



Développement d'une région de culture du safran (*Crocus sativus*) adaptée aux conditions climatiques québécoises

Mémoire

Mohamed Amine Ayari

Maîtrise en biologie - avec mémoire
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

**Développement d'une régie de culture du safran
(*Crocus sativus*) adaptée aux conditions
climatiques québécoises**

Maîtrise en biologie-avec mémoire

Mohamed Amine Ayari

Sous la direction de :

Line Lapointe, directrice de recherche

Résumé

Le safran est un crocus d'automne qui produit une épice de grande valeur. Plusieurs safranières ont été implantées au cours des dernières années au Québec. Cependant, le type de sol et les conditions climatiques diffèrent passablement par rapport aux pays d'où origine la culture, ce qui nous a mené à tester plusieurs aspects susceptibles d'influencer le rendement en safran, notamment la profondeur et la période de plantation ainsi que l'application d'une combinaison de fertilisants, champignons mycorhiziens et biostimulants à la plantation. Puisque la température influence fortement la floraison chez le safran, un suivi en continu des températures du sol a été effectué durant toute l'année, et un suivi hebdomadaire de l'initiation florale de mai à août.

L'émergence des feuilles et des fleurs est retardée et diminue avec la profondeur de plantation. Une plantation à 10 ou 15 cm semble préférable, mais stimule la production de cormes trop petits pour fleurir. La meilleure période de plantation est de la fin juillet jusqu'à la troisième semaine d'août. La fertilisation a accéléré l'émergence des feuilles à l'automne, et a augmenté le nombre de cormes produits ainsi que leur teneur en nutriments. L'ajout de spores de champignons mycorhiziens ainsi que de biostimulants n'a eu aucun effet sur la floraison ou le rendement en safran. Tout traitement confondu, la production de fleurs n'a été bonne qu'une seule année sur les trois années de l'étude. Il semble que le sol ne soit pas assez chaud en juillet lors de l'induction florale. De plus, dans le secteur à l'étude, les températures diminuent trop rapidement à l'automne ce qui retarde la floraison et réduit les rendements. Il est proposé de cultiver le safran dans des secteurs plus méridionaux et de recourir à des techniques visant à réchauffer le sol afin d'augmenter les rendements en safran au Québec.

Abstract

Saffron is an autumn crocus that produces a highly valuable spice. Several saffron farms have been established over recent years in the province of Quebec. However, the edaphic and climatic conditions differ considerably compared to the countries of origin of the crop, which led us to test several aspects that could influence the saffron yield, including planting depth and planting period as well as the application of a combination of fertilizers, mycorrhizal fungi and biostimulants at planting. Since temperature strongly influences saffron flowering, continuous monitoring of soil temperatures was carried out throughout the year, along with a weekly monitoring of flower initiation from May to August.

Both leaf and flower emergence were delayed, and final emergence reduced as planting depth increased. Planting at 10 or 15 cm seems preferable but stimulates the production of corms too small to flower. The best planting period is from the end of July until the third week of August. Fertilization hastened leaf emergence in the autumn and improved corm production and their nutrient content. The addition of mycorrhizal fungal spores as well as biostimulants had no effect on flowering or saffron yield. All treatments combined; flower production was good in only one of the three study years. It seems that the soil does not warm enough in July during flower induction. Moreover, in the study area, temperatures drop too rapidly during autumn, which delays flowering and reduces yields. It is proposed to cultivate saffron in more southern areas and to use techniques aimed at soil warming in order to increase saffron yields in Quebec.

