صفات کمی و کیفی گلبرگ زعفران

Table 4- Effect of treatments on quantitative and qualitative traits of saffron petals

تیمار Treatment	فنل Phenol (mg.g <sup>-1</sup> )	فلاونوئید Flavonoids (mg.g <sup>-1</sup> )	آنتوسیانین Anthocyanin (mg.g <sup>-1</sup> )	آنتی اکسیدان Antioxidant (%)	کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.gfw <sup>-1</sup> )	نیترژن برگ Leaf nitrogen (%)	سطح برگ Leaf area (cm <sup>2</sup> )	عملکرد کلاه Dry stigma yield (mg.m <sup>-2</sup> )	وزن خشک گل Dry flower weight (mg)	عملکرد گلبرگی Petal yield (g.m <sup>-2</sup> )
C	6.69	3.37	1.32	88.14	1.052	1.116	2.173	221	40.01	1.10
U	6.53	2.88	1.37	86.96	2.500	2.112	3.820	276	45.03	2.13
A1	7.50	3.64	1.43	95.83	1.735	1.603	2.806	262	44.6	1.79
A2	6.71	3.10	1.29	87.56	2.360	1.946	3.040	304	45.16	2.31
B1	7.14	3.81	1.39	92.68	1.552	1.340	2.806	224	43.08	1.27
B2	6.69	3.16	1.28	84.73	2.041	1.700	3.403	286	47.93	2.21
A1B1	6.91	3.65	1.40	92.54	1.356	1.570	2.180	240	43.63	1.32
A1B2	6.93	3.29	1.33	90.81	1.726	1.610	2.673	277	45.37	2.14
A2B1	7.03	2.89	1.36	90.15	1.709	1.786	2.666	235	44.13	1.63
A2B2	6.65	3.17	1.37	85.11	1.831	1.743	3.616	254	48.21	2.15
LSD	0.5165	0.3543	0.0829	6.6289	0.1808	0.1808	0.7087	17.717	3.7277	0.1772

۱) درصد نیتروکاربا ۲، درصد نیتروکاربا ۱، درصد آزتوباربا ۱، درصد آزتوباربا ۲، درصد آزتوباربا ۱، درصد آزتوباربا ۲، A1=۴۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن، U=شاهد، C=

Control) U=(40 kg.ha<sup>-1</sup> N) A1=(0.1% Azotobarbar-1) , A2= 2% Nitrokarra, B1=0.1% Nitrokarra

میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون از نظر آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری باهم ندارند

Within each column, means followed by the same letter do not differ significantly at P<0.05.

al., 2016) افزایش نیتروژن دانه، ساقه و برگ ذرت را در اثر کاربرد کودهای زیستی حاوی باکتری (ازتوباکتر و آزوسپریلیوم) گزارش کردند.

#### کلروفیل کل، سطح برگ و تعداد برگ بوته

تیمارها بر تعداد برگ بوته تأثیر معنی داری نداشتند. در صورتی که سبب افزایش سطح کلروفیل کل و سطح برگ زعفران شدند. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل کل (۲/۵۰ و ۲/۳۶ میلی گرم بر گرم برگ تازه) به ترتیب در تیمارهای U و A<sub>2</sub> و کمترین مقدار (۱/۱۱ میلی گرم) در C به دست آمد. هم‌چنین بین تیمارهای A<sub>1</sub>B<sub>2</sub>، A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>، A<sub>2</sub>B<sub>2</sub> و A<sub>2</sub>B<sub>1</sub> اختلاف معنی داری مشاهده نشد. بیشترین میزان سطح برگ (۳/۸۲ سانتی متر مربع) در تیمار U و پایین ترین میزان سطح (۲/۱۷ سانتی متر مربع) در C مشاهده گردید (جدول ۴). هم‌چنین همبستگی مثبت و معنی داری بین نیتروژن برگ با کلروفیل کل و سطح برگ مشاهده شد (جدول ۵).

