نشریه زراعت و فناوری زعفران
جلد ۶، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۷ ص. ۴۲۸-۴۱۵

Saffron Agronomy & Technology
Vol. 6, No. 4, Winter 2019, P. 415-428

مقاله علمی - پژوهشی

ارزیابی اثر اسید فولویک و کود دامی بر مواد مؤثره کلاله و فعالیت ضد رادیکالی گلبرگ زعفران(*Crocus sativus* L.)

محمد حسین امینی‌فرد[۱]* و فریده احمدی[۲]

تاریخ دریافت:۱۳ مهر ۱۳۹۶ **تاریخ پذیرش:** ۲۸ آذر ۱۳۹۶

امینی‌فرد، م.ح.، و احمدی، ف. ۱۳۹۷. ارزیابی اثر اسید فولویک و کود دامی بر مواد مؤثره کلاله و فعالیت ضد رادیکالی گلبرگ زعفران (*Crocus sativus* L.). زراعت و فناوری زعفران، ۶(۴): ۴۲۸-۴۱۵.

چکیده

به‌منظور بررسی اثرات کود گاوی و اسید فولویک بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مواد مؤثره زعفران (*Crocus sativus* L.)، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار، در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال زراعی ۱۳۹۵- ۱۳۹۴ اجرا شد. فاکتورها شامل کود گاوی در چهار سطح (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ تن در هکتار) و اسید فولویک در سه سطح (صفر، ۵ و ۱۰ کیلوگرم در هکتار) با سه تکرار بودند. نتایج دوساله نشان داد که در سال اول اجرای آزمایش کود گاوی بر مواد مؤثره کلاله (پیکروکروسین، کروسین و سافرانال) و در سال دوم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلبرگ (آنتوسیانین و فنول) و مواد مؤثره کلاله معنی‌دار شد. بیشترین مقدار سافرانال در سال اول در سطح ۱۰ تن در هکتار کود گاوی به‌دست آمد. اسید فولویک نیز در دو سال آزمایش بر مواد مؤثره (کروسین و پیکروکروسین)، آنتوسیانین و فنول اثر معنی‌داری داشت. به‌طوری‌که بیشترین میزان آنتوسیانین و فنول در هر دو سال در تیمار ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و کمترین مقدار آن‌ها در سطح شاهد مشاهده گردید. اثر متقابل کود گاوی و اسید فولویک نیز در دو سال بر مواد مؤثره کلاله و در سال دوم بر آنتوسیانین و فنول اثر معنی‌داری گذاشت. به‌طورکلی نتایج نشان داد،کود گاوی و اسید فولویک تأثیر مثبتی بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مواد مؤثره زعفران در این آزمایش داشت.

کلمات کلیدی: آنتوسیانین، کود آلی، عملکرد کلاله، کروسین.

۱- استادیار گروه آموزشی علوم باغبانی و مرکز پژوهشی گیاهان ویژه منطقه دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته علوم باغبانی، گرایش فیزیولوژی گیاهان دارویی، ادویه‌ای و عطری. دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند.
(*- نویسنده مسئول: mh.aminifard@birjand.ac.ir)

DOI: 10.22048/jsat.2017.99009.1260

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی چندساله خانواده زنبق (Irridaceae) است، که نقش مهمی در صادرات غیرنفتی دارد (Omidi et al., 2009). این گیاه مصارف متعددی در صنایع غذایی و درمانی دارد، که از آن جمله در طب سنتی به‌عنوان آرام‌بخش، ضد نفخ و مقوی معده استفاده می‌شود (Kumar et al., 2001). ارزش کیفی زعفران به خاطر متابولیت‌های ثانویه اصلی و مشتقات آن می‌باشد، ترکیبات زرد رنگ کروسین مسئول رنگ زعفران، ترکیبات تلخ پیکروکروسین مسئول طعم و سافرانال مسئول عطر و بوی آن می‌باشد (Hosseinzadeh & Yonesi, 2002). همان‌طور که گفته شد، زعفران از ارزش تغذیه‌ای، دارویی و زراعی بسیار بالایی برخوردار است که کمیت و کیفیت آن بستگی به عوامل متعددی دارد (Omidi et al., 2009). از جمله این عوامل جایگزینی کودهای شیمیایی توسط منابع تغذیه‌ای آلی مانند کود گاوی و اسید فولویک می‌باشد، که علاوه بر کاهش آثار تخریبی محیط‌زیست و افزایش کیفیت زعفران تولیدشده، می‌توانند هزینه‌های تولید را نیز کاهش دهند و باعث افزایش عملکرد و کیفیت محصول شوند (Rezvani Moghaddam et al., 2013). مصرف کودهای دامی با افزایش ماده آلی، محتوای ذخیره رطوبتی و افزایش جذب مواد غذایی ضروری و ریز مغذی خاک سبب افزایش عملکرد زعفران می‌گردند (Akhtar et al., 2013). محققین نشان دادند، که بیشترین میزان هر یک از مواد مؤثره پیکروسین، سافرانال و کروسین در سال اول کاشت در زعفران‌های تیمار شده با کودهای آلی نظیر ورمی‌کمپوست و کمترین آن‌ها در شاهد به‌دست آمد (Ismaeili et al., 2015). نتایج دیگری نیز بیانگر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلبرگ زعفران با مصرف کودهای آلی نظیر ورمی‌کمپوست و کمپوست زباله شهری بود (Oftadeh et al., 2016; Gholizadeh et al., 2016). اسید فولویک نیز به‌عنوان فعال‌ترین ترکیب هیومیکی از طریق کلات کنندگی عناصر غذایی و با قدرت تبادل یونی بالا، جذب عناصر معدنی را در گیاهان افزایش می‌دهد و از این طریق سبب افزایش کمیت و کیفیت محصول می‌گردد (Saffar Sabzevar & Jami Moeini, 2015). در ارتباط با نقش مؤثر ترکیبات هیومیکی در افزایش کیفیت گیاهان تحقیقات متعددی صورت گرفته است. گلزاری و همکاران (Golzari et al., 2016) با بررسی تأثیر مواد هیومیکی و کودهای زیستی بر مواد مؤثره زعفران نشان دادند که، مصرف اسید هیومیک سبب افزایش معنی‌دار مواد مؤثره (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال) نسبت به شاهد گردید. در یک بررسی دیگر با استفاده از اسید هیومیک و اسید فولویک میزان آنتوسیانین کل گل‌گاوزبان ۳۸ و ۳۳ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت، اما اسید فولویک تأثیری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نداشت (Amiri et al., 2017). نتایج سایر پژوهشگران نیز حاکی از افزایش متابولیت‌های ثانویه زعفران (کروسین، پیکروکروسین، سافرانال، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتوسیانین) با مصرف اسید هیومیک بود (Ahmadi et al., 2017). علیرغم تحقیقات گسترده‌ای که در خصوص تأثیر کودهای آلی و بیولوژیک مختلف بر گیاه زعفران انجام‌شده، اما تاکنون گزارشی در خصوص اثر کود گاوی و اسید فولویک و تلفیق آن‌ها بر صفات کیفی و متابولیت‌های ثانویه زعفران ارائه نشده است. ازاین‌رو با در نظر گرفتن اهمیت زعفران به‌عنوان مهم‌ترین محصول اقتصادی و دارویی کشور و نقش کودهای آلی در افزایش کیفیت محصول، هدف از اجرای این طرح، مطالعه هم‌زمان تأثیر کود گاوی و اسید فولویک بر مواد مؤثره و صفات بیوشیمیایی زعفران می‌باشد. تا با استفاده مناسب از نهاده‌های آلی و در نتیجه کاهش اتکا به کودهای شیمیایی، به-