Table des matières

Résumé	ii
Abstract.....	iii
Table des matières	iv
Liste des figures.....	vi
Liste des tableaux	vii
Liste des annexes	viii
Remerciements	xi
Avant-propos	xii
Introduction	1
Aspects historiques	1
Morphologie.....	2
Cycle de vie	4
Induction de la floraison	5
Conditions de culture et de récolte.....	6
<i>Conditions de plantation</i>	6
<i>Climat</i>	8
<i>Sol et irrigation</i>	9
<i>Fertilisation</i>	10
<i>Mycorhizes</i>	12
<i>Biostimulants</i>	13
<i>Mauvaises herbes, ravageurs de la culture et maladies</i>	15
Récolte du safran	16
<i>Récolte des stigmates</i>	16
<i>Récolte des cormes</i>	16
Objectifs du projet	17
Chapitre 1: The cultivation of Saffron (<i>Crocus sativus</i>) under cold climate.....	19
1.1. Résumé.....	19
1.2. Abstract	20
1.3. Introduction.....	20

1.4. Materiel and Methods	23
1.4.1. Experimental Design and Plant Material.....	23
1.4.2. Nutrient Analyses	24
1.4.3. Planting Depth	25
1.4.4. Floral Induction Phenology	25
1.4.5. Planting Period	26
1.4.6. Fertilization, Mycorrhizae and Biostimulants	26
1.4.7. Data Collection and Laboratory Analyses.....	27
1.4.8. Statistical Analysis	28
1.4.9. Labelling.....	29
1.5. Results and Discussion	29
1.5.1. Planting Depth	29
1.5.2. Floral Induction	40
1.5.3. Planting Period	41
1.5.4. Fertilization.....	47
1.6. Conclusion	53
Conclusion	55
Bibliographie	61
Annexe A.....	69

Liste des figures

Figure 0.1: Morphologie générale du corne et du plant du safran..	3
Figure 0.2: Différentes étapes du cycle de vie du safran en région méditerranéenne.	5
Figure 1.1: Mean daily soil temperature as a function of soil depth.	31
Figure 1.2: Autumn percent shoot emergence (mean \pm SE) (a) in 2016 and (b) in 2017 at 20, 25 and 30 cm depths.	33
Figure 1.3: Evolution of leaf senescence in summer 2018 for corms that were planted in 2016 at different depths (20, 25 or 30 cm).	35
Figure 1.4: Percent shoot emergence (mean \pm SE) in autumn 2018 (a) and autumn 2019 (b) for corms planted in 2018 at 10, 15, 20 and 25 cm depths; N = 6.	37
Figure 1.5: Saffron bud development during the summer.	41
Figure 1.6: (a) Evolution of shoot emergence and (b) cumulative number of flowers harvested in autumn 2017 for corms planted at different dates during summer 2017.	43
Figure 1.7: Evolution of shoot emergence in the autumn of 2018 (mean \pm SE) for corms planted at different dates during late summer 2018.	44
Figure 1.8: Final shoot emergence (mean \pm SE) the following spring for corms planted in 2017 and 2018 according to corm planting dates; N = 4.	45
Figure 1.9: Evolution of shoot emergence (mean \pm SE) in autumn 2017 for corms that were planted in 2017 according to the different treatments of fertilization that were applied.	48
Figure 1.10: Effects of fertilization on the number of corms, total corm fresh mass, the fresh mass of the largest corm and the mean corm fresh mass (mean \pm SE) that were harvested after one complete growing season (June 2018).	49
Figure 1.11: Effects of fertilization on corm N, K, P, Ca and Mg concentrations after one complete growing season (June 2018); N= 4.	50

Liste des tableaux

Table 1.1: Effects of planting depth on saffron phenology, flowering and corm production for two planting depth trials and for either one or two seasons following planting.	34
Tableau 1.2: Effects of planting date on saffron phenology, flowering and corm production. F-statistics and P-values of two-way ANOVAs are presented for autumn and spring emergence, testing the effect of planting date, year and their interaction.	42