مطالعات نشان داده که ۷۵ درصد از نیتروژن برگ در کلروپلاست بکار می‌رود. در واقع محتوای نیتروژن برگ، منبعی برای تولید پروتئین فتوسنتزی مانند روپیسکو است می‌توان اشاره کرد که تأثیر ازت بر روپیسکو غالباً بیشتر از اثر آن بر کلروفیل است. هم‌چنین سطوح پایین نیتروژن برگ، منجر به کاهش تولید ماده خشک گیاه گردید که به دلیل کاهش سطح برگ و ظرفیت فتوسنتزی برگ می‌باشد. بالارفتن عملکرد به دلیل افزایش سطوح نیتروژن را می‌توان به افزایش سطح برگ نسبت داد. مقدار نیتروژن مصرفی تأثیر زیادی بر گسترش سطح برگ دارد به طوری که گیاهانی که نیتروژن بیشتر دریافت می‌کنند سطح برگ بزرگ تری نسبت به گیاهان با نیتروژن مصرفی کم دارند. هم‌چنین ظرفیت فتوسنتزی برگ نیز در وهله اول تحت تأثیر محتوای نیتروژن برگ است (Saidana et al.,

در پژوهشی که توسط سوبرامانیان و همکاران (Subramanian et al., 2006) بر روی گوجه‌فرنگی انجام گرفت مشخص گردید هم‌زیستی گوجه‌فرنگی<sup>۱</sup> با یک‌گونه از میکوریزا، باعث افزایش معنی دار تعداد گل در بوته در مقایسه با تیمار شاهد شد. نتایج تحقیق دیگری نیز گویای آن است که کاربرد کود زیستی در گیاه مریم‌گلی ارتفاع بوته و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه را افزایش داد (Youssef et al., 2004).

#### نیتروژن برگ

نتایج نشان داد کاربرد ازتوباکتر و آزورایزوبیوم و اوره بر میزان نیتروژن برگ معنی دار شد. به طوری که بیشترین درصد نیتروژن برگ (۱/۹۴۶ و ۲/۱۱۲ درصد) به ترتیب در تیمارهای A<sub>2</sub> و U و پایین ترین میزان (۱/۱۱۶ درصد) در تیمار C مشاهده شد (جدول ۴). هم‌چنین همبستگی بالایی بین نیتروژن با سایر صفات مشاهده گردید (جدول ۵). از جمله دلایل قابل ذکر در این زمینه می‌توان به افزایش میزان نیتروژن خاک در اثر فعالیت باکتری‌ها و هم‌چنین توسعه سطح ریشه برای جذب نیتروژن از خاک اشاره نمود که موجب بالا رفتن میزان نیتروژن برگ و ساقه گیاه می‌شود. هم‌چنین ممکن است به واسطه تثبیت نیتروژن بالاتر، به دلیل افزایش فعالیت آنزیم نیتروژناز در ریزوسفر، فعالیت نیترات-ردوکتاز باکتری‌های محرک رشد و یا جذب یون آمونیوم و آمینواسید تولید شده توسط این باکتری‌ها نسبت داده شود (Aseri et al., 2008). باکتری‌های محرک رشد به دو طریق مستقیم (جذب و انتقال نیتروژن محلول) و غیرمستقیم با ترشح ترکیبات آلی و تبدیل نیتروژن نامحلول خاک به فاز محلول و سپس انتقال آن سبب افزایش نیتروژن گیاه میزبان می‌شوند (Osman et al., 2010). قوامی و همکاران (Ghavami et

<sup>۱</sup> - *Solanum lycopersicum*

(2009).

