

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

۱- استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد، تهران

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

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

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

دارویی جهاددانشگاهی، صندوق پستی: ۱۴۴۶ - ۱۳۱۴۵

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

پست الکترونیک: Naghdibadi@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۸/۳/۲۵

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۹

چکیده

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

روش بررسی: این مطالعه در منطقه‌ی آبرسد - تهران در سال‌های ۱۳۸۵ تا ۱۳۸۷ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در ۳ تکرار و چهار تیمار کودی اجرا شد. تیمارهای کودی شامل شاهد یا بدون مصرف کود (n_1)، کود شیمیایی اوره به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (n_2)، کود بیولوژیک نیتروکسین به میزان ۵ لیتر در هکتار (n_3) و تیمار مصرف تلفیقی کود شیمیایی اوره به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود بیولوژیک نیتروکسین به میزان ۲/۵ لیتر در هکتار (n_4) بودند.

نتایج: تیمارهای کودی بر طول کلالة و خامه تازه، طول برگ، تعداد برگ، وزن کورم، عملکرد کلالة و خامه، میزان پیکروسین، سافرنال و کروسین زعفران تأثیر معنی‌داری داشته است ($p < 0/01$). اگرچه حداکثر عملکرد کلالة و خامه در تیمار n_2 (۱۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار) و تیمار n_4 (تیمار تلفیقی نیتروژن به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود بیولوژیک نیتروکسین به میزان ۲/۵ لیتر در هکتار) حاصل شد، ولی مصرف ۵ کیلوگرم نیتروکسین در هکتار (n_3) سبب افزایش حدود ۸۳ درصد عملکرد کلالة و خامه نسبت به تیمار شاهد شده است. تیمار n_2 (۵ کیلوگرم نیتروکسین در هکتار)، بهترین تیمار از نظر پیکروسین و سافرنال بود. همچنین بیشترین میزان کروسین در تیمار تلفیقی نیتروژن به میزان ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود بیولوژیک نیتروکسین به میزان ۲/۵ لیتر در هکتار (n_4) حاصل شد.

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

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



مقدمه

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

زعفران در طب سنتی به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد و از عصاره و فرآورده های آن به عنوان ضداسپاسم، کمک به هضم طبیعی غذا، تسکین دهنده ناراحتی های لثه، ضدآبریزش، آرام بخش، ضدنفخ، افزایش تعریق، خلط آور، مقوی معده، محرک تمایلات جنسی و ایجاد قاعدگی زودرس استفاده می شود [۲]. هم چنین عصاره کلالة و گلبرگ زعفران اثر ضد التهابی، ضد درد و ضد افسردگی در مدل های حیوانی از خود نشان داده است [۳، ۴].

ارزش زعفران [کلالة خشک شده] به علت وجود سه متابولیت ثانویه اصلی و مشتقات آن می باشد. ترکیبات زرد رنگ کروسین که در آب محلول اند، مسؤول رنگ زعفران، ترکیبات تلخ پیکروکروسین مسؤول طعم و سافرانال مسؤول عطر و بوی آن می باشد [۴]. ترکیبات گوناگونی از دسته کاروتنوئیدها، آنتوسیانین ها و ترپنوئیدها در کلالة و گلبرگ زعفران شناسایی شده است که از میان آنها می توان کروسین، دلفینیدین و سافرانال را نام برد [۵]. ترکیباتی از زعفران که واجد اثرهای فارماکولوژیکی می باشند، مواد تلخی هستند که از سافرانال و پیگمان های مربوط به کاراتنوئید کروستین مشتق می شوند. تجزیه گلوکوزید پیکروکروسین به روش هیدرولیز اسیدی، موجب تولید گلوکز، آگلیکون فرار و سافرانال می شود [۵].