توان در جهت تولید پایدار و افزایش کیفیت این گیاه دارویی مهم گام برداشت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۵ – ۱۳۹۴ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دوازده ترکیب تیماری و سه تکرار در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند اجرا شد. قبل از کشت جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری مرکب شد (جدول ۱). تیمارهای آزمایشی به‌صورت ترکیبی از چهار سطح کود گاوی (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ تن در هکتار) و سه سطح اسید فولویک (۰، ۵ و ۱۰ کیلوگرم در هکتار) تعیین شدند. اسید فولویک مصرفی در این آزمایش به‌صورت پودر تجاری اسید فولویک محصول شرکت بیوفارم ایران حاوی ۷۰ درصد اسید فولویک و ۱۵ درصد اسید هیومیک بود. به‌منظور انجام آزمایش، پس از شخم، دیسک و مسطح کردن خاک اقدام به کرت‌بندی زمین نموده وکرت‌هایی به ابعاد ۲ × ۲ متر ایجاد گردید، فاصله بین کرت‌ها و بلوک‌ها از یکدیگر به ترتیب ۱ و ۲ متر (با احتساب جوی‌های آبیاری) در نظر گرفته شد. قبل از کشت مقادیر مختلف کود گاوی تا عمق۲۰ سانتی‌متری با خاک مخلوط گردید.کشت به‌صورت ردیفی در ۱۶ شهریور ۱۳۹۴ توسط بنه‌های با وزن متوسط ۹–۷ گرم و تراکم کاشت ۵۰ بنه در مترمربع انجام گرفت. فاصله بنه روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر و فاصله بین خطوط کشت ۲۰ سانتی‌متر و عمق کاشت ۱۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. تیمار اسید فولویک پس از کاشت همراه آبیاری اول پس از غرقاب شدن کرت به‌صورت محلول در آب آبیاری اعمال شد. آبیاری اول هم‌زمان با کاشت (۲۶ مهر ۱۳۹۴ به‌صورت غرقاب) به‌منظور استقرار بهتر بنه‌ها در خاک و فرصت بیشتر برای جذب تیمارهای آزمایش و آبیاری دوم ۱۰ روز بعد از آبیاری اول به‌منظور تسهیل در سبز شدن بنه‌ها انجام شد. بعد از آن نیز یک‌مرتبه سله‌شکنی توسط کج‌بیل و چهارشاخ فلزی با عمق کم صورت گرفت تا جوانه‌های گل با سهولت بیشتری از خاک بیرون آمده و رشد مطلوبی داشته باشند. آبیاری‌های بعدی پس از اتمام دوره گل‌دهی طبق عرف منطقه به فاصله زمانی هر یک ماه و به شیوه نشتی و با استفاده از سیفون انجام گرفت. در سال دوم نیز اسید فولویک همراه آبیاری (۱۳۹۵/۸/۱۰) قبل از ظهور گل اعمال گردید. در طول اجرای آزمایش از هیچ‌گونه سم و کود دیگری استفاده نشد. گل‌های زعفران در اولین ساعات صبح نیمه آبان ماه (۱۳۹۴/۸/۱۷ و ۱۳۹۵/۸/۲۴) ، با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای (نیم متر فاصله با هر ضلع کرت) از کل سطح کرت‌ها برداشت شد و قسمت‌های مختلف گل در آون الکتریکی دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شدند. لازم به ذکر است که عملکرد گل و کلاله زعفران در سال اول کمتر، تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی قرار می‌گیرد و بهتر است اثر تیمارهای آزمایش بر عملکرد از سال دوم به بعد موردبررسی قرار گیرد. اما در صفات بیوشیمیایی و مواد مؤثره با توجه به گزارشات قبلی در مورد زعفران و گیاهان دارویی دیگر و همچنین با توجه به مکانیسم تولید آن‌ها به نظر می‌رسد، می‌توانند در همان سال اول کاشت تحت تأثیر تیمارهای آزمایش قرار گیرند. همچنین به خاطر عوامل تأثیرگذار خاص نظیر شرایط آب و هوایی و تنش‌ها (گرما و سرما) بر تولید مواد مؤثره گیاهان دارویی ممکن است، باوجود شرایط یکسان تغذیه در دو سال آزمایش نتایج متفاوت باشند. لذا این تحقیق به‌صورت دوساله روی صفات بیوشیمیایی و مواد مؤثره زعفران انجام پذیرفت تا بتوان نتیجه دقیق‌تری در خصوص اثر تیمارهای آزمایش بر این صفات ارائه گردد.

به‌منظور استخراج عصاره گلبرگ زعفران از روش پرکولاسیون (خیساندن) استفاده شد. گلبرگ زعفران آسیاب شد و از الک با مش ۴۰ عبور داده شد. سپس پودر گلبرگ زعفران و حلال اتانول ۸۰ درصد به نسبت ۱: ۲۰ (وزنی: حجمی) به

مدت۲۴ ساعت در دمای محیط روی شیکر باهم مخلوط شدند. سپس فیلتراسیون با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک و قیف بوخنر به کمک پمپ خلأ انجام شد. عصاره تغلیظ شده در سطح پلیت‌های شیشه‌ای به‌صورت ورقه نازک پخش و در آون ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید تا حلال هم حذف گردد. پس از خشک شدن پودر در ظروف شیشه‌ای تیره رنگ تا زمان انجام آزمایشات بعدی در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Su et al., 2007).

جدول ۱ - خصوصیات فیزیکو شیمیایی خاک محل آزمایش

Table 1- Physical and chemical characteristics of soil in experimental site

کلاس بافت‌خاک Soil texture class	ماده آلی Organic matter (%)	نیتروژن کل Total N (%)	فسفر قابل‌دسترس Available P ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم قابل‌دسترس Available K ($mg.kg^{-1}$)	سدیم Na ($mg.kg^{-1}$)	اسیدیته pH
لومی Loam	0.68	0.08	60	420.35	98	7.76

اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال آزاد (DPPH) گلبرگ

جهت تعیین میزان مهار رادیکال آزاد (DPPH) گلبرگ زعفران از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی و با کمک ۲،۲–دی‌فنیل ۱– پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده گردید (Turkmen et al., 2005). لذا برای این منظور ۲ میلی‌لیتر از محلول اتانولی ۰/۱۵ میلی‌مولار DPPH به لوله آزمایش حاوی ۱ میلی‌لیتر عصاره گلبرگ زعفران اضافه شد. سپس محلول حاصل به مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه ورتکس مخلوط شد. بعد محلول به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق تثبیت گردید. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (UNICO,2000,Germany) خوانده شد و میزان آن از رابطه ۱ محاسبه گردید.

