به‌زراعی کشاورزی

دوره ۲۳ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۴۰۰

صفحه‌های ۵۹۱-۵۷۹

مقاله پژوهشی:

جداسازی و شناسایی قارچ‌های میکوریز آربوسکولار هم‌زیست زعفران و بررسی اثر آن‌ها بر عملکرد گل و جذب عناصر غذایی در شرایط قطع آبیاری و بسترهای مختلف کشت

مریم حبیبی[۱]، فائزه زعفریان[۲]*، فرهاد رجالی[۳]، نادعلی باقری[۴]

۱. دانشجوی دکتری، گروه زراعت، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۲. دانشیار، گروه زراعت، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۳. دانشیار، مؤسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۴. دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۴/۰۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۷/۰۱

چکیده

به‌منظور بررسی اثر دو جدایه قارچ میکوریز موجود در ریزوسفر زعفران بر عملکرد گل زعفران و جذب عناصر غذایی، مطالعه‌ای به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در طی سال‌های ۹۹-۱۳۹۶ در مؤسسه تحقیقات خاک و آب واقع در شهرستان کرج اجرا شد. تیمارها شامل رژیم آبیاری به‌عنوان عامل اصلی در سه سطح (آبیاری کامل، قطع آبیاری در ابتدای فصل رشد (محدودیت ملایم آب) و قطع آبیاری در ابتدا و اواسط فصل رشد (محدودیت شدید آب))، و عامل فرعی بستر کاشت در سه سطح (عدم مصرف کود آلی، 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) بودند. براساس یافته‌های مولکولی هر دو جدایه جداسازی‌شده از ریزوسفر زعفران متعلق به گونه *Rhizophagus irregularis* بود. نتایج این بررسی نشان داد که بیش‌ترین عملکرد تر گل، فسفر و پتاسیم موجود در برگ به‌ترتیب با مقدار ۷/۷۶ گرم در گلدان، ۱۰۳۲/٤ و ۲٤۸۷٦/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم متعلق به تیمار آبیاری کامل× بیوچار× جدایه b بود. تیمار آبیاری کامل× ورمی‌کمپوست× جدایه b بالاترین درصد نیتروژن (۱/۷۵۷) موجود در برگ را داشت. بیش‌ترین عملکرد تر و خشک کلاله (به‌ترتیب ۰/۳۵۸ و ۰/۰٦۲ گرم در گلدان) در تیمار آبیاری کامل× بیوچار مشاهده شد. شناسایی قارچ میکوریز بومی گیاه و تولید آن و هم‌چنین استفاده از کودهای آلی می‌تواند در تولید پایدار این گیاه نقش به‌سزایی داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: آبیاری، بستر کاشت، زعفران، شناسایی میکوریزا آربوسکولار، عملکرد کلاله.

Isolation and Identification of Arbuscular Mycorrhizal Fungi of Saffron Symbiosis and Investigation of Their Effect on Yield and Nutrient Uptake under Water Interruption and Different Planting Bed

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

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

Received: June 23, 2020 Accepted: September 22, 2020

Abstract

In order to investigate the effect of Arbuscular mycorrhizal fungi in Saffron rhizosphere on yield and nutrient uptake, a study has been conducted as split plot factorial based on a completely randomized design with three replications in the institute of Soil and Water research in Karaj, during 2017-2020. The treatment is consisted of irrigation regime as the main factor in three levels (complete irrigation as control, water interruption at the beginning of the growing season (mild restriction water), and water interruption at the beginning and in the middle of the growing season (severe restriction water)), sowing media in three levels (no organic fertilizer, vermicompost (20 ton ha^{-1}), and biochar (10 ton ha^{-1}) and Arbuscular mycorrhizal fungal in three levels (no application, isolate a, and isolate b) as the subfactor. Based on the molecular findings, both isolates, isolated from saffron rhizosphere, belong to *Rhizophagus irregularis*. Results from this study show that the highest fresh yield of flowers, i.e. phosphorus and potassium in the leaves of 7.76 g per pot, 1032.4.4 and 24876.8 mg kg^{-1}, respectively, belongs to the complete irrigation× biochar× strain b treatment. Complete irrigation× vermicompost× strain b treatment has had the highest percentage of nitrogen (1.757) in the leaves. The highest fresh and dried yield of stigma (0.358 and 0.062 gr per pot, respectively) has been observed in complete irrigation × biochar treatment. Identification of native mycorrhizal fungi and its production as well as the use of organic fertilizers can play an important role in sustainable production of this plant.

Keywords: Identification arbuscular mycorrhizal, irrigation, saffron, sowing media, stigma yield

* نویسنده مسئول Email: fa.zaefarian@sanru.ac.ir

۱. مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی چندساله از خانواده زنبقیان که کلاله‌های خشک‌شده گل آن ادویه‌ای بسیار گران‌قیمت به‌شمار می‌رود، به‌گونه‌ای که آن را طلای سرخ می‌نامند (Moshtaghi *et al*., 2010; Naghizade *et al*., 2014). ایران با سطح زیر کشت ۱۰۵۲۶۹ هکتار و تولید ۳۳۶ تن تقریباً ۹۰ درصد زعفران دنیا را تولید می‌کند (Ebrahimi *et al*., 2020). با توجه به اهمیت و جایگاه استراتژیک زعفران در کشاورزی ایران توسعه عملکرد کمی و کیفی آن امری ضروری بوده و برای دست‌یابی به عملکرد مطلوب انجام مطالعاتی در زمینه بهبود مدیریت زراعی به‌ویژه حاصل‌خیزی خاک و تغذیه گیاه می‌تواند نقش مهمی در تولید آن داشته باشد (Rezvani moghadam *et al*., 2013b).

