Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 52, No 4, Winter 2022 (115-126)
DOI: 10.22059/IJFCS.2020.307534.654743

علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۵۲، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۴۰۰ (ص۱۲۶-۱۱۵)

ارزیابی اثر رژیم آبیاری و قارچ میکوریز آربوسکولار بر برخی صفات زراعی عفران (*Crocus sativus* L.) در بسترهای کاشت آلی

مریم حبیبی[۱]، فائزه زعفریان*[۲]، فرهاد رجالی[۳]، نادعلی باقری[٤]

۱و۲- دانشجو و دانشیار، گروه زراعت، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ۳- دانشیار، موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ٤- دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/٦/۱٦ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۷)

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثر دو جدایه قارچ میکوریز آربوسکولار موجود در ریزوسفر زعفران بر برخی صفات زراعی آن در شرایط تنش قطع آبیاری، پژوهشی به‌صورت اسپلیت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در مؤسسه تحقیقات خاک و آب انجام شد. تیمارها شامل رژیم‌های آبیاری [آبیاری مطلوب (بدون تنش)، قطع آبیاری در ابتدای فصل رشد و قطع آبیاری در ابتدا و اواسط فصل رشد] به عنوان عامل اصلی، بستر کاشت آلی در سه حالت [عدم مصرف کود آلی، مصرف ورمی‌کمپوست (۲۰ تن در هکتار) و بیوچار (۱۰ تن در هکتار)] و قارچ میکوریز آربوسکولار در سه سطح [عدم مصرف، جدایه a و جدایه b] به عنوان عامل فرعی بودند. یافته‌های مولکولی حاکی از آن بود که هر دو جدایه جداسازی شده از ریزوسفر زعفران متعلق به گونه *Rhizophagus irregularis* بودند. نتایج نشان داد که برهمکنش رژیم آبیاری با بستر کاشت آلی، بر عملکرد اقتصادی و همچنین برهمکنش رژیم‌های آبیاری، بستر کاشت آلی و قارچ *R. irregularis* بر تعداد و وزن تر و خشک برگ، وزن بنه و قطر بنه در گلدان معنی‌دار بود. بیشترین عملکرد (۰/۰٦۲ گرم در گلدان) به آبیاری مطلوب به همراه بیوچار تعلق داشت. علاوه بر این، بالاترین تعداد (۱۸۰ عدد) و وزن تر و خشک برگ (۹۰/۲ و ۲۳/۹٦ گرم)، وزن بنه (۷/٦۷ گرم) و قطر بنه (۲/۳۸ سانتی‌متر) در گلدان در شرایط آبیاری مطلوب به همراه کاربرد بیوچار و *Rhizophagus irregularis isolate b* تولید شد. به‌طورکلی، استفاده از کود بیوچار با *Rhizophagus irregularis isolate b* بیشترین تأثیر را بر صفات اندازه‌گیری شده زعفران در رژیم‌های مختلف آبیاری داشت.

واژه‌های کلیدی: بیوچار، شناسایی مولکولی، قطع آبیاری، میکوریز آربوسکولار، ورمی‌کمپوست.

Effect of irrigation regimes and arbuscular mycorrhizal fungus on some agronomic traits of saffron (*Crocus sativus* L.) in different planting media

Maryam Habibi[1], Faezeh Zaefarian*[2], Farhad Rejali[3], Nadali Bagheri[4]

1,2. Department of Agronomy, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, 3. Soil and Water Research Institute, Agricultural, Research, Education and Extension Organization, Karaj, 4. Department of Plant Breeding, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.

(Received: September 6, 2020 - Accepted: November 27, 2020)

ABSTRACT

In order to evaluate the effect of two isolates of arbuscular mycorrhizal fungus in saffron rhizosphere on some of saffron agronomic traits under different irrigation regimes, an experiment was conducted as split plots factorial in a randomized completely design with three replications at the Institute of Soil and Water Research, Karaj, Iran. The treatments consisted of three irrigation regimes (normal irrigation (control), irrigation cut off at the beginning of the growing season and at the beginning and middle of the growing season) as the main factors, three organic planting media (no organic fertilizer, vermicompost (20 $t.ha^{-1}$) and biochar (10 $t.ha^{-1}$) and arbuscular mycorrhizal fungal in three levels (no application, isolate a and isolate b) as a sub factors. Molecular findings indicated that, both strains isolated from saffron rhizosphere belonged to *Rhizophagus irregularis*. The results showed that the interaction effect of water stress and planting media on economic yield and also, the interaction effect of water stress, planting media and *R. irregularis* fungus on leaf number, fresh and dry weights and corm weight and diameter per pot were significant. The highest yield (0.062 g/pot) belonged to the full irrigation with biochar. Meanwhile, the highest leaves number (180), fresh and dry weights (90.2 and 23.96 g, respectively) and corm weight (7.67 g) and diameter (2.38 cm) per pot were obtained at full irrigation with biochar and *Rhizophagus irregularis* isolate b. In general, the use of biochar fertilizer with *Rhizophagus irregularis* isolate b had the greatest effect on the measured traits of saffron in different irrigation regimes.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal, biochar, irrigation cut off, molecular identification, vermicompost.

* Corresponding author E-mail: fa.zaefarian@sanru.ac.ir

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی است چندساله علفی تریپلوییید، با گل‌های بنفش است که تکثیر آن از طریق بنه صورت می‌گیرد (Bakhtiari *et al*., 2015). در حال حاضر تقریبا ۹۰ درصد از تولید زعفران و بیش از ۸۴ درصد سطح زیر کشت آن در دنیا به ایران تعلق دارد (Ghavamsaeidi Noghbi *et al*., 2019) به دلیل چرخه زندگی خاص و بهره‌مندی از ویژگی‌های زیستی و ریخت‌شناسی مهم مانند نیاز آبی پایین و داشتن برگ‌های باریک و ضخیم، این گیاه به آب و هوای خشک و نیمه خشک سازگار است، اما مدیریت مناسب آب نقش مهمی در تولید این گیاه در این مناطق دارد. علاوه براین، فراهمی آب در طی دوره فعال رشد بنه‌های دختری، به افزایش میزان فتوسنتز و تشکیل بنه‌های سنگین‌تر کمک می‌کند (Koocheki *et al*., 2016). به‌طورکلی چهار تا پنج مرحله آبیاری برای تولید مناسب زعفران در مناطق خشک و نیمه خشک انجام می‌شود که شامل آبیاری اول یا بسارآب در پاییز برای شروع گلدهی، آبیاری دوم یا زاییج‌آب در ابتدای رشد رویشی و ظهور برگ‌ها، آبیاری سوم یا کولش‌آب در اواخر زمستان و اوایل بهار، پس از وجین زمستانه به منظور تکمیل رشد بنه، آبیاری چهارم یا زردآب در پایان فصل رشد و پیش از زرد شدن برگ‌ها به منظور تکمیل نهایی رشد بنه‌ها و در برخی موارد آبیاری پنجم در اواسط تابستان به منظور القاء گلدهی (Koocheki & Seyyedi, 2015; Koockeki & Khaje- Hosseini, 2020) می‌باشد. در طی سال‌های اخیر، به دلیل خشکسالی‌های پی‌درپی در مناطق زعفران‌خیز استان خراسان و کاهش منابع آب در این مناطق، بیشتر کشاورزان مجبور به حذف چندین نوبت آبیاری در طول فصل رشد زعفران شدند که این امر موجب کاهش چشمگیر عملکرد زعفران شده است (Makarian *et al*., 2015).

