



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



فهیمة صالحی^۱، میترا اعلایی^{۲*}، سید نجم الدین مرتضوی^۳، سید علیرضا سلامی^۴، حسن رضا دوست^۵
^{۱،۲،۳} 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

maelaei@znu.ac.ir*

چکیده

یکی از عوامل مهم در افزایش عملکرد زعفران، تعیین نوع و میزان کود برای کشت این گیاه است. به منظور بررسی اثر باکتری (*Bacillus subtilis*) بر عملکرد اکوتیپ‌ها و صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران آزمایشی در دو سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۹ در 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^{۱،۰}، ۱۰^۶، ۱۰^۸، ۱۰^{۱۰}، ۱۰^{۱۲} 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 ۱۰^۸ cfu/ml (به ترتیب ۰/۲ و ۴۶/۰ گرم بر متر مربع) و کمترین میزان در تیمار شاهد (به ترتیب ۵۵/۱ و ۳۳/۰ گرم بر متر مربع) بدست آمد. همچنین بالاترین میزان فسفر نیز در این غلظت (۶۶/۲۰۶۱ پی پی ام) و در تیمار زنجان به دست آمد. بنابراین می توان باکتری باسیلوس سوبتیلیس را به عنوان یک کود زیستی مناسب در راستای افزایش صفات کمی و کیفی در گیاهان به کار برد.

مقدمه

زعفران با نام علمی (*Crocus sativus* L.) از خانواده زنبقیان 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 کشورهای دیگر 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 آگرواکولوژیکی پایدار و پرسود است. کودهای شیمیایی پرمصرف‌ترین کودهای موجود در مزارع زعفران می‌باشند و مصرف بی رویه آن‌ها می‌تواند خطرات جدی را برای آب و خاک ایجاد کند. بنابراین باید از منابع کودی سالم، کم هزینه و در دسترس مانند کودهای زیستی که حاصل از فعالیت میکروارگانیسم‌هاست، استفاده کرد (Nehvi et al., 2009). این کودها که متشکل از باکتری‌های مفیدی هستند و به طور معمول در اطراف ریشه مستقر می‌باشند، به منظور 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 (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 به عنوان 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 روش ها

به منظور 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 به ابعاد ۱۹/۵×۱۲ متر مربع به صورت طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا گردید. غلظت‌های مختلف باکتری باسیلوس سوبتیلیس در ۵ سطح (عدم باکتری^{۱،۰}، ۱۰^۶، ۱۰^۸، ۱۰^{۱۰}، ۱۰^{۱۲} cfu/ml) و اکوتیپ‌های زعفران در ۲ سطح (نظنز، زنجان) در نظر گرفته شد. اندازه بنه‌ها در دامنه بزرگ (۸-۱۰ گرم) انتخاب و پس از آماده‌سازی بستر در کرت‌هایی با مساحت ۳×۵/۱ متر مربع کشت شد. غلظت‌های مختلف باکتری به صورت تریقی در کنار هر بنه در مهر ماه همراه آبیاری اول 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 جمع‌آوری 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 (1995) et al و میزان فسفر به روش Olsen et al (1954) اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

نتایج صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی 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. طول دمگل تحت تاثیر سال کشت در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل اکوتیپ و باکتری تاثیر معنی‌داری در سطح ۱ درصد روی وزن خشک تک گل و عملکرد خشک کلاله نشان داد. 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 تاثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۱). برهمکنش سه جانبه بر روی وزن تر تک گل و عملکرد خشک کلاله و طول گل در سطح پنج و یک درصد معنی‌دار بود. کلیه صفات رویشی در اثر تلقیح با باکتری به طور معنی‌داری افزایش یافتند. این آزمایش نشان داد که کاربرد باکتری‌های محرک رشد به عنوان یک کود زیستی باعث اثرات مثبتی بر روی رشد گیاه می‌شود. بیش‌ترین وزن تر و خشک گل مربوط به غلظت ۱۰^۸ cfu/ml باکتری باسیلوس بود که به ترتیب وزن تر تک گل ۴۸۰/۹۴ میلی‌گرم و وزن خشک تک گل ۸۷/۵۶ میلی‌گرم شد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری <i>Bacillus subtilis</i> بر عملکرد اکوتیپ‌ها و صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران				
منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن تر تک گل	وزن خشک تک گل	عملکرد تر کلاله
تکرار	۲	۳۵/۲۷۱ ^{ns}	۳۶/۴۶ ^{ns}	۰۰۳/۰ ^{ns}
سال	۱	۰۶/۲۳۹۱۴۹ ^{oo}	۵۲/۲۷۱۱ ^o	۰۰۴/۷ ^{oo}
سال×تکرار	۲	۴۵/۱۹ ^{ns}	۹۰/۳۸ ^{ns}	۰۰۳/۰ ^{ns}
اکوتیپ	۱	۶۵/۲۹۰۰ ^{oo}	۹۵/۳۲۸ ^{oo}	۸۷/۰ ^{oo}
باکتری	۴	۵۷/۱۷۵۶۹ ^{oo}	۰۲/۲۲۳ ^{oo}	۴۵/۰ ^{oo}
سال×اکوتیپ	۱	۸۲/۳۶۴۱۳ ^{oo}	۹۰/۸۶ ^o	۲۱/۲۹ ^{oo}
سال×باکتری	۴	۳۶/۶۸۸ ^{ns}	۵۴/۲۱ ^{ns}	۲۷/۰ ^{oo}
اکوتیپ ×باکتری	۴	۵۴/۱۲۰۹ ^o	۷۳/۲۱ ^{oo}	۰۰۶/۰ ^{oo}
سال×اکوتیپ×باکتری	۴	۶۷/۹۱۵ ^o	۱۳/۲۸ ^{ns}	۰۰۳/۰ ^o
خطا	۳۶	۹۴/۳۲۳	۶۸/۱۷	۰۲/۰
ضرب تغییرات	-	۱۹/۴	۳۳/۸	۶۲/۹