به طوری کلی بالا رفتن سطح نیتروژن برگ، رشد و بهره‌وری گیاه و همچنین ظرفیت فتوسنتزی برگ را از طریق افزایش مقدار استروما و پروتئین‌های موجود در تیلاکوئید برگ افزایش می‌دهد. کاهش سطح نیتروژن برگ، منجر به تغییرات زیادی در فرایندهای فیزیولوژیکی می‌شود به‌عنوان مثال، ظرفیت جذب  $CO_2$  فتوسنتزی برگ را کاهش می‌دهد که منجر به کاهش میزان فتوسنتز و بازده کوانتومی فتوسنتز می‌شود. که این کاهش ظرفیت جذب  $CO_2$  فتوسنتزی با کاهش محتوای رویسکو و فعالیت RuBPcase در چرخه کالوین در ارتباط است. همچنین کاهش غلظت نیتروژن عملکرد کوانتومی، حمل و نقل الکترون‌های PSII، جذب  $CO_2$  از فتوسنتز و راندمان PSII را کاهش می‌یابد. تحقیقات نشان داد که کودهای زیستی، اساساً از طریق بهبود جذب ازت و افزایش ازت برگ، برافزایش محتوای کلروفیل برگ تأثیر می‌گذارند که از یک‌سو باعث فراهمی پیشسازهای کلروفیل شده و از سوی دیگر باعث افزایش پروتئین و اسیدآمینو به‌عنوان پیشسازهای اصلی ساختمان و فعالیت کلروپلاست خواهد شد (Evans, 1989).

دمیر (Demir, 2004) نشان داد که همزیستی میکوریزا سبب افزایش غلظت کلروفیل در برگ‌های گیاه فلفل<sup>۱</sup> شد. در بررسی عملکرد زراعی و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل<sup>۲</sup> تحت تأثیر اوره و کود زیستی، مشاهده شد که تیمار کود زیستی منجر به تولید بیشترین وزن خشک گل و تعداد گل در بوته در مقایسه با شاهد شد (Fayazi et al., 2016).

#### فلفل، فلاونوئید، آنتی‌اکسیدان و آنتوسیانین

تیمارهای مورد استفاده سبب تغییر میزان محتوای فلفل و محتوای فلاونوئید کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (قدرت حذف رادیکال آزاد)

و آنتوسیانین کل نسبت به شاهد شدند. نتایج نشان داد که بالاترین میزان فلفل کل (۷/۵۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمار  $A_1$  و کمترین مقدار (۶/۵۶ و ۶/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) به ترتیب در تیمار  $A_2 \times B_2$  و  $U$  مشاهده شد. داده‌ها نشان داد بیشترین محتوای فلاونوئید (۳/۸۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمار  $B_1$  و کمترین میزان (۲/۸۸ و ۲/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمار  $A_2 B_1$  و  $U$  مشاهده شد. بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (۹۵/۸۳ درصد) در تیمارهای  $A_1$  و کمترین مقادیر (۸۵/۱۱ و ۸۴/۹۶ درصد) به ترتیب در تیمارهای  $A_2 \times B_2$  و  $B_2$  مشاهده شد. نتایج آنتوسیانین کل نیز نشان داد که بیشترین میزان آنتوسیانین کل (۱/۴۳ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمار  $A_1$  و کمترین میزان (۱/۲۸ و ۱/۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در تیمارهای  $A_2$  و  $B_2$  به دست آمد (جدول ۴). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان فلفل، فلاونوئید، آنتی‌اکسیدان و آنتوسیانین مشاهده گردید در صورتی- که بین این مواد با میزان نیتروژن و کلروفیل برگ همبستگی منفی مشاهده شد (جدول ۵).

هرچند که تحقیقات نشان داده است که کودهای زیستی در بیوسنتز مسیر استات شیکیمات نقش دارند که منجر به تولید بالاتر فلفل و فلاونوئیدها می‌شوند و تجمع آنزیم‌هایی مانند پراکسیداز و پلی‌فلفل‌اکسیداز را افزایش می‌دهند که در متابولیسم فلفل و فلاونوئیدها درگیر هستند (Babu et al., 2015). اما این همبستگی منفی بین سطوح بالاتر باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و فلفل کل را می‌توان با مدل رقابت پروتئین (PCM) یا تعادل تمایز رشد (GDB) توضیح داد. طبق این تئوری: زمانی که بیوماس در پاسخ به دست‌رسی بیشتر نیتروژن افزایش می‌یابد غلظت ترکیبات فنلی کاهش می‌یابد. چراکه افزایش نیاز گیاه به پروتئین، تجمع ترکیبات فنلی را کاهش می‌دهد. همچنین افزایش تجمع وزن خشک غلظت ترکیبات فنلی را رقیق می‌کند. در واقع نیتروژن علاوه بر تأثیر بر رشد، عملکرد و کیفیت گیاه،

۱ - *Capsicum annuum* L.