شیوه‌های کشاورزی متداول مانند استفاده بی‌رویه از نهاده‌های شیمیایی، خاک‌ورزی بیش از حد و عمیق، کاهش دوره آیش و استفاده از اراضی حاشیه‌ای، باعث افزایش عملکرد گیاه به بهای کاهش کیفیت خاک شده است. در این شرایط، این سیستم‌های متداول منجر به کاهش محتوای مواد آلی خاک، تنوع زیستی و تخریب ویژگی‌های فیزیکی خاک شده است که در سطح وسیع‌تر، افزایش فرسایش خاک و انتقال رسوبات و آلودگی‌ها به منابع آب سطحی و زیرزمینی را به همراه داشته است (Doan *et al*., 2015). بنابراین استفاده از کودهای آلی و زیستی می‌تواند جایگزینی مناسب و ابزار مفیدی برای حفظ و افزایش باروری خاک و عملکرد محصولات کشاورزی باشد (Mau & Utami, 2014). قارچ‌های میکوریز آربوسکولار با بیش از ۸۰ درصد گیاهان در اکوسیستم‌های طبیعی و کشاورزی همزیست است و تأثیرات عمده‌ای بر رشد، مقاومت به بیماری، جذب عناصر غذایی و بهبود رشد گیاه میزبان دارد (Mau & Utami, 2014). این همزیستی، روابط آبی گیاه را تغییر می‌دهد و سبب افزایش مقاومت گیاه به خشکی، از طریق تعامل پیچیده بین سازوکارهای بی‌شمار نظیر جذب آب توسط شبکه‌های خارجی هیف، تنظیم روزنه‌ها از طریق سیگنال‌های هورمونی، جذب فسفر و تنظیم اسمزی بیشتر در گیاهان میکوریزایی می‌شود (Bernardo *et al*., 2017). در پژوهشی با بررسی اثر اسید هیومیک و قارچ *Glomus intraradices* و سطوح آبیاری بر اندازه بنه و عملکرد زعفران در دو سال زراعی، بیشترین وزن بنه در تیمار *G. intraradices* و هر دو هفته یک بار آبیاری و هر چهار هفته یک بار آبیاری به‌ترتیب در سال نخست و دوم مشاهده شد (Aghhavani Shajari *et al*., 2018).

بیوچار[1] ماده جامد پایداری است که از طریق فرآیند گرماکافت[2] ترکیبات آلی مانند بقایای گیاهان زراعی و جنگلی و فضولات دامی در شرایط بدون اکسیژن و یا اکسیژن محدود با دمای بالا تولید می‌شود (Najafi Ghiri, 2015) و کاربرد آن در خاک به عنوان راهکاری امیدوار کننده برای دفع پسماندهای آلی، افزایش رسوب کربن در خاک و کاهش غلظت CO_2 اتمسفر

[1]- Biochar
[2]- Pyrolysis

پیشنهاد شده است. ورود کربن به خاک، به دلیل نقش حیاتی این عنصر در فرآیندهای بیولوژیکی، شیمیایی و فیزیکی، باعث بهبود کیفیت خاک می‌شود (Dai *et al.*, 2016). بیوچار با تأثیر مطلوب بر pH خاک، ظرفیت تبادل کاتیونی، فراهمی زیستی عناصر غذایی و کاهش آبشویی، باعث بهبود باروری خاک و عملکرد گیاه می‌شود (Wang *et al.*, 2018). کاربرد ۱۵ و ۲۰ تن بیوچار در ذرت (*Zea mays* L.) به‌ترتیب باعث افزایش ۱۵۰ و ۹۸ درصدی عملکرد دانه و ۱۳۹ و ۹۱ درصدی کارایی مصرف آب نسبت به شاهد شد (Uzoma *et al.*, 2011). ورمی‌کمپوست، ماده‌ای پیت مانند با تخلخل، تهویه و زهکشی بالا است که حاوی مقدار قابل توجهی عناصر غذایی چون نیتروژن، فسفر، کلسیم و پتاسیم می‌باشد (Darzi *et al.*, 2012). مناسب بودن ورمی‌کمپوست برای تولید زعفران، بارها توسط پژوهشگران به اثبات رسیده است (Rasouli *et al.*, 2013). مصرف ۱۰/۲ تن در هکتار ورمی-کمپوست، باعث افزایش معنی‌دار بنه‌هایی با وزن متوسط و بیشتر از هشت گرم در تراکم‌های گوناگون کاشت در مقایسه با کود شیمیایی و شاهد شد (Seyyedi *et al.*, 2018). بنابراین هدف از این پژوهش، ارزیابی پتانسیل گونه‌های بومی قارچ میکوریز آربوسکولار و برهمکنش آن با کودهای آلی بر ویژگی-های رشدی و عملکرد بنه در زعفران در شرایط تنش آبی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص‌سازی اسپور قارچ‌های میکوریز آربوسکولار

نمونه‌برداری از خاک برای جداسازی قارچ میکوریز آربوسکولار در اوایل خرداد سال ۱۳۹۶ در دو شهرستان قائنات (۳۳ درجه و ۴۳ دقیقه عرض شمالی و ۵۹ درجه و ۱۲ دقیقه طول شرقی) و نیشابور (۳۶ درجه و ۴۵ دقیقه عرض شمالی و ۵۸ درجه و ۱۵ دقیقه طول شرقی) به‌ترتیب دارای اقلیم خشک و نیمه خشک در استان‌های خراسان جنوبی و رضوی، به‌صورت مرکب از مزارعی که سال‌ها به کشت زعفران اختصاص داشتند انجام شد. برای تهیه هر نمونه مرکب خاک (دو کیلوگرمی)، هشت نمونه تصادفی از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک (شامل بنه و خاک اطراف بنه‌ها) در جهت قطر مزرعه انتخاب و با یکدیگر مخلوط شدند و در پایان، تعداد ۳۶ نمونه مرکب از ۳۶ مزرعه در دو شهرستان (هر شهرستان ۱۸ مزرعه) جمع‌آوری و پس از هوا خشک شدن به آزمایشگاه بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب واقع در شهرستان کرج منتقل شدند و در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند. اسپور قارچ‌ها به روش الک مرطوب و سانتریفوژ در محلول ساکارز ۶۰ درصد و با استفاده از استریومیکروسکوپ (x ۲۰۰) و بر اساس ویژگی‌های ظاهری اسپورها شامل رنگ، اندازه، شکل دیواره و نحوه اتصال هیف به دیواره و به‌صورت مورفوتایپ‌های متمایز تفکیک و جداسازی شدند (Gerdemann & Nicolson, 1963). برای تهیه تعداد زیادی اسپور سالم جهت شناسایی و خالص‌سازی و تولید مایه تلقیح، اقدام به برقراری کشت تله گلدانی شد. کشت با گیاه ذرت به دلیل دارا بودن دوره رشد کوتاه، رشد سریع ریشه‌ها و قدرت همزیستی بسیار بالا با گستره وسیعی از گونه‌های قارچ میکوریز (Sadravi & Talaei, 2015) و در بستر ماسه که به روش Srinivasan *et al.*, (2014) استریل شد، انجام گرفت. گیاهان به مدت سه ماه در گلخانه در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۴ ساعت دوره نوری نگهداری شدند. در پایان فصل رشد یعنی پس از سه ماه، بخش هوایی گیاه حذف شدند و ریشه‌ها جهت اثبات برقراری رابطه همزیستی با استفاده از استریومیکروسکوب بررسی شدند. در پایان، تعداد دو جدایه که دارای رابطه همزیستی موفق و تعداد کافی اسپور بودند، انتخاب شدند و محتویات گلدان‌ها شامل بستر، اسپورها، هیف و ریشه‌های میکوریزی کاملا با هم مخلوط شدند و به عنوان مایه تلقیح در کشت زعفران به‌کار رفتند.