عمده مناطق ایران در ناحیه خشک و نیمه‌خشک قرار دارد و از سوی دیگر کمبود مواد آلی خاک در این مناطق می‌تواند رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک را تحت تأثیر قرار دهد (Rezvani moghadam *et al*., 2013a). بیوچار حاصل فرایند گرماکافت ترکیبات آلی و سرشار از کربن می‌باشد که امروزه به‌عنوان یک اصلاح‌کننده خاک بسیار موردتوجه پژوهش‌گران قرار گرفته که می‌تواند سبب افزایش محصول، تنوع و فراوانی جامعه میکروبی خاک و ترسیب کربن به خاک شود (Shanta *et al*., 2016). هم‌چنین این ماده از یک‌سو مواد مغذی را جذب کرده و در زمان نیاز گیاه آن را در اختیار گیاه می‌گذارد و از سوی دیگر باعث حفظ رطوبت خاک می‌شود (Zaefarian *et al*., 2019). ورمی‌کمپوست ماده‌ای هوموس مانند، که با تجزیه ضایعات مواد آلی به‌وسیله گروه خاصی از کرم‌های خاکی و میکروارگانسیم‌ها به‌وجود می‌آید و دارای خلل‌وفرج فراوان، زهکشی مناسب، ظرفیت نگهداری آب بالا و هم‌چنین سرشار از عناصر غذایی ماکرو و میکرو است که می‌تواند سبب افزایش زیست‌توده گیاه شود (Wathira *et al*., 2016). در پژوهشی گزارش شد که مصرف ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست و کود زیستی حاوی باکتری‌های محرک رشد به‌صورت منفرد و ترکیب با کودهای شیمیایی در زعفران سبب افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک برگ در تیمار مصرف انفرادی ورمی‌کمپوست و کود زیستی شد (Rasouli *et al*., 2013). نتایج مطالعه Rezvani moghadam *et al*. (2013b) نشان داد که با افزودن ۶۰ و ۱۲۰ تن در هکتار کمپوست بستر قارچ در زعفران، بیش‌ترین وزن تر گل و عملکرد کلاله به‌ترتیب با میانگین ۵۵/۰۵ و ۰/۵۱ کیلوگرم در هکتار با مصرف ۶۰ تن کمپوست به‌دست آمد که در نتیجه تأمین مقدار مناسب و مطلوب عناصر غذایی در محیط رشد و بهبود رشد بنه و تخصیص مواد فتوسنتزی برای افزایش گلدهی حاصل شد.

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که اثر بسیار نامطلوبی بر تولید کشاورزی، رشد گیاهان زراعی، عملکرد، تنوع و کیفیت فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک ضروری در گیاهان می‌گذارد (Ibrahim & Abdellatif, 2016). در بین میکروارگانیسم‌های مفید خاک، قارچ میکوریز آربوسکولار با ریشه بیش از ۸۰ درصد از گونه‌های گیاهی رابطه هم‌زیستی دارد که در سال‌های اخیر از این هم‌زیستی به‌عنوان روشی برای افزایش مقاومت گیاه در مقابل اثرات نامطلوب تنش‌های محیطی به‌ویژه تنش خشکی استفاده شده است (Colla *et al*., 2015; Chitarra *et al*., 2016). افزایش مقاومت گیاهان میکوریزی در برابر تنش خشکی حاصل فرایندهای مختلف سلولی می‌باشد (Porcel & Ruiz-Lozano, 2004). قارچ‌های میکوریزی با تشکیل شبکه‌های هیف در اطراف ریشه گیاه میزبان و افزایش سطح تماس ریشه با خاک سبب بهبود جذب آب و عناصر غذایی و درنتیجه آن افزایش رشد و مقاومت گیاه میزبان می‌شوند (Esmaielpour & Amani, 2014). نیاز آبی

زعفران بستگی به شرایط اقلیمی متفاوت می‌باشد، به‌طوری‌که در مناطق مدیترانه‌ای آبیاری چندان متداول نمی‌باشد درحالی‌که در ایران سالیانه ۳۰۰۰ مترمکعب آب مصرف می‌شود (Fallahi & mahmoodi, 2018). مطالعات نشان دادند که آبیاری و تأمین رطوبت موردنیاز زعفران در کنار فراهمی عناصر غذایی بر رشد و نمو بنه‌های دختری و درنتیجه آن عملکرد گل در سال بعد مؤثر می‌باشد (Juan *et al.*, 2009). تنش خشکی در ابتدای فصل رشد زعفران به‌ترتیب سبب کاهش ١٤، ٢٦/٥ و ٥٨/٣ درصدی محتوای نسبی آب برگ، وزن خشک برگ و عملکرد کلاله نسبت به شاهد شد (Makarian *et al.*, 2016). با توجه به جایگاه تولید زعفران به‌عنوان یک محصول صادراتی و بااهمیت در اقتصاد کشور و هم‌چنین بحران آلودگی محیط زیست به‌ویژه آلودگی منابع آب و خاک در طی سال‌های اخیر و کاهش سلامت جامعه، این پژوهش با هدف تأثیر کودهای آلی و زیستی بر عملکرد زعفران و افزایش پایداری تولید آن اجرا شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲. ۱. نمونه‌برداری از خاک

این مطالعه طی سال‌های ١٣٩٦ تا ١٣٩٩ در مؤسسه تحقیقات خاک و آب واقع در شهرستان کرج انجام شد. تهیه نمونه خاک به‌صورت مرکب و از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری ریزوسفر گیاه در اوایل خردادماه سال ١٣٩٦ و در پایان فصل زراعی در مزارع زعفران که سال‌ها به کشت زعفران اختصاص داشتند و سابقه هیچ‌گونه مصرف کودهای زیستی نداشتند در دو ایستگاه قائنات و نیشابور در استان خراسان جنوبی و رضوی انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده شامل بنه‌ها و خاک اطراف بنه بودند. برای تهیه هر نمونه مرکب خاک (دو کیلوگرمی)، تعداد ۸ نمونه تصادفی در جهت قطر مزرعه انتخاب و با یکدیگر مخلوط شده و در پایان تعداد ٣٦ نمونه مرکب از ٣٦ مزرعه در دو ایستگاه به‌دست آمد که پس از هواخشک‌شدن در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند.

۲. ۲. جداسازی اسپور قارچ‌های میکوریز آربوسکولار

جداسازی اسپور قارچ‌های میکوریز آربوسکولار به‌روش شست‌وشو توسط الک مرطوب و سانتریفوژ در محلول ساکارز ٦٠ درصد، با ٢٥٠٠ دور به‌مدت ٢ دقیقه انجام شد. پس از سانتریفوژ تعداد کل اسپورهای موجود در محلول خاک به‌صورت سوسپانسیون به یک ظرف پتری منتقل و با استفاده از استریومیکروسکوپ (٢٠٠x) براساس مشخصات مرفولوژیک آن‌ها شامل رنگ اسپور، اندازه، شکل دیواره و نحوه اتصال هیف به دیواره به‌صورت مرفوتایپ‌های متمایز تفکیک و جداسازی شدند (Gerdemann & Nicolson, 1963).

۲. ۳. کشت تله گلدانی[1]

این کشت در دو مرحله برای تهیه تعداد زیادی اسپور سالم جهت شناسایی و خالص‌سازی انجام شد. در این مطالعه در هر دو مرحله از ماسه‌بادی استریل به‌عنوان بستر کاشت پایه و از ذرت به‌عنوان گیاه تله استفاده شد. آبیاری از هفته دوم پس از جوانه‌زدن بذرها با محلول غذایی هوگلند (نصف مقدار فسفر) انجام شد. گیاهان به‌مدت سه ماه در گلخانه‌ای با دمای ۳۰ درجه سلسیوس و دوره نوری ١٤ ساعت روشنایی نگهداری شده و پس از پایان سه ماه، بخش هوایی گیاهان حذف و ریشه‌ها جهت اثبات برقرای رابطه هم‌زیستی رنگ‌آمیزی و با استفاده از استریومیکروسکوپ بررسی شدند. در نهایت تعداد دو گونه که دارای رابطه هم‌زیستی موفق و تعداد کافی اسپور در هر دو مرحله بودند انتخاب و محتویات گلدان‌های

1. Trap culture

آن‌ها شامل بستر، اسپورها، هیف و ریشه‌های میکوریزی کاملاً با هم مخلوط و به‌عنوان مایه تلقیح تا زمان مصرف در کشت زعفران در یخچال در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند (Rezaee danesh, 2013).