Liste des annexes

Table A1: Tableau récapitulatif des différentes conditions de cultures du safran rapportées comme optimales ou comme étant la norme par différents auteurs.	69
Table A2: Results of soil analysis for the different experiments.	71
Table A3: Results of repeated measures ANOVA on shoot emergence and flower production during the autumn in 3 experiments: a) Planting depth 20 to 30 cm, b) Planting depth 10 to 25 cm and c) Planting date.	72
Table A4: Results of repeated measures ANOVA on shoot emergence and flower production during the autumn and leaf senescence the following spring/summer in the fertilization experiment.	74
Table A5: Effects of the application of fertilizers (FER), mycorrhizal fungi (MYC) and biostimulants (BIO) at planting on saffron phenology, flowering, corm production, mycorrhizal colonization, corm biomass and nutrient concentrations.	75
Table A6: Results of ANOVA for shoot emergence as a function of corm orientation at planting.	76
Figure A1: Picture of a plot at the time of planting. Each plot contained forty corms planted in 4 rows of 10 corms each.	77
Figure A2: Illustration of the experimental design of the Planting Depth Experiment (20, 25 and 30 cm) set up in 2016.	78
Figure A3: Picture showing the position of two plots on the raised beds in the Fertilization experiment.	79
Figure A4: Illustration of the experimental design of the Planting Depth Experiment (10, 15, 20 and 25 cm) set up in 2018.	80
Figure A5: Illustration of the experimental design of the Planting Date Experiment.	81
Figure A6: Illustration of the experimental design of the Fertilization Experiment.	82
Figure A7: Saffron yield as a function of date of planting in autumn 2017 for corms planted in late summer 2017. N = 4.	83
Figure A8: Effect of the addition of mycorrhizal fungal spores and biostimulants on saffron yield in autumn 2017 for corms planted in late summer 2017.	84

Figure A9: Leaf emergence as a function of corm orientation in autumn 2017 and 2018, spring 2018 and 2019. N = 8. 85

Figure A10: Suggested movement for corms planted upside down (180 °) based on their positions when dug out after two years (autumn 2019)..... 86

Je dédie ce présent travail à ma directrice qui m'a donné cette chance de travailler sur un projet innovateur, à moi-même, ma famille et mes amis.

Je le dédie également à tous les cultivateurs du safran à Québec, là où j'ai passé des moments plus qu'agréables et j'ai connus des personnes plus qu'exceptionnelles.

Remerciements

Je remercie par ce présent travail le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec pour le financement de notre projet de recherche dans le cadre du programme de l'InnovAction.

Je remercie également Gestion et environnement (GED) pour la participation à notre recherche en nous donnant accès à leur site et nous offrant l'hébergement pour toute la durée du séjour. Un merci particulier à Naomie Gigault qui s'est impliquée activement dans le projet. Sans oublier de mentionner David Lehoux, Loraine et Jean-Philippe qui nous ont aidé dans les différents travaux de terrain en 2018.

Je remercie également ma directrice de recherche Mme Lapointe qui a toujours été disponible et n'a jamais hésité à m'encourager et à me pousser pour bien munir mes recherches avec ses précieux conseils.

Je remercie aussi Marie-Pier Denis, professionnelle de recherche de notre laboratoire qui a aidé à rédiger la demande de subvention et a mis en place les expériences au champ en 2016 et 2017. Aussi, tous mes remerciements à Hugo Bertrand qui a participé à la mise en place des projets et au suivi à l'automne 2017 et durant l'été 2018.

Rebecca Meloche a également participé à la prise de données durant l'été 2018 et au désherbage des parcelles!

Mes remerciements à toutes les personnes qui ont été impliquées dans ce projet.

Aussi, je n'oublie pas Mitacs GLOBALINK pour la bourse d'études que j'ai obtenue.