¹ Iridaceae

به منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی در واحد سطح، عملیات زراعی متعددی نظیر مصرف کودهای شیمیایی صورت می گیرد. نتیجه این فعالیت ها طی سال های اخیر بحران آلودگی های محیط زیست و به ویژه آلودگی منابع خاک و آب بوده که زنجیره وار به منابع غذایی انسان ها راه یافته و سلامت جامعه بشری را مورد تهدید قرار داده است. به این منظور تلاش های گسترده ای با هدف یافتن راهکارهای مناسب برای بهبود کیفیت خاک، محصولات کشاورزی و حذف آلاینده ها آغاز شده است. کاهش این مخاطرات زیست محیطی همگام با افزایش عملکرد گیاهان زراعی نیازمند به کارگیری تکنیک های نوین زراعی است. از جمله این تکنیک ها، بررسی و ارزیابی جامعه زنده و فعال خاک به منظور شناسایی ریزموجودات خاکری سودمند و استفاده از آنها به عنوان کودهای زیستی است. کودهای زیستی (بیولوژیک) شامل مواد نگهدارنده با تراکم زیاد از یک یا چند نوع میکروارگانیسم مفید خاکری و یا به صورت فرآورده متابولیت این موجودات می باشند که در ناحیه اطراف ریشه^۱ و یا بخش های داخلی گیاه تشکیل کلونی داده و رشد گیاه میزبان را با روش های مختلف تحریک می کنند [۶]. در بین ریزجانداران خاک که توانایی تبدیل به کود زیستی را دارند می توان به باکتری های ریزوسفری اشاره نمود. به دلیل وجود ترشحات ریشه ای و مواد غذایی فراوان، حضور و فعالیت جامعه زنده میکروارگانیسم ها در ریز و سفر بسیار بیشتر از خاک اطراف می باشد. کودهای زیستی از باکتری ها و هم چنین قارچ های مفیدی تشکیل شده اند که هر یک به منظور خاصی (مانند تثبیت نیتروژن و رهاسازی یون های فسفات، پتاسیم و آهن از ترکیبات نامحلول) تولید می شوند. این باکتری ها معمولاً در اطراف ریشه مستقر شده و گیاه را در جذب عناصر همیاری می کنند [۷، ۸، ۹]. اکنون مسلم است این باکتری ها بیش از یک نقش دارند، یعنی علاوه بر کمک به جذب عنصری خاص باعث جذب سایر عناصر، کاهش بیماری ها، بهبود ساختمان خاک، تحریک بیشتر رشد گیاه و افزایش کمی و کیفی محصول می شوند. بدین لحاظ از نظر علمی این باکتری ها محرک رشد

¹ Rhizosphere

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

تیمارهای کودی شامل n_1 (شاهد یا عدم مصرف کود نیتروژن و بیولوژیک)، n_2 (کود شیمیایی اوره به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار)، n_3 (کود زیستی نیتروکسین به میزان ۵ لیتر در هکتار) و n_4 (ترکیب کود شیمیایی اوره به مقدار ۷۵ کیلوگرم در هکتار و کود زیستی نیتروکسین به مقدار ۲/۵ لیتر در هکتار) بودند. هر کرت آزمایشی دارای ابعادی معادل $2\text{ m} \times 7\text{ m}$ (۱۴ مترمربع) بود. فواصل ردیف کاشت ۳۰ سانتی متر، فاصله بوته روی ردیف نیز ۱۰ سانتی متر و عمق کاشت کورمها حدود ۱۰ سانتی متر بود.

کود بیولوژیک نیتروکسین مورد استفاده در این تحقیق، دارای مجموعه‌ای از موثرترین باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن از جنس‌های *Azotobacter/Azospirillum* است که توسط موسسه فن‌آوری زیستی آسیا تولید شده است. سهم هر یک از جنس‌های باکتری در هر میلی‌لیتر نیتروکسین به تعداد (CFU) 10^8 سلول زنده است.

قبل از کاشت زعفران، از خاک مزرعه جهت انجام تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌برداری شد (جدول شماره ۲) و نیازهای کودی آن تعیین شد جهت رشد و نمو مناسب گیاه و تولید محصول مرغوب و مطلوب، مزرعه طرح در پاییز سال قبل از کاشت، شخم عمیق زده شد و در اواسط بهار نیز مزرعه دوبار در جهات عمود بر هم شخم زده شد. در پاییز در هر هکتار ۳۰ تن کود حیوانی پوسیده پخش و با شخم مجدد با خاک مخلوط شد.