شناسایی مولکولی جدایه‌ها

برای استخراج DNA ابتدا اسپورها به روش Srinivasan *et al.* (2014) استریل شدند و سپس یک عدد اسپور از هر یک از جدایه‌ها به میکروتیوپ‌های ۲۰۰ میکرولیتری منتقل شد و استخراج DNA با شکستن اسپور توسط نوک سر نمونه‌گیر کریستالی و با استفاده

از استریومیکروسکوپ صورت گرفت. پس از شکستن، به آن دو میکرولیتر بافر PCR اضافه شد و بعد نمونه‌ها برای واسرشت‌سازی ابتدایی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد در ترموسایکلر (Techne, Genius FGEN02TP, USA) گذاشته شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌صورت آشیانه‌ای و با کمی تغییر صورت گرفت (Renker *et al.*, 2003). از جفت آغازگرهای SSUmAf- LSUmAr و SSUmCf- LSUmBr (که نام و توالی آن‌ها در جدول ۱ آمده است) برای تکثیر ناحیه ژنی SSU-ITS1-5.8S-ITS2-LSU در قارچ میکوریز آربوسکولار استفاده شد. حجم مواد در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نخست و دوم برای یک نمونه به‌ترتیب ۲۰ و ۵۰ میکرولیتر بود که در واکنش زنجیره پلیمراز نخست شامل ۱۶/۸ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۰/۴میکرولیتر $dNTP_s$، ۰/۲۴ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای SSUmAf و LSUmAr و ۰/۳۲ میکرولیتر از Pfu DNA polymerase و در واکنش زنجیره پلیمراز دوم، ۳۹/۲ میکرولیتر آب مقطر استریل، پنج میکرولیتر بافر PCR، یک میکرولیتر $dNTP_s$، یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای SSUmCf و LSUmBr، ۰/۸ میکرولیتر از Pfu DNA polymerase و دو میکرولیتر از محصول PCR نخست بود.

جدول ۱- نام و توالی آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه.

Table 1. Name and sequence of primers used in this study.

Primer	Sequence
SSUmAf1	5’-TGGGTAATCTTTTGAAACTTYA-3’
SSUmAf2	5’-TGGGTAATCTTRTGAAACTTCA-3’
SSUmCf1	5’-TCGCTCTTCAACGAGGAATC-3’
SSUmCf2	5’-TATTGTTCTTCAACGAGGAATC-3’
SSUmCf3	5’-TATTGCTCTTNAACGAGGAATC-3’
LSUmAr1	5’-GCTCACACTCAAATCTATCAAA-3’
LSUmAr2	5’-GCTCTAACTCAATTCTATCGAT-3’
LSUmAr3	5’-TGCTCTTACTCAAATCTATCAAA-3’
LSUmAr4	5’-GCTCTTACTCAAACCTATCGA-3’
LSUmBr1	5’-DAACACTCGCATATATGTTAGA-3’
LSUmBr2	5’-AACACTCGCACACATGTTAGA-3’
LSUmBr3	5’-AACACTCGCATACATGTTAG-3’
LSUmBr4	5’-AAACACTCGCACATATGTTAGA-3’
LSUmBr5	5’-AACACTCGCATATATGCTAGA-3’

برنامه دمایی برای هر دو واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یکسان و شامل واسرشتگی ابتدایی به مدت چهار دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ چرخه (واسرشتگی به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال آغازگر به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد، گسترش به مدت ۱۲۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد) و گسترش نهایی به مدت هفت دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. مقداری از محصول مرحله دوم واکنش زنجیره‌ای پلیمراز روی ژل آگارز ۱/۲ درصد الکتروفورز شد و اندازه هر محصول به کمک نشانگر مولکولی (۱۵۰۰bp) تخمین زده شد. در نهایت، قطعات حاصل از تکثیر برای تعیین توالی به شرکت بایونیر کره جنوبی ارسال شد. نتایج توالی به‌دست آمده با استفاده از ابزار جستجوی BLAST با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI (National Center for Biotechnology Information) مورد مقایسه قرار گرفتند.

مطالعات گلدانی پژوهش

به منظور بررسی اثر قطع آبیاری و قارچ میکوریز آربسکولار جداسازی شده در بسترهای کاشت آلی بر برخی صفات زراعی زعفران، آزمایشی به‌صورت اسپلیت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در مؤسسه تحقیقات خاک و آب واقع در شهرستان کرج اجرا شد. تیمارها شامل رژیم آبیاری به‌عنوان عامل اصلی در سه سطح [آبیاری مطلوب (I_1)، قطع آبیاری در ابتدای فصل رشد یا زاییج‌آب (I_2) و

قطع آبیاری در ابتدا و اواسط فصل رشد یا قطع زاییج-آب و کولش‌آب (I_3)]، بستر کاشت آلی در سه سطح [عدم مصرف کود آلی (M_0)، ورمی‌کمپوست (۲۰ تن در هکتار) (M_1) و بیوچار (۱۰ تن در هکتار) (M_2)] و قارچ میکوریز در سه سطح (عدم مصرف میکوریزا، جدایه a و جدایه b) به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. در این آزمایش از گلدان‌هایی به عمق ۳۰ و قطر ۲۶ سانتی‌متر و گنجایش ۱۵ کیلوگرم استفاده شد. با توجه به مقدار مصرف در هکتار، میزان ورمی-کمپوست و بیوچار محاسبه شد و به خاک الک شده گلدان‌ها (که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن در جدول ۲ آورده شده است) اضافه شد. بیوچار باگاس نیشکر (*Saccharum officinarum*) از شرکت نوآوران زیست بنیان آویسا و ورمی‌کمپوست بقایای گیاهی از موسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد که برخی از ویژگی آن‌ها به‌ترتیب در جدول ۲ ارایه شده است. جمعیت قارچ میکوریز در هر گرم خاک و مایه تلقیح مورد استفاده، به‌ترتیب حاوی ۲۱ و ۶۳۰ عدد اندام فعال بود که به روش Dalpe (1993) شمارش شدند. کاشت در تاریخ ۲۹ شهریور ۱۳۹۷ انجام شد. ابتدا نصف ارتفاع گلدان از خاک پر شد، پس از آن مایه تلقیح به مقدار پنج گرم برای هر گلدان به‌صورت یک لایه به آن اضافه شد و سپس چهار عدد بنه (میانگین وزن بنه بین هشت تا ۱۱ گرم)، یک بنه در وسط و سه بنه دیگر در اطراف آن روی دایره‌ای به شعاع پنج سانتی‌متر در بستر روی مایه تلقیح قرار داده شدند و در نهایت بخش دوم خاک به آن اضافه شد و گلدان‌ها در فضای باز قرار گرفتند. در شرایط آبیاری کامل، آبیاری به‌صورت یکنواخت هر ۱۵ روز یک‌بار انجام شد و در فاکتور قطع آبیاری در اوایل فصل رشد، قطع آب در پنج آذر (قطع یک دور آبیاری) و در عامل قطع آب در اوایل و اواسط فصل رشد در پنج آذر و ۲۰ اسفند (قطع دو دور آبیاری) انجام شد. قبل و بعد از اتمام دوره قطع آب (یک‌ماهه)، آبیاری به‌صورت منظم انجام شد. با توجه به احتمال وقوع بارندگی در زمان قطع آبیاری، از پوشش پلاستیکی برای جلوگیری از ریزش باران روی گلدان‌ها استفاده شد. عملیات آبیاری و اعمال تنش قطع آب در سال دوم همانند سال نخست انجام گرفت. با توجه به این‌که رشد زعفران در سال اول متأثر از بنه‌های اولیه است که در مزارع مادری رشد کرده‌اند و تحت تأثیر تیمارهای اعمال شده نمی-باشند، بنابراین، اندازه‌گیری‌ها در سال دوم آزمایش انجام شد (Naghizade *et al*., 2014).