۲ - *Purpurea echinacea*



مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار کردن رایکال‌های آزاد افزایش می‌دهد. غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رایکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد ( Zhang et al., 2009). علاوه بر این، همبستگی مثبتی بین فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برخی از سبزیجات و میوه‌جات گزارش شده است (Pyo et al., 2004). نتایج تحقیقات نشان داده است که عرضه بالاتر منابع نیتروژن به‌طور قابل توجهی مقدار رایکال آزاد را در گیاهان کاهش می‌دهد (Yañez-Mansilla et al., 2015).

از عواملی که سبب افزایش فلاونوئیدها می‌شود می‌توان به اسید-آمینو فنیل‌آلانین اشاره کرد. افزایش فنیل‌آلانین به‌صورت قابل توجهی فلاونوئیدها را افزایش می‌دهد چراکه پیش ماده‌ای برای تشکیل فلاونوئیدها است، این اسیدآمینو تحت مقادیر پایین نیتروژن ممکن است به دلیل محدودیت سنتز پروتئین افزایش یابد (Wang & Jiao, 2000). فلاونوئیدها گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که آنتوسیانین برجسته‌ترین آن‌ها هستند که در واکوئل سلول‌های اپیدرمی گلبرگ تجمع می‌یابند (Janowska & Jerzy, 2003) در شرایط کاهش دسترسی به نیتروژن، به علت کاهش رشد گیاه تولید آنتوسیانین‌ها افزایش خواهد یافت سطح آنتوسیانین‌ها به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر سطح و شکل نیتروژن قرار می‌گیرد از جمله عواملی که سبب بهبود بیوسنتز آنتوسیانین‌ها می‌شود افزایش قندها و کاهش میزان نیتروژن در شرایط کاهش دسترسی به نیتروژن، به‌علت کاهش رشد گیاه تولید آنتوسیانین‌ها افزایش خواهد یافت سطح آنتوسیانین‌ها به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر سطح و شکل نیتروژن قرار می‌گیرد.

بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه مانند فلاونوئید، فنل و کارتنوئید و غیره را تعدیل می‌کند (Ibrahim et al., 2010).

احتمال دیگری که مطرح می‌شود این است، که با کاهش عرضه منابع کودی عملکرد فتوسنتز کمتر می‌شود بنابراین چرخه نیتروژن آنزیمی به متابولیت‌های ثانویه نیاز دارد که این امر موجب افزایش متابولیت‌های ثانویه می‌شود در واقع با کاهش مصرف منابع نیتروژن میزان فنل و فلاونوئید افزایش می‌یابد چراکه در مقادیر پایین نیتروژن گیاه، کربوهیدرات اضافی انباشته‌شده به سمت تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فنل و فلاونوئید هدایت می‌شود. در واقع سطوح بالای عنصر نیتروژن با تأثیر منفی در بیوسنتز فلاونوئیدها و اسید کلروژنیک در گیاهان همراه است. از طرفی ارتباط معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی مواد گیاهی با محتویات ترکیبات فنلیک آن‌ها به اثبات رسیده است (Zhang et al., 2009). دلیل دیگر تجمع کربوهیدرات تحت مقادیر پایین کود دهی نیتروژن در گیاهان، ممکن است به علت کاهش در اندازه منبع<sup>۱</sup> باشد؛ که انتقال کربوهیدرات را به بخش‌های دیگر کاهش می‌دهد. همچنین ممکن است هنگامی که قدرت مقصد تحت مقادیر پایین نیتروژن کاهش می‌یابد، کربوهیدرات اضافی انباشته‌شده در گیاهان برای تولید متابولیت‌های ثانویه (فنل کل و فلاونوئیدها) هدایت شود (Ibrahim et al., 2010).