۲. ٤. شناسایی مولکولی قارچ‌ها

برای استخراج DNA ابتدا با قراردادن اسپورها در محلول کلروآمین T دو درصد به‌مدت ۱۰دقیقه، سپس شست‌وشو با آب مقطر استریل، قراردادن اسپورها در محلول هیپوکلریت سدیم دو درصد به‌مدت دو دقیقه سپس شست‌وشو با آب مقطر استریل و در نهایت قراردادن اسپورها در محلول استرپتومایسین ۰/۰۲ درصد به‌مدت پنج دقیقه و شست‌وشو با آب مقطر استریل شدند (Srinivasan *et al*., 2014). سپس یک اسپور از هر یک از جدایه‌ها پس از ضدعفونی، به میکروتیوپ‌های ۲۰۰ میکرولیتری منتقل و استخراج DNA با شکستن اسپور توسط نوک سرسمپلر کریستالی با استفاده از استریومیکروسکوپ انجام شد که پس از شکستن به آن دو میکرولیتر بافر PCR اضافه و بعد نمونه‌ها برای واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹٤ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۵ دقیقه در ترموسایکلر (مدل Genius FGEN02TP، آمریکا) گذاشته شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌صورت آشیانه‌ای و براساس روش Renker *et al.* (2003) انجام شد. برای تکثیر ناحیه ژنی SSU-ITS1-5.8S-ITS2-LSU در قارچ میکوریز آربوسکولار از جفت آغازگرهای SSUmAf-LSUmAr و SSUmCf-LSUmBr (نام و توالی آن‌ها در جدول (۱) ارایه شده است) به‌ترتیب در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اول و دوم استفاده شد. حجم کل هر یک از واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز اول و دوم به‌ترتیب ۲۰ و ۵۰ میکرولیتر بود که در مرحله اول شامل ۱٦/۸ میکرولیتر آب دیونیزه سترون، ۰/٤ میکرولیتر $dNTP_s$، ۰/۲٤ میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای مرحله اول و ۰/۳۲ میکرولیتر از Pfu DNA polymerase. در مرحله دوم، ۳۹/۲ میکرولیتر آب دیونیزه سترون، پنج میکرولیتر بافر PCR، یک میکرولیتر $dNTP_s$، یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای مرحله دوم، ۰/۸ میکرولیتر از Pfu DNA polymerase و دو میکرولیتر از محصول PCR اول. چرخه دمایی تکثیر ژن برای هر دو واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یکسان و شامل واسرشتگی اولیه ٤ دقیقه در ۹٤ درجه سلسیوس، ۳۰ چرخه (واسرشتگی ٦۰ ثانیه در ۹٤ درجه سلسیوس، هم‌جوشی ٦۰ ثانیه در ۵۸ درجه سلسیوس، گسترش ۱۲۰ ثانیه در ۷۲ درجه سلسیوس) و گسترش نهایی ۷ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس.

جدول ۱. نام و توالی آغازگرهای مورداستفاده در مطالعه حاضر

آغازگر	توالی
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'

ژل الکتروفورز ۱/۲ درصد پس از تهیه در بافر TBE در تانک حاوی TBE گذاشته شد. در نهایت در اولین چاهک شش میکرولیتر نشانگر مولکولی (۱۵۰۰bp) و در چاهک‌های بعد نه میکرولیتر شامل ترکیب شش میکرولیتر از محصول PCR دوم با سه میکرولیتر از DNA loading buffer بود، ریخته شد. تانک الکتروفورز به دستگاه تأمین‌کننده جریان الکتریکی با ولتاژ ۹۰ و شدت جریان

الکتریکی ۱۰۰-۸۰ میلی‌آمپر به‌مدت ٦۰ دقیقه متصل شد. برای شناسایی گونه قارچ قطعات حاصل از تکثیر برای تعیین توالی به شرکت بایونیر کره جنوبی ارسال شد. نتایج توالی به‌دست‌آمده با استفاده از ابزار جستجوی BLAST با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI (National Center for Biotechnology Information) موردمقایسه قرار گرفتند.

۲. ۵. کشت زعفران

مطالعات گلدانی در طی سال‌های ۹۹-۱۳۹۷ به‌صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل رژیم آبیاری به‌عنوان عامل اصلی در سه سطح (آبیاری کامل، قطع آبیاری در ابتدای فصل رشد رویشی یا زاییچ‌آب (محدودیت ملایم آبی) و قطع آبیاری در ابتدا و اواسط فصل رشد یا قطع زاییج‌آب و کولش‌آب (محدودیت شدید آبی))، و هم‌چنین بستر کاشت در سه سطح (عدم مصرف کود آلی، ورمی-کمپوست (۲۰ تن در هکتار) و بیوچار (۱۰ تن در هکتار)) و کاربرد مایه تلقیح قارچ میکوریز آربسکولار سه سطح (عدم مصرف میکوریزا، جدایه a و جدایه b) به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد.