(۱) فعالیت آنتی‌اکسیدانی = ۱ – (جذب قرائت‌شده/ جذب نمونه شاهد) *۱۰۰

اندازه‌گیری کل ترکیبات فنولی گلبرگ

برای اندازه‌گیری محتوی فنول کل گلبرگ زعفران از روش گالیک اسید و معرف فولین سیوکالچو استفاده شد (Sharifi et al., 2015). بدین منظور، ۰/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالچو به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره گلبرگ زعفران و استانداردهای گالیگ اسید اضافه و سپس به محلول حاصل ۴ میلی‌لیتر سدیم کربنات یک مولار اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. سپس مقدار کل ترکیبات فنولی نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه گردید.

اندازه‌گیری آنتوسیانین گلبرگ

اندازه‌گیری آنتوسیانین گلبرگ به روش pH افتراقی انجام گرفت. آنتوسیانین غالب گلبرگ زعفران سیانیدین –۳ گلیکوزید می‌باشد و طول‌موج حداکثر آن ۵۲۰ می‌باشد. برای این منظور از دو بافر شامل پتاسیم کلرید و کلریدریک اسید با pH = ۱ و سدیم استات و کلریدریک اسید با pH =۱ ۴/۵ استفاده شد. نمونه‌ها با بافر به حجم رسانده شدند و سپس در دو طول‌موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر میزان جذب برای هر دو بافر قرائت شد. میزان آنتوسیانین از رابطه ۲ محاسبه گردید (Wrosotad, 1976).

(۲)

$A = (A_{max} - A_{700nm})\ PH_1 - (A_{max} - A_{700nm})\ PH_{4.5}$

آنتوسیانین کل (mg/L) = $A \times MW \times DF \times 1000/\varepsilon \times d$

A_{max} = جذب در طول‌موج ۵۱۰

DF = درجه رقت (۱۰)

ε = ۱۵۶۰۰

M_W = وزن مولکولی پلارگونیدین ۳- گلیکوزاید: ۴۳۳/۳۹ گرم بر مول

اندازه‌گیری پیکرو کروسین، سافرانال و کروسین

جهت اندازه‌گیری ترکیبات کیفی موجود در کلاله گل از روش استاندارد ملی ایران (INS, 2006) استفاده گردید. میزان مواد مؤثره زعفران (پیکروکروسین، سافرانال و کروسین) برمبنای ثبت تغییرات حاصل از چگالی نوری به ترتیب در طول‌موج‌های ۲۵۷ (پیکروکروسین)، ۳۳۰ (سافرانال) و ۴۴۰ (کروسین) نانومتر در دمای متوسط تعیین می‌گردد. براساس این روش ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه کلاله پودر شده با استفاده از آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد. سپس این ترکیب به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی به کمک دور متوسط همزن مغناطیسی حل شد و میزان جذب محلول آبی یک درصد در طیف‌های ۲۵۷، ۳۳۰ و۴۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (UNICO,2000,Germany) قرائت شدند. عدد به‌دست‌آمده در رابطه ۳ قرار داده شد و به ترتیب مقدار پیکروکروسین، سافرانال و کروسین اندازه‌گیری شد. لازم به ذکر است در این روش نیازی به استفاده از استاندارد نمی‌باشد (INS, 2006).

$X = A/M \times 100$ (۳)

M= وزن خشک کلاله برحسب میلی‌گرم

X= مقدار ترکیب کیفی مشخص برحسب درصد

A= میزان جذب خوانده‌شده از دستگاه اسپکتوفتومتر در طول‌موج مربوطه

در پایان داده‌ها به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. تجزیه‌وتحلیل داده‌های حاصل از این تحقیق توسط نرم‌افزار آماری SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

عملکرد کلاله خشک

سال اول

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد، که کود گاوی، اسید فولویک و اثر متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر عملکرد کلاله خشک داشت (جدول ۲). بیشترین عملکرد کلاله خشک (۰/۰۸۵ گرم در مترمربع) با کاربرد ۱۰ تن در هکتار کود گاوی و ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک به‌دست آمد، که البته با سطح ۲۰ تن در هکتار کود گاوی با ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و سطح ۳۰ تن در هکتار کود گاوی و ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول۴).

سال دوم

در سال دوم اجرای آزمایش عملکرد کلاله خشک به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار کود گاوی و اسید فولویک قرار گرفت، اما اثر متقابل فاکتورهای آزمایشی تأثیر معنی‌داری بر این صفات نداشت (جدول۳). بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین عملکرد کلاله خشک (۰/۳۲۵ گرم در مترمربع) در سطح ۲۰ تن در هکتار کود گاوی به‌دست آمد که البته از این نظر بین سطوح مصرفی کود گاوی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین بیشترین عملکرد کلاله خشک (۰/۳۴۵ گرم در مترمربع) در سطح ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک مشاهده شد که نسبت به شاهد اسید فولویک (۰/۲۶۵ گرم در مترمربع) افزایش نشان داد (جدول ۳). محققین در بررسی تأثیر سطوح (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ تن در هکتار) کود دامی و وزن بنه دختری بر

عملکرد زعفران مشاهده نمودند که در سطح ۲۰ تن در هکتار کود دامی و بنه‌های بیشتر از ۱۲ گرم بیشترین عملکرد کلاله به‌دست آمد (Koocheki & Sabet Teimouri, 2014). درحالی‌که محققین دیگری در بررسی اثر کود گاوی (صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ تن در هکتار) بر عملکرد زعفران بیشترین وزن کلاله را در سطح ۶۰ تن در هکتار کود دامی مشاهده نمودند (Hassanzadeh Aval et al., 2013). در پژوهش دیگری کاربرد مواد هیومیکی در سال اول کاشت سبب افزایش ۱۵۴ درصدی وزن کلاله خشک نسبت به شاهد گردید (Koocheki et al., 2016). چنین به نظر می‌رسد که کود دامی با آزادسازی تدریجی عناصر در خاک (Behdani et al., 2006) و تأثیر بر ویژگی‌هایی از قبیل نفوذ آب به خاک، ضریب آبگذری و زهکشی خاک باعث ایجاد شرایط مطلوب‌تری برای رشد گیاه شده (Monemizadeh et al., 2016) و اسید فولویک به‌عنوان فعال‌ترین ترکیب هیومیکی از طریق حل نمودن مواد معدنی در آب و انتقال راحت آن‌ها به گیاه سبب افزایش رشد گیاه شده (Samavat & Malakuti, 2006) که این امر در نتیجه افزایش عملکرد کلاله زعفران را به دنبال داشت.

میزان فنول گلبرگ

سال اول

نتایج سال اول نشان داد، باوجوداینکه اسید فولویک اثر معنی‌داری در سطح یک درصد بر میزان فنول گلبرگ در سال اول داشت اما کود گاوی و برهمکنش آن با اسید فولویک اثر معنی‌داری بر این صفت نداشت. بیشترین میزان فنول (۴۳۸/۲۵۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) در سال اول آزمایش در تیمار ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک به‌دست آمد که نسبت به کمترین مقدار آن (۴۲۵/۳۶۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) در سطح شاهد اسید فولویک افزایش محسوسی نشان داد (جدول ۲).