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

درواقع کاربرد غلظت بالای باکتری باسیلوس باعث بهبود این صفت گردید. کاربرد باکتری باسیلوس سوبتیلیس تا حدود زیادی صفت طول گل و طول دمگل را بهبود بخشید. بیش‌ترین میزان صفات رویشی در سال دوم و بر روی اکوتیپ زنجان مشاهده شد به طوری که طول گل و دمگل در اکوتیپ زنجان به ترتیب ۶۱/۶۳ و ۵۵/۲۴ سانتی متر شد. 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 انسبساط‌پذیری 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 عملکرد تر و خشک گیاه را سبب می‌گردد (Ehteshami et al., 2013). بر اساس 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 ۱۰^۸ cfu/ml (۱/۵۴ mg/gr Fw) و کمترین آن در شاهد (عدم کاربرد باکتری) (۱/۱۱ mg/gr Fw) 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 به طور 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). در طول دو سال آزمایش بین اکوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری برای صفت آنتی‌اکسیدان گلبرگ مشاهده گردید. همین‌طور 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 ۱۰^۸ cfu/ml 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). 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 × سال × اکوتیپ) بر روی این میزان فسفر برگ گیاه زعفران معنی‌دار شد (جدول ۱). بیشترین میزان فسفر تحت تاثیر غلظت ۱۰^۸ cfu/ml مشاهده شد که ppm ۶۶/۲۰۶۱ بود و در بین اکوتیپ‌ها نیز مربوط به اکوتیپ زنجان شد که میزان فسفر در آن ۹۱/۱۷۳۲ می‌باشد (شکل ۲). تلقیح کودهای زیستی منجر به افزایش میزان فسفر در چای ترش شد (نعمتی و همکاران، ۱۳۹۴). (Abo-Baker and Mostafa (2011) 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.

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری <i>Bacillus subtilis</i> 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)
سال اول	۶۲/۲۳ ^b	۳۰/۱ ^a	۶۷/۳۰ ^b	۱۶/۶۳ ^a
سال دوم	۲۷/۲۵ ^a	۳۳/۱ ^a	۶۰/۴۳ ^a	۳۹/۶۹ ^a
اکوتیپ				
نظنز	۳۳/۲۴ ^a	۳۰/۱ ^a	۸۱/۳۷ ^a	۷۲/۶۸ ^a
زنجان	۵۵/۲۴ ^a	۳۴/۱ ^a	۴۵/۳۶ ^a	۸۲/۶۳ ^a
باکتری				
۰Cfu/ml	۳۸/۲۲ ^d	۱۱/۱ ^c	۰۸/۱۹ ^e	۴۴/۵۲ ^e
۱۰ ^۲ Cfu/ml	۹۳/۲۳ ^c	۲۱/۱ ^b	۵۶/۲۸ ^d	۶۶/۶۱ ^d
۱۰ ^۴ Cfu/ml	۷۳/۲۴ ^b	۲۷/۱ ^b	۰۶/۳۵ ^c	۵۴/۶۶ ^c
۱۰ ^۶ Cfu/ml	۰۱/۲۵ ^b	۴۷/۱ ^a	۳۲/۴۵ ^b	۴۸/۷۲ ^b
۱۰ ^۸ Cfu/ml	۱۸/۲۶ ^a	۵۴/۱ ^a	۶۵/۵۷ ^a	۲۴/۷۸ ^a

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

منابع

درزی، م. ج. 1386. 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.

نعمتی، م.، دهمرده، م.، خمری، ع. و نجاتی یزدی‌زاد، م. 1394. 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 31، شماره (4): 610-625.

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.