از آنجایی که انتخاب کورم مرغوب جهت کاشت در ایجاد عملکرد بالا حائز اهمیت است لذا کورم مناسب و یکنواخت (با وزن متوسط ۶ گرم برای هر کورم، سالم و بدون زخم و خراشیدگی و عاری از هر نوع بیماری) برای کاشت تهیه شد. تیمارهای کودی طی دوره‌ی خواب یا استراحت (اواخر مرداد) مزرعه زعفران اعمال شدند.

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

کاپور^۲ و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کرده‌اند که هم‌زیستی ریشه رازیانه با دو گونه قارچ VAM به طور معنی‌داری سبب بهبود عملکرد و اجزای عملکرد رازیانه شد [۱۰]. رائی^۳ و همکاران (۲۰۰۴) نیز در تحقیق خود بر روی گونه‌ای کهور مشاهده کردند که کاربرد باکتری ریزوبیوم، ارتفاع بوته و بیوماس گیاهی را در مقایسه با شاهد افزایش داد [۱۱]. کومار^۴ و همکاران (۲۰۰۱) در تحقیقی بهبود رشد و عملکرد گندم و لین^۵ و همکاران (۱۹۸۳) نیز بهبود رشد و عملکرد ذرت و سورگوم را همگام با مصرف باکتری‌های محرک رشد گزارش کرده‌اند. در زمینه استفاده از کودهای زیستی برای بهبود جذب عناصر و کاهش مصرف کودهای شیمیایی بر روی گیاهان زراعی از قبیل گندم، جو، سیب‌زمینی، چغندرقد، نیشکر و ذرت و کاهو تحقیقات متعددی انجام شده است [۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴]. به هر حال تحریک رشد گیاهان توسط باکتری‌های ریزوسفری از طریق تثبیت نیتروژن اتمسفر، افزایش قابلیت دسترسی عناصر غذایی در ناحیه ریزوسفر، افزایش سطح تماس ریشه، تولید تنظیم‌کننده‌های رشد و بهبود هم‌زیستی مفید با گیاه میزبان در مراحل مختلف رشد انجام می‌گیرد [۱۵].

با توجه به اهمیت گیاه دارویی زعفران و مصارف گسترده آن در صنایع مختلف، این تحقیق در راستای کشاورزی پایدار با هدف حصول عملکرد کمی و کیفی قابل قبول همگام با کاهش مصرف کود شیمیایی انجام شده است که طی آن، تاثیر کودهای بیولوژیک و شیمیایی نیتروژن بر عملکرد کمی و کیفی زعفران ارزیابی شده است.

مواد و روش‌ها

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

¹ Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

² Kapoor

³ Rai

⁴ Kumar

⁵ Lin



جدول شماره ۱ - مشخصات اقلیمی منطقه مزرعه تحقیقاتی

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

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

کلاس بافت خاک	درصد اجزاء			درصد آهک	پتاسیم قابل جذب (ppm)	فسفر قابل جذب (ppm)	ازت کل (درصد)	کربن آلی (درصد)	شوری (dS/m)	اسیدیته (pH)
	رس	سیلت	شن							
لوم رسی	۲۸	۴۰	۳۲	۲/۶۹	۱۲۸۰	۱۴۸/۳	۰/۱۵	۱/۵۹	۲/۱۶	۷/۳۵

مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD^1) انجام شد.

نتایج

تأثیر کود نیتروژن بر ویژگی‌های مرفولوژیک

طول کلاله و خامه تازه

مصرف کود شیمیایی و زیستی بر طول کلاله و خامه تازه تأثیر معنی‌داری داشت ($p < 0/01$) و با مصرف این کودها، طول کلاله و خامه به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول شماره ۳ و ۴). بیشترین طول کلاله و خامه تازه در تیمار تلفیقی ۲/۵ لیتر نیتروکسین و ۷۵ کیلوگرم اوره (N_4) به دست آمد. جالب آن‌که طول کلاله و خامه در تیمار کودزیستی نیتروکسین (N_3) و ۱۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی اوره (N_2) تفاوت معنی‌داری نداشت. به هر حال کمترین طول کلاله و خامه تازه بوته در تیمار شاهد یا بدون کود نیتروژن (N_1) حاصل شد.