سال دوم

نتایج بیانگر تأثیر معنی‌دار تیمار کود گاوی، اسید فولویک در سطح پنج درصد و اثر متقابل آن‌ها در سطح یک درصد بر میزان فنول گلبرگ در سال دوم بود (جدول۳). با دقت در نتایج مقایسه میانگین درمی‌یابیم که بیشترین میزان فنول در سال دوم (۴۴۱/۸۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) با کاربرد ۲۰ تن در هکتار کود گاوی و ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک مشاهده شد، که نسبت به شاهد کود گاوی و اسید فولویک (۴۲۷/۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) افزایش نشان داد (جدول ۴). در پژوهش دیگری که به‌منظور بررسی اثر کودهای آلی بر میزان فنول گلبرگ زعفران انجام گرفت، بالاترین میزان فنول کل گلبرگ زعفران در تیمار ۲۰ تن در هکتار کمپوست زباله شهری به‌دست آمد درحالی‌که، اختلاف معنی‌داری بین سطوح ۵، ۱۰ و ۲۰ تن در هکتار کمپوست زباله شهری مشاهده نگردید و کمترین مقدار آن در تیمار شاهد به‌دست آمد (Gholizadeh et al., 2016). این نتایج بیانگر نقش مؤثر کودهای آلی نظیر کود گاوی و اسید فولویک در افزایش فنول زعفران می‌باشد.با استفاده از کودهای آلی، میزان قند و کربن در گیاه افزایش می‌یابد، لذا قند اضافی که در گیاه تولید می‌شود، در ساختمان متابولیت‌های ثانویه نظیر ترکیبات فنولی استفاده می‌شود که در نهایت باعث افزایش میزان فنول در گیاه می‌گردد (Toor et al., 2006). همچنین کودهای آلی با افزایش عناصر غذایی در خاک، باعث افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو و افزایش میزان فتوسنتز و کربوهیدرات در گیاه می‌گردد، از طرف دیگر افزایش ترکیبات فنولی با تعادل بین محل مصرف کربوهیدرات‌ها مرتبط می‌باشد به‌طوری‌که هر جا هیدرات‌کربن بیش‌تر باشد ترکیبات فنولی نیز بیش‌تر است (Lattanzio et al., 2009). و ازآنجایی‌که برای ساخت و سنتز ترکیبات فنولی، حضور کربوهیدرات‌ها لازم و ضروری می‌باشد، لذا افزایش در مقدار کربوهیدرات‌ها، سبب افزایش سنتز ترکیبات فنولی می‌گردد که دلیل این امر ممکن است به اختصاص یافتن

بیش‌تر کربن به مسیر شیکمیک اسید (مسیر ساختن ترکیبات فنلی) مربوط باشد (Phuong et al., 2010).

جدول ۲- اثر غلظت‌های مختلف کود گاوی و اسید فولویک بر صفات کمی و کیفی زعفران در سال اول آزمایش

Tables 2- Effects of cow manure and fulvic acid concentrations on quantitative and qualitative characteristics of saffron in first year of study

کود گاوی Cow manure ($t.ha^{-1}$)	عملکرد کلاله خشک Yield dry stigma ($g.m^{-2}$)	فنول Phenol ($mg.100\ g^{-1}$)	آنتوسیانین Anthocyanin ($mg.100\ g^{-1}$)	میزان مهار رادیکال آزاد DPPH (٪)	پیکروکروسین Picrocrocin (٪)	سافرانال Safranal (٪)	کروسین Crocin (٪)
0	0.043^{b}	432.564^{a}	41.723^{a}	55.505^{a}	22.778^{b}	17.271^{b}	45.751^{b}
10	0.059^{a}	433.191^{a}	42.817^{a}	51.108^{a}	27.228^{a}	23.183^{a}	52.187^{a}
20	0.057^{a}	433.085^{a}	41.305^{a}	54.649^{a}	25.736^{a}	19.192^{ab}	54.146^{a}
30	0.053^{ab}	435.220^{a}	35.468^{a}	54.146^{a}	25.150^{ab}	18.884^{ab}	54.508^{a}
اسید فولویک Fulvic acid ($kg.ha^{-1}$)							
0	0.043^{b}	425.364^{b}	35.704^{b}	56.621^{a}	23.202^{b}	18.748^{a}	47.397^{b}
5	0.061^{a}	438.259^{a}	43.993^{a}	53.059^{a}	25.267^{ab}	19.649^{a}	51.108^{ab}
10	0.055^{a}	436.920^{ab}	41.289^{ab}	51.876^{a}	27.200^{a}	20.502^{a}	56.439^{a}

در هر ستون، میانگین های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

Similar letters in each column were not significant at 5% level based on DMRT.

میزان آنتوسیانین گلبرگ

سال اول

بر اساس نتایج تجزیه واریانس گرچه اثر کود گاوی بر میزان آنتوسیانین در سال اول معنی‌دار نبود، اما اسید فولویک در سطح پنج درصد اثر معنی‌داری بر این صفت داشت. اثر متقابل فاکتورها نیز نتوانست بر این صفت معنی‌دار شود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد، با کاربرد ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک بیشترین میزان آنتوسیانین (۴۳/۹۹۳ میلی‌گرم در۱۰۰ گرم) در سال اول مشاهده شد، که البته با سطح ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک تفاوت آماری معنی‌داری نداشت (جدول۲).

سال دوم

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که تأثیر هر دو عامل کود گاوی (در سطح ۵ ٪) و اسید فولویک (در سطح ۱٪) بر میزان آنتوسیانین گلبرگ در سال دوم معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل تیمارها میزان آنتوسیانین را در سطح یک درصد تحت تأثیر خود قرارداد (جدول۳). به‌طوری‌که بیشترین میزان آنتوسیانین گلبرگ (۴۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) در سطح ۱۰ تن در هکتار کود گاوی همراه ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک به‌دست آمد و کمترین میزان این صفت (۲۹/۷۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) در سطح شاهد کود گاوی و اسید فولویک مشاهده شد (جدول۴). درمجموع نتایج نشان داد که بین سطوح بالا و پایین کود گاوی و اسید فولویک تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد که می‌تواند به دلیل تولید و رهاسازی بیش‌ازحد هورمون‌های گیاهی توسط مواد آلی باشد، که این امر سبب تأثیر منفی بر گیاه می‌شود (Shahsavan Chamani, & 2014). مشابه نتایج ما، افزایش میزان آنتوسیانین گلبرگ زعفران با مصرف کودهای آلی، ۱۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست (Oftadeh et al., 2016) و ۵ تن در هکتار کمپوست زباله شهری (Gholizadeh et al., 2016) توسط سایر محققین گزارش شده است. افزایش میزان آنتوسیانین گل‌های لاله در نتیجه استفاده از ورمی‌کمپوست گزارش‌شده است (Saeedi, 2001). پژوهشگران با بررسی

غلظت‌های مختلف اسید هیومیک (صفر، ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد) بر میزان آنتوسیانین لیلیوم دریافتند، بیشترین میزان آنتوسیانین در غلظت ۰/۱ درصد اسید هیومیک به‌دست آمد (Parandian & Samavat, 2012). اثر مثبت اسید فولویک بر میزان آنتوسیانین را می‌توان بر PH آن نسبت داد. PH نه‌تنها روی رنگ آنتوسیانین اثر دارد، بلکه باعث استحکام آن‌ها نیز می‌شود (Remon et al., 2000). همچنین، با توجه به وجود اسیدآمینه‌های مختلف در اسید فولویک می‌توان توقع داشت که این اسیدآمینه‌ها نیز به‌طور مستقیم در بهبود شرایط گیاه مؤثر واقع شوند (Vaughan & Linehan, 2004). همان‌طور که نتایج نشان داد، اثر متقابل کود گاوی و اسید فولویک در سال دوم سبب افزایش میزان آنتوسیانین شد (جدول ۴). ازآنجاکه کودهای کمپوست، ورمی کمپوست و گاوی دارای مواد هیومیکی هستند، و با توجه به اینکه مواد هیومیکی (مشتقات ترکیب فنلی) به‌عنوان پیش ماده سنتز آنتوسیانین (ساختار فلاونوئید) می‌باشند (Ebrahimzadeh Abdashti et al., 2016).