جدول ۲- ویژگی‌های خاک، بیوچار و ورمی کمپوست مورد استفاده در آزمایش.

Table 2. Characteristics of biochar, vermicompost and soil used in the experiment.

	Texture	K (mg kg^{-1})	P (mg kg^{-1})	N (%)	Organic Carbon (%)	EC (dS m^{-1})	C/N	Ash	pH
Soil	Clay Loamy	142	11.5	0.08	0.68	1.4	-	-	8.4
Biochar	-	2568	459	0.279	69.65	0.84	249.319	5.6	7.55
Vermicompost	-	1.54	1.32	1.84	26.9	2.8			

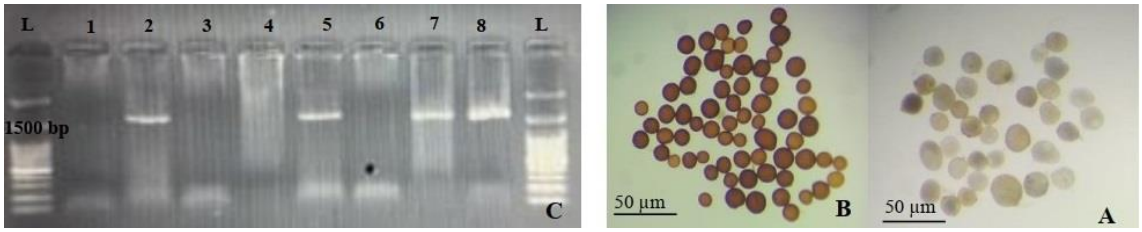
برداشت گل در پاییز سال ۱۳۹۸ و برداشت بنه‌ها در ۲۰ اردیبهشت سال ۱۳۹۹ انجام شد. بر این اساس، صفات مورد مطالعه شامل عملکرد اقتصادی (وزن کلاله خشک)، تعداد و وزن تر و خشک برگ، وزن (تر) و تعداد بنه، وزن (تر) و تعداد بنه‌های بیش از هشت گرم و قطر بنه در گلدان بودند. برای اندازه‌گیری عملکرد اقتصادی، کلاله‌ها از گل‌ها جدا و در سایه خشک شدند و سپس وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (9.1) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

شناسایی مولکولی

ارزیابی محصولات حاصل از تکثیر ناحیه SSU-ITS1-5.8S-ITS2-LSU، تکثیر بخشی از ژنوم به طول

تقریبی ۱۵۰۰ جفت باز را نشان داد (Krüger *et al.*, 2009) (شکل ۱). نتایج به‌دست آمده از بانک ژن NCBI نشان داد که جدایه a با شماره دسترسی MW254988 و جدایه b با شماره دسترسی MW254990 متعلق به گونه *Rhizophagus irregularis* بودند.



شکل ۱- A و B به‌ترتیب تصویر اسپور جدایه a و b دست نخورده درون آب تحت نور استریو میکروسکوپ. C محصول مرحله دوم PCR روی ژل آگارز ۱/۲ درصد، :Lنشانگر، ۴- ۱: جدایه a، ۷ :5 -جدایه b و ۸: شاهد.

Figure 1. A & B, spore image of isolates a and b intact in water under stereo microscope light, respectively. C Product of the second stage PCR on 1.2% agarose gel, L: marker, 4- 1: isolate a, 7-5: isolate b and 8: control

عملکرد اقتصادی (کلاله خشک)

نتایج این بررسی نشان داد که اثر ساده قارچ *R. irregularis* و اثر متقابل رژیم آبیاری به‌همراه بستر کاشت آلی بر عملکرد اقتصادی زعفران معنی‌دار شد (جدول ۳).

در برهمکنش رژیم آبیاری به‌همراه بستر کاشت، بیشترین و کمترین عملکرد به‌ترتیب در تیمار آبیاری مطلوب به‌همراه بیوچار و تیمار قطع آب در زاییج‌آب و کولش‌آب و عدم مصرف کود آلی با مقادیر ۰/۰۶۲ و ۰/۰۰۱ گرم در گلدان مشاهده شد (جدول ۴). بیوچار از طریق افزودن و نگهداری عناصر غذایی بر قابلیت دسترسی عناصر غذایی خاک مؤثر است (Chan and Xu, 2009)، بنابراین کاربرد منابع آلی با فراهمی عناصر غذایی و بهبود ساختار خاک و با تأثیر بر فرآیندهای رشد گیاه زعفران موجب افزایش عملکرد اقتصادی می‌شود (Behdani *et al*., 2005). تنش رطوبتی، یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد ماده خشک به‌ویژه عملکرد اقتصادی در زعفران می‌باشد (Sabet Teimouri *et al*. 2010).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر رژیم آبیاری، بستر کاشت آلی و قارچ *R. irregularis* بر برخی صفات زراعی زعفران.

Table 3. Variance analysis of the effect of irrigation regime, organic planting medium and *R. irregularis* on some agronomic traits of saffron.

Source of variation	df	Economic yield	Number of leaf	Leaf fresh weight	Leaf dry weight	Total weight of corm	Diameter of corm	Total number of corm	Weight of corm over 8 g	Number of corm over 8 g
Irrigation Regime	2	26.89**	6526.4**	3406.2**	1570.6**	4.147E4**	929.45**	257.03**	3.941E3**	357.7**
Irrigation × Replication	6	2.22	1.035	1.71	1.002	0.906	0.915	1.38	1.38	1.78
Planting Media	2	36.56**	1911.7**	1728.6**	555.7**	4.649E4**	739.17**	572.17**	9.366E3**	444.8**
Mycorrhiza	2	11.73**	667.4**	619.11**	207.14**	6.548E3**	72.36**	148.71**	1.192E3**	89.2**
Irrigation × Media	4	11.3**	17.78**	15.16**	6.85**	254.26**	17.94**	3.53*	1.248E3**	18.17**
Irrigation × Mycorrhiza	4	0.804^{ns}	6.9**	5.26**	2.77**	378. 8**	1.98^{ns}	2.84*	195.31**	2.02^{ns}
Media × Mycorrhiza	4	1.75^{ns}	24.95**	36.6**	12.48**	1.498E3**	3.58*	0.949^{ns}	581.77**	22.21**
Irrigation × Media × Mycorrhiza	8	0.375^{ns}	8.18**	10.92**	2.38**	351.32**	3.88**	1.97^{ns}	357.25**	1.93^{ns}
Sub error	48	0.00009	2.765	0.784	0.197	0.001	0.001	2.88	0.045	0.54
C.V. (%)		3.7	1.6	1.4	1.6	1.4	2.3	7.4	8.06	18.3

^{ns}، * و**: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد.

^{ns}, * and **: non-significant and significant at 1% and 5% of probability levels, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر رژیم آبیاری و بستر کاشت آلی بر عملکرد اقتصادی، تعداد کل بنه زعفران و بنه‌هایی با وزن بیش از هشت گرم در گلدان.

Table 4. Mean comparison of the effect of irrigation regime and organic planting media on economic yield and total number of saffron corms and corms weighing over 8 g per pot in.