تعداد برگ در بوته

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

هر سال در شروع فصل رشد جدید، برای سله شکنی از کج بیل و چهار شاخ فلزی با عمق کم استفاده شد تا جوانه‌های گل با سهولت بیشتری از خاک بیرون آمده و رشد مطلوبی داشته باشند. حدود ۱۵ تا ۲۰ روز پس از آبیاری اول، اولین گل‌های زعفران ظاهر شدند. اولین وجین مزرعه زعفران بعد از برداشت گل‌ها (پس از آبیاری دوم) و دومین وجین در موارد لزوم به فاصله حدود یک ماه قبل از آبیاری سوم انجام شد. برداشت گل در ساعات اول روز انجام می‌شد.

پارامترهای اندازه‌گیری شده شامل قطر کورم، طول کلاله و خامه تازه، وزن کورم، طول برگ، وزن گل تازه بدون کلاله و خامه برحسب کیلوگرم در هکتار، تعداد برگ در بوته و وزن خشک کلاله و خامه (عملکرد برحسب کیلوگرم در هکتار) بود. البته به منظور تعیین عملکرد کمی و کیفی، از هر کرت پس از حذف اثر حاشیه‌ای، ۲ خط برداشت شد. پس از جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی، نمونه‌ها در دمای اتاق و به دور از نور خشک شدند.

متابولیت‌های ثانویه اصلی کروسین (عامل رنگ)، پیکروکروسین (عامل طعم) و سافرانال (عامل عطر) به روش اسپکتروفتومتری طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲ - ۲۵۹ اندازه‌گیری شدند [۱۶].

داده‌های این مطالعه توسط نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و

¹ Least Significant Difference





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

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی D.f	قطر کورم	طول کلاه و خامه تازه	تعداد برگ	طول برگ	وزن کورم	وزن گل تازه - بدون کلاه و خامه	عملکرد زعفران
تکرار (R)	۲	۰/۴۲۹۷۵۸۳۳	۰/۰۴۰۳۰۸	۱/۱۷۴۳۵۸۳۳**	۰/۸۲۱۷۷۵۰۰	۰/۰۰۸۶۳۳۳۳	۴۰/۳۵۷۱۵۸۳۳	۱/۸۵۵
نوع کود نیتروژن (N)	۳	۰/۱۹۱۳۴۴۴۴	۱/۲۹۳۳۶۴**	۲/۸۷۹۲۶۶۶۶**	۱۳/۶۲۵۹۲۲۲۲**	۰/۰۵۱۲۲۲۲۲**	۳۰/۴۵۷۲۲۲۲۲	۹/۲۷۳۶**
خطای آزمایش (Error)	۶	۰/۲۹۵۳۳۹۴۴	۰/۰۹۱۹۹۷۲۲	۰/۱۳۶۳۲۵۰۰	۰/۵۴۵۷۳۳۸۹	۰/۰۱۴۸۵۵۵۶	۸۹/۰۹۷۶۱۳۹	۰/۴۷۱۸۸۰۵۶
ضریب تغییرات (CV)%		۲/۹۷	۴/۳۸	۶/۸۷	۳/۰۵	۴/۹۶	۱۳/۷۵	۱۳/۸۰

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

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

نوع کود نیتروژن	قطر کورم (mm)	طول کلاه و خامه تازه (cm)	تعداد برگ	طول برگ (cm)	وزن کورم (gr)	وزن گل تازه - بدون کلاه و خامه (kg/ha)	عملکرد زعفران - کلاه و خامه خشک (kg/ha)
شاهد (بدون کود نیتروژن) (n _۱)	۱۸/۰۰۳ a	۶/۱۰ c	۴/۲۲ c	۲۱/۱۵ c	۲/۲۹ b	۱۹/۷۸ a	۲/۶۰ c
۱۵۰ کیلوگرم اوره (n _۲)	۱۸/۱۰۰ a	۶/۸۶۳ b	۶/۰۰ a	۲۵/۸۲ a	۲/۵۱ ab	۲۲/۴۰ a	۶/۵۹ a
۵ لیتر نیتروکسین (n _۳)	۱۸/۴۰۰ a	۷/۰۳۷ b	۶/۳۳ a	۲۵/۵۰ ab	۲/۵۹ a	۲۵/۶۶ a	۴/۷۶ b
۲۰۵ لیتر نیتروکسین + ۷۵ کیلوگرم اوره (n _۴)	۱۸/۵۴۳ a	۷/۶۹۷ a	۵/۰۰ b	۲۴/۲۷ b	۲/۴۱ ab	۱۸/۴۴ a	۵/۹۵ ab
حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD)	۱/۰۸۵۸	۰/۶۰۶	۰/۷۴۰۴	۱/۴۷۶	۰/۲۴۳۵	۱۸/۸۵۸	۱/۳۷۲