تحقیقاتی که بر روی گیاه گوجه‌فرنگی انجام گرفت نشان داد که سطوح پایین نیتروژن گیاه در مقایسه با سطوح بالاتر ۱۴٪ سطح فلاونوئیدها کل را افزایش داد (Bongue-Bartelsman & Phillips, 1995). همچنین نتایج مطالعات ابراهیم و همکاران (Ibrahim et al., 2010) بر روی گیاه *Labisia pumila* نشان داد که محتوای کوئرستین در مقادیر پایین نیتروژن افزایش می‌یابد. در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنلی به‌طور

جدول ۵- همبستگی پیرسون بین صفات اندازه‌گیری شده  
Table 5 - Pearson correlation between traits

	عملکرد گلبرگ Petal yield	عملکرد کلاه خشک Dry stigma yield	عملکرد گل Dry flower weight	وزن خشک گل Dry flower weight	سطح برگ Leaf area	نیترژن برگ Leaf nitrogen	کلروفیل کل Total chlorophyll	انتوسیانین Anthocyanin	فلاونوئید Flavonoid	فنل Phenol	انتی‌اکسیدان Antioxidant
عملکرد گلبرگ Petal yield	1										
عملکرد کلاه Dry stigma yield	0.286	1									
وزن خشک گل Dry flower weight	0.694**	0.636**	1								
سطح برگ Leaf area	0.557**	0.483**	0.420*	1							
نیترژن برگ Leaf nitrogen	0.668**	0.456*	0.358	0.410*	1						
کلروفیل کل chlorophyll Total	0.0645**	0.321	0.585**	0.414*	0.797**	1					
انتوسیانین Anthocyanin	-0.131	0.235	-0.210	-0.312	-0.146	-0.212	1				
فلاونوئید Flavonoid	-0.511**	-0.112	-0.376	-0.313	-0.578**	-0.404*	0.415*	1			
فنل Phenol	-0.184	-0.235	-0.329	-0.314	-0.416*	-0.331	0.486**	0.403*	1		
انتی‌اکسیدان Antioxidant	-0.309	-0.08	-0.457*	-0.350	-0.0436*	-0.400*	0.441*	0.492**	0.568**	1	

\*\* ارتباط معنی‌دار در سطح ۱ درصد.

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level.

\* ارتباط معنی‌دار در سطح ۵ درصد.

\* Correlation is significant at the 0.05 level.

بیولوژیکی آنتوسیانین‌ها و سایر رنگیزه‌های گیاهی دارند (Janowska & Jerzy, 2003). بونگو و فیلیپس (Bongue & Philips, 1995) نشان دادند که نیتروژن بر بیان ژن‌هایی که آنزیم‌های مربوط به تولید آنتوسیانین را کدگذاری می‌کنند اثر می‌گذارد. در تحقیق دیگری، مشخص شد که افزایش کود نیتروژن می‌تواند محتوای آنتوسیانین را کاهش دهد به طوری که این مواد معمولاً تحت کوددهی کم نیتروژن تجمع می‌یابند (Ibrahim et al., 2010).

### نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج تیمار ۰/۲ درصد ازتوباکتر به‌عنوان تیمار برتر در صفات کمی در این آزمایش معرفی می‌شود. تحت تأثیر این تیمار عملکرد گلبرگ و کلاله در واحد سطح به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. هم‌چنین تیمار ۰/۱ درصد ازتوباکتر فعالیت آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشید. با در نظر گرفتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه و مقادیر غنی از ترکیبات فنلی به‌ویژه فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها، می‌توان از عصاره این گیاه در صنعت دارو و غذا به‌جای آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و سایر نگه‌دارنده‌های شیمیایی استفاده کرد. هم‌چنین عدم کاربرد کود شیمیایی در این تیمارها زمینه‌ساز پایداری خاک و سلامتی بوم نظام زراعی در درازمدت می‌باشد.

ازجمله عواملی که سبب بهبود بیوسنتز آنتوسیانین‌ها می‌شود افزایش قندها و کاهش میزان نیتروژن گیاه است که سبب کاهش نرخ رشد و افزایش میزان آنتوسیانین‌ها می‌شود برخی اعتقاد دارند که کاهش سطوح نیتروژن از فعالیت ATPase تونوپلاست جلوگیری کرده که در انتقال آنتوسیانین به واکوئل نقش دارد. تولید آنتوسیانین در مقادیر کم نیتروژن از طریق افزایش تعداد سلول‌هایی که قادر به تولید آنتوسیانین هستند و هم‌چنین از طریق افزایش مقدار آنتوسیانین کل تولید شده در هر سلول افزایش می‌یابد این امر ممکن است به‌دلیل تغییر در متابولیسم اولیه به ثانویه باشد این امکان وجود دارد که کاهش فعالیت متابولیسم اولیه منجر به افزایش تجمع فنیل‌آلانین شده است (Gould et al., 2008).