Treatment		Economic yield (g pot^{-1})	Total number of corm	Number of corm over 8 g
I_1	M_0	0.018^{b}	36.67^{de}	3.44^{c}
	M_1	0.022^{b}	44.89^{b}	5.56^{b}
	M_2	0.062^{a}	54.22^{a}	8.78^{a}
I_2	M_0	0.011^{bcd}	29.44^{f}	0.00^{e}
	M_1	0.013^{bc}	38.22^{d}	1.22^{d}
	M_2	0.021^{b}	43.78^{bc}	4.78^{b}
I_3	M_0	0.001^{d}	25.33^{g}	0.00^{e}
	M_1	0.004^{cd}	33.78^{e}	0.56^{de}
	M_2	0.011^{bcd}	40.33^{cd}	2.56^{c}

I_1: آبیاری کامل، I_2: قطع آب در اوایل فصل رشد (زاییچ‌آب)، I_3: قطع آب در اوایل و اواسط فصل رشد (زاییچ‌آب و کولش‌آب)، M_0: عدم مصرف کود آلی، M_1: ورمی‌کمپوست، M_2: بیوچار. در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری بر مبنای آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند (LSD 5%).

I_1: full irrigation, I_2: irrigation cut off at the beginning of the growing season (Zaeech-Ab),I_3: irrigation cut off at the beginning and mid of the growing season (Zaeech-Ab & Kulesh-Ab), M_0: no organic fertilizer, M_1: vermicompost, M_2: biochar. In each column, means with similar letters do not have significant differences based on the LSD test (5%).

جدول ۵- تأثیر قارچ *R. irregularis* بر عملکرد اقتصادی زعفران در گلدان.

Table 5. Effect of *R. irregularis* on the economic yield of saffron in pots.

Treatment		Economic yield (g pot^{-1})
	Non-mycorrhizal	0.0114b
Arbuscular mycorrhizal	Isolate a	0.019a
	Isolate b	0.0242a

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری بر مبنای آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند (5%).

In each column, means with similar letters do not have significant differences based on the LSD test (5%).

اندازه‌گیری صفات مرتبط با برگ در گلدان

بر اساس جدول ۳، اثر متقابل رژیم آبیاری، بستر کاشت آلی و قارچ *R. irregularis* بر صفت تعداد و وزن تر و خشک برگ در گلدان معنی‌دار شد، به‌طوری‌که بیشینه و کمینه تعداد برگ در گلدان با میانگین ۱۸۰ و ۸۵ عدد، به‌ترتیب در تیمار آبیاری مطلوب به همراه بیوچار و *Rhizophagus irregularis isolate b* و تیمار قطع آب در زاییچ‌آب و کولش‌آب و عدم مصرف کود آلی و قارچ میکوریز مشاهده شد (جدول ۶). بین میانگین وزن تر و خشک برگ در اکثر تیمارها، تفاوت معنی‌دار وجود داشت، به‌طوری‌که بالاترین مقدار وزن تر (۹۰/۲ گرم در گلدان) و خشک برگ (۲۳/۹۶ گرم در گلدان)، به تیمار آبیاری مطلوب به همراه بیوچار و *Rhizophagus irregularis isolate b* بود که نسبت به تیمار قطع آب در زاییچ-آب و کولش‌آب و عدم مصرف کود آلی و قارچ میکوریز که کمترین مقدار این صفات (۴۱/۹ و ۱۰/۹۲ گرم در گلدان) را داشت، به‌ترتیب ۱۱۵ و ۱۱۹ درصد افزایش نشان داد (جدول ۶). بررسی‌ها نشان داد که بین استفاده از کود آلی و عملکرد زعفران، همبستگی مثبت و بالایی وجود دارد (Jassemi *et al*., 2010)، به‌همین دلیل، افزودن کودهای آلی و زیستی سبب بهبود حاصلخیزی خاک و به دنبال آن، فراهمی عناصر غذایی و بهبود رشد زعفران و افزایش صفات مرتبط با برگ شده است. از سوی دیگر، همبستگی بالایی بین پتانسیل آب خاک و سرعت فتوسنتز در زعفران مشاهده شده است، به‌طوری‌که با کاهش پتانسیل آب، سرعت فتوسنتز کاهش یافت (Renau-Morata *et al*., 2012) . در پژوهشی، Nehvi *et al*. (2010) نشان دادند که کاربرد توأم باکتری آزوسپریلوم و قارچ میکوریز آربوسکولار، سبب افزایش ۴۰ درصدی عملکرد زعفران نسبت به شاهد شد. محققان اظهار داشتند که وزن خشک برگ در تیمار ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی، ۲۱/۷ درصد وزن تر و در تیمار تنش آبی، ۱۵/۴ درصد وزن تر برگ در زعفران بود. این مسئله نشان می‌دهد که افزایش ماده خشک، تابع

وجود آب قابل وصول در محیط ریشه و در نتیجه انتقال عناصر غذایی لازم از ریشه به برگ‌ها و در نهایت انجام فتوسنتز در شرایط بهینه است (Sabet Teimouri *et al*. 2010).

جدول ۶- مقایسه میانگین برهمکنش رژیم آبیاری، بستر کاشت آلی و قارچ *R. irregularis* بر برخی صفات زراعی زعفران.

Table 6. Mean comparison of the interaction effect of irrigation regime, organic planting media and *R. irregularis* on some agronomic traits of saffron.

Irrigation regime	Planting Media	Arbuscular mycorrhizal	Number of leaf per pot	Leaf fresh weight (g pot^{-1})	Leaf dry weight (g pot^{-1})	Total weight of corm (g pot^{-1})	Diameter of corm (cm)	Weight of corm over 8 g (g pot^{-1})
		Non-mycorrhizal	137.3^{h}	68.4^{h}	16.86^{ijk}	4.23^{m}	1.80^{ghij}	8.73^{k}
	M_0	Isolate a	141.7^{g}	70.5^{g}	18.39^{g}	4.65^{l}	1.84^{ghi}	9.1^{j}
		Isolate b	144^{g}	71.4^{g}	18.59^{fg}	4.74^{k}	1.86^{fgh}	9.63^{hi}
		Non-mycorrhizal	148^{f}	73.7^{ef}	19.16^{ef}	4.96^{i}	1.89^{efg}	10.1^{gh}
I_1	M_1	Isolate a	160^{d}	79.1^{d}	20.96^{c}	6.26^{d}	2.07 ^{cd}	10.54^{def}
		Isolate b	164.7 ^{c}	81.8 ^{c}	22.35^{b}	6.48^{c}	2.12 ^{c}	10.62^{de}
		Non-mycorrhizal	154.7^{e}	75.2^{e}	20.06^{d}	6.29^{d}	2.29^{b}	10.71^{cde}
	M_2	Isolate a	174^{b}	86.4^{b}	22.83^{b}	7.29^{b}	2.28^{b}	12.07^{b}
		Isolate b	180^{a}	90.2^{a}	23.96^{a}	7.67^{a}	2.38^{a}	12.66^{a}
		Non-mycorrhizal	94.4^{op}	47.5^{op}	12.54^{n}	2.7^{r}	1.58^{o}	۰.۰^{l}
	M_0	Isolate a	111^{lm}	54.1^{n}	14.54^{m}	2.8^{q}	1.69^{lm}	۰.۰^{l}
		Isolate b	113.3^{k}	56.2^{m}	14.56^{m}	2.85^{p}	1.70^{lm}	۰.۰^{l}
		Non-mycorrhizal	122.3^{j}	61.2^{k}	16.57^{k}	2.98^{n}	1.75^{jkl}	۰.۰^{l}
I_2	M_1	Isolate a	131^{i}	65.1^{j}	17.36^{ij}	4.46^{l}	1.78^{hijk}	9.16^{j}
		Isolate b	135.8^{h}	66.7^{i}	17.54^{hi}	5.02^{h}	1.83^{ghij}	10.43^{def}
		Non-mycorrhizal	122.7^{j}	60.2^{k}	15.61^{l}	5.19^{g}	1.92^{ef}	10.16^{fg}
	M_2	Isolate a	141.6^{g}	70.3^{g}	18.2^{gh}	5.35^{f}	1.94^{e}	10.38^{ef}
		Isolate b	147^{f}	73.3^{f}	19.41^{de}	5.65^{e}	2.04^{d}	11.88^{b}
		Non-mycorrhizal	85^{r}	41.9^{q}	10.92^{o}	2.49^{t}	1.4^{q}	۰.۰^{l}
	M_0	Isolate a	93^{q}	46.3^{op}	12.14^{n}	2.59^{s}	1.47^{p}	۰.۰^{l}
		Isolate b	94^{pq}	46^{p}	12.26^{n}	2.66^{r}	1.57^{o}	۰.۰^{l}
		Non-mycorrhizal	97.3^{o}	47.8^{o}	12.67^{n}	2.77^{q}	1.63^{no}	۰.۰^{l}
I_3	M_1	Isolate a	108.6^{mn}	53.5^{n}	14.09^{m}	2.91^{o}	1.67^{mn}	۰.۰^{l}
		Isolate b	113^{kl}	55.9^{m}	14.47^{m}	4.64^{l}	1.73^{kl}	9.33^{ij}
		Non-mycorrhizal	106^{n}	53.1^{n}	13.89^{m}	4.82^{j}	1.77^{ijk}	9.83^{gh}
	M_2	Isolate a	116^{k}	58.13^{l}	15.62^{l}	5.05^{h}	1.88^{ghij}	10.36^{def}
		Isolate b	121^{j}	60.9^{k}	16.61^{jk}	5.22^{g}	1.89^{efg}	11.06^{c}