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

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

تأثیر کود نیتروژن بر ویژگی‌های کیفی زعفران میزان پیکروکروکسین (طعم)

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

میزان سافرانال (عطر)

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

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

طول برگ

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

تأثیر کود نیتروژن بر ویژگی‌های زراعی وزن کورم

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

عملکرد ماده خشک کلاله و خامه

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



میزان کروسین (رنگ)

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

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

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

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

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

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

کروسین	سافرانال	پیکروکروسین	نوع کود نیتروژن/ ویژگی
جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵۴ نانومتر (بر حسب ماده خشک)	شاهد (بدون کود نیتروژن) (n_1)
۱۷۴/۰۶۱ c	۴۶/۳۳۷ b	۷۳/۵۲۱ ab	۱۵۰ کیلوگرم اوره (n_4)
۱۸۵/۲۹۸ b	۴۹/۹۹۱ a	۷۰/۰۲۴ c	۵ لیتر نیتروکسین (n_2)
۱۸۵/۲۹۶ b	۴۹/۹۹۴ a	۷۷/۱۶۷ a	۲/۵ لیتر نیتروکسین + ۷۵ کیلوگرم اوره (n_4)
۱۹۹/۵۳۷ a	۴۹/۹۹۱ a	۷۰/۸۲۲ bc	حدائق اختلاف معنی دار (LSD)
۳/۰۴۰۳	۱/۸۰۶	۶/۲۵۳۱	

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



همبستگی بین پارامترها

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

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

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

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

صفت	قطر کورم	طول کلاله و خامه تازه	وزن کورم	طول برگ	وزن گل تازه	عملکرد خشک کلاله و خامه	تعداد برگ	پیکروکروسین	سافرانال
طول کلاله و خامه تازه	۰/۷۵۲۸*								
وزن کورم	۰/۲۰۱۷۶*	۰/۵۹۹۷*							
طول برگ	-۰/۰۹۷۰۷	۰/۴۴۵۶۶	-۰/۴۸۹۸۶						
وزن گل تازه	۰/۴۹۶۸۸**	۰/۲۰۸۵**	-۰/۶۵۷۵۴*	۰/۳۱۱۵۰					
عملکرد خشک کلاله و خامه	۰/۲۱۲۶۳*	۰/۶۵۶۳۴*	-۰/۴۹۰۸۵	-۰/۶۱۲۱۱*	۰/۵۷۱۵۴*				
تعداد برگ	-۰/۴۷۹۱۴	۰/۰۷۱۳۰	-۰/۱۱۴۷	۰/۶۰۲۸۳*	-۰/۱۰۷۲۱	۰/۲۸۸۰۰			
پیکروکروسین	۰/۱۷۰۴۴	-۰/۰۳۳۸۷	-۰/۴۹۶۱۱	-۰/۱۴۹۴۷	۰/۱۷۰۴۴	-۰/۴۰۶۹۳	-۰/۰۸۴۰۶		
سافرانال	-۰/۳۴۰۰۸	۰/۳۰۵۸۰	۰/۱۱۳۰۶	۰/۲۴۷۹۱	-۰/۳۴۰۰۸	۰/۰۶۷۸۹	۰/۱۹۸۷۷	-۰/۳۸۸۰۱	
کروسین	-۰/۰۴۵۳۱	۰/۶۵۸۴۹**	-۰/۱۴۱۷۱	۰/۲۱۲۰۵	-۰/۰۴۵۳۱	۰/۲۷۰۷۱	-۰/۰۳۹۸۸	-۰/۲۷۸۹۰	۰/۸۵۰۷۶**