در حمایت از این تئوری، Edahiro و همکاران (Edahiro et al., 2005). نشان دادند که سطوح پایین نیتروژن برگ، با بالا رفتن فنیل‌آلانین منجر به افزایش قابل توجهی در تولید آنتوسیانین کل می‌شود. از عواملی دیگری که سبب افزایش میزان آنتوسیانین‌ها می‌شود تولید ریوفلاوین در سطوح مناسب نیتروژن است (Mori & Sakurai, 1996). لازم به‌ذکر است که این باکتری‌ها علاوه بر نقشی که در تثبیت عناصر دارند سبب تولید هورمون‌های مختلف می‌شوند ازجمله این هورمون‌ها جیبرلین است که تأثیر زیادی روی جلوگیری از تخریب

### منابع

- Abbasniyazare, S.K., Sedaghatoor, S., and Dahkaei, M.N.P. 2012. Effect of biofertilizer application on growth parameters of *Spathiphyllum illusion*. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 12 (5): 669-673.
- Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal 23: 112-121.
- Aseri, G.K., Jain, N., Panwar, J., Rao, A.V., and Meghwal, P.R. 2008. Biofertilizers improve plant growth, fruit yield, nutrition, metabolism and rhizosphere enzyme activities of Pomegranate (*Punica granatum* L.) in Indian Thar Desert. Scientia Horticulturae 117: 130-135.

- Aytekin, A., and Acikgoz, A.O. 2008. Hormone and microorganism treatments in the cultivation of saffron (*Crocus sativus* L.) plants. *Molecules* 13: 1135-1146.
- Babu, A.N., Jogaiah, S., Itoc, S.i., Nagaraj, A.K., and Tran, L.S.P. 2015. Improvement of growth, fruit weight and early blight disease protection of tomato plants by rhizosphere bacteria is correlated with their beneficial traits and induced biosynthesis of antioxidant peroxidase and polyphenoloxidase. *Plant Science* 231: 62–73.
- Basti, A.A., Moshiri, E., Noorbala, A.A., Jamshidi, A.H., Abbasi, S.H., and Akhondzadeh, S. 2007. Comparison of petal of *Crocus sativus* L. and fluoxetine in the treatment of depressed outpatients: a pilot double-blind randomized trial. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 31 (2): 439-442.
- Bongue-Bartelsman, M., and Phillips, D.A. 1995. Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato. *Plant Physiology and Biochemistry* 33 (5): 539–546.
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10: 178-182.
- Demir, S. 2004. Influence of arbuscular mycorrhiza on some physiological growth parameters of pepper. *Turkish Journal of Biology* 28: 85–90.
- Edahiro, J.I., Nakamura, M., Seki, M., and Furusaki, S. 2005. Enhanced accumulation of anthocyanin in cultured strawberry cells by repetitive feeding of L-phenylalanine into the medium. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 99 (1): 43–47.
- Evans, J.R. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia* 78 (1): 9-19.
- Fageria, N.K. 2007. Yield physiology of rice. *Journal of Plant Nutrition* 30: 843–879.
- Fayazi, F., Abdali Mashhadi, A.R., Koochekzade, A., Papzan, A., and Arzanesh, M.H. 2016. The effect of organic and biological fertilizers application on yield and some morphological characteristics in Coneflower (*Echinacea purpurea* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science* 47 (2): 301-314.
- Ghavami, N., Alikhani, H.A., Pourbabaee, A.A., and Besharati, H. 2016. Study the effects of siderophore-producing bacteria on zinc and phosphorous nutrition of Canola and Maize plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 47 (12): 1517-1527.
- Giusti, M.M., and Wrolstad, R.E. 2003. Characterization and measurement of anthocyanins by UV visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* 14 (3): 217-225.
- Gould, K., Davies, K.M., and Winefield, C. eds. 2008. Anthocyanins: biosynthesis, functions, and applications. Springer 2009. pp. 169-185.
- Han, H.S., and Supanjani Lee, K.D. 2006. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant Soil Environment* 52: 130-136.
- Ibrahim, M.H., Jaafar, H.Z., Rahmat, A., and Rahman, Z.A. 2010. The relationship between phenolics and flavonoids production with total nonstructural carbohydrate and photosynthetic rate in *Labisia pumila Benth.* under high CO<sub>2</sub> and nitrogen fertilization. *Molecules* 16 (1): 162-174.