همچنین با در نظر گرفتن دلایل فوق در خصوص نقش اسید فولویک در افزایش آنتوسیانین در نتیجه این عوامل می‌توانند، با افزایش آنتوسیانین در تیمار کود گاوی توأم با اسید فولویک در ارتباط باشند.

میزان مهار رادیکال آزاد (DPPH) گلبرگ

سال اول

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، که هیچ‌کدام از تیمارهای آزمایش، کود گاوی و اسید فولویک نتوانست در سال اول اجرای آزمایش تأثیر معنی‌داری در میزان مهار رادیکال آزاد (DPPH) گلبرگ داشته باشد. برهمکنش تیمارها نیز بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول۲).

سال دوم

بررسی نتایج نشان داد، در سال دوم اجرای آزمایش نیز کود گاوی و اسید فولویک نتوانست بر میزان مهار رادیکال آزاد (DPPH) گلبرگ مؤثر واقع شود. اثر متقابل فاکتورها نیز تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشت (جدول۳). برخلاف نتایج ما، در پژوهشی تأثیر معنی‌دار مصرف کودهای آلی نظیر ورمی‌کمپوست بر میزان مهار رادیکال آزاد (DPPH) زعفران گزارش شد، به‌طوری‌که بیشترین میزان مهار رادیکال آزاد (DPPH) گلبرگ زعفران از مصرف ۱۰ تن ورمی‌کمپوست در هکتار به میزان ۳۴/۹ درصد به‌دست آمد، این در شرایطی بود که کمترین میزان مهار رادیکال آزاد (DPPH) گلبرگ به میزان ۲۶/۰۶ درصد از مصرف ۱۵ تن ورمی‌کمپوست در هکتار حاصل گردید (Oftadeh et al., 2016). نتایج بررسی دیگری باهدف ارزیابی سطوح مختلف اسید هیومیک (صفر، ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگرم در هکتار) و تراکم کاشت (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ بنه در مترمربع) بر عملکرد کیفی زعفران نشان داد که با مصرف ۵ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک بیشترین میزان مهار رادیکال آزاد (۶۰/۷ درصد) به‌دست آمد (Ahmadi et al., 2017). هرچند که بر اساس گزارشات موجود ارتباط مثبت و تنگاتنگی بین محتوی فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدان وجود دارد و هم‌زمان با افزایش میزان ترکیبات فنولی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان نیز افزایش می‌یابد (Wang et al., 2003) اما به نظر می‌رسد افزایش محتوی فنول در این پژوهش به میزانی نبود که بتواند فعالیت آنتی‌اکسیدانی را افزایش دهد. معمولا در پاسخ به عوامل مختلف محیطی مانند استرس مواد غذایی، آفات و بیماری، نور، تابش اشعه UV، درجه حرارت و زخمی شدن فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه افزایش می‌یابد (Christie et al., 1994). گیاهان دارویی بر خلاف سایر محصولات کشاورزی که در شرایط تنشی از نظر مقدار تولید لطمه می‌بینند، ممکن است در این شرایط تولید شیمیایی بیشتر و در نتیجه بازدهی اقتصادی بهتری پیدا کنند (Omid Beygi, 2005). از آنجا در این آزمایش با توجه به فراهم بودن شرایط مناسب رشد، گیاه تحت تأثیر تنش قرار

نداشته این موضوع می‌تواند از دلایل عدم تأثیر پذیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از کود گاوی و اسید فولویک در این آزمایش باشد.

جدول ۳- اثر غلظت‌های مختلف کود گاوی و اسید فولویک بر صفات کمی و کیفی زعفران در سال دوم آزمایش

Tables 3- Effects of cow manure and fulvic acid concentrations on quantitative and qualitative characteristics of saffron in second year of study

کود گاوی Cow manure ($t.ha^{-1}$)	عملکرد کلاله خشک Yield dry stigma ($g.m^{-2}$)	فنول Phenol ($mg.100\ g^{-1}$)	آنتوسیانین Anthocyanin ($mg.100\ g^{-1}$)	میزان مهار رادیکال آزاد DPPH (٪)	پیکروکروسین Picrocrocin (٪)	سافرانال Safranal (٪)	کروسین Crocin (٪)
0	0.302^{b}	434.493^{b}	35.294^{b}	52.690^{a}	23.555^{b}	22.426^{b}	45.555^{b}
10	0.320^{a}	438.343^{a}	43.465^{a}	55.991^{a}	23.884^{ab}	24.666^{a}	55.666^{a}
20	0.325^{a}	438.476^{a}	42.820^{a}	54.455^{a}	24.093^{a}	23.600^{ab}	55.444^{a}
30	0.323^{a}	435.868^{ab}	40.992^{ab}	53.118^{a}	23.648^{b}	23.280^{ab}	55.000^{a}
اسید فولویک Fulvic acid ($kg.ha^{-1}$)							
0	0.265^{b}	435.036^{b}	36.143^{b}	53.579^{a}	23.393^{b}	21.500^{b}	50.083^{b}
5	0.345^{a}	438.887^{a}	44.963^{a}	54.515^{a}	24.041^{a}	25.120^{a}	54.416a
10	0.343^{a}	436.462^{ab}	40.822^{ab}	54.096^{a}	23.951^{a}	23.860^{a}	54.250a

در هر ستون، میانگین های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

Similar letters in each column was not significant at 5% level based on DMRT.

میزان پیکروکروسین

سال اول

طبق نتایج تجزیه واریانس مصرف کود گاوی (در سطح ۵٪)، اسید فولویک و اثر متقابل آن‌ها (در سطح ۱٪) بر میزان پیکروکروسین کلاله زعفران معنی‌دار شد (جدول ۲). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، با مصرف ۲۰ تن در هکتار کود گاوی و ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک بیشترین میزان پیکروکروسین (۳۰/۹۰ درصد) به‌دست آمد که ۱/۴۱ برابر سطح شاهد کود گاوی و اسید فولویک بود (جدول ۴).

سال دوم

نتایج نشان داد، تیمارهای کود گاوی (در سطح ۵٪) و اسید فولویک (در سطح ۱٪) و اثر متقابل آن‌ها (در سطح ۵٪) در سال دوم به‌طور معنی‌داری بر میزان پیکروکروسین مؤثر واقع شد (جدول۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین بیشترین میزان پیکروکروسین (۲۴/۳۵ درصد) در سطح ۱۰ تن در هکتار کود گاوی و ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک مشاهده شد و کمترین میزان این صفت در سطح شاهد کود گاوی و اسید فولویک مشاهده گردید (جدول ۴).