I_1: آبیاری کامل، I_2: قطع آب در اوایل فصل رشد (زاییج‌آب)، I_3: قطع آب در اوایل و اواسط فصل رشد (زاییج‌آب و کولش‌آب)، M_0: عدم مصرف کود آلی، M_1: ورمی‌کمپوست، M_2: بیوچار. در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری بر مبنای آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) با یکدیگر ندارند (LSD 5%).

I_1: full irrigation, I_2: irrigation cut off at the beginning of the growing season (Zaeech-Ab),I_3: irrigation cut off at the beginning and mid of the growing season (Zaeech-Ab & Kulesh-Ab), M_0: no organic fertilizer, M_1: vermicompost, M_2: biochar. In each column, means with similar letters do not have significant differences based on the LSD test (5%).

اندازه‌گیری صفات مرتبط با بنه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش رژیم آبیاری، بستر کاشت آلی و قارچ *R. irregularis* بر صفات میانگین وزن و قطر بنه در گلدان معنی‌دار شد (جدول ۳). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، بیشینه میانگین وزن (۷/۶۷ گرم در گلدان) و قطر بنه (۲/۳۸ سانتی‌متر) به تیمار آبیاری مطلوب به همراه بیوچار و *Rhizophagus irregularis isolate b* تعلق داشت که نسبت به کمینه میانگین وزن (۲/۴۹ گرم در گلدان) و قطر (۱/۴ سانتی‌متر) که در تیمار قطع آب در زاییج-آب و کولش‌آب و عدم مصرف کود آلی و قارچ میکوریز به‌دست آمد، به‌ترتیب ۲۰۸ و ۷۰ درصد افزایش نشان داد (جدول ۶). در صفت تعداد بنه در گلدان، برهمکنش رژیم آبیاری و بستر کاشت آلی و همچنین رژیم آبیاری و *R. irregularis* معنی‌دار بود. در مقایسه میانگین برهمکنش رژیم آبیاری و بستر کاشت آلی، بیشترین و کمترین تعداد بنه در گلدان به‌ترتیب در تیمار آبیاری مطلوب همراه با بیوچار و تیمار قطع آب در زاییج‌آب و کولش‌آب و عدم مصرف کود آلی با میانگین ۵۴/۲۲ و ۲۵/۳۳ عدد مشاهده شد (جدول ۴). در تیمار رژیم آبیاری و *R. irregularis* بیشترین تعداد بنه در گلدان با میانگین ۴۸ عدد، متعلق به تیمار آبیاری مطلوب و *Rhizophagus irregularis* isolate b بود که با تیمار آبیاری مطلوب و

Rhizophagus irregularis isolate a (۴۵/۷ عدد) تفاوت معنی‌داری نداشت، درحالی‌که کمترین تعداد بنه در گلدان با میانگین ۲۷/۸۹ عدد، در تیمار قطع آب در زاییچ‌آب و کولش‌آب و عدم مصرف قارچ میکوریز مشاهده شد (جدول ۷). از آن‌جا که زعفران به‌صورت چندساله بهره‌برداری می‌شود، سازگاری بسیار بالایی با کودهای آلی دارد، از این رو، کودهای آلی نقش بسیار مهمی در افزایش عملکرد آن از طریق افزایش وزن بنه دارند (Koocheki *et al*., 2017). در آزمایشی Koocheki & Seyyedi (2016) نشان دادند که با کاربرد کود گاوی، ورمی‌کمپوست و کمپوست به‌صورت منفرد، عملکرد بنه زعفران در متر مربع در هر سه کود به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که علت این افزایش عملکرد را ناشی از فراهمی عناصر غذایی به‌ویژه نیتروژن و فسفر و بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک دانستند. در مطالعه‌ای دیگر Caser *et al*. (2018) نشان دادند که تلقیح بنه‌های زعفران با قارچ‌های *Funneliformis mosseae* و *Rhizophagus intraradices* به‌صورت توأم، سبب افزایش تعداد، وزن و قطر بنه نسبت به عدم مصرف آن شد. در ارزیابی اثر رژیم‌های رطوبتی ۵۰، ۶۰ و ۷۰ درصد ظرفیت زراعی، عرف محل به همراه آبیاری تابستانه وآبیاری بر اساس عرف محل بر عملکرد زعفران نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش رطوبتی، تعداد و وزن بنه‌ها کاهش یافت، علاوه بر این، وزن و تعداد بنه در تیمار آبیاری عرف محل، بیشتر از سایر تیمارها بود (Hosseini & Rahimi, 2018).

جدول ۷- تأثیر تنش آبی و قارچ *R. irregularis* بر تعداد کل بنه زعفران در گلدان.

Table 7. Effect of water stress and *R. irregularis* on total number of saffron corms per pot.

Treatment		Total number of corms
I_1	Non-mycorrhizal	42.1^{ab}
	Isolate a	45.7^{a}
	Isolate b	48^{a}
I_2	Non-mycorrhizal	32.44^{de}
	Isolate a	38.11^{bcd}
	Isolate b	40.9^{abc}
I_3	Non-mycorrhizal	27.89^{e}
	Isolate a	34.56^{cde}
	Isolate b	37^{bcd}

I_1: آبیاری کامل، I_2: قطع آب در اوایل فصل رشد (زاییچ‌آب)، I_3: قطع آب در اوایل و اواسط فصل رشد (زاییچ‌آب و کولش‌آب)، M_0: عدم مصرف کود آلی، M_1: ورمی‌کمپوست، M_2: بیوچار. در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری بر مبنای آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) با یکدیگر ندارند (5% LSD).

I_1: full irrigation, I_2: irrigation cut off at the beginning of the growing season (Zaeech-Ab),I_3: irrigation cut off at the beginning and mid of the growing season (Zaeech-Ab & Kulesh-Ab), M_0: no organic fertilizer, M_1: vermicompost, M_2: biochar. In each column, means with similar letters do not have significant differences based on the LSD test (5%).

بر اساس جدول ۳، برهمکنش رژیم آبیاری، بستر کاشت و قارچ *R. irregularis* بر وزن بنه‌های بیش از هشت گرم در گلدان معنی‌دار شد. همچنین در تعداد بنه‌هایی با وزن بالاتر از هشت گرم، اثر رژیم آبیاری و بستر کاشت آلی و همچنین بستر کاشت آلی و *R. irregularis* معنی‌دار شد. بالاترین وزن بنه در بنه-هایی با وزن بیش از هشت گرم، در تیمار آبیاری مطلوب به همراه بیوچار و *Rhizophagus irregularis* isolate *b* (با میانگین ۱۲/۶۶ گرم) مشاهده شد که با تیمار آبیاری مطلوب به همراه بیوچار و *Rhizophagus irregularis* isolate a تفاوت معنی‌داری نداشت و کمترین وزن بنه در گلدان در تیمارهای قطع آب در زاییچ‌آب و کولش‌آب و قطع آب در زاییچ‌آب و عدم مصرف کود آلی تحت هر سه تیمار قارچ میکوریز، قطع آب در زاییچ‌آب و کولش‌آب به همراه ورمی‌کمپوست با عدم مصرف قارچ میکوریز و *Rhizophagus irregularis* isolate a و قطع آب در زاییچ‌آب به همراه ورمی‌کمپوست و عدم مصرف قارچ میکوریز مشاهده شد که بنه‌ای با وزن بالاتر از هشت گرم نداشتند (جدول ۶). در مقایسه میانگین تعداد بنه‌هایی با وزن بیش از هشت گرم، بیشترین تعداد بنه با میانگین ۸/۷۸ عدد بنه در گلدان، متعلق به تیمار

آبیاری مطلوب و بیوچار بود و کمترین آن، در قطع آب در زاییج‌آب و زاییج‌آب و کولش‌آب و عدم مصرف کود آلی مشاهده شد که بنه بالاتر از هشت گرم نداشتند (جدول ۴).

بیشترین تعداد بنه‌هایی با وزن بیش از هشت گرم در گلدان با میانگین ۷/۱۱ عدد، از برهمکنش بستر کاشت آلی با *R. irregularis* در تیمار بیوچار با *Rhizophagus irregularis* isolate b مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار بیوچار و *Rhizophagus irregularis* isolate a نداشت و این در حالی بود که کمترین میزان این صفت (۱ عدد) در تیمار عدم مصرف کود آلی و قارچ میکوریز مشاهده شد که با سایر تیمارها بجز دو تیمار بیشینه گفته شده در بالا، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۸).

جدول ۸- تأثیر بستر کاشت آلی و قارچ *R. irregularis* بر تعداد بنه‌های زعفران با وزن بیش از هشت گرم در گلدان.

Table 8. Effect of organic planting media and *R. irregularis* on the total number of saffron corms over 8 g per pot.

Treatment		Number of corm over 8 g
M_0	Non-mycorrhizal	1^{c}
	Isolate a	1.22^{c}
	Isolate b	1.22^{c}
M_1	Non-mycorrhizal	1.33^{c}
	Isolate a	2.67^{c}
	Isolate b	3.33^{bc}
M_2	Non-mycorrhizal	3.56^{bc}
	Isolate a	5.44^{ab}
	Isolate b	7.11^{a}

M_0: عدم مصرف کود آلی، M_1: ورمی‌کمپوست و M_2: بیوچار. در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری بر مبنای آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) با یکدیگر ندارند (LSD 5%).

M_0: no organic fertilizer, M_1: vermicompost and M_3: biochar. In each column, means with similar letters do not have significant differences based on the LSD test (5%).

بیوچار حاوی عناصر غذایی می‌باشد که قابل دسترس برای فلور میکروبی خاک و ریشه گیاهان می‌باشد، به همین دلیل، افزودن آن به خاک اغلب سبب واکنش مثبت گیاه و قارچ میکوریز آربوسکولار به آن می‌شود (Warnock *et al.*, 2007). همچنین خاک‌های حاوی ورمی‌کمپوست، به دلیل داشتن نیتروژن، فسفر و پتاسیم بیشتر و از سوی دیگر غنی بودن از هورمون-های رشد و ویتامین‌ها نسبت به خاک‌های فاقد آن می‌توانند موجب افزایش رشد، وزن تر و خشک گیاه شوند (Martin *et al.*, 1997). نتایج یک مطالعه نشان داد که کاربرد ورمی‌کمپوست، اثر معنی‌داری بر صفات بنه مانند وزن کل، متوسط وزن تر و خشک و قطر بنه داشت (Aminifard *et al.*, 2019). در مطالعه‌ای دیگر در گندم (*Triticum aestivum* L.)، محققان افزایش وزن خشک کل را در گیاهان میکوریزی نسبت به گیاهان غیرمیکوریزی در تنش شدید خشکی، به دلیل دسترسی ریشه گیاهان میکوریزی به آب موجود در زیر نقطه پژمردگی دایم نسبت دادند (Beltrano & Ronco, 2008).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد، با این‌که زعفران گیاهی با نیاز آبی پایین است، اما تنش آبی باعث کاهش عملکرد اقتصادی، ویژگی‌های رویشی و تعداد و وزن بنه شد. کاربرد کودهای آلی و دو جدایه قارچ *Rhizophagus irregularis* منجر به بهبود عملکرد اقتصادی زعفران شد. همچنین استفاده از دو جدایه قارچ *Rhizophagus irregularis* به همراه کودهای آلی در شرایط آبیاری مطلوب به‌طور معنی‌داری سبب افزایش ویژگی‌های رویشی و صفات مرتبط با بنه شد، اما این افزایش با کاربرد بیوچار و *Rhizophagus irregularis isolate b* به طور قابل توجهی بالاتر از دیگر تیمارها بود. بنابراین استفاده توأم از بیوچار و *Rhizophagus irregularis* isolate b می‌تواند نقش مهمی در رشد رویشی و افزایش عملکرد بنه زعفران داشته باشد.

REFERENCES

1. Aghhavani Shajari, M., Rezvani Moghaddam, P., Ghorbani, R. & Koocheki, A. (2018). Increasing saffron (*Crocus sativus* L.) corm size through the mycorrhizal inoculation, humic acid application and irrigation managements. *Journal of Plant Nutrition*, 41(8), 1047-1064.
2. Aminifard, M. H., Oftadeh Fadafen, A., Moradi Nezhad, F. & Behdani, M. A. (2019). Effects of vermicompost and nitroxin on replacement corm characteristics and flower yield of saffron (*Crocus sativus* L.) in the second year. *Saffron Agronomy & Technology*, 7(2), 139- 154. (In Persian)
3. Bakhtiari, A. A., Hematian, A. & Sharifi, A. (2015). Energy analyses and greenhouse gas emissions assessment for saffron production cycle. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 16184-16201.
4. Behdani, M. A., Koocheki, A., Nassiri, M. & Rezvani, P. (2005). Evaluation of quantitative relationships between saffron (*Crocus sativus* L.) yield and nutrition (on farm trial). *Iraninan Journal of Field Crops Research*, 3(1), 1-14. (In Persian)
5. Beltrano, J. & Ronco M. G. (2008). Improved tolerance of wheat plants (*Triticum aestivum* L.) to drought stress and rewatering by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum*: Effect on growth and cell membrane stability. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 20(1), 29-37.
6. Bernardo, L., Morcia, C., Carletti, P., Ghizzoni, R., Badeck, F.W., Rizza, F., Lucini, L. & Terzi, W. (2017). Proteomic insight into the mitigation of wheat root drought stress by arbuscular mycorrhizae. *Journal of Proteomics*, 28, 1-12.
7. Caser, M., Victorino, I. M. M., Demasi, S., Berruti, A., Donno, D., Lumini, E., Bianciotto, V. & Scariot, V. (2019). Saffron cultivation in marginal alpine environments: How AMF inoculation modulates yield and bioactive compounds. *Agronomy*, 1- 14.
8. Dai, L., Li, H., Tan, F., Zhu, N., He, M. & Hu, G. (2016). Biochar: a potential route for recycling of phosphorus in agricultural residues. *Bioenergy*, 8, 852-858.
9. Dalpe, Y. (1993). Vesicular – arbuscular mycorrhiza. pp. 287 – 301. In: M.R. Carter (Ed), Soil sampling and methods of analysis. (pp. 287 301) Lewis, Boca Raton.
10. Darzi, M., Haj Seyedhadi, M. & Rejali, F. (2012). Effects of the application of vermicompost and phosphate solubilizing bacterium on the morphological traits and seed yield of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2), 215-219.
11. Chan, Y. K. & Xu, Z. (2009). Biochar for Environmental Management. In: Lehmann, J and S. Joseph (Ed), *Biochar: Nutrient Properties and Enhancement*. (pp. 68-74.) Earthscan, USA.
12. Doan, T. T., des-Tureaux, T. H., Rumpel, C., Janeau, J. T. & Jouquet, P. (2015). Impact of compost, vermicompost and biochar on soil fertility, maize (*Zea mays*) yield and soil erosion in Northern Vietnam: A three year mesocosm experiment. *Science of the Total Environment*, 514, 147-154.
13. Gerdemann, J. W. & Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogene species extracted from soil by wet- siving and decanting. Transaction in British Mycological Society, 46: 235-244.
14. Ghavamsaeidi Noghbi, S., Khashei Siuki, A., Hammami, H., Shahidi, A. & Yaghoobzadeh, M. (2019). Determination of evapotranspiration and crop coefficient of Saffron (*Crocus sativusL.*) by using lysimetric method in the dry-desert climate of Birjand. *Journal of Saffron Research*, 8(1), 161-172. (In Persian)
15. Hosseini, M. & Rahimi, H. (2018). Effect of Irrigation Regimes on Yield and Qualitative Criteria of Saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Saffron Research*, 5(2), 247-255. (in Persian)
16. Jassemi, K., Kardoni, F. & Behdani, M. A. (2010). The study of various fertilizers use and their effects on yield in the saffron fields. In: Proceedings of *the 1st Iranian Fertilizer Challenges Congress*, 10-12 Mar, Tehran, Iran.
17. Koocheki, A. & Seyyedi, S. M. (2015). Phonological stages and formation of replacement corms of saffron (*Crocus sativus* L.) during growing period. *Journal of Saffron Research*, 3(2), 134-154. (In Persian)
18. Koocheki, A., Seyyedi, S. M. & Gharaei, S. (2016a). Evaluation of the effects of saffron-cumin intercropping on growth, quality and land equivalent ratio under semi-arid conditions. *Scientia Horticulturae*, 201, 190-198.
19. Koocheki, A. & Seyyedi, S. M. (2016b). Effects of corm size, organic fertilizers, Fe-EDTA and Zn-EDTA foliar application on nitrogen and phosphorus uptake of saffron foliar application on nitrogen and phosphorus uptake of saffron (*Crocus sativus* L.) in a calcareous soil under greenhouse conditions. *Notulae Scientia Biologicae*, 8(4), 461- 467.

20. Koocheki, A., Nassiri Mahallati, M., Rezvan beydokhti S. & Sanjani, S. 2017. The effect of planting bed height, manure and foliar feeding on corm criteria and yield of Saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Agroecology*, 9(1), 158- 170. (In Persian)
21. Koocheki, A. & Khaje Hosseini, M. (2020). *Saffron: Science, Technology and Health*. Woodhead Publishing.
22. Krüger, M., Stockinger, H., Krüger, C. & Schüßler, A. (2009). DNA-based species level detection of Glomeromycota: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 183, 212-223.
23. Makarian, H., Baradaran Firouzabadi, M. & Ghorbani Ghoujdi, H. (2017). Effect of drought stress, zeolite and ascorbic acid foliar application on growth and yield of saffron (*Crocus sativus* L.). In: Proceeding of *National Conference Medicinal Plants*, 18-19 March, Shahrood University.
24. Martin, J. P., Black, J. H. & Hawthorne, R. M. (1997). Influence of earthworm-processed pig manure on the growth and yield of greenhouse tomatoes. *Bioresource Technology*, 75 (3), 175-180.
25. Mau, A. E. & Utami, R. S. (2014). Effects of biochar amendment and arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on availability of soil phosphorus and growth of maize. *Journal of Degraded & Mining Lands Management*, 1(2), 69-74.
26. Naghizadeh, M., Gholami Shabestari, M. & Shamsaddin Saied, M. (2014). The study of some physiological responses of three Iranian saffron (*Crocus sativus* L.) landraces to salinity stress. *Saffron Agronomy & Technology* 2(2), 127- 136. (In Persian)
27. Najafi Ghiri, M. (2015). The effect of using different biochar on some soil properties and adsorption capability some nutrients in a calcareous soil. *Journal of Soil Research*, 29(3), 351- 358. (In Persian)
28. Nehvi, F. A., Khan, M. A., Lone, A. A. & Maqhdoomi, M. I. (2010). Impact of microbial inoculation on growth and yield of saffron in Kashmir. *Acta Horticulturae*, 850(27), 171-175.
29. Rasouli, Z., Maleki Farahani, S. & Besharati, H. (2013). Response of some vegetative properties of saffron (*Crocus sativus* L.) to different fertilizer sources. *Soil & Water Sciences*, 27(1), 35-46. (In Persian)
30. Renker, C., Heinrichs, J., Kaldorf, M. & Buscot, F. (2003) Combining nested PCR and restriction digest of the internal transcribed spacer region to characterize arbuscular mycorrhizal fungi on roots from the field. *Mycorrhiza*, 13, 191-198.
31. Renau-Morata, B., Nebauer, S. G., Sanches, M. & Molina, R. V. (2012). Effect of corm size, water stress and cultivation conditions on photosynthesis and biomass partitioning during the vegetative growth of saffron (*Crocus sativus* L.). *Industrial Crops and Products*, 39, 40-46.
32. Sabet Teimouri, M., Kafi, M., Oorsaji, Z. & Orooji, K. (2010). Effect of drought stress, corm size and corm tunic on morpho-Ecophysiological charachteristics of saffron (*Crocus sativus* L.) under greenhouse condition. *Journal of Agroecology*, 2(2), 323-334. (In Persian)
33. Sadravi, M. & Talaei, F. (2015). Methods of mass production of inoculum of endomycorrhizal fungi. *Plant Pathology Science*, 4(1), 13- 22. (In Persian)
34. Seyyedi, S. M., Ebrahimian, E. & Rezaei-Chiyaneh, E. (2018). Saffron daughter corms formation, nitrogen and phosphorous uptake in response to low planting density, sampling rounds, vermicompost and mineral fertilizers. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 49(5), 585-603.
35. Srinivasan, M., Kumar, K., Kumutha, K. & Marimuthu, P. (2014). Establishing monoxenic culture of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* through root organ culture. *Journal of Applied and Natural Science*, 6(1), 290-293.
36. Uzoma, K. C., Inoue, M., Andry, H., Fujimaki, H., Zahoor, A. & Nishihara E. (2011). Effect of cow manure biochar on maize productivity under sandy soil condition. *Soil Use and Management*, 27, 205-212.
37. Warnock, D. D., Lehmann, J., Kuyper, T. W. & Rillig, M. C. (2007). Mycorrhizal responses to biochar in soil - concepts and mechanisms. *Plant & Soil*, 300, 9-20.
38. Wang, L., Xue, X., Nie, X., Liu, Y. & Chen, F. (2018). Effects of biochar application on soil potassium dynamics and crop uptake. *Journal of Plant Nutrition & Soil Science*, 181, 635-643.