برای کشت گیاه از گلدان‌هایی به عمق ۳۰ و قطر ۲٦ سانتی‌متر و گنجایش ۱۵ کیلوگرم (خاک+ کودهای آلی+ مایه تلقیح) استفاده شد. قبل از اجرای آزمایش از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک نمونه‌برداری و برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن تعیین شدند (جدول ۲). بیوچار باگاس نیشکر از شرکت نوآوران زیست‌بنیان آویسا و ورمی‌کمپوست نیز با استفاده از بقایای گیاهی در مؤسسه تحقیقات خاک و آب تهیه شد که ویژگی‌های شیمیایی آن‌ها در جدول (۲) ارایه شده است. مقدار هر یک از کودهای ورمی‌کمپوست و بیوچار با توجه به مقدار مصرف در هکتار محاسبه و به خاک گلدان‌ها اضافه شدند. برای محاسبه هر یک از کودهای آلی مورد استفاده در هر گلدان، ابتدا مقدار خاک در یک هکتار از مزرعه به‌صورت تقریبی با درنظرگرفتن عمق خاک زراعی (۳۰ سانتی‌متر) و وزن مخصوص ظاهری خاک (۱/۳ گرم بر سانتی‌مترمکعب در مؤسسه آب و خاک) برآورد شده سپس با توجه به این‌که گلدان‌های استفاده‌شده ۱۵ کیلوگرمی بود، مقدار ورمی‌کمپوست و بیوچار به‌صورت تناسبی محاسبه شده و به خاک هر گلدان اضافه شد. جمعیت قارچ میکوریز در هر گرم خاک و مایه تلقیح مورد استفاده به‌ترتیب حاوی ۲۱ و ٦۳۰ عدد اسپور فعال بود که به روش Dalpe (1993) شمارش شدند. ابتدا نصف ارتفاع گلدان از خاک پر شده و سپس محتویات گلدان‌های مرحله دوم کشت تله شامل بستر، اسپورها، هیف‌ها و ریشه‌های میکوریزی کاملاً با هم مخلوط و به‌عنوان مایه تلقیح به مقدار پنج گرم برای هر گلدان به‌صورت یک لایه به خاک گلدان‌ها اضافه و چهار بنه (میانگین وزن بنه بین ۸ تا ۱۱ گرم که یک عدد بنه در وسط و سه عدد دیگر در اطراف آن روی دایره‌ای به شعاع پنج سانتی‌متر در بستر قرار داده شد) روی مایه تلقیح قرار داده و بعد بخش دوم خاک به آن اضافه شد. در تیمار آبیاری کامل، از ۲۰ مهرماه آبیاری هر ۱۵ روز یک‌بار در طول فصل زراعی صورت گرفت و در تیمار قطع آبیاری در اوایل فصل رشد قطع آب در ۵ آذرماه و در تیمار قطع آب در اوایل و اواسط فصل رشد در ۵ آذرماه و ۲۰ اسفندماه انجام شد. قبل و بعد از اتمام دوره تنش قطع آب (یک‌ماهه)، آبیاری به‌طور منظم انجام شد. لازم به‌ذکر است که آبیاری در سال دوم مثل سال اول انجام گرفت. گلدان‌ها در فضای باز قرار داده شدند و با توجه به احتمال وقوع بارندگی در زمان قطع آبیاری از پوشش پلاستیکی برای جلوگیری از ریزش باران روی گلدان‌ها استفاده شد.

اولین آبیاری در زمان کاشت ۲۹ شهریورماه ۱۳۹۷ و آبیاری دوم یک هفته بعد برای سهولت خروج گل‌ها به‌صورت سبک انجام شد. برداشت گل در پاییز سال ۱۳۹۸ در طول مدت سه هفته انجام شد و گل‌ها به‌صورت روزانه جمع‌آوری و شمارش شدند و سپس جهت تعیین وزن تر و خشک گل و کلاله به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین شدند. مجموع وزن تر و خشک گل و کلاله در طی دوره گلدهی به‌عنوان عملکرد این صفات در واحد گلدان درنظر گرفته شد. نمونه‌برداری برای اندازه‌گیری عناصر غذایی در برگ در پایان فصل زراعی ۹۹-۱۳۹۸ و قبل از زرد شدن کامل برگ‌ها انجام شد. درصد نیتروژن بافت گیاهی به‌روش دوماس با استفاده از دستگاه آنالیزکننده نیتروژن دوماس (مدل NDA-702، ایتالیا) (Jung *et al.*, 2003)، فسفر به‌روش رنگ‌سنجی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل alpha 1105، کره) (Westerman, 1990) و غلظت پتاسیم در عصاره گیاهی به‌وسیله دستگاه فلیم‌فتومتر (مدل PFP7، انگلستان) اندازه‌گیری شدند. در پایان 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.

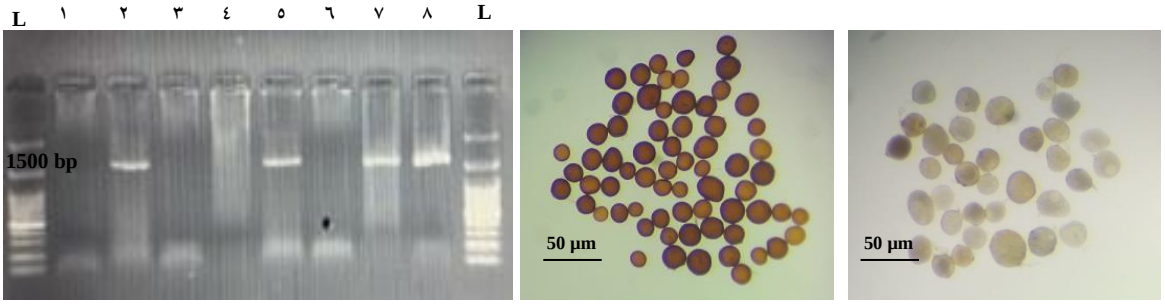
۳. نتایج و بحث

۳. ۱. شناسایی ملکولی

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 به‌دست‌آمده 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* می‌باشد.

جدول ۲. خصوصیات خاک، بیوچار و ورمی‌کمپوست مورداستفاده در این آزمایش

	بافت	اسیدیته	هدایت الکتریکی ($dS\ m^{-1}$)	نسبت C/N	خاکستر	کربن آلی (%)	نیتروژن (%)	فسفر ($mg\ kg^{-1}$)	پتاسیم ($mg\ kg^{-1}$)
خاک	لومی رسی	۸/٤	۱/٤	–	–	۰/٦۸	۰/۰۸	۱۱/۵	۱٤۲
بیوچار	–	۷/۵۵	۰/۸٤	۲٤۹/۳۲	۵/٦	٦۹/٦۵	۰/۲۷۹	٤۵۹	۲۵٦۸
ورمی‌کمپوست	–	۷/۸	۲/۸	–	–	۲٦/۹	۱/۸٤	۱/۳۲	۱/۵٤



(ج) (ب) (الف)

شکل ۱. الف و ب) به‌ترتیب تصویر اسپور جدایه a و b دست‌نخورده درون آب تحت نور استریو میکروسکوپ، ج) محصول مرحله دوم PCR روی ژل آگارز ۱/۲ درصد، L: نشانگر، ٤- ۱: جدایه a، ۷- ۵: جدایه b و ۸: شاهد.