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



بحث

نتایج نشان داد که تیمارهای کودی بر طول کلالة و خامه تاثیر معنی داری داشته است (جدول شماره ۳) و بیشترین طول کلالة و خامه در تیمارهای حاصل شده که کود زیستی یا شیمیایی مصرف شده است. بنابراین می توان نتیجه گرفت که [۱] برای تولید کلالة و خامه بزرگ تر بایستی کود نیتروژن به فرم زیستی یا شیمیایی مصرف شود [۲] برای تامین نیاز گیاه به کود نیتروژن می توان از کود زیستی به جای کود شیمیایی استفاده نمود. این مسأله را می توان به افزایش دسترسی نیتروژن (نیترات) در هر دو نوع تیمار کودی نسبت داد که در نهایت موجب افزایش طول کلالة و خامه شده است. کاپور و همکاران (۲۰۰۴) و گلیک^۱ (۱۹۹۵)، افزایش رشد اندام های هوایی در حضور باکتری های موثر بر رشد را قبلاً گزارش کرده اند [۱۰، ۱۵] که با نتایج این تحقیق تطابق دارد. اگرچه فراهمی نیترات موجود در انواع کودها در رشد و نمو اندام های هوایی تاثیر به سزایی داشته است علاوه بر آن در کودزیستی نیتروکسین، فعالیت میکروارگانیسم های کود سبب تولید هورمون ها به ویژه جیبرلین می شوند که در طول کلالة و خامه نمود پیدا کرده است. البته مستندات مبنی بر تولید جیبرلیک اسید (GA) توسط باکتری های محرک رشد بسیار کم است [۱۷]، هرچند که برخی از مطالعات نشان داده اند که میکروارگانیسم های تولیدکننده این هورمون، قادر به تحریک رشد گیاه میزبان خود از طریق سنتز GAS فعال آزاد شده، هستند. گوتیرز-مانرو و همکاران [۱۸] انواعی از GA را شناسایی نمودند که توسط *Bacillus sp.* تولید شده اند و تاثیر مثبتی بر بیشتر شدن رشد ریشه و اندام های هوایی *Alnus glutinosa* داشته اند.

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

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

بیشترین وزن کورم در تیمار کود زیستی مشاهده شده است (جدول شماره ۴) می توان به به تاثیر مثبت کود زیستی بر فراهمی ترکیبات متعدد برای ریشه نسبت داد که موجب افزایش رشد و وزن کورم شده است. زیرا باکتری های موجود در کود بیولوژیک نیتروکسین، علاوه بر تثبیت نیتروژن هوا و متعادل کردن جذب عناصر اصلی پرمصرف و ریز مغذی مورد نیاز گیاه، با سنتز و ترشح مواد محرک رشد گیاه نظیر انواع هورمون های تنظیم کننده رشد مانند اکسین (IAA)، هم چنین ترشح اسیدهای آمینه مختلف، انواع آنتی بیوتیک و ...، موجب رشد و توسعه ریشه و قسمت های هوایی زعفران شده است. این مسأله سبب تولید آسمیلات بیشتر و انتقال آنها به اندام های زیرزمینی و کورم زعفران شده است و در نتیجه باعث افزایش وزن کورم در مقایسه با سایر تیمارها (تیمار شاهد و کود شیمیایی) شده است. هم چنین برخی از انواع باکتری های محرک رشد، آنزیم ACC deaminase را تولید می کنند که فعالیت این آنزیم سبب کاهش تولید اتیلن در ریشه گیاه می شود و در نتیجه رشد ریشه بیشتر می شود [۱۸].

به طور کلی می توان بیان کرد که کودهای زیستی نیتروژن با افزایش جذب عنصر نیتروژن [۱۹] توانسته در افزایش رشد اندام های هوایی گیاه نقش مثبت داشته باشد. هم چنین کود زیستی از طریق ترشحات حل کننده باکتری ها و کاهش pH توانسته است عناصر مختلف غذایی بیشتری را به صورت محلول در اختیار گیاه قرار دهد [۷، ۱۵] و با تولید بیشتر مواد فتوسنتزی در افزایش تولید موثر واقع شده اند [۸].

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

¹ Glick



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

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

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

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

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

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

نتیجه‌گیری

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

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

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

درخصوص تأثیر نوع کود مصرفی بر خصوصیات کیفی زعفران بایستی بیان نمود که کیفیت شامل مولفه‌های رنگ (کروسین)، طعم (پیکروکروسین) و عطر (سافرانال) است و تیمارهای کودی بر این مولفه‌ها (کیفیت) در سطح آماری

¹ ADE



نویسندگان کشاورزی پایدار و کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی در آینده می‌باشد.