- Janowska, B., and Jerzy, M. 2003. Effect of Gibberelic acid on postharvest leaf longevity of *Zantedeschia elliottiana* (W. Wats.) Engl. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research 11: 69-76.
- Kalra, Y. 1998. Handbook of Reference Methods for Plant Analysis. CRC Press. Boca Raton.
- Kazuma, K., Noda, N., and Suzuki, M. 2003. Flavonoid composition related to petal color in different lines of *Clitoria ternatea*. Phytochemistry 64: 1133-1139.
- Kosar, M., Goger, F., and Baser, K.H.C. 2011. In vitro antioxidant properties and phenolic composition of *Salvia halophila* hedge from turkey. Food Chemistry 129: 374-379.
- Lee, KB., de Backer, P., Aono, T., Liu, CT., Suzuki, S., Suzuki, T., Kaneko, T., Yamada, M., Tabat, S., Kupfer, D.M., Najjar, F.Z., Wiley, G.B., Roe, B., Binnewies, T.T., Ussery, D.W., Haeze, W.D., Herder, J.D., Gevers, D., Vereecke, D., Holsters, M., and Oyaizu, H. 2008. The genome of the versatile nitrogen fixer *Azorhizobium caulinodans* ORS571. BMC Genomics 9 (1): 271.
- Marzec, M., Muszynska, A., and Gruszka, D. 2013. The role of strigolactones in nutrient-stress responses in plants. International Journal of Molecular Sciences 14 (5): 9286-9304.
- Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their scavenging activity. Food Chemistry 91: 571-577.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R., and Vanbeek, T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry 85: 231-237.
- Mori, T., and Sakurai, M. 1996. Riboflavin affects anthocyanin synthesis in nitrogen culture using strawberry suspended cells. Journal of Food Science 61 (4): 698-702.
- Naik, S.K., and Barman, D. 2006. Response of foliar application of nitrogen on flowering in *Cymbidium hybrid*. Journal of Ornamental Horticulture 9 (4): 270-273.
- Norbaek, R., and Kondo, T. 2002. Flower pigment composition of *crocus* species and cultivars used for a chemotaxonomic investigation. Biochemical Systematic and Ecology Journal 30 (8): 763-791.
- Omidi, H., Naghdibadi, H.A., Golzad, A., Torbati, H., and Fotookian, M.H. 2010. Effect of chemical and bio-fertilizer nitrogen on qualitative and quantitative yield of saffron (*Crocus sativus* L.). Journal Medicinal Plants 30 (2): 98-109. (in Persian with English Summary).
- Osman, M.E.H., El-Sheekh, M.M., El-Naggar, A.H., Saly, F., and Gheda, S.F. 2010. Effect of two species of cyanobacteria as biofertilizers on some metabolic activities, growth, and yield of pea plant. Biology and Fertility of Soils 46: 861-875.
- Pyo, Y.H., Lee, T.C., Logendra, L., and Rosen, R.T. 2004. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. Food Chemistry 85 (1): 19-26.
- Rahimzadeh, S., Sohrabi, Y., Heidari, Gh., Eivazi, A.R., and Hoseini, T. 2011. Effect of bio and chemical fertilizers on yield and quality of dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 27 (1): 81-96. (In Persian with English Summary).
- Saidana, D., Braham, M., Boujnah, D., Ben Mariem, F., Ammari, S., and Ben El Hadj, S. 2009. Nutrient stress, ecophysiological, and metabolic aspects of olive tree cultivars. Journal Plant Nutrition 32: 129-145.
- Subramanian, K.S., Santhanakrishnan, P., and