۳. ۲. عملکرد تر گل

با توجه به این‌که گل زعفران قبل از هر اندام هوایی دیگر تشکیل می‌شود، لذا عملکرد اقتصادی گیاه در هر سال وابسته به ذخیره مواد فتوسنتزی در بنه گیاه در سال زراعی قبل می‌باشد. به همین دلیل عملکرد گل گیاه در سال اول مورد تجزیه آماری قرار نگرفت (Rezvani moghadam *et al*., 2013a). نتایج تجزیه واریانس اثر رژیم آبیاری، بستر کاشت و قارچ *Rhizophagus irregularis* بر عملکرد تر گل زعفران در جدول (۳) آمده و همان‌گونه که مشاهده می‌شود اثر ساده و اثر متقابل دوگانه و سه‌گانه هر سه فاکتور رژیم آبیاری، بستر کاشت و قارچ *R. irregularis* در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار (P≤۰/۰۱) می‌باشد. در مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه (جدول ٤) بیش‌ترین عملکرد تر گل با میانگین ۷/۷٦ گرم در گلدان در تیمار آبیاری کامل × بیوچار × جدایه b مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری بالاتر از دیگر تیمارها قرار گرفت و کم‌ترین عملکرد (۰/۰ گرم) متعلق به تیمارهای محدودیت شدید آب× بستر خاک× عدم مصرف قارچ، محدودیت شدید آب × بستر خاک × جدایه a و محدودیت شدید آب × ورمی‌کمپوست × عدم مصرف قارچ بود که گیاهان در این تیمارها سبز شدند اما گل ندادند. تلقیح بذر گیاهان زراعی با کودهای زیستی تنها زمانی می‌تواند مؤثر باشد که ضمن شناسایی نژاد مؤثری از این ریزجانداران، شرایط بستر خاک در ناحیه ریزوسفر گیاه برای رشد و فعالیت آن‌ها مهیا باشد (Rezvani moghadam *et al*., 2013a). در بررسی اثر کمپوست، بیوچار و قارچ میکوریزا بر عملکرد گوجه‌فرنگی نتایج حاکی از آن بود که گیاهان رشد یافته در تیمار مصرف هم‌زمان بیوچار × قارچ میکوریزا × کمپوست بالاترین وزن خشک ریشه و ساقه را دارا بودند (Akhter *et al*., 2015).

۳. ۳. عملکرد تر و خشک کلاله

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۳) که اثر رژیم آبیاری، بستر کاشت و قارچ *R. irregularis* بر عملکرد تر کلاله در سطح یک درصد (P≤۰/۰۱) معنی‌دار بود.

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس اثر متقابل رژیم آبیاری، بستر کاشت و *R. irregularis* برعملکرد گل و جذب عناصر غذایی در برگ زعفران

منابع تغییر	درجه آزادی	عملکرد تر گل	عملکرد تر کلاله	عملکرد خشک کلاله	تعداد گل	نیتروژن	فسفر	پتاسیم
رژیم آبیاری	۲	٦۲۲/۹٥**	۳۷۰/۳**	۲٦/۸۹**	۱٤٦/۸٤**	۹۰۰٤۱/۲**	٤۹۱۸۰۳۹/۲**	۱/۱٥۲E۸**
آبیاری× تکرار	٦	۲/۱۷٦	۰/٥٥۷	۲/۲۲	۱/٦۹	۱/۳۲	۰/۷٥۳	۱/٦۳
بستر	۲	۸٥٦/۳۳**	۸۲/۷۲**	۳٦/٥٦**	۱۱۸/۱٥**	۳٤۹۱٥/۱**	۳۹٥۷۳۰/۳**	۱/۱٤٤E۸**
میکوریز	۲	۳۹۰/٤۱**	٥۲/۱۳**	۱۱/۷۳**	٥۰/۳۱**	٦۳۳۳/۱**	۳۹٥۲۳٥/۹**	٦/۰٦E۷**
آبیاری× بستر	٤	۱۳۳/٤۳**	۲٥/۳۳**	۱۱/۳**	۳٤/۹٥**	۱۲۷۰/۲**	۲۱٤۸۳/۱**	۲/۰٦E٦**
آبیاری× میکوریزا	٤	۱۳/۱۱**	۲/٤۹ ns	۰/۸۰٤ ns	۱/۷٥ ns	٦۲٤/۲**	٦۳۱٤/٦**	۸/۸۱E٥**
بستر× میکوریزا	٤	۷۳/۳۸**	۳/٤۱*	۱/۷٥ ns	۹/۲۳**	۳۱۰/۷**	۱٦۱۷۹/۷**	۳/۹۱E٦**
آبیاری× بستر× میکوریزا	۸	٦/٤**	۱/٥۹ ns	۰/۳٥۷ ns	۲/۱ ns	۱٥۹/۳۸**	۱٤٦۰٦/۷**	۱/٤۷E٦**
خطای فرعی	٤۸	۰/۰٥	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۰۹	۰/٥٦۲	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰٤٤	۲/۳۳
ضریب تغییرات (٪)		۲/۸	٤/۱	۳/۷	۱۰/۱	۲/۳	۳/٦	۱/۲

ns، * و** به‌ترتیب نبود اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح پنج و یک درصد.

جدول ٤. مقایسه میانگین اثر متقابل رژیم آبیاری، بستر کاشت و *R. irregularis* بر عملکرد تر گل و محتوای عناصر غذایی در برگ زعفران

رژیم آبیاری	بستر کاشت	میکوریز آربوسکولار	عملکرد تر گل (g pot^{-1})	نیتروژن (%)	فسفر (mg kg^{-1})	پتاسیم (mg kg^{-1})
آبیاری کامل	خاک	عدم مصرف	١/٧٣ h	١/٤٠٧ i	٥٩٥/١ l	١٦٥١٢/٥ p
		جدایه a	٢/٢٩ g	١/٤٣٦ h	٨٠٣/٤ f	١٩٧٦١/٢ k
		جدایه b	٢/٧٦ f	١/٥٨٥ e	٨٢٦/٦ e	٢٠٤٥٧/٣ h
	ورمی‌کمپوست	عدم مصرف	٢/٢٢ g	١/٦٧٦ c	٧٥٧/٤ g	١٨٩٥٤/٣ m
		جدایه a	٢/٨٨ f	١/٧٣٧ b	٨٢٦/٥ e	٢٣٧٩٦/٦ d
		جدایه b	٣/٤٣ e	١/٧٥٧ a	٨٢٨/٦ d	٢٣٨٦٨/٤ c
	بیوچار	عدم مصرف	٤/٣٢ d	١/٤٦٥ g	٨٢٦/٤ e	٢١٨٤٦/٣ g
		جدایه a	٦/٩٤ b	١/٤٦٦ g	٩١٧/٧ b	٢٤٦٧٩/١ b
		جدایه b	٧/٧٦ a	١/٤٧٦ f	١٠٣٢/٤ a	٢٤٨٧٦/٨ a
محدودیت ملایم آب	خاک	عدم مصرف	٠/٧٨ jk	١/١٦٥ o	٥١٧/٣ n	١٣٤٨١/٧ v
		جدایه a	١/٣٧ hi	١/٢٦٤ l	٦١٣/٣ k	١٥٠٩٦/٦ r
		جدایه b	١/٧٨ h	١/٣٤٣ k	٦٢٠/٣ j	١٥٨٩٨/٣ p
	ورمی‌کمپوست	عدم مصرف	١/٥٢ hi	١/٤٣٤ h	٥٧٤/٥ m	١٤٩٤٧/٦ s
		جدایه a	١/٦٧ h	١/٦٣٤ e	٦٨٨/٦ h	١٨٩٦٧/٣ l
		جدایه b	٢/٥٧ fg	١/٦٤٦ d	٧٥٧/٦ g	٢٠٤٣٠/٦ i
	بیوچار	عدم مصرف	١/٧٤ h	١/٢٢٣ m	٦٤٤/٨ i	١٨٧٧٣/٤ n
		جدایه a	٢/٧٣ f	١/٣٦٣ j	٨٢٦/٣ e	٢٢٠٩٤/٥ f
		جدایه b	٥/٣٨ c	١/٤٠٥ i	٨٩٥/١ c	٢٣٦٤٢/٢ e
محدودیت شدید آب	خاک	عدم مصرف	٠/٠٠ l	٠/٧٧٧ w	٢٠٧/٦ w	٧٩٦٦/٢ z
		جدایه a	٠/٠٠ l	٠/٨٥٥ v	٤١١/٣ t	٩٩٢١/٨ x
		جدایه b	٠/٣٩ kl	٠/٩٣٠ u	٣٩٩/٤ u	٩٩٠٢/١ y
	ورمی‌کمپوست	عدم مصرف	٠/٠٠ l	١/١٣٤ q	٣٧٨/٥ v	١٠٧٥٨/٢ w
		جدایه a	٠/٥٥ k	١/١٥٣ p	٤٢٤/٦ r	١٤٨٥٤/٤ t
		جدایه b	١/١٢ ij	١/١٩٥ n	٤٣٩/٥ q	١٦٧٥٢/٢ p
	بیوچار	عدم مصرف	٠/١٤ l	٠/٩٩٦ t	٤١٨/٤ s	١٤٨٥٣/٦ t
		جدایه a	١/١٤ ij	١/٠١٥ s	٤٥٤/٣ p	١٦٩٠٨/٧ o
		جدایه b	٢/٥٣ fg	١/٠٨٤ r	٤٦٩/٥ o	٢٠٣٩٦/٦ j

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک برمبنای آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

هم‌چنین در اثر متقابل دوگانه اثر رژیم آبیاری × بستر و بستر × میکوریزا به‌ترتیب در سطح یک و پنج درصد (P≤۰/۰۵) معنی‌دار شد. این در حالی است که اثر متقابل رژیم آبیاری × *R. irregularis* و رژیم آبیاری × بستر کاشت × قارچ *R. irregularis* بر عملکرد تر کلاله معنی‌دار نشد. براساس یافته‌های این مطالعه (جدول ۵) در برهم‌کنش رژیم آبیاری× بستر کاشت مشاهده می‌شود که بیش‌ترین عملکرد تر کلاله (۰/۳۵۸ گرم در گلدان) در تیمار آبیاری کامل× بیوچار و کم‌ترین (۰/۰۱۳ گرم در گلدان) در تیمار محدودیت شدید آب× بستر خاک حاصل شد.

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل رژیم آبیاری و بستر کاشت بر عملکرد تر و خشک کلاله و تعداد گل در زعفران

	تیمار	عملکرد تر کلاله ($g\ pot^{-1}$)	عملکرد خشک کلاله ($g\ pot^{-1}$)	تعداد گل در گلدان
آبیاری کامل	خاک	۰/۱۲٦ bc	۰/۰۱۸ b	۳/۲۲bcd
	ورمی‌کمپوست	۰/۱۷٦ b	۰/۰۲۲ b	٤ b
	بیوچار	۰/۳۵۸ a	۰/۰٦۲ a	۹/۲۲ a
محدودیت ملایم آب	خاک	۰/۰۸۸ cde	۰/۰۱۱ bcd	۲/۱۱ def
	ورمی‌کمپوست	۰/۱۰۸ cd	۰/۰۱۳ bc	۲/۵٦cde
	بیوچار	۰/۱٤۱ bc	۰/۰۲۱ b	۳/٦۷ bc
محدودیت شدید آب	خاک	۰/۰۱۳ f	۰/۰۰۱ d	۰/۳۳ g
	ورمی‌کمپوست	۰/۰۳٦ ef	۰/۰۰٤ cd	۰/۸۹ fg
	بیوچار	۰/۰٦۵ def	۰/۰۱۱ bcd	۱/٦۷ ef

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک برمبنای آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

هم‌چنین در برهم‌کنش بستر× *R. irregularis* (جدول٦) بالاترین عملکرد تر کلاله در تیمار ترکیب هم‌زمان بیوچار× جدایه b با میانگین ۰/۲۵۵ گرم در گلدان مشاهده شد که با تیمار بیوچار × جدایه a تفاوت آماری نداشت و کم‌ترین عملکرد تر کلاله در تیمار بستر خاک × عدم مصرف قارچ با میانگین ۰/۰٤٤ گرم در گلدان به‌دست آمد. همان‌گونه که در جدول (۳) ملاحظه می‌شود اثر ساده فاکتورهای رژیم آبیاری، بستر کاشت و قارچ *R. irregularis* بر عملکرد خشک کلاله در سطح یک درصد (P≤۰/۰۱) معنی‌دار شدند، اما در اثرات متقابل تنها اثر رژیم آبیاری × بستر کاشت در سطح یک درصد (P≤۰/۰۱) معنی‌دار شد. اثر برهم‌کنش رژیم آبیاری × بستر کاشت (جدول ۵) بر صفت عملکرد خشک کلاله نشان داد که تیمار آبیاری کامل × بیوچار و محدودیت شدید آب × بستر خاک به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین عملکرد خشک کلاله (به‌ترتیب ۰/۰٦۲ و ۰/۰۰۱ گرم در گلدان) را داشتند.

جدول ٦. مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار بستر کاشت و قارچ *R. irregularis* بر عملکرد تر کلاله و تعداد گل

تیمار		عملکرد تر کلاله ($g\ pot^{-1}$)	تعداد گل در گلدان
خاک	عدم مصرف	۰/۰٤٤ c	۱/۳۳ c
	جدایه a	۰/۰۷۷ c	۱/۸۹ c
	جدایه b	۰/۱۰۵ bc	۲/٤٤ c
ورمی‌کمپوست	عدم مصرف	۰/۰٦۷ c	۱/۷۸ c
	جدایه a	۰/۱۱ bc	۲/٦۷ bc
	جدایه b	۰/۱٤٤ bc	۳/۰۰ bc
بیوچار	عدم مصرف	۰/۱۱٦ bc	۲/۸۹ bc
	جدایه a	۰/۱۹۳ ab	۵/۰۰ ab
	جدایه b	۰/۲۵۵ a	٦/٦۷ a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک برمبنای آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

در مقایسه میانگین (جدول ۷) اثر قارچ *R. irregularis* بر عملکرد خشک کلاله مشاهده شد که هر دو جدایه a و b سبب افزایش عملکرد خشک کلاله نسبت به شاهد (عدم مصرف قارچ) شدند. درحالی‌که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و جدایه b حداکثر عملکرد خشک کلاله (۰/۲٤۲ گرم در گلدان) را نسبت به

شاهد داشت. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که بین محتوای ماده آلی خاک و عملکرد کلاله زعفران همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. بنابراین افزایش عملکرد زعفران در این شرایط به‌دلیل افزایش فراهمی و دسترسی به عناصر غذایی به‌ویژه فسفر و نیتروژن می‌باشد (Rezvani moghadam *et al*., 2013b). مصرف *Glomus mosseae* و *G. intraradices* به‌صورت منفرد نقشی در افزایش عملکرد گل خشک زعفران نداشت، اما در ترکیب با کود دامی بیش‌ترین افزایش در تعداد گل در واحد سطح در تیمار ٦٠ تن کود دامی × *G. intraradices* در دو سال زراعی مشاهده شد (Rezvani moghadam *et al*., 2013a). Koochaki *et al*. (2016) با بررسی نقش دور آبیاری بر عملکرد زعفران نشان دادند با حذف هر یک از دورهای آبیاری کاهش عملکرد خشک کلاله و تعداد گل مشاهده شد، به‌طوری‌که بالاترین عملکرد کلاله در آبیاری کامل و کم‌ترین عملکرد در تیمار قطع تمام دورهای آبیاری مشاهده شد.

۳. ٤. تعداد گل

در این پژوهش نتایج حاکی از نقش معنی‌دار (جدول ۳) اثر ساده رژیم آبیاری، بستر کاشت و قارچ *R. irregularis* بر تعداد گل در گلدان در سطح یک درصد (P≤۰/۰۱) بود.

جدول ۷. مقایسه میانگین اثر *R. irregularis* بر عملکرد خشک کلاله در زعفران

تیمار		عملکرد خشک کلاله (g pot^{-1})
	عدم مصرف	۰/۰۱۱٤ b
میکوریزا آربوسکولار	جدایه a	۰/۰۱۹۰ a
	جدایه b	۰/۰۲٤۲ a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک برمبنای آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

در اثر متقابل، تیمار رژیم آبیاری × بستر و بستر × *R. irregularis* در سطح یک درصد (P≤۰/۰۱) معنی‌دار شد. درحالی‌که اثر متقابل رژیم آبیاری × بستر کاشت × *R. irregularis* و رژیم آبیاری × *R. irregularis* بر تعداد گل در گلدان معنی‌دار نشد. در مقایسه میانگین برهم‌کنش رژیم آبیاری × بستر کاشت (جدول ۵) بیش‌ترین تعداد گل در گلدان (۹/۲۲) در بیوچار × آبیاری کامل حاصل شد که نسبت به تیمار ورمی‌کمپوست × آبیاری کامل ۱۳۱ درصد افزایش تعداد گل در گلدان مشاهده شد. تیمار محدودیت شدید آب× بستر خاک کم‌ترین تعداد گل را در گلدان (۰/۳۳) داشت. در برهم‌کنش بستر کاشت × *R. irregularis* (جدول ٦) حداکثر تعداد گل در تیمار بیوچار × جدایه b (٦/٦٧) که با تیمار بیوچار × جدایه a تفاوت آماری نداشت به‌دست آمد. تیمار عدم مصرف قارچ × بستر خاک پایین‌ترین تعداد گل (۱/۳۳) را در گلدان داشت که با سایر بسترهای کاشت و اعمال و عدم اعمال میکوریزا به‌جز بستر کاشت بیوچار و جدایه‌های a و b تاثیر معنی‌داری نداشت. افزودن بیوچار به خاک با تأثیر بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک سبب افزایش فراهمی عناصر غذایی و در نتیجه افزایش عملکرد گیاه میزبان و غلظت مواد غذایی در بافت گیاهی شده که درنتیجه آن میزان هم‌زیستی ریشه گیاه با قارچ میکوریزا آربوسکولار افزایش می‌یابد (Gundale & Deluca, 2006).

۳. ۵. جذب عناصر غذایی

در بررسی مقایسه میانگین (جدول ٤) مربوط به عناصر پرمصرف مشاهده می‌شود کاربرد همه تیمارها سبب افزایش معنی‌دار محتوای عناصر غذایی پرمصرف نسبت به شاهد شده است. در صفت مقدار نیتروژن، تیمار آبیاری کامل × ورمی‌کمپوست × جدایه b بالاترین درصد نیتروژن موجود در اندام‌های هوایی گیاه با میانگین ۱/۷۵۷ درصد

دارا می‌باشد. کم‌ترین درصد نیتروژن با میانگین ۰/۷۷۷ درصد در تیمار محدودیت شدید آب × بستر خاک × عدم مصرف قارچ به‌دست آمد. مدیریت مناسب گیاه در شرایط تنش یکی از مسایل مهم در تولید محصولات گیاهی می‌باشد. به‌طوری‌که گیاهی که خوب تغذیه شده باشد و به اندازه کافی عناصر غذایی دریافت کرده باشد مقاومت بالاتری نسبت به تنش خشکی خواهد داشت (Ahmadian *et al.*, 2011). با توجه به مقایسه میانگین (جدول ٤) اثر متقابل رژیم آبیاری × بستر کاشت × *R. irregularis* در فسفر ملاحظه می‌شود که حداکثر و حداقل مقدار فسفر به‌ترتیب با میانگین ۱۰۳۲/٤ و ۲۰۷/٦ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمارهای آبیاری کامل × بیوچار × جدایه b و محدودیت شدید آب × بستر خاک × عدم مصرف قارچ به‌دست آمد. هم‌چنین نتایج مقایسه میانگین مربوط به محتوای پتاسیم (جدول ٤) در اندام‌های هوایی گیاه نشان داد که تیمار آبیاری کامل × بیوچار × جدایه b با میانگین ۲٤۸۷٦/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و تیمار محدودیت شدید آب × بستر خاک× عدم مصرف قارچ با میانگین ۷۹٦٦/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار پتاسیم در اندام‌های هوایی گیاه را به‌خود اختصاص داده‌اند که با نتایج Ohsowski *et al.* (2018) و Conversa *et al.* (2015) مطابقت دارد.