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

منابع

1. Paseban f. Effective factors on exporting Iranian saffron. *The Economic Res.* 2006; 6 (2): 1 - 15.
2. Rios JL, Recio MC, Giner RM and Manez S. An update review of saffron and its active constituents. *Phytother. Res.* 1996; 10: 189 - 93.
3. Karimi G, Hosseinzadeh H, Khaleghpanah P. Study of antidepressant effect of aqueous and ethanolic extract of *Crocus sativus* in mice. *Irr. J. Basic Med. Sci.* 2001; 4: 11 - 15.
4. Hosseinzadeh H, Younesi H. Petal and stigma extracts of *Crocus sativus* L. have antinociceptive and anti-inflammatory effects in mice. *BMC Pharmacol.* 2002; 2, 7.
5. Cakmakc R, Donmez Mf and Erdogan U. The effect of plant growth promoting Rhizobacteria on barley seeding growth, nutrient uptake, some soil properties, and bacteria Counts. *Turk J. Agric. for.* 2007; 31:189 - 99.
6. Singh S and Kapoor KK. Inoculation with phosphate solubilizing microorganisms and a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus improves dry matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biol. Fertil. Soils.* 1998; 28: 139 - 44.
7. Han HS, Supanjani and Lee KD. Effect of co-inoculation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Plant soil Environ.* 2006; 52 (3): 130 - 6.
8. Kucey RMN. Effect of *penicillium bilaji* on the yield and uptake of P and, micronutrients from soil by wheat. *Canadian J. soil sci.* 1988; 68: 261 - 70.
9. Dokora FD, Matiru V, King M and Phillips DA. Plant growth promotion in legumes and cereals by lumichrome, a rhizobial signal metabolite. In: Finan TM, O'Brain MR, Layzell DB, Vessey K, Newton WE, eds. Nitrogen fixation: global perspectives. Wallingford, UK: CABI publishing, 2002; 321 - 2.
10. Kapoor R, Giri B, Mukerji KG. Improved growth and essential oil yield and quality in *Foeniculum vulgare* mill on mycorrhizal inoculation supplemented with P-fertilizer. *Bioresource Technol.* 2004; 93: 307 - 11.
11. Rai UN, Pandey K, Sinha S, Singh A, Saxena R and Gupta DK. Revegetating fly ash landfills with *Prosopis juliflora* L.: impact of different amendments and *Rhizobium* inoculation. *Environ. Int.* 2004; 30: 293 - 300.
12. Kumar V, Behl RK and Narula N. Effect of phosphate solubilizing strains of *Azotobacter chroococcum* on yield traits and their survival in the rhizosphere of wheat genotypes under field conditions. *Acta Agron. Hung.* 2001; 49: 141 - 9.
13. Lin W, Okon Y, Hardy RWF. Enhanced mineral uptake by *Zea mays* and *Sorghum bicolor* roots inoculated with *Azospirillum brasilense*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1983; 45: 1775 - 9.
14. Oda Steenhoudt, Jos Vanderleyden. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Rev.* 2000; 24: 487 - 506.
15. Glick BR. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 1995; 41: 109 - 17.
16. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Saffron - Test methods. ISIRI NUMBER: 259-2. 1st. Revision, <http://www.isiri.org/asp/account/checklog.asp?ID=259-2.doc>
17. Rademacher W. Gibberellin formation in microorganisms. *Plant Growth Regul.* 1994; 15:



303 – 14.

18. Gutierrez-Manero FJ, Ramos-Solano B, Probanza A, Mehouchi J, Tadeo FR and Talon M. The plant-growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiol. Plant.* 2001; 111: 206 – 11.

19. Rojas A, Holguin G, Glick B and Bashan Y. Synergism between *Phyllobacterium* sp. (N₂ – Fixer), and *Bacillus licheniformis* (P-Solubilizer), both from a Semiarid mangrove rhizosphere, *FEMS Microbiol. Ecol.* 2001; 35: 181 - 7.

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

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

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

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

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

25. Kumar RN, Thirumalai Arasu V and Gunasekaran P. Genotyping of antifungal compounds producing plant growth-promoting rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescens*. *Cur. Sci.* 2002; 82: 12 - 25.