- Balasubramanian, P. 2006. Responses of field grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal colonization under varying intensities of drought stress. *Scientia Horticulturae* 107 (3): 245-253.
- Wang, S.Y., and Jiao, H. 2000. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals and singlet oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48 (11): 5677-5684.
- Wani, S.A., Chand, S., Wani, M.A., Ramzan, M., and Hakeem, K.R. 2016. *Azotobacter chroococcum*—A Potential Biofertilizer in Agriculture: An Overview. In *Soil Science: Agricultural and Environmental Prospectives*. Springer International Publishing. pp. 333-348.
- Yañez-Mansilla, E., Cartes, P., Reyes-Díaz, M., Ribera-Fonseca, A., Rengel, Z., and Alberdi, M. 2015. Leaf nitrogen thresholds ensuring high antioxidant features of *Vaccinium corymbosum* cultivars. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 15 (3): 574-586.
- Youssef, A.A., Edris, A.E., and Gomaa, A.M. 2004. A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of (*Salvia officinalis* L.). *Plant Annals of Agricultural Science* 49: 299-311.
- Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wu, T., and Wang, Z. 2009. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). *Food Chemistry* 113 (1): 160-165.

---

## Effect of bio-fertilizers and nitrogen on quantitative and qualitative characteristics of petal in saffron (*Crocus sativus* L.)

Azizollah Kheiry<sup>1\*</sup>, Hajar Parsa<sup>2</sup>, Mohsen Sani Khani<sup>1</sup> and Farhang Razavi<sup>1</sup>

Submitted: 16 July, 2017

Accepted: 10 September, 2017

Kheiry, A., Parsa, H., Sani Khani, M., Razavi, F. 2018. Effect of bio-fertilizers and nitrogen on quantitative and qualitative characteristics of petal in saffron (*Crocus sativus* L.). Saffron Agronomy & Technology 6(3): 309-322.

### Abstract

In order to investigate the effect of different nitrogen sources on some quantitative and biochemical characteristics of Saffron Petals, an experiment was conducted based on randomized complete block design with three replications on the Research Farm of University of Zanjan. The treatments were Azotobarvar-1 bio-fertilizer (containing free-living nitrogen-fixing bacteria *Azotobacter vinelandii*) with two levels (0.1 and 0.2 percent), Nitrokara (containing symbiotic and free-living nitrogen-fixing bacteria *Azorhizobium caulinodan*) with two levels (1 and 2 percent) and combinations of both of them with four treatments (1percent Nitrokara + 0.1 percent Azotobarvar-1, 1 percent Nitrokara + 0.2 percent Azotobarvar-1, 2 percent Nitrokara + 0.1 percent Azotobarvar-1, 2 percent Nitrokara + 0.2 percent Azotobarvar-1) compared to control and one nitrogen level (40 kg/ha). The results showed that the highest yield of petals and stigma were obtained in 0.2 percent Azotobacter while the highest average dry flower weight resulted in 2 percent Azorhizobium treatment. The highest leaf nitrogen content and total chlorophyll were obtained in 0.2 percent Azotobacter and 40 kg/ha of nitrogen treatments. Also 40 Kg/ha nitrogen resulted in the highest leaf area. The highest antioxidant, total phenol and anthocyanin of tepal were achieved in 0.1 percent Azotobacter while the highest amount of flavonoid was observed in 1 percent Azorhizobium. The results showed that the application of all treatments increased yield of saffron petals. The 0.2 percent Azotobacter was the best treatment in terms of quantity of petal yield and 0.1 percent Azotobacter resulted in highest antioxidant content and therefore it can be recommended.

**Keywords:** Anthocyanin, Flavonoid, Antioxidant activity, Phenol, Chlorophyll

---

1 - Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran  
2 - M.Sc. Student, Physiology and Medicinal Plants Breeding, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran  
(\*-Corresponding author Email: kheiry@znu.ac.ir)  
DOI: 10.22048/jsat.2017.92549.1246