نشریه پژوهش‌های زعفران (دو فصلنامه)
جلد دهم، شماره دوم، پاییز و زمستان ۱۴۰۱
شماره صفحه: ۱۹۴-۱۸۳
http://dx.doi.org/10.22077/JSR.2021.4762.1172

مقاله پژوهشی:

مطالعه اثر سطوح مختلف اسید آمینه و وزن بنه مادری بر فعالیت آنتی اکسیدانی و مواد مؤثره زعفران (*Crocus sativus* L.)

محمد حسین امینی فرد[1*]، سکینه خندان‌ده ارباب[2]، حمید رضا فلاحی[3و4]، حامد کاوه[5]

۱- دانشیار، گروه علوم باغبانی و مرکز پژوهشی گیاهان ویژه منطقه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، گرایش فیزیولوژی گیاهان دارویی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
۳- دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
۴- دانشیار، گروه پژوهشی گیاه و تنش‌های محیطی، دانشگاه بیرجند، بیرجند، ایران.
۵- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربت حیدریه، تربت حیدریه، ایران.
*نویسنده مسئول: *Email: mh.aminifard@birjand.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۸

چکیده

به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف اسیدآمینه و وزن بنه مادری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مواد مؤثره زعفران، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۹۶– ۱۳۹۵ در دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل اسید آمینه در سه سطح (صفر، ۲ و ۴ لیتر در هکتار) و سه سطح وزن بنه مادری (۴-۰/۱، ۸-۴/۱ و ۱۲-۸/۱ گرم) در نظر گرفته شد. نتایج آزمایش نشان داد که کاربرد اسیدآمینه اثر معنی‌داری بر میزان کروسین کلاله و میزان آنتوسیانین و کارتنویید گلبرگ زعفران داشت، به‌طوری‌که بیشترین مقدار کروسین (۲۷۰/۴، برحسب جذب محلول آبی یک درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر)، آنتوسیانین (۲۶/۲۸ میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک) و کارتنویید (۰/۹۵ میلی‌گرم در گرم وزن تَر) از تیمار چهار لیتر در هکتار اسیدآمینه و کمترین مقدار کروسین (۲۳۰/۵)، آنتوسیانین (۲۴/۲۳ میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک) و کارتنویید (۰/۷۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر) از تیمار شاهد به‌دست آمد. همچنین بین سطوح دو و چهار لیتر در هکتار اسیدآمینه تفاوت معنی‌داری در این صفات مشاهده نشد. وزن بنه مادری نیز برخی صفات مورد مطالعه را تحت تأثیر معنی‌دار قرار داد، به‌طوری‌که کمترین مقدار پیکروکروسین کلاله (۱۰۰/۷، برحسب جذب محلول آبی یک درصد در طول موج ۲۵۷ نانومتر) از بنه‌های ریز (۴-۰/۱ گرم) و بیشترین آن (۱۰۸/۵) از بنه‌های درشت (۱۲-۸/۱ گرم) بدست آمد. همچنین اثر متقابل اسیدآمینه و وزن بنه مادری نیز شاخص‌های سافرانال کلاله و فعالیت آنتی‌اکسیدان گلبرگ زعفران را تحت تأثیر معنی‌دار قرار داد، به‌طوری‌که بیشترین مقدار سافرانال (۳۶/۸۲، برحسب جذب محلول آبی یک درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر) و آنتی‌اکسیدان (۳۱/۲۶ درصد) از بنه‌های ۱۲-۸/۱ گرم و مصرف دو یا چهار لیتر در هکتار اسید آمینه بدست آمد. در مجموع، با مصرف اسید آمینه می‌توان به بهبود خصوصیات کیفی زعفران در مسیر تولید ارگانیک این محصول کمک نمود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، پیکروکروسین، سافرانال، کارتنوئید، کروسین.

مقدمه

زعفران با نام علمی (*Crocus sativus* L.) گیاهی از تیره زنبق (*Iridaceae*) است که به‌واسطه ارزش فراوان دارویی و ادویه‌ای از جایگاه ویژه‌ای در میان گیاهان دارویی برخوردار می‌باشد (Gresta et al., 2009). اهمیت دارویی و غذایی زعفران به وجود مجموعه‌ای از متابولیت‌های ثانویه در کلاله مربوط می‌شود. زعفران به دلیل وجود همین متابولیت‌ها و مقادیر بالای کروسین، پیکروکروسین و سافرانال قابلیت تأمین رنگ، طعم و عطر را در فرآورده‌های غذایی دارد (Garcia-Valle Rodriguez et al., 2014). علاوه بر این، به جهت اثرات درمانی آن بر سرطان و افسردگی، مورد توجه روز افزون مصرف‌کنندگان و صنایع تبدیلی قرار گرفته است (Lechtenberg et al., 2008).