میزان سافرانال

سال اول

نتایج سال اول نشان داد که کود گاوی در سطح پنج درصد و برهمکنش آن با اسید فولویک در سطح یک درصد بر میزان سافرانال در سال اول اثر معنی‌داری داشت، درحالی‌که اسید فولویک نتوانست بر این صفت معنی‌دار شود (جدول ۲). بررسی اثرات متقابل نشان داد که با کاربرد ۲۰ تن در هکتار کود گاوی و ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک بیشترین میزان سافرانال (۲۷/۵۶ درصد) به‌دست آمد که ۲/۰۷ برابر کمترین میزان آن بود (جدول۴).

سال دوم

در سال دوم آزمایش نیز با کاربرد کود گاوی در سطح پنج

درصد و اسید فولویک در سطح یک درصد در میزان سافرانال تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. همچنین برهمکنش فاکتورها در سطح پنج درصد نیز بر این صفت معنی‌دار شد (جدول۳). بیشترین میزان سافرانال (۲۷/۳۶ درصد) در سطح ۱۰ تن در هکتار کود گاوی و ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک مشاهده گردید که البته این تفاوت با سطح شاهد کود گاوی و ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و همچنین سطوح ۱۰ و ۲۰ تن در هکتار کود گاوی با ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک در یک گروه آماری قرار گرفت (جدول۴).

میزان کروسین

سال اول

بررسی نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کود گاوی (در سطح ۵٪) و اسید فولویک (در سطح ۱٪) بر میزان کروسین معنی‌دار شد. اثر متقابل آن‌ها نیز در سطح یک درصد این صفت را تحت تأثیر قرارداد (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد با مصرف ۳۰ تن در هکتار کود گاوی و ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک بیشترین میزان کروسین (۶۴/۲۵ درصد) به‌دست آمد که نسبت به بسیاری از سطوح تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول ۴).

سال دوم

نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که کود گاوی، اسید فولویک و برهمکنش آن‌ها (در سطح ۱٪) اثر معنی‌داری بر میزان کروسین در سال دوم داشت (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین در سطوح ۱۰ تن در هکتار کود گاوی و ۵ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک و همچنین ۲۰ تن در هکتار کود گاوی و ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید فولویک بیشترین میزان کروسین (۵۷ درصد) مشاهده شد که نسبت به کمترین مقدار آن (۳۸ درصد) در سطح شاهد کود گاوی و اسید فولویک افزایش معنی‌داری داشت (جدول۴). تحقیقات بسیاری به نقش کودهای آلی در افزایش متابولیت‌های ثانویه زعفران اشاره دارد. محققین نشان دادند، که بیشترین میزان هر یک از مواد مؤثره پیکروکروسین، سافرانال و کروسین در سال اول کاشت در زعفران‌های تیمار شده با کودهای آلی نظیر ورمی‌کمپوست و کمترین آن‌ها در شاهد به‌دست آمد (Ismaeili et al., 2015). در پژوهشی دیگر مصرف ۲۰ تن در هکتار کمپوست زباله شهری سبب افزایش میزان کروسین (۱۸۱/۶ درصد)، پیکروکروسین (۶۳/۶ درصد) و سافرانال (۴۶/۵ درصد) نسبت به شاهد گردید (Gholizadeh et al., 2016). افزایش مواد مؤثره کلاله زعفران با مصرف کودهای هیومیکی نیز گزارش گردیده است (Golzari et al., 2016). در یک بررسی دیگر سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک بر مواد مؤثره زعفران بررسی و نتایج نشان داد که در سطح ۱۰ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک میزان مواد مؤثره (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال) نسبت به شاهد افزایش یافت (Ahmadi et al., 2017) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. این نتایج گویای آن می‌باشد که استفاده از نهاده‌های آلی تأثیر بسزایی بر عملکرد کیفی زعفران داشته است. تغذیه مناسب گیاهان در غالب کودهای مختلف، سبب تقویت مسیرهای درگیر در تولید متابولیت‌های ثانویه می‌شود (Hassanpour-Aghdam et al., 2008). ازآنجایی‌که پتاسیم در ساختمان آنزیم‌هایی که در مسیرهای بیوشیمیایی درگیر در سنتز مواد مؤثره گیاهی مؤثر هستند، دخیل است. همچنین ازآنجاکه ساخت اسانس‌های ترپنوئیدی نظیر سافرانال نیاز مبرم به ترکیب‌های فسفر دار دارد و برای تأمین انرژی لازم NADPH و ATP برای چرخه‌های آن به نیتروژن وابسته است (Loomis & Coteau, 1972). ازاین‌رو افزایش میزان مواد مؤثره زعفران در اثر مصرف کود گاوی و اسید فولویک را می‌توان به قابلیت کودهای آلی در کلات کردن عناصر ازجمله نیتروژن، فسفر، پتاسیم و آهن و افزایش جذب آن‌ها و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر

در سنتز ترکیبات آلی در گیاهان نسبت داد (Santiago et al., 2008). همچنین ممکن است، به این دلیل باشد،که کود آلی (کود گاوی و اسید فولویک) بر فراهمی ترکیبات، مواد هورمونی و ویتامین‌های محلول در آب، ایجاد حالت همکاری متقابل با سایر میکروارگانیسم‌ها و تولید ترکیبات اولیه مؤثر در بیوسنتز گلوکوزیدها و تجزیه آن‌ها به ترکیبات ثانویه زعفران نقش داشته باشد (Nieto & Frankenberger, 1991). لذا، ازآنجایی‌که کود گاوی و اسید فولویک دارای عناصر غذایی و کربن می‌باشد، می‌تواند با افزایش فراهمی و دسترسی به عناصر غذایی و افزایش فعالیت میکرو ارگانیزم‌ها، باعث بهبود شرایط شیمیایی و بیولوژیکی خاک گردیده و با ایجاد بستر مناسب، باعث افزایش تولید هیدرات‌کربن گشته که با تجزیه آن‌ها به ترکیبات ثانویه گلیکوزیدی (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال) میزان آن‌ها در زعفران افزایش یابد.

جدول ۴- اثر برهمکنش کود گاوی و اسید فولویک بر خصوصیات کیفی زعفران در دو سال آزمایش

Tables 4– Interactive effects of fulvic acid and cow manure on qualitative characteristics of saffron in two years of experiment.

کود گاوی Cow manure ($t.ha^{-1}$)	اسید فولویک Fulvic acid ($kg.ha^{-1}$)	عملکرد کلاله خشک سال اول Yield dry stigma in first year ($g.m^{-2}$)	پیکرو کروسین سال اول Picro crocin in first year (٪)	سافرانال سال اول Safranal in first year (٪)	کروسین سال اول Crocin in first year (٪)	فنول سال دوم Phenol in second year ($mg.100\ g^{-1}$)	آنتوسیانین سال دوم Anthocyanins in second year ($mg.100\ g^{-1}$)	پیکرو کروسین سال دوم Picro crocin in second year (٪)	سافرانال سال دوم Safranal in second year (٪)	کروسین سال دوم Crocin in second year (٪)
0	0	0.03^{e}	21.81^{d}	19.34^{bcd}	49.57^{bcd}	427.50^{c}	29.76^{d}	22.66^{c}	21.60^{cd}	38.00^{f}
	5	0.03^{e}	22.68^{cd}	19.16^{bcd}	46.37^{cd}	438.03^{a}	44.85^{ab}	24.00^{ab}	24.88^{ab}	49.33^{e}
	10	0.06^{bcd}	23.83^{cd}	13.30^{d}	41.30^{d}	437.94^{a}	31.26^{cd}	24.00^{ab}	20.80^{d}	49.33^{e}
10	0	0.04^{de}	25.48^{bcd}	20.41^{abcd}	45.17^{d}	437.17^{a}	39.39^{abcd}	23.30^{bc}	21.40^{cd}	54.33^{c}
	5	0.08^{a}	27.15^{abc}	25.75^{ab}	52.93^{abcd}	438.05^{a}	42.00^{abc}	24.35^{a}	27.36^{a}	57.00^{a}
	10	0.05^{bcde}	29.05^{ab}	23.38^{abc}	$58.44a^{bc}$	439.79^{a}	49.00^{a}	24.00^{ab}	25.24^{ab}	55.66^{abc}
20	0	0.04^{cde}	24.84^{bcd}	16.25^{cd}	41.44^{d}	436.21^{ab}	45.41^{ab}	23.98^{ab}	21.40^{cd}	53.00^{d}
	5	0.06^{bcd}	21.46^{d}	13.76^{d}	59.24^{ab}	441.86^{a}	48.54^{a}	24.14^{a}	24.00^{bc}	56.33^{ab}
	10	0.06^{abc}	30.90^{a}	27.56^{a}	61.74^{ab}	437.35^{a}	34.50^{bcd}	24.14^{a}	25.40^{ab}	57.00^{a}
30	0	0.04^{bcde}	20.66^{d}	18.97^{bcd}	53.38^{abcd}	439.25^{a}	30.00^{d}	23.62^{ab}	21.60^{cd}	55.00^{bc}
	5	0.06^{ab}	29.76^{ab}	19.92^{abcd}	45.88^{d}	437.59^{a}	44.45^{ab}	23.66^{ab}	24.24^{bc}	55.00^{bc}
	10	0.04^{de}	25.01^{bcd}	17.75^{bcd}	64.25^{a}	430.75^{bc}	48.52^{a}	23.66^{ab}	24.00^{bc}	55.00^{bc}

در هر ستون، میانگین‌های دارای حروف مشابه در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

Similar letters in each column was not significant at 5% level based on DMRT.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش و با توجه به شرایط محیطی و خاک این آزمایش مشخص شد، کود گاوی و اسید فولویک توانسته‌اند، بر شاخص‌های کیفی و مواد مؤثره گیاه دارویی زعفران اثر مثبت بگذارند. در این تحقیق، سطوح پایین کود گاوی (۱۰ تن در هکتار) و اسید فولویک (۵ کیلوگرم در هکتار) در هر دو سال اجرای آزمایش بیشترین تأثیر را بر خصوصیات کیفی گیاه اعمال کردند. به‌طورکلی با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می‌رسد، که استفاده بهینه از نهاده‌های آلی کود گاوی و اسید فولویک (البته با توجه به در نظر گرفتن شرایط خاک هر منطقه و قابل‌جذب بودن این کودها در خاک) می‌تواند برای بهبود بخشیدن به صفات کیفی و مواد مؤثره این گیاه ارزشمند مدنظر قرار گیرد.

منابع

Ahmadi, F., Aminifard, M.H., Khayyat, M., and Samadzadeh, A.R. 2017. Effects of different humic acid levels and planting density on antioxidant activities and active ingredients of saffron (*Crocus sativus* L.). Saffron Agronomy and Technology 5 (1): 61-71. (In Persian with English Summary).

Akhtar, S., Shakeel, S., Mehmood, A., Hamid, A., and Saif, S. 2013. Comparative analysis of animal manure for soil conditioning. International Journal of Agronomy and Plant Production 4 (12): 3360-3365.

Amiri, M.H., Rezvani Moghaddam, P., and Jahan, M. 2017. Effects of organic acids, mycorrhiza and rhizobacteria on yield and some phytochemical characteristics in low-input cropping system. Journal of Agricultural Knowledge and Sustainable Production 27 (1): 45-61. (In Persian with English Summary).

Behdani, M.A., Koocheki, A., Nassiri, M., and Rezvani Moghaddam, P. 2006. Evaluation of quantitative relationships between saffron yield and nutrition (on farm trial). Iranian Journal of Field Crops Research 3: 1–14. (In Persian with English Summary).

Christie, P.J., Alfenito, M.R, and Walbot, V. 1994. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. Planta 194: 541-549

Ebrahimzadeh Abdashti, R., Glovi, M., and Ramroudi, M. 2016. Effect of biological and chemical fertilizers on quantitative characteristics and Anthicyanin of *Hibiscus sabdariffa* L. in Zabol. Journal of Horticultural Science 30 (2): 169-177. (In Persian).

Gholizadeh, Z., AminiFard, M.H., and Sayyari, M.H. 2016. The evaluation effects of municipal waste compost and corm weight on qualitative characteristic and secondary metabolites of saffron (*Crocus sativus* L.). Saffron Agronomy and Technology. Forthcoming.

Golzari, M., Jahan Abadi, M., Behdani, A., Sayyari Zahan, M.H., and Khorramdel, S. 2016. Effect of some fertilizer sources and mother corm weight on growth criteria and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.). Journal of Saffron Research (semi-annual) 4 (2):172-186. (In Persian with English Summary).

Hassanpour-Aghdam, M.B., Tabatabaie, S.J., Nazemiyeh, H., and Aflatuni, A. 2008. N and nutrition levels affect growth and essential oil content of costmary (*Tanacetum balsamita* L.). Food Agriculture and Environment 6 (2): 150-154.

Hassanzadeh Aval, F., Rezvani Moghaddam, P., Bannayan Aval, P., and Khorasani, R. 2013 Effects of maternal corm weight and different levels of cow manure on corm and flower yield of saffron (*Crocus sativus* L.). Saffron Agronomy and Technology 1 (1): 22-39. (In Persian with English Summary).

Hosseinzadeh, H., and Younesi, H. 2002. Petal and stigma extract of *Crocus sativus* L. have antinociceptive and antiinflammatory effects in mice. Biomed Central Pharmacology 2:7-15.

INS (Iran National Standard). 2006. Research Institute of Standard and Iran. Saffron Bulletin, No. 259.

Ismaeili, V., moradi, P., and Ansari, Kh. 2015. Changes of crocin, picrocrocin and safranal in saffron (*Crocus sativus* L.) treated with compost and biological fertilizations. The first national conference on the use of medicinal plants and traditional medicine in life style, University of Torbat Heidariyeh, Iran, 6 December 2015, pp. 46-49. (In Persian with English Summary).

Koocheki, A., Sabet Teimouri, M. 2014. Effect of age of farm, corm size and manure fertilizer treatments on morphological criteria of Saffron

(*Crocus sativus* L.) under Mashhad conditions. Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi) 105: 148-157. (In Persian with English Summary).

Koocheki, A., Fallahi, H.R., Amiri, M.B., and Ehyaei, H.R. 2016. Effects of humic acid application and mother corm weight on yield and growth of Saffron. Journal of Agroecology 7 (4): 425-442. (In Persian with English Summary).

Kumar, V., Behl, R.K., and Narula, N. 2001. Effect of phosphate solubilizing strains of Azotobacter chroococcum on yield traits and their survival in the rhizosphere of wheat genotypes under field conditions. Acta Agronomy Hungry 49: 141–149.

Lattanzio, V., Cardinali, A., Ruta, C., Fortunato, I.M., Lattanzio, V.M.T., and Linsalata, V. 2009. Relationship of secondary metabolism to growth in oregano (*Origanum vulgare* L.) shoot cultures under nutritional stress. Environmental and Experimental Botany 65: 54–62.

Loomis, W.D., and Corteau, R. 1972. Essential oil biosynthesis. Recently Advance Photochemistry 6: 147-185.

Monemizadeh, Z., Ghasemi. M., and Sadrabadi, R. 2016. Review on importance and effects of organic fertilizers on cultivation of saffron (*Crocus sativus* L.). Journal Management Lands 4 (1): 55-77. (In Persian).

Nieto, K.F., and Frankenberger, W.T. 1991. Influence of adenine, insolently alcohol and Azotobacter chroococcum on vegetative growth of *Zea mays*. Plant and Soil 135: 213-220.

Oftadeh, A., Amini Fard, M.H., and Behdani, M.A. 2016. The effect of cattle manure vermicompost on antioxidant activities and active components of Saffron (*Crocus sativus* L.) stigmas and petals. Journal of Saffron Research. Forthcoming.

Omidi, H., Naghdi Badi, H., Golzad, A., Torabi, H., and Fotoukiyan, M. 2009. The effect of chemical and bio-fertilizer source of nitrogen on qualitative and quantitative of saffron (*Crocus sativus* L.). Journal of Medicinal Plants 2 (30): 98-109. (In Persian).

Omid Beygi, R. 2005. Findings from the Production of medicinal plants. Tehran: Tarrahan Nashr Press. 338 p. (In Persian).

Parandian, F., and Samavat, S. 2012. Effects of fulvic and humic acid on anthocyanin, soluble sugar,µ-amylase enzyme and some micronutrient elements in Lilium. International Research Journal of Applied and Basic Sciences 3 (5): 924-929.

Phuong, M., Nguyen, E.M., and Niemeyer K.E.D. 2010. Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. Food Chemistry 123: 1235–1241.

Remon, S., Ferrer, A., Marquina, P., Burgos, J., and Oria, R. 2000. Use of modified atmospheres to prolong the postharvest life of Burlat cherries at two different degrees of ripeness. Journal of the Science of Food and Agriculture 80 (10): 1545-1552.

Rezvani Moghaddam, P., Koocheki, A., Molafilabi, A., and Seyyedi, M. 2013. 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 with English Summary).

Saeedi, F. 2001. The effect of different levels of vermicompost on the qualitative and quantitative indicators of Lilium flowers varieties (Nello, Tresor, Navona). MSc Thesis, Azad University Branch of Garmsar. (In Persian with English Summary).

Saffar Sabzevar, M., and Jami Moeini, M. 2015. Reaction yield and yield components of *Setaria italica* under foliar spraying humic and fulvic acid. Novel Finding in Bioscience and Agriculture, University of Zabol, Iran, 31 May 2015, pp. 1-8. (In Persian).

Samavat, S., and Malakuti, M. 2006. Necessitates the use of organic acids (Humic and Fulvic) to increase the quantity and quality of

agricultural products. Technical Bulletin. No. 463. Senate publications. Tehran.

Santiago, A., Lose, M., Carmona, E., and Delgado, A. 2008. Humic substances increase the effectiveness of iron sulfate and vivianite preventing iron chlorosis in white lupin. Biology and Fertility of Soils 44 (6): 875-883.

Shahsavan, M., and Chamani, A. 2014. The effect of concentration and time of application of humic acid on quantitative and qualitative characteristics of cut flowers Shbbvrqm Hanza. Science and Technology of Greenhouse Culture 5 (19): 157-170.

Sharifi, N., Hojjatoleslamy, M., and Jafari, M. 2015. Study of qualitative characteristics of saffron cultivated in different regions of Iran. Journal of Herbal Drugs 4: 235-240.

Su L., Yin, J.J., Charles, D., Zhou, K., Moore, J., and Yu, L. 2007. Total phenolic contents chelating capacities and radical scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. Food Chemistry 100: 990-997.

Toor, R.K., Geoffrey, P., and Savagea, A.H. 2006. Influence of different types of fertilizers on the major antioxidant components of tomatoes. Journal Food Compost Anal 19: 20-27.

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

Vaughan, D., and Linehan, D.J. 2004. The growth of wheat plants in humic acid solutions under axenic conditions. Plant and Soil 44: 445-449.

Wang, X.J., Wang, Z.Q., and Li, S.G. 2003. The effect of humic acids on the availability of phosphorus fertilizers in alkaline soils. Soil Use Management 11: 99-102.

Wrosotad, R.E. 1976. Color and Pigment Analysis in Fruit Products. Oregon State University Publications Limited, Cornwalis.

Effects of fulvic acid and cow manure on stigma active components and petal antiradical activity of saffron (*Crocus sativus* L.)

Mohammad Hossein Aminifard[1*] and Farideh Ahmadi[2]

Submitted: 5 October 2017 **Accepted:** 19 December 2017

Aminifard, M.H., and Ahmadi, F. 2019. Effects of fulvic acid and cow manure on stigma active components and petal antiradical activity of saffron (*Crocus sativus* L.) . Saffron Agronomy & Technology 6(4): 415-428

Abstract

The effects of applications of cow manure and fulvic acid on antioxidant activities and components of saffron were evaluated under field conditions. Treatments were four levels of cow manure (0, 10, 20 and 30 $t.ha^{-1}$) and three levels of fulvic acid (0, 5 and 10 $kg.ha^{-1}$). This experiment was carried out as factorial based on randomized completely block design with three replications in the research farm of Birjand University, Iran, during the cropping year 2015-2016. The results showed that cow manure improved the active ingredients of stigma (picrocrocin, safranal and crocin) in the first year of study. Also, the results showed that petal antioxidant compounds (total phenol and anthocyanin) and active ingredients of stigma were influenced by cow manure in the second year of study. The highest safranal was obtained in plants treated with 10 $t.ha^{-1}$ cow manure in the first year of experiment. The results also showed that fulvic acid has a positive effect on active ingredients of stigma (picrocrocin and crocin), anthocyanin and total phenol in two years of experiment and the highest rate of anthocyanin and total phenol were obtained with 5 $kg.ha^{-1}$ fulvic acid while the lowest values were recorded in control. The application of different levels of cow manure and fulvic acid had a positive effect on the active ingredients of stigma in two years of experiment and anthocyanin and phenol in the second year of study. Thus, the results showed that cow manure and fulvic acid have a significant impact on antioxidant compounds and active ingredients of saffron under field conditions.

Keywords: Organic fertilizer, Yield stigma, Crocin, Anthocyanin

1 - Assistant Professor, Department of Horticultural Science and Special Plants Regional Research centre, College of Agriculture, University of Birjand, Iran
2 - MSc Student, Department of Horticultural Science, College of Agriculture, University of Birjand, Iran
(*-Corresponding author Email: mh.aminifard@birjand.ac.ir)
DOI: 10.22048/jsat.2017.99009.1260