٤. نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از *R. irregularis* همراه با کودهای ورمی‌کمپوست و بیوچار در شرایط مختلف رطوبتی سبب افزایش چشم‌گیر عملکرد گل و کلاله و محتوای عناصر غذایی در زعفران شد. در این میان اثر بیوچار با *R. irregularis* در شرایط نرمال بر عملکرد گل و جذب عناصر غذایی به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از دیگر تیمارها قرار داشت. در تلقیح دو جدایه *R. irregularis* مشاهده شد که هر دو جدایه بر تولید گل و کلاله و مقدار عناصر در بافت گیاهی نقش به‌سزایی داشتند. اما در تمام صفات اثر جدایه b بالاتر از جدایه a بود. استفاده از گونه‌های بومی قارچ میکوریزا آربوسکولار به‌دلیل سازگاربودن با شرایط اقلیمی منطقه و فلور میکروبی خاک می‌توانند بهتر از گونه‌های غیربومی عمل کنند. بنابراین استفاده هم‌زمان از بیوچار و جدایه b می‌تواند در عملکرد گیاه در شرایط کم‌آبی بهبود داده شود.

٥. تشکر و قدردانی

از آزمایشگاه بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب جهت کمک به پیش‌برد این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

٦. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع

Ahmadian, A., Ghanbari, A., & Siahsar, B. (2011). Effect of Drought Stress and Consumption of Organic and Mineral Fertilizers and Their Residues on Yield and Yield Components German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of Agroecology*, *3*(3), 383-395. (In Persian)

Akhter, A., Ahmed, K., Soja, G., & Steinkellner, S. (2015). Compost and biochar alter mycorrhization, tomato root exudation, and development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Plant Science*, *6*(529), 1-13.

Colla, G., Rouphael, Y., Bonini, P., & Cardarelli, M. (2015). Coating seeds with endophytic fungi enhances growth, nutrient uptake, yield and grain quality of winter wheat. *International Journal of Plant Production*, *9*(2), 171-190.

Conversa, G., Bonasia, A., Lazzizera, C., & Elia, A. (2015). Influence of biochar, mycorrhizal inoculation, and fertilizer rate on growth and flowering of *Pelargonium* (*Pelargonium zonale* L.) plants. *Frontiers in Plant Science*, *6*, 1-11.

Dalpe, Y. (1993). Vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: Soil sampling and methods of analysis (Eds. Carter, MR). Pp. 287- 301. Lewis Publishers, Boca Raton.

Esmaielpour, B., & Amani, N. (2014). Investigating the effect of mycorrhizal inoculation on growth and uptake of nutrients in *lactuca sativa* cv Syaho. *Journal of Soil Management and Sustainable*, *2*(4), 49- 69. (In Persian)

Fallahi, M. R., & Mahmoodi, S. (2018). Influence of organic and chemical fertilization on growth and flowering of saffron under two irrigation regimes. *Saffron Agronomy & Technology*, *6*(2), 147-166. (In Persian)

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.

Ibrahim, H. A., & Abdellatif, Y. M. R. (2016). Effect of maltose and trehalose on growth, yield and some biochemical components of wheat plant under water stress. *Annals of Agricultural Science*, *61*(2), 267-274.

Ebrahimi, M., Pouyan, M., & Nezhad, M. M. (2020). Possibility of replacing manure with other organic amendments in saffron (*Crocus sativus* L.) cultivation at different mother corm weights. *Saffron Agronomy & Technology*, *8*(1), 37- 57. (In Persian)

Juan, J. A., Corcoles, H. L., M-Munoz, R., & Picornell, R. (2009). Yield and yield components of saffron under different cropping systems. *Industrial Crops and Products*, *30*, 212-219.

Jung, S., Rickert, D. A., Deak, N. A., Aldin, E. D., Recknor, J., Johnson, L. A., & Murphy, P. A. (2003). Comparison of kjeldahl and dumas Methods for determining protein contents of soybean products. *Journal of the American Oil Chemists Society*, *8*(12), 1169-1173.

Koochaki, A., Ebrahimian, E., & Seyyedi, S. M. (2016). How irrigation rounds and mother corm size control saffron yield, quality, daughter corms behavior and phosphorus uptake. *Scientia Horticulturae*, *213*, 132-143.

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.

Makarian, H., Baradaran Firouzabadi, M. & Ghorbani Ghoujdi, H. (2016). Effect of drought stress, zeolite and ascorbic acid foliar application on growth and yield of saffron (*Crocus sativus* L.). National conference medicinal plants, 18- 19 March 2017, Shahrood University. (In Persian)

Moshtaghi, N., Ghahremanzadeh, R., & Marashi, H. (2010). Irrigation effects on *pds* and *bch* genes expression of the Iranian saffron. *Journal of Cell and Molecular Research*, *2*(2), 61-66.

Naghizade, M., Gholami Shabestari, M., & Shams al-din Saeed, M. (2014). Investigation of some physiological responses of three native saffron (*Crocus sativus* L.) populations to salinity stress. *Saffron Agronomy & Technology*, *2*(3), 127-136. (In Persian)

Ohsowski, B. M., Dunfield, K., Klironomos, J. N., & Hart, M. M. (2018). Plant response to biochar, compost, and mycorrhizal fungal amendments in post-mine sandpits. *Restoration Ecology*, *26*(1), 63-72.

Porcel, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2004). Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal of Experimental Botany*, *55*(403), 1743-1750.

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)

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.

Rezaee Danesh, Y. (2013). Investigation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi with Barley in Damghan Region. *Journal of Plant Protection*, *26*(4), 437-449. (In Persian)

Rezvani Moghaddam, P., Koocheki, A., Molafilabi, A., & Seyyedi, M. (2013a). Effect of biological and chemical fertilizers on replacement corm and flower yield of saffron (*Crocus sativus* L.). *Iranian Journal of Crop Sciences*, *15*(3), 234-246. (In Persian)

Rezvani Moghaddam, P., Khorramdel, S., Amin Ghafori, A., & Shabahang, J. (2013b). Evaluation of growth and yield of saffron (*Crocus sativus* L.) affected by spent mushroom compost and corm density. *Journal of Saffron Research*, *1*(1), 13-26. (In Persian)

Shanta, N., Schwinghamer, T., Backer, R., Allaire, S., Teshler, I., Vanasse, A., Whalen, J., Baril, B., Lange, S., MacKay, J., Zhou, X., & Smith, D. (2016). Biochar and plant growth promoting rhizobacteria effects on switchgrass (*Panicum virgatum* cv. Cave-in-Rock) for biomass production in southern Quebec depend on soil type and location. *Biomass and Bioenergy*, *95*, 167-173.

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.

Wathira, N. L., Wachira, P., & Sheila, O. (2016). Enhancement of colonization of soybean (*Glycine max*) roots by arbuscular mycorrhizal fungi using vermicompost and biochar. *Agriculture, Forestry and Fisheries*, *5*(3), 71-78.

Westerman, R. E. L. (1990). *Soil testing and plant analysis*. Soil Science Society of America.

Zaefarian, F., Akbarpour, V., Habibi, M., & Kaveh, M. (2019). Impact of biochar and biofertilizers on photosynthetic pigments, yield, and nutrient content of peppermint. *Journal of Crops Improvement*, *21*(4), 407-422. (In Persian)