امروزه استفاده از کودهای شیمیایی به‌عنوان سریع‌ترین راه برای جبران کمبود عناصر غذایی خاک گسترش چشم‌گیری یافته است (Sharifi Ashoorabadi, 1998). در بسیاری موارد کاربرد کودهای شیمیایی باعث آلودگی‌های محیطی و صدمات اکولوژیکی می‌شود که خود هزینه تولید را افزایش می‌دهد (Ghost & Bhat, 1998). برای کاهش این مخاطرات باید از منابع و نهاده‌هایی استفاده کرد که علاوه بر تأمین نیازهای فعلی گیاه به پایداری سیستم‌های کشاورزی در درازمدت نیز منجر شود (Murty & Ladha, 1988). با مدیریت صحیح حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه می‌توان ضمن حفظ محیط زیست، افزایش کیفیت آب، کاهش فرسایش و حفظ تنوع زیستی، کارایی نهاده‌های زراعی را نیز افزایش داد. در راستای بهره‌گیری از منابع طبیعی به‌عنوان جایگزین‌های ارزان و سالم برای کودهای شیمیایی، کاربرد کودهای حاوی اسیدآمینه یکی از راه‌های تأمین حاصل‌خیزی خاک می‌باشد (Kocira et al., 2013). این نهاده ها دارای ترکیباتی هستند که باعث ارتقاء واکنش‌های مرتبط با متابولیسم گیاهی از جمله فرآیندهای متابولیکی اولیه مانند فتوسنتز، مکانیسم‌های دفاعی و جذب مواد مغذی می‌شود (Smolen et al., 2010). گروهی از آنها به‌عنوان ترکیب‌های مؤثر در افزایش پاسخ‌های مطلوب گیاهی و همچنین گروهی دیگر بعنوان موادی که رشد کمی و کیفی گیاه را تحریک می‌کنند، فعالیت دارند. ترکیب آنها عمدتاً شامل اسیدهای آمینه، پلی‌پپتیدها با وزن مولکولی کم، ویتامین‌ها، هورمون‌ها (اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها و جیبرلین‌ها)، قندها و بتائین‌ها در بافت‌های گیاهی است. علاوه بر این، تأثیر مثبت اسیدهای آمینه در افزایش مقاومت گیاهان هنگام بروز تنش‌ها و شرایط نامناسب محیطی به اثبات رسیده است (Thomas et al., 2009). این امر ممکن است به تغییرات در فعالیت‌های آنزیمی و سنتز آنتی‌اکسیدان‌ها نسبت داده شود. اسیدآمینه‌ها به تحریک تولید هورمون‌ها، تسهیل فرآیندهای فیزیولوژیکی و نیز بهبود شرایط زیست‌محیطی خاک کمک می‌کنند (Gawronska, 2008). همچنین کاربرد اسیدآمینه می‌تواند کیفیت، جذب و تجمع نیتروژن توسط گیاهان را تحت تأثیر قرار دهد (Smolen et al., 2010). نتایج مطالعات گلذاری جهان آبادی و همکاران (Golzari jahanabadi et al., 2017) طی بررسی اثر کاربرد برخی منابع کودی بر خصوصیات رویشی و صفات کیفی زعفران نشان داده است که با مصرف کود زیستی بیوآمینوپالیس بیشترین مقدار مواد مؤثره زعفران (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال) نسبت به شاهد به دست آمد. در بررسی دیگری مشخص گردید که مصرف اسیدآمینه‌های کادوستیم، فستوسترون، آمینول‌فورته و هیومی‌فورته می‌تواند سبب بهبود قابل توجهی در حاصلخیزی، ویژگی‌های فیزیولوژیکی و ویژگی‌های کیفی چای (*Thea sinensis* L.) شود. همچنین در این آزمایش اسید آمینه آمینول فورته سبب افزایش محتوای پلی‌فنول‌های چای گردید (Thomas et al., 2009). محققان در پژوهشی دیگر نشان دادند که هنگام مصرف اسید آمینه آمینول‌فورته، میزان مواد مؤثره بابونه به طور قابل توجهی افزایش یافت (Golzade et al., 2011). بعلاوه عراقی اردبیلی و همکاران (Oraghi Ardebili et al., 2011) گزارش کرد که کاربرد برگی اسید آمینه موجب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در گیاه جعفری گردید.

در کنار مدیریت عناصر غذایی، فاکتور اندازه بنه نیز از عوامل اصلی و تعیین کننده ظرفیت گلدهی زعفران است (Sadeghi, 1993). برخی بررسی‌ها نشان داده است که رابطه نزدیکی بین اندازه بنه و گل‌دهی در زعفران وجود دارد (Sadeghi, 1997). نتایج کوچکی و

همکارن (Koocheki et al., 2013) و فلاحی و همکاران (Fallahi et al., 2017) نشان داد که بنه‌های مادری بزرگ، تعداد گل در واحد سطح و عملکرد گل بیشتری نسبت به بنه‌های مادری کوچک به‌خصوص در سال اول کاشت گیاه دارند. خاوری و همکاران (khavari et al., 2012) نیز بیان داشتند که با افزایش وزن بنه از ۹ تا ۱۱ گرم به ۱۲ تا ۱۴ گرم، عملکرد گل زعفران ۴۴ درصد افزایش یافت. در تحقیق دیگری گزارش شد که بنه‌های مادری دارای وزن هشت گرم و بالاتر، تعداد گل بیشتری در مقایسه با بنه‌های با وزن کمتر از هشت گرم تولید کردند (Nasiri khorasani et al., 2011).

استفاده از نهاده‌های زیستی حاوی اسید آمینه جهت تولید زعفران ارگانیک و سالم برای حفظ و افزایش سهم ایران از بازار جهانی این محصول دارای اهمیت است. با توجه به این‌که تاکنون پژوهشی در خصوص تأثیر همزمان اسید آمینه و وزن بنهٔ مادری بر خصوصیات کمی و کیفی زعفران انجام نشده است، هدف از اجرای این تحقیق، مطالعه اثر این دو عامل بر فعالیت آنتی-اکسیدانی و مواد مؤثره زعفران گیاه بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال زراعی ۹۶- ۱۳۹۵ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل فاکتور اول سه سطح وزن بنه (۴-۰/۱، ۸-۴/۱ و ۱۲-۸/۱ گرم) و فاکتور دوم سه سطح اسید آمینه (صفر، ۲ و ۴ لیتر در هکتار) تعیین شدند. قبل از کشت، جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه از عمق ۰-۳۰ سانتی‌متر نمونه برداری گردید (جدول ۱). پس از عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم اولیه، دیسک و تسطیح زمین، کرت‌هایی به ابعاد ۲×۲ متر (چهار مترمربع) ایجاد شد. فاصله بین کرت‌ها یک متر و فاصله بین بلوک‌ها دو متر (با احتساب جوی‌های آبیاری) در نظر گرفته شد. هم‌زمان با آماده‌سازی کرت‌ها، به‌منظور اجتناب از مخلوط شدن آب کرت‌ها با یکدیگر، برای هر تکرار جوی آبیاری جداگانه‌ای در نظر گرفته شد و آبیاری به‌صورت سیفونی انجام گرفت. از آنجا که انتخاب بنه مرغوب جهت کاشت در ایجاد عملکرد بالا حائز اهمیت است، لذا بنه سالم و بدون زخم و خراشیدگی و عاری از هر نوع بیماری از شهرستان قائن برای کشت تهیه شد. بنه‌های زعفران پس از جداسازی بخشی از پوشش سطحی و توزین، در گروه‌های وزنی ذکر شده طبقه‌بندی و در مهرماه ۱۳۹۵ براساس نقشه طرح آزمایشی در شیارهایی با عمق ۲۰ سانتی‌متر و فاصله ردیف‌ها ۲۰ سانتی‌متر و فاصله بنه‌ها ۱۰ سانتی‌متر کاشته شدند. اسید آمینه قبل از کاشت به‌صورت غوطه-وری بنه‌ها (به مدت ۱۰ دقیقه در محلول‌های دو و چهار در هزار به‌ترتیب برای سطوح دو و چهار لیتر در هکتار اسیدآمینه) و همچنین همراه با آبیاری اول (به مقدار دو یا چهار لیتر در هکتار)، زمانی که کرت‌ها به‌صورت یکسان غرقاب شدند، مصرف شد. آبیاری اول، ده روز بعد از کاشت (۱۵ مهرماه) و آبیاری دوم ۱۰ روز بعد از آبیاری اول به‌منظور تسهیل در سبز شدن بنه‌ها انجام شد. عملیات سله‌شکنی برای تسهیل خروج جوانه‌های گل به‌صورت دستی، پنج روز پس از آبیاری دوم انجام گرفت. آبیاری‌های بعدی در طی فصل رشد گیاه به-صورت سیفونی و با فواصل تقریباً یک‌ماهه صورت گرفت. برداشت گل‌های زعفران به‌صورت روزانه، به‌مدت حدود سه هفته در اولین ساعات صبح از ۱۰ آبان تا اوایل آذرماه سال ۱۳۹۵، با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای (دو ردیف کناری و نیم متر از ابتدا و انتهای هر کرت) از باقی‌ماندهٔ سطح کرت‌ها صورت گرفت. پس از توزین عملکرد گل در هر کرت، قسمت‌های مختلف گل (گلبرگ و کلاله) در آون الکتریکی در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و سپس برای اندازه‌گیری شاخص‌های کیفی مدنظر مورد استفاده قرار گرفتند.

اندازه‌گیری صفات کیفی گلبرگ و کلاله

جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل گلبرگ از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی و با کمک ۲،۲-دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده گردید (Turkmen et al., 2005). به منظور اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولی گلبرگ از روش ارایه‌شده توسط Chuah et al. (2008) بهره گرفته شد. اندازه‌گیری آنتوسیانین گلبرگ به روش pH افتراقی انجام گرفت (Wrosotad, 1976). کاروتنوئید گلبرگ با استفاده از روش آرنون (Arnon, 1967) تعیین

گردید. جهت اندازه‌گیری ترکیبات کیفی موجود در کلاله زعفران نیز از روش استاندارد ملی ایران (INSO, 2013)، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (UNICO, 2010, Germany) و از طریق معادله زیر کمک گرفته شد.

$$A^{1\%}_{1cm}\ (\lambda max) = \frac{D \times 10000}{m \times (100 - W_{MV})}$$

که در این معادله

$A^{1\%}_{1cm}$ (440 nm) : جذب در حدود ۴۴۰ نانومتر (λmax کروسین)

$A^{1\%}_{1cm}$ (330 nm) :جذب در حدود ۳۳۰ نانومتر (λmax سافرانال)

$A^{1\%}_{1cm}$ (257 nm) :جذب در حدود ۲۵۷ نانومتر (λmax پیکروکروسین)

D: میزان جذب هریک از موارد ذکرشده

M: جرم آزمونه (بر حسب گرم)

W_{MV}: میزان رطوبت نمونه زعفران می‌باشد.

محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از این تحقیق توسط نرم‌افزار آماری SAS(9.1) صورت گرفت و میانگین‌ها با کمک آزمون دانکن و در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر مقایسه شدند.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش

Table 1. Physical and chemical characteristics of the soil at the experiment site

بافت Texture	شاخص واکنش pH	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) EC ($ds.m^{-1}$)	مواد آلی (درصد) Organic matter (%)	نیتروژن کل (درصد) Total nitrogen (%)	پتاسیم قابل جذب (پی‌پی‌ام) Absorbable potassium (ppm)	فسفر قابل جذب (پی‌پی‌ام) Absorbable phosphorus (ppm)
لومی Loam	7.76	3.4	0.68	0.06	230	40

جدول ۲. خصوصیات شیمیایی اسیدآمینه

Table 2. Chemical properties of amino acids

اسید آمینه (درصد) Amino acid (%)	کربن آلی (درصد) Organic carbon (%)	نیتروژن کل (درصد) Total nitrogen (%)	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) EC ($ds.m^{-1}$)	شاخص واکنش pH
28	19	5	3.2	5.8

نتایج و بحث

میزان آنتوسیانین گلبرگ

نتایج ارائه شده حاکی از تاثیر معنی‌دار اسیدآمینه و وزن بنه بر میزان آنتوسیانین گلبرگ بود، امّا در اثر متقابل این دو عامل، بر صفت اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۵) نشان می‌دهد که حداقل درصد آنتوسیانین گلبرگ (۲۴/۲۳ درصد) در تیمار شاهد (عدم مصرف کود) و حداکثر آن (۲۶/۲۸ درصد) در تیمار چهار لیتر در هکتار اسیدآمینه به دست آمد . بر اساس نتایج آزمایش حاضر بین این دو تیمار ۸/۴ درصد اختلاف وجود داشت. در خصوص میزان آنتوسیانین گلبرگ بین تیمارهای مصرف دو و چهار لیتر در هکتار اسیدآمینه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین با افزایش وزن بنه بر میزان آنتوسیانین گلبرگ زعفران افزوده شد (جدول ۴). مشابه نتایج این تحقیق، Tajik و Danaei (2015) گزارش کردند که کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدآمینه گلوتامین میزان آنتوسانین گلبرگ ژربرا را افزایش داد. در پژوهش دیگری نشان دادند که کاربرد ۵۰۰ میکرومول بر لیتر اسیدآمینه آرژینین بر افزایش میزان آنتوسیانین توت‌فرنگی (*Fragaria* × *ananassa* Duch) اثر معنی‌دار مثبت داشت (Mohseni, 2015). دلیل این افزایش به بهبود کارایی فتوسنتزی و تجمع کربوهیدارت‌ها در گیاه نسبت داده شده است (Madiha, 2014). مصرف اسیدهای آمینه تأثیر زیادی در جلوگیری از تخریب بیولوژیکی آنتوسیانین و سایر رنگدانه‌های گیاهی دارد (Zamani et al., 2011). آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدهایی با ترکیبات گلوکوزیدی هستند که وجود قند برای

تشکیل آن‌ها ضروری است (Hapkins, 1999). تحقیقات نشان داده است که هنگام استفاده از کودهای آلی، میزان قند و کربن در گیاه افزایش می‌یابد. قند اضافیِ تولید شده در گیاه، در ساختمان متابولیت‌های ثانویه و مواد مؤثره استفاده می‌شود که در نهایت باعث افزایش میزان این ترکیبات در گیاه می‌گردد (Toor et al., 2015). اهمیت استفاده از آمینو اسید با محتوای نیتروژن آلی در ارتباط با تعامل مثبت و سازنده با در دسترس بودن برخی مواد معدنی و مغذی است (Cerdna et al., 2009). گیاهان با کاربرد آمینو اسید از طریق ریشه قادر خواهند بود تا عناصر غذایی بیشتری از محیط ریشه جذب کنند (Dakora & Phillips, 2002). همچنین آمینو اسید باعث بهبود کارایی جذب نیتروژن از خاک می‌گردد و در نتیجه سبب کاهش هَدَر روی نیتروژن می‌شود (Liu et al., 2008). افزایش فراهمی عناصر همچنین وجود قندها و برخی تنظیم-کننده‌های رشد در این نهاده آلی مانند اکسین‌ها، سیتوکنین و بتائین میزان فتوسنتز و تولید کربوهیدرات‌ها را در گیاه را افزایش می‌دهد (Gawronska, 2008). از این‌رو، کربوهیدارت‌های اضافیِ تولید شده در گیاه با اثر بر مسیر تولید فلاونوئید موجب افزایش میزان آنتوسیانین در گیاه می‌شوند (Watkinson et al., 2006).

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برای ویژگی‌های مورد مطالعه

Table 3. The results of analysis of variance (mean square) for the studied characteristics

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	پیکروکروسین کلاله Stigma picrocrocin	کروسین کلاله Stigma crocin	سافرانال کلاله Stigma safranal	فنول گلبرگ Petal phenol	فعالیت آنتی اکسیدانت گلبرگ Antioxidant activity of petals	آنتو سیانین گلبرگ Petal anthocyanin	کارتنویید برگ Cartenoid leaves
بلوک Block	2	498.4*	575.2 ns	0.55 ns	1.08ns	0.44ns	0.123ns	0.0021ns
اسید آمینه Amino acid	2	1117.9**	3717.8**	14.25**	1.94ns	10.37**	12.20**	0.13**
وزن بنه Weight of corm	2	282.3*	290.9 ns	2.56 *	1.72ns	10.85**	6.84*	0.078*
وزن بنه×اسید آمینه Weight of corm×Amino acid	4	148.9ns	233.4 ns	2.57*	0.40ns	2.60*	3.50ns	0.0057ns
خطا Error		84.7	267.9	0.75	0.7	0.56	1.31	0.015

ns، ** و * به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد.

ns, ** and *are nonsignificant and significant at the 0.01 and 0.05, -, respectively.

میزان آنتی اکسیدان گلبرگ

طبق نتایج به‌دست آمده در این پژوهش (جدول ۳)، اثرات ساده اسید آمینه و وزن بنه مادری در سطح احتمال یک درصد بر میزان آنتی‌اکسیدان گلبرگ زعفران معنی‌دار گردید. و اثر متقابل این دو عامل نیز بر این پارامتر در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی-داری نشان داد. مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۶) مبین آن است که حداکثر مقدار آنتی‌اکسیدان گلبرگ (۳۱/۲۶ درصد) از بنه‌های درشت (۱۲-۸/۱ گرم) و سطح چهار لیتر در هکتار اسید آمینه به‌دست آمد. امّا از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین سطوح دو و چهار لیتر اسیدآمینه مشاهده نشد. مشابه این نتایج گزارش شد که مصرف اسیدآمینه گلوتامین با افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپر اکسیداز دیسموتاز ظرفیت آنتی‌اکسیدان گل‌های رز را افزایش داد (2012

Farshid et al.,). در پژوهش دیگری مصرف اسید بتا آمینو بوتریک با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان گل میخک را موجب گردید (Tanazad et al., 2015). در تحقیقی دیگر مشخص گردید که اسیدآمینه گلوتامین در گل میخک، با افزایش کارایی جذب نیتروژن و فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) میزان آنتی‌اکسیدان و متابولیت‌های ثانویه آن را افزایش داد (Kazemi et al., 2012). میزان تولید و تنوع متابولیت‌های ثانویه گیاهان، همچنین ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آنها به - عوامل متعددی از قبیل شرایط آب و هوایی، تغذیه کودی و روش‌های زراعی بستگی دارد (Lopez et al., 2011). بنابراین بهبود این ترکیبات می‌تواند توسط هریک از عوامل حاصل گردد (Kuntal et al., 2007). از بین عوامل مذکور، نقش تغذیه کودی، بسیار مهم و تأثیر گذار می‌باشد (Ahmadiyan et al., 2010). تحقیقات نشان داده است که استفاده از اسیدهای آمینه با تغییرات قابل توجهی در متابولیسم ثانویه و سیستم‌های آنزیمی گیاهان بخصوص سیستم‌های اکسیداسیون و احیا ، مرتبط می‌باشد (Viti et al., 1989). اسیدهای آمینه در وضعیت آزاد، همچون ذرات باردار عمل کرده و پس از وارد شدن به سلول گیاهی به واسطه خلوص بالا وارد فرآیندهای متابولیکی می‌شوند (Thornton & Rabinson, 2005). همچنین حضور تنظیم‌کننده‌های رشد موجود در این نهاده آلی فعالیت-های متابولیکی گیاه را نیز تحت تأثیر قرار داده و با اثر بر افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) مقدار فلاونوییدهای حاصل از این فعالیت‌ها را افزایش می‌دهد (El-Beltagi et al., 2011). چنین به‌نظر می-رسد که اسیدآمینه به‌عنوان یک فرآیند مقاوم‌سازی عمل نموده و با افزایش توان آنتی‌اکسیدانی سلول، حفاظت بیشتر از غشای سلولی و رنگیزه‌های فتوسنتزی باعث بهبود شاخص های رشدی و متابولیت‌های ثانویه گردیده است (Gawronska, 2008).

میزان کارتنوئید گلبرگ

نتایج (جدول ۳) نشان داد که تنها اثرات ساده اسیدآمینه و وزن بنه در سطح احتمال یک درصد بر میزان کارتنوئید تأثیر معنی‌دار داشت. و اثر متقابل این دو عامل نتوانست این صفت را تحت تأثیر معنی‌دار خود قرار دهد. مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان‌دهنده آن است که حداقل میزان کارتنوئید (۰/۷۱ میلی‌گرم در گرم وزن تَر) از تیمار شاهد و حداکثر آن (۰/۹۵ میلیگرم در گرم وزن تَر) از تیمار چهار لیتر در هکتار اسید آمینه به دست آمد. نتایج گویای اختلاف ۳۳/۸ درصد بین دو تیمار بود. هرچند از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین سطوح دو و چهار لیتر در هکتار اسید آمینه مشاهده نشد. همچنین با افزایش وزن بنه مقدار کارتنوئید ۲۵/۶ درصد در بنه‌های درشت نسبت به بنه‌های ریز افزایش نشان داد (جدول ۴). مشابه نتایج این تحقیق کاربرد اسیدآمینه تیامین میزان کارتنوئید گل اطلسی (Salehi et al., 2016) و برگ شیرین بیان (Soltani et al., 2017.) را به طور معنی‌داری افزایش داد. تحقیقات دیگری نیز مؤید تأثیر مثبت اسیدآمینه بر افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاهان کوکب (Mahgoub et al., 2011) و جعفری (Oraghi Ardebili et al., 2011) می‌باشد. عوامل متعددی می-توانند در کمیت و کیفیت کارتنوئیدها مؤثر باشند که از جمله می‌توان به نقش تغذیه‌ای و مصرف کودها اشاره کرد. اسیدهای آمینه آزاد محرک‌های زیستی می‌باشند که باعث ارتقاء واکنش‌های مناسب بر متابولیسم گیاهی از جمله فرآیندهای متابولیکی اولیه مانند فتوسنتز و جذب مواد مغذی می‌شوند (Smolen et al., 2010). با توجه به اینکه عمده‌ی رنگدانه‌های فتوسنتزی دارای ساختار نیتروژنی هستند (Zgallai et al., 2006). اسیدآمینه به‌عنوان منبع نیتروژن آلی، یک ترکیب اساسی در تولید کلروفیل، فتوسنتز و رنگدانه‌های فتوسنتزی است (Badr & Fekry, 1999). همچنین حضور تنظیم کننده‌های رشد مانند سیتوکنین و بتائین موجود در این نهاده آلی نیز بر کاهش تخریب کلروفیل تأثیر مثبت دارد (Shahbazi et al., 2015). به نظر می‌رسد اسیدهای آمینه با تأمین نیتروژن مورد نیاز گیاه به‌واسطهٔ افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی سبب افزایش میزان کارتنوئید گیاه می‌شوند (Oraghi Ardebili et al., 2011). این امر به دلیل بهبود ویژگی فیزیکی، شیمیایی و زیستی (بیولوژیک) خاک در نتیجهٔ تغذیه ارگانیک و جذب مناسب آب و املاح غذایی توسط گیاه برای تولید مواد نورساختی و متابولیت‌های ثانویه است (Mandal et al., 2007).

میزان فنول گلبرگ

همانطور که در جدول (۳) مشاهده می‌شود، تیمار اسید آمینه با شاهد (عدم مصرف اسید آمینه) از نظر میزان فنول گلبرگ اختلاف معنی‌داری نشان نداد. همچنین وزن بنه مادری و اثر متقابل این دو عامل نتوانستند این صفت را تحت تأثیر معنی‌دار خود قرار دهند. تحقیقات نشان داده است که تیمارهای کودی می‌توانند منجر به افزایش محصول شوند، امّا ممکن است بر میزان ترکیبات فنولی گیاه اختلاف معنی‌داری نشان ندهند (Bahrami & Omid Beygi, 2002). اگرچه مغایر با نتایج مذکور برخی از محققین نشان دادند که مصرف اسیدآمینه میزان فنول کل فلفل شیرین (Khazaei & Sayari, 2015) و چای (Thomas et al., 2009) را افزایش می‌دهد.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر ساده وزن بنه بر صفات کیفی زعفران

Table 4. Comparison of the simple effect of corm weight on quality traits of saffron

وزن بنه (گرم) Weight of corm (g)	پیکروکروسین کلاله (میزان جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵۷ نانومتر) Stigma picrocrocin (Absorbance of 1% aqueous saffron extract at 257 nm)	کروسین کلاله (میزان جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر) Stigma crocin (Absorbance of 1% aqueous saffron extract at 440 nm)	سافرانال کلاله (میزان جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر) Stigma safranal (Absorbance of 1% aqueous saffron extract at 330 nm)	فنول گلبرگ (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) Petal phenol (mg.100g dry weight^{-1})	فعالیت آنتی اکسیدانت گلبرگ (درصد) Antioxidant activity of petals (%)	آنتوسیانین گلبرگ (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) Petal anthocyanin (mg.100 g dry weight^{-1})	کارتنویید برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Cartenoid leaves (mg.g^{-1}f.w)
0.1-4	**100.7^{b}**	242.9^{a}	34.22^{b}	62.66^{a}	27.28^{c}	24.86^{b}	0.74^{b}
4.1-8	**103.0^{ab}**	247.7^{a}	34.68^{ab}	62.83^{a}	28.40^{b}	25.31^{b}	0.84^{a}
8.1-12	108.5^{a}	254.2^{a}	35.28^{a}	63.49^{a}	29.48^{a}	26.54^{a}	0.93^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

In each column, means with the same letter are not different significantly at 5% probability level.

جدول۵. مقایسه میانگین اثر ساده اسید آمینه بر صفات کیفی زعفران

Table 5. Comparison of the average effect of simple amino acid on quality traits of saffron

اسید آمینه (لیتر بر هکتار) Amino acid (L.ha^{-1})	پیکروکروسین کلاله (میزان جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵۷ نانومتر) Stigma picrocrocin (Absorbance of 1% aqueous saffron extract at 257 nm)	کروسین کلاله (میزان جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۴۴۰ نانومتر) Stigma crocin (Absorbance of 1% aqueous saffron extract at 440 nm)	سافرانال کلاله (میزان جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر) Stigma safranal (Absorbance of 1% aqueous saffron extract at 330 nm)	فنول گلبرگ (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) Petal phenol (mg.100g dry weight^{-1})	فعالیت آنتی اکسیدانت گلبرگ (درصد) Antioxidant activity of petals (%)	آنتوسیانین گلبرگ (میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک) Petal anthocyanin (mg.100 g dry weight^{-1})	کارتنویید برگ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) Cartenoid leaves (mg.g^{-1}f.w)
0	94.8^{b}	230.5^{b}	33.27^{b}	62.54^{a}	27.25^{c}	24.23^{b}	0.71^{b}
2	108.6^{a}	244.0^{b}	35.44^{a}	62.83^{a}	28.52^{b}	26.20^{a}	0.85^{a}
4	108.7^{a}	270.4^{a}	35.47^{a}	63.49^{a}	29.39^{a}	26.28^{a}	0.95^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

In each column, means with the same letter are not different significantly at 5% probability level.

میزان کروسین، پیکروکروسین و سافرانال کلاله

همانطور که نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان می‌دهد تنها اثر ساده اسیدآمینه در سطح احتمال یک درصد بر میزان کروسین کلاله زعفران اختلاف معنی‌دار داشت. امّا وزن بنه و اثر متقابل این دو عامل نتوانستند بر این شاخص اختلاف معنی‌داری نشان دهند. مقایسه میانگین صفات (جدول ۵) بیانگر این است که مصرف چهار لیتر در هکتار اسید آمینه ۱۷/۳ درصد میزان کروسین کلاله را در مقایسه با تیمار شاهد (عدم مصرف اسید آمینه) افزایش داد. نتایج جدول (۳) مشخص کرد که میزان پیکروکروسین زعفران تحت تأثیر معنی‌دار اسیدآمینه و وزن بنه قرار گرفت، ولی اثر متقابل این دو عامل نتوانست این صفت را تحت تأثیر اختلاف معنی‌دار خود قرار دهد. همان‌طور که در جدول (۴) مربوط به مقایسه میانگین اثرات وزن بنه ملاحظه می‌گردد با افزایش وزن بنه مقدار این مادهٔ موثره افزایش یافت. همچنین، بیشترین مقدار پیکروکروسین (۱۰۸/۷ برحسب میزان جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۲۵۷ نانومتر) از تیمار چهار لیتر در هکتار اسید آمینه حاصل گردید. مطابق با نتایج جدول ۳ اسیدآمینه توانست میزان سافرانال را در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر معنی‌دار خود قرار دهد. همچنین اثر متقابل اسیدآمینه و وزن بنه حاکی از تأثیر معنی‌دار این دو عامل در سطح احتمال پنج درصد بود. مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۶) گویای آن است مصرف ۲ یا ۴ لیتر اسید آمینه در سطوح مختلف وزن بنهٔ مادری محتوای سافرانال کلاله را بهبود بخشید. در مجموع مصرف اسیدآمینه موجب بهبود خصوصیات کیفی کلاله زعفران شد. مشابه با نتایج این آزمایش گلذاری جهان آبادی و همکاران (Golzari jahanabadi et al.,

2017) طی بررسی اثر کاربرد برخی منابع کودی بر خصوصیات رویشی و صفات کیفی زعفران نتیجه گرفتند که بیشترین مقدار مواد مؤثره زعفران (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال) با کاربرد کود زیستی بیوآمینوپالیس نسبت به شاهد حاصل شد. در پژوهش دیگری افزایش میزان مواد مؤثره (کامازولن) در گیاه دارویی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) در نتیجه کاربرد اسیدآمینه آمینول فورته به اثبات رسیده است (Haj Seid Hadi & Rezaei ghaleno, 2016). همچنین افزایش مواد مؤثره ریحان سبز (Saburi et al., 2014) و گشنیز (Reza Khani & Haj Seyed Hadi, 2017) هنگام استفاده از اسیدآمینه هیومی‌فورته گزارش شده است. کودهای آلی و زیستی به دلیل فراهمی مناسب و متعادل عناصر غذایی، مواد هورمونی و ویتامین‌های محلول در آب، ایجاد حالت همکاری با سایر میکروارگانیزم‌ها و تولید ترکیبات اولیهٔ مؤثر در بیوسنتز گلیکوزیدها و تجزیه آنها به ترکیبات ثانویه (کروسین و پیکروکروسین) ممکن است بر عملکرد کیفی و مواد مؤثره زعفران تأثیرگذار باشند (Patten & Glick, 1996). اسیدهای آمینه نیز به عنوان ترکیب‌های محرک رشد کمی و کیفی گیاه فعالیت می‌کنند. این ترکیب‌ها در زیست ساخت (بیوسنتز) متابولیت‌های ثانویه و هورمونی نقش مهمی دارند (Gawronska, 2008). این نقش ناشی از اسیدهای آمینهٔ به کاررفته در ترکیب و ساخت (فرمولاسیون) این محرک‌های زیستی است که با افزایش نسخه برداری mRNA تا میزان ۲/۵ برابر، فعال‌سازی هورمون‌های مؤثر در رشد زایشی، فعال‌سازی فرآیند تشکیل کربوهیدرات‌ها، افزایش جذب و انتقال عنصرها موجب بهبود ویژگی های کیفی گیاه در مدت زمان کوتاه‌تری به ویژه در شرایط احتمال بروز تنش‌های محیطی می‌شوند (Gawronska , 2008 ; Thomas et al., 2009). همچنین با توجه به اینکه ساخت اسانس‌های ترپنوئیدی نظیر فیتوالکسین‌ها و سافرانال زعفران نیاز مبرم به ترکیب‌های فسفردار دارد و برای تأمین انرژی لازم (NADPH و ATP) به نیتروژن وابسته است (Loomis & Cortoa, 1972). لذا اسیدهای آمینه به عنوان منبع تأمین نیتروژن آلی، بلافاصله نیتروژن قابل دسترس گیاه را تولید می‌کنند (Abd El-Aziz et al., 2009). همچنین اسیدآمینه کارایی جذب فسفر و پتاسیم از خاک را بهبود می‌بخشد (Faten et al., 2010).

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل وزن بنه و اسیدآمینه بر ویژگی‌های مورد مطالعه

Table 6. Comparison of the average interaction effect of corm weight and amino acid on the studied characteristics

اسید آمینه (لیتر Amino بر هکتار) acid ($L.ha^{-1}$)	وزن بنه (گرم) Weight of corm (g)	سافرانال کلاله (میزان جذب محلول آبی ۱ درصد در طول موج ۳۳۰ نانومتر) Stigma safranal (Absorbance of 1% aqueous saffron extract at 330 nm)	فعالیت آنتی اکسیدانت گلبرگ Antioxidant (درصد) activity of petals (%)
0	0.1-4	33.79^{cd}	26.64^{d}
0	4.1-8	33.03^{d}	27.19^{d}
0	8.1-12	33.00^{d}	27.94^{cd}
2	0.1-4	33.86^{cd}	27.25^{d}
2	4.1-8	35.63^{ab}	29.06^{bc}
2	8.1-12	36.82^{a}	29.24^{bc}
4	0.1-4	35.01^{bc}	27.41^{d}
4	4.1-8	35.37^{ab}	29.50^{b}
4	8.1-12	36.03^{ab}	31.26^{a}

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

In each column, means with the same letter are not different significantly at 5% probability level.

از این‌رو، کاربرد کودهای آلی مانند اسیدآمینه به واسطهٔ بهبود فراهمی و جذب نیتروژن ، فسفر و پتاسیم در افزایش تولید مواد مؤثره موجود در کلالهٔ زعفران نقش مؤثری دارد.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که کاشت بنه‌های مادری بزرگ‌تر و استفاده از اسیدآمینه می‌تواند در بهبود ویژگی‌های کیفی گلبرگ و مواد مؤثره کلالهٔ زعفران مفید باشد. از آنجا که بین سطوح مصرف دو و چهار لیتر در هکتار اسیدآمینه در اکثر صفات مورد بررسی تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد، به منظور کاهش هزینه‌های تولید می‌توان سطح دو لیتر در هکتار نهاده آلی اسید آمینه را پیشنهاد داد که البته این میزان بسته به خصوصیات خاک در هر منطقه می‌تواند متغیر باشد. به‌منظور تکمیل نتایج این آزمایش توصیه می‌شود اثر سایر سطوح و روش‌های مصرف اسیدآمینه (مانند برگ-پاشی و مصرف تلفیقی آن با سایر منابع تغذیه‌ای) در طی پژوهش‌های چندساله بر عملکرد، ویژگی‌های کیفی گلبرگ و محتوای مواد مؤثره زعفران بررسی شود. همچنین با وجود این‌که مصرف خاکی عناصر غذایی بر گل‌دهی سال اول زعفران، نمی‌تواند اثرگذاری قابل توجهی داشته باشد، بهبود شاخص‌های کیفی گل در اولین فصل گل‌دهی در این آزمایش، عمدتاً ناشی از غوطه‌وری بنه‌ها قبل از کاشت در کود محرک زیستی اسید آمینه بوده است.

منابع

Abd El-Aziz, N. G., Mahgoub, M. H., & Mazher, A. A. M. (2009). Physiological effect of phenylalanine and tryptophan on the growth and chemical constituents of antirrhinum majus plants. *Ozean Journal of Applied Sciences, 2* (4), 399-407.

Ahmadiyan, A., Ghanbary, A., Gluy, M., Siyahsar, B., & Arazmjoo, A. (2010). Different irrigation regimes and manure on the elements essential oil content and chemical composition cumin. *Ecophysiology of Crop Plants and Weeds*, *16*, 83-94.

Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal, 23* (1), 112-121.

Badr, L. A. A., & Fekry, W. A. (1999). Effect of intercropping and doses of fertilization on growth and productivity of taro and cucumber plants. 1-vegetative growth and chemical constituents of foliage. *Zagazig Journal of Agriculture Research, 25*, 1087–101.

Bahrami, K., & Omid Beygi, R. (2002). The effect of nitrogen and phosphorus on fertility and quality of medicinal plant active ingredient of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). M.Sc. Thesis, Faculty of Horticulture. Tarbiat Modares University, Iran.

Cerdna, M., S. nchez-S.nchez, A., Oliver, M., Ju.rez, M., and S.nchez-Andreu, J. J. (2009). Effect of foliar and root applications of amino acids on iron uptake by tomato plants. *Acta Hortulture, 830*, 481-488.

Chuah, A. M., Lee, Y. C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L. J., & Matoba, T. (2008). Effect of cooking on the antioxidant properties of colored peppers. *Food Chemistry, 111* (1), 20- 28.

Dakora, F. D., & Phillips, D. A. (2002). Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant and Soil*, *245*, 35-47.

El-Beltagi, H., Ahmed, O. K., & El-Desouky, W. (2011). Effect of low dose gamma radiation on oxidative stress and secondry metabolites production of resmary (*Rosmarinum officinalis* L.) callus culture. *Radiation Physics and chemistry, 80* (9), 968-976.

Fallahi, H. R., Aghhavani-Shajari, M., Sahabi, H., & Feizi, H. (2017). Mother corm weight and soil amendment improves the vegetative and reproductive growth of saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Medicinal & Spice Plants (Zeitschrift für Arznei and Gewürzpflanzen), 22* (3), 110-114.

Farshid, F., Hadavi, E., & Hekmati, J. (2012). Glutamin and malic acid increased the vaselife of cut Rose flower cv. Avalanch, Horticulture Department, Islamic Azad University of Karaj, Karaj, Iran.

Faten, S. A., Shaheen, A. M., Ahmad, A. A., & Mahmoud, A. R. (2010). Effect of foliar application of amino acids as antioxidants on growth, yield and characteristics of squash. *Journal of Agriculture and Biological Science*, *6* (5), 583-588.

Gawronska, H. (2008). Biostimulators in modern agriculture (general aspects). Plant Press

Warsaw University of life sciences (WULS), 89p.

Ghost, B.C., & Bhat, R. (1998). Environmental hazards of nitrogen loading in wetland rice fields. *Environmental Pollution. 102* (1), 123–126.

Golzade, H., Mehrafarin, A., Naghdi Badi, H., Fazeli, F., Ghaderi, A., & Zarincheh, N. (2011). Effects of bio-stimulants on quantitative and qualitative yield of German chamomile. *Journal of Medicinal Plants, 11* (41), 195-207. [in Persian].

Golzari Jahanabad, M., Behdani, M. A., Khorramdel, S., & Sayari Zahan, M. H. (2015). The effect of some fertilizer sources and maternal straw weights on vegetative characteristics and quality of saffron (*Crocus sativus* L.) traits. *Saffron Research Journal (Two Quarterly), 4* (2), 172-186.

Gresta, F., Avola, G., Lombardo, G. M., Siracusa, L., & Ruberto, G. (2009). Analysis of flowering, stigmas yield and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by environmental conditions. *Scientia Horticulturae, 119* (3), 320-324.

Haghirossadat, F., Bernard, F., Kalantar, M., Sheikhha, M., & Hokmollahi Azimzadeh, M. (2010). *Bunium Persicum* (Black Caraway) of Yazd province: Chemical assessment and Evaluation of its antioxidant effects. *Journal of Shaheed Sadoughi University of Medical Sciences, 18* (3), 284-291.

Haj Seid Hadi, M. R., & Rezaee Ghale, H. (2016). Effects of vermicompost and foliar application of amino acids and urea on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian J of Medicinal Aromatic Plants. 31* (6 (74)), 1058 -1070.

Hapkins, W.G. (1999). Introductin to plant physiology. Vol 1 and 2, John wiley and Sons, New York.

INS (Iran National Standard). (2006). Research institute of standard and Iran. Saffron Bulletin, No. 259. *Journal of Microbiology. 42*, 207-209.

Kazemi, M., Gholami, M., Asadi, M., Aghdasi, S., & Almasi, M. (2012). Response of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) to salicylic acid and glutamine. *Asian Journal of Biochemistry, 7* (3), 158-164.

Khavari, A., Behdani, M. A., Zamani, GH. R., & Mahmoudi, S. (2012). The effect of planting method and bennet weight on saffron performance in qaynat area. Master's Degree in Agriculture. Factualy of Agriculture. University of Birjand.

Khazaei, Z., & Sayari, M. (2015). Effect of 5-Aminololic acid leaf application on growth and some physiologic factors and sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) function in drought stress conditions. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 28 (5), 952-961.

Kocira, A., Kornas, R., & Kocira, S. (2013). Effect assessment of kelpak SL on the bean yield (*phaseolus vulgaris* L.) the Bean yield. *Journal of Central European Agriculture, 14* (2), 67-76.

Koocheki, A. (2013). Research on production of saffron in Iran: Past trend and future prospects. *Saffron Agronomy and Technology, 1* (1), 3-21.

Kuntal, D., Raman, D., Thippenahalli, N. S., & Sekeroglu, N. (2007). Influence of bio-fertilizers on the biomass yield and nutrient content in Stevia rebaudiana. *Journal of Medicinal Plants Research, 1* (1), 5-8.

Lechtenberg, M., Schepmann, D., Niehues, M., Hellenbrand, N., Wünsch, B., & Hensel, A. (2008). Quality and functionality of saffron: Quality control, species assortment and affinity of extract and isolated saffron compounds to nmda and σ1 (sigma-1) receptors. *Planta Medica, 74* (7), 764-772.

Liu, X. Q., Ko, K. Y., Kim, S. H. & Lee, K. S. (2008). Effect of amino acid fertilization on nitrate assimilation of leafy radish and soil chemical properties in high nitrate soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis, 39* (1-2), 269-281.

Loomis, W. D., & Corteau, R. (1972). Essential oil biosynthesis. *Recently Advance Phytochemistry, 6*, 147-185.

Lopez, A., Rico, M., Rivero, A., & Suarez de Tangil, M. (2011). The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of Stypocaulon scoparium alga extracts. *Food Chemistry, 125* (3), 1104-1109.

Madiha, H., Jalal, A., & Ayad, A. (2014). The effect of some foliar nutrients on vegetative growth characteristics and yield of Rosell (*Hibiscus sabdariffa* L). *Journal of Tikrit University for Agriculture Sciences*, Special Issue of the Third Specialized Conference / Plant Production 26-27.

Mahgoub, H. M., Abdel-Aziz, G. N., & Mazhar, M. A. (2011). Response of *Dahlia pinnata* L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. *American Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science, 10* (5), 769-775.

Mandal, A., Patra, A. K., Singh, D., Swarp, A., & Ebhin Masto, R. (2007). Effect of Long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. *Bioresource Technology, 98* (18), 3585-3592.

Mohseni, F. (2015). The role of spraying of amino acids on the vegetative and

reproductive characteristics of strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch) parous cultivar. M.Sc. Shahid Bahonar University of Kerman. Faculty of Agriculture and Natural Resources.

Murty, M.G., & Ladha, J.K. (1988). Influence of Azospirillum inoculation on the mineral uptake and growth of riceunder hydroponic conditions. *Plant and Soil, 108* (2), 281–285.

Nasiri Khorasani, N., Behdani, M.A., Akbarpour, A., & Mahmoudi, S. (2011). Assessing the quality of water resources in saffron agro-ecosystem using Arc GIS. (Case study: Sarbisheh city). Master's thesis, Faculty of Agriculture. University of Birjand (Saffron Research Group of Birjand University).

Oraghi Ardebili, Z., Laden Moghadam, AS. R., & Moradi, M. (2011). Effect of leaf seedling on selenium and amino acid on parsley. Garmsar Azad University. Garmsar Master's Thesis.

Patten, C.L., & Glick, B.R. (1996). Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. Canadian.

Reza Khani, A., & Haj Seyed Hadi, M. (2017). Effect of manure and spraying of amino acids on growth characteristics, grain yield and essential oil of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Iranian Crop Science, 48* (3), 777-786.

Rouhani, R., Eyenafshar, S., & Ahmadzadeh, R. (2015). Study of anthocyanin and antioxidant compounds derived ethanol extract saffron flag with the help of ultrasound technology. *Iranian Food Science and Technology, 11* (2), 161-170.

Saburi, M., Haj Seyed Hadi, M. R., & Darzi, M. T. (2014). Effects of amino acids and nitrogen fixing bacteria on quantitative yield and essential oil content of basil (*Ocimum basilicum*). *Journal of Agricultural Science Developments, 3* (8), 265-268.

Sadeghi, B. (1993). Effect of corm weight on saffron flowering. *Press of Iranian Research Organization for Scinece and Technology-Center of Khorasan*, 52-53.

Sadeghi, B. (1997). Effect of storage and sowing date of corm on saffron flowering. *Organisation of Scientific and Industrial of Iran. Research Center of Khorasan*, 6-53.

Salehi, M., Saffari, V. R., & Farahmand, H. (2016). Effect of benzyl adenine, ascorbic acid and thiamine on some of the morphological and biochemical properties of petunia hybrida. *Journal of Crop Production and Processing of Horticultural Products, 6* (19), 165-174.

Shahbazi, F., Seyyed nejad, F., Salimi, M., & Gilani, A. (2015). Effect of seaweed extracts on the growth and biochemical constituents of wheat. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences, 8* (3), 283-287.

Sharifi Ashourabadi, A. (1998). Evaluation of soil fertility in agroecosystems. Ph. D disseration, Islamic Azad Univesity of Oloum Tahghighat, Iran.

Smolen, S., Sady, W., & Wierzbinska, J. (2010). The effect of plant Biostimulation with 'Pentakeep V' and nitrogen fertilization on yield, nitrogen metabolism and quality of spinach. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 9* (1), 25-36.

Soltani, F., Hadavi, A., & Ghazi jahani, N. (2017). Effect of soldering of thalouamine, citric acid and malic acid on the quality and morphology of glycyrrhiza glabra (*Glycyrrhiza glabra*). *Journal of Cellular and Molecular Biology, 14*, 5-14.

Tajik, N., & Danaee, E. (2015). Spraying pre-harvest some of Amino acids on physicochemical, enzymatic traits and *Longevity gerbera* flower cv. *sorbet Journal of Plant and Biotechnology, 9* (3), 27. [in Persian].

Tanazad, M., Sharifi Separchi, GH, R., Mirza Aliyan dastjeri, A., & Yousef zadi, M. (2015). Improvement of the traits of persistence and enzymatic activity in carnation (*Caryophyllus* L. *Dianthus*) cultivar Diana in preservative solutions. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 29*(1), 0-43. [in Persian].

Thomas, J., Mandal, A. K. A., Raj Kumar, R., & Chordia, A. (2009). Role of biologically active amino acid formulations on quality and crop productivity of Tea (*Camellia* sp.). *International Journal of Agricultural Research, 4* (7), 228-236.

Thornton, B., & Robinson, D. (2005). Uptake and assimilation of nitrogen from solutions containing multiple N sources. *Plant Cell and Environment, 28* (6), 813-821.

Toor, R.K., Geoffrey, P., & Savagea, A.H. (2006). Influence of different types of fertilizers on the major antioxidant components of tomatoes. *Journal of Food Composition and Analysis, 19* (1), 20-27.

Turkmen, N., Sari, F., & Veliglu, Y.S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolic and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry, 93* (4), 713- 718.

Valle Garcia-Rodriguez, M., Serrano-Diaz, J., Tarantilis Petros, A., Lopez-Corcoles, H., Carmona, M., & Alonso, G. L. (2014). Determination of saffron quality by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62* (32), 8068-8074.

Viti, R., Bartolini, S., & Vitagliano, C. (1989). Growth regulators on pollen germination in olive. *Acta. Hortic. 286*, 227-230.

Watkinson, J. I., Hendricks, L., Sioson, A. A., Vasquez-Robinet, C., Verlyn, S., Heath, L. S., Schuler, M., Bohnert, H. J., Bonierbale, M., & Grene, R. (2006). Accessions of Solanumt oberosum spp. Andigena show differences in photosynthetic recovery after drought stress as reflected in gene expression profiles. *Plant Science, 171* (6), 745-758.

Wrosotad, R. E. (1976). Color and pigment analysis in fruit products. Oregon State University Publications Limited, Cornwalis.

Zamani, S., Kazemi, M., & Aran, M. (2011). Postharvest life of vut rose flowers as affected by salicylic acid and glutamin. *World Applied Sciencs Journal, 12* (9), 1621-1624.

Zgallai, H., Steppe, K., & Lemeur, R. (2006). Effects of different levels of water stress on leaf water potential, stomatal resistance, protein and chlorophyll content and certain anti oxidative enzymes in Tomato plants. *Journal of Integratio Plant Biology, 48* (6), 679-685.

COPYRIGHTS

© 2022-2023 by the authors. Published by University of Birjand – Saffron Research Group. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)