Avant-propos

Ce mémoire est rédigé sous forme d'article scientifique (Chapitre) et comporte, en outre, une introduction et une conclusion générale. Les travaux ont été menés entre le département de biologie de l'Université Laval et les parcelles expérimentales à Baie-St-Paul, pendant toute la durée des études. Les contributions respectives sont détaillées ci-après:

Chapitre 1. Mohamed Amine Ayari, Marie-Pier Denis, Guy-Anne Landry et Line Lapointe sont les co-auteurs de cet article. J'ai réalisé l'ensemble des mesures sur le terrain en 2018 et 2019 et les analyses statistiques menant aux résultats présentés dans ce chapitre. Certaines analyses statistiques en mesures répétées ont été faites par ma directrice de recherche. Marie-Pier Denis a mis en place les expériences au champ en 2016 et 2017 et a participé à l'analyse préliminaire des données. Guy-Anne Landry a participé à l'élaboration de ce projet et à l'interprétation des résultats. J'ai effectué la rédaction de cet article sous la supervision de ma directrice de recherche Line Lapointe et tous les co-auteurs ont commenté des versions préliminaires du texte.

L'article sera soumis à « Canadian Journal of Plant Science ».

Introduction

Le safran (*Crocus sativus* L.) est une culture très particulière qui produit l'épice la plus chère dans le monde entier. En effet, l'intérêt pour cette culture vient entre autres de la valeur commerciale très élevée de cette épice qui est constitué uniquement des stigmates de la fleur. Le safran est en outre une épice très appréciée (Kumar et al., 2008) et présente de plus plusieurs vertus médicinales (Abdullaev, 2007). Le safran est appelé crocus d'automne, safran cultivé et « or rouge » compte-tenu de son prix élevé. (Bagur et al., 2018).

Aussi nommé crocus cultivé, le safran est une géophyte pérenne de la famille des Iridacées (Ahmad et al., 2011) qui présente un cycle de vie très particulier, mais qui n'a pas fait l'objet d'études approfondies pour bien comprendre sa biologie. Il est principalement cultivé sous climat méditerranéen. Cette culture étant nouvellement installée au Québec, il faut revisiter la régie de culture et l'adapter pour maximiser le rendement tout en assurant un produit de qualité. Différents aspects de sa culture ont donc été testés au cours de ce projet afin d'augmenter son rendement en sol québécois. Le projet visait également à décrire le cycle de vie de la plante sous conditions tempérées, car une meilleure compréhension des facteurs qui déterminent le cycle de vie et l'induction florale sont essentielles pour identifier les conditions de culture optimales du safran au Québec.

Aspects historiques

Kumar et al. (2008) ont décrit l'étymologie du mot safran. Il est dérivé du nom latin *safranum*. Il est également lié au terme italien *zafferano*, au terme espagnol *l'azafra* et au terme arabe *asfar* qui indiquent la couleur jaune de l'épice. Quant au terme *Crocus*, il est dérivé du mot grec *corycus* qui signifie fil, filament et désignait à l'origine les stigmates de la plante et aussi le nom d'une région de Cilicia en méditerranée orientale là où la culture du safran aurait possiblement commencé il y a 2300 années av. J.-C. (Basker et Negbi, 1983).

Le safran est issu d'un ancêtre sauvage: *Crocus cartwrightianus* Herb. une plante diploïde qui a donné, suite à plusieurs croisements, la forme mutante triploïde: *Crocus sativus*. Le safran ne se reproduit que par voie végétative puisque les graines sont non viables. La culture et l'usage du safran date de plus de 4000 ans. Cette culture n'a pas été particulière à une société ou civilisation. Certains disent que le safran est apparu en Inde d'autres en Iran. D'autres encore pensent qu'il est apparu dans le bassin méditerranéen en particulier en Crète (Kumar et al., 2008). Plusieurs mythes reliés à la culture du safran sont présents dans l'histoire romaine, égyptienne et perse. À partir du IX^e siècle, la culture du safran apparaît en Europe occidentale apportée par les arabes en Afrique du Nord et par la suite en Espagne (Elliott, 2006).

De nos jours, le safran est produit majoritairement en Iran, en Espagne, en Inde, en Grèce et au Maroc qui sont les principaux pays exportateurs de cette épice dans le monde. Les autres pays ayant une production moindre sont la France, l'Italie, la Turquie, le Pakistan, la Chine et le Japon. La production annuelle mondiale est de 300 tonnes et l'Iran produit plus de 80% de cette production annuelle sur une superficie de 50 000 ha (Fernández, 2004). Dû à la valeur marchande élevée du safran, un marché de contrefaçon s'est établi. Ce faux safran aussi appelé safran américain est souvent constitué des fleurs du *Carthamus tinctorius* L., une Asteraceae, mais également dans une moindre mesure de fleurs de *Calendula officinalis* L. ou de l'*Arnica montana* L. (Hagh-Nazari et Keifi, 2007). Vendu moins cher, le faux safran nuit au développement du marché du vrai safran (Lachaud, 2012).

Morphologie

Le genre *crocus* comprend environ 85 espèces pérennes et la plupart sont originaires des montagnes de la région méditerranéenne (Kumar et al., 2008). La partie pérenne chez le safran est un corme, i.e. une tige souterraine, et non pas un bulbe. Le corme contient majoritairement de l'amidon comme carbone de réserve (Lone et al., 2016) et est couvert d'une gaine réticulée appelée tunique (Figure 0.1a). Sa forme varie du rond aplati à l'ovoïde.

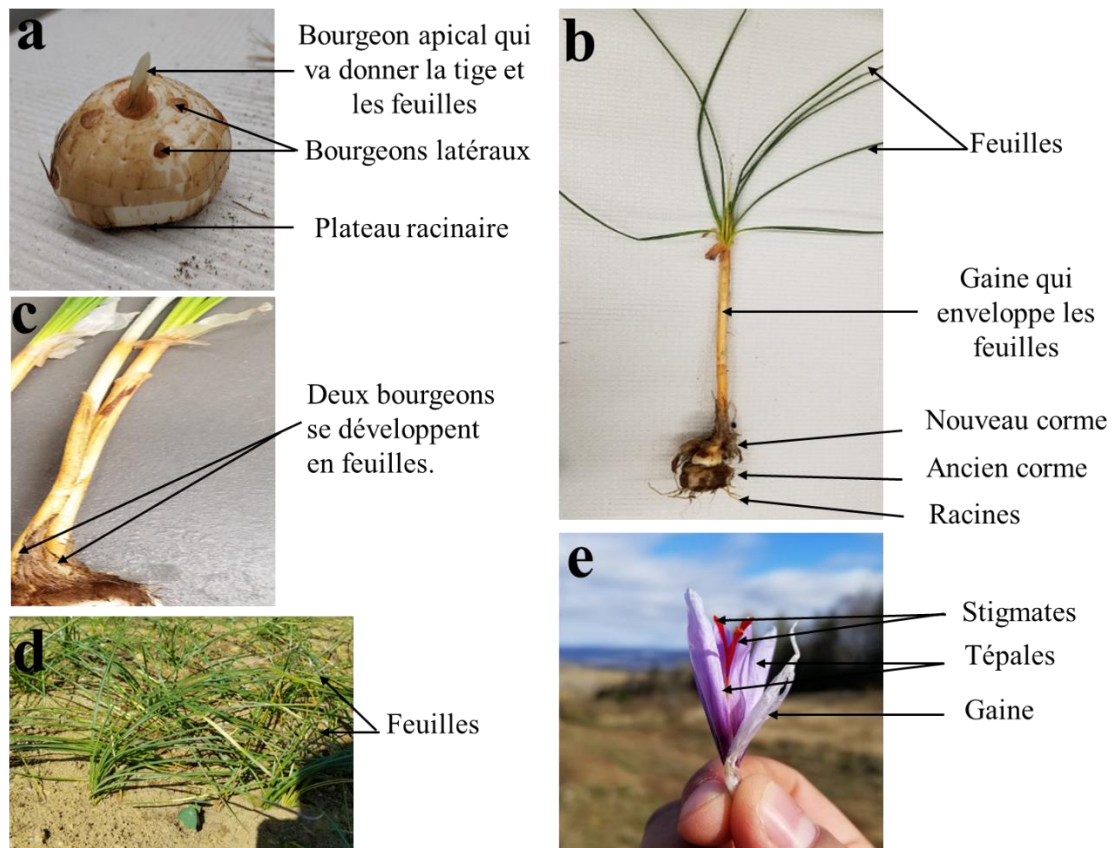


Figure 0.1: Morphologie générale du corne et du plant du safran. a- Corne du safran au début de l’automne; b- Plant de safran deux ans après la plantation, récolté lors de la mise en place du nouveau corne fils. c- Débourrement de deux bourgeons sur le même corne. d- Feuilles du safran au printemps; e- Fleur du safran.

Le corne-mère vit une saison et est remplacé par un corne-fils qui se forme au-dessus de l’ancien corne-mère (Lopez-Corcoles et al., 2015). Le corne-mère porte plusieurs bourgeons latéraux dont certains peuvent produire des feuilles et même une fleur, dépendamment de la taille du corne-mère (Figure 0.1c). Par la suite, un corne fils va se développer à la base de chacun des faisceaux de feuilles issus d’un bourgeon latéral. Les cornes-fils latéraux sont accolés au nouveau corne-fils qui remplace le corne-mère. Le corne nouvellement formé est constitué à son tour d’un bourgeon apical qui va donner naissance aux nouvelles feuilles et fleurs et de 4 à 7 bourgeons secondaires ou latéraux, placés irrégulièrement en forme de spirale dans la partie supérieure du corne (Figure 0.1a).

Le système racinaire du safran est relativement limité. Il est constitué de racines adventives courtes qui sont initiées à la base du corne (Figure 0.1b). Ces racines ont un diamètre important et ne se ramifient pas. Ce type de système racinaire est typique chez les plantes à cornes ou à bulbes. Les feuilles de safran sont longues et fines (Figure 0.1d) et ressemblent à celles d'autres monocotylédones, telles plusieurs Cypéracées. Elles peuvent atteindre une longueur de 50 cm. Chaque bourgeon peut produire de 6 à 15 feuilles. Les fleurs du safran comprennent 6 tépales similaires, de couleur violette. Elles contiennent 3 étamines et un pistil couronné de 3 stigmates rougeâtres (Figure 0.1e). Ce sont ces derniers qui donnent l'épice appelé safran après avoir été déshydratés. Le pistil est central avec un ovaire tubulaire et un style fin. Chaque corne peut produire de 1 à 3 fleurs (Kumar et al., 2008). Habituellement, seul le bourgeon apical et dominant porte des fleurs, mais il arrive que des fleurs se développent également à partir des bourgeons latéraux situés près de l'apex.

Cycle vital

Le cycle de vie du safran diffère des autres crocus dont la plupart fleurissent au printemps comme le *Crocus vernus*, le *Crocus versicolor*, le *Crocus corsicus* et le *Crocus minimus*. Néanmoins, environ un tiers des crocus ont un cycle de vie qui ressemble à celui du safran tel le *Crocus nudiflorus* qui fleurit lui aussi à l'automne. Ce cycle de vie est parfois considéré comme inversé vu que la floraison a lieu à l'automne et que la plante est en dormance durant l'été (Figure 0.2). Lorsque le sol commence à se refroidir vers la fin de l'été, les racines commencent à pousser (Molina et al., 2005). Vers fin septembre-début octobre, les premières feuilles commencent à percer le sol. Ensuite, de la mi-octobre à la fin novembre, a lieu la floraison, bien que dans certaines conditions les fleurs apparaissent en premier ou alors en même temps que les feuilles (Gresta et al., 2008b). La durée de vie maximale d'une fleur est de 48 heures. La durée totale de floraison est de 27 jours environ dans le sud de l'Italie (Gresta et al., 2016) et entre 15 et 25 jours en Iran (Kafi et Showker, 2007).

Le feuillage se densifie pendant l'hiver et au printemps et continue de s'allonger. Les feuilles du safran persistent donc durant toute la saison hivernale et ce même s'ils se trouvent parfois sous un couvert de neige. Le corne-mère s'est lentement vidé de ses réserves durant la

floraison et la croissance des feuilles. Un nouveau corme se développe à la base de chaque faisceau de feuilles vers la fin janvier, début février (l'année n+1) (Renau-Morata et al., 2012). Ce nouveau corme grossit vers la fin de la saison avant et pendant la sénescence des feuilles. Vers le mois de mai, les feuilles jaunissent, sèchent et disparaissent (Kumar et al., 2008). Le sol est alors à nu et les cormes entrent en dormance.

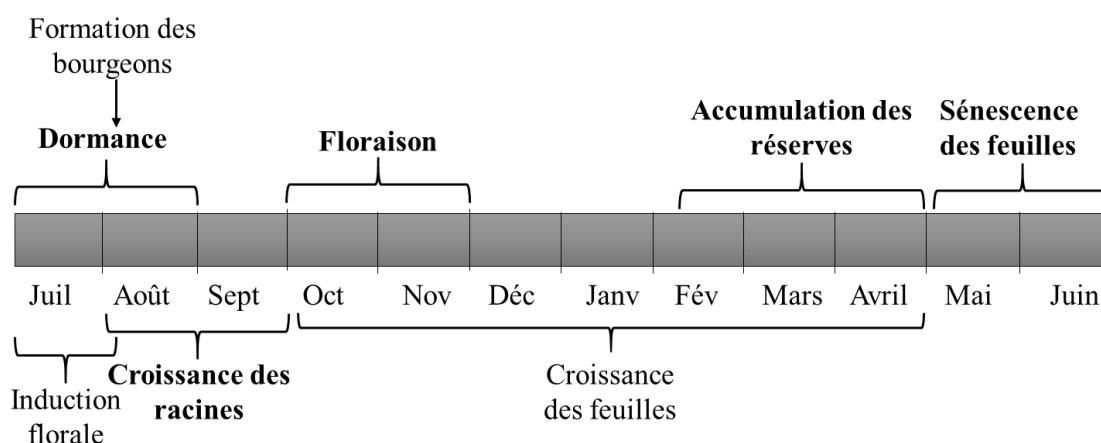


Figure 0.2: Différentes étapes du cycle de vie du safran en région méditerranéenne.

Induction de la floraison

Plusieurs facteurs peuvent participer à l'induction florale chez les plantes : la photopériode, la taille des plantes et la température. Le safran a besoin d'être soumis à des températures chaudes durant l'été afin de développer des bourgeons floraux, de la même façon que d'autres géophytes même printanières (De Hertogh et Le Nard, 1993). Des travaux de recherche ont montré que les températures du sol optimales pour l'initiation florale chez le safran sont entre 23°C et 27 °C pour une durée de 55 à 150 jours durant la période de dormance du corme (Molina et al., 2005). Une fois l'induction florale complétée, l'initiation florale devient perceptible à partir du début août tant en Espagne (Molina et al., 2004a) qu'en Azerbaïdjan (Azizbekova et Milyaeva, 1999). Le safran semble peu influencé par la photopériode. Par ailleurs, chez la plupart des pérennes, il existe un seuil de biomasse requis pour induire la

floraison. Chez le safran, le corne doit peser au minimum 10 g pour s'assurer d'une floraison (Kumar et al., 2008).

Conditions de culture et de récolte

Beaucoup de facteurs peuvent influencer la qualité et le rendement du safran. On peut penser entre autres au climat, aux conditions édaphiques, à la période de plantation, à la profondeur de plantation, au poids initial des cornes, à la fertilisation et aux conditions de conservation post-récolte (Kumar et al., 2008). Le tableau A1 résume les principaux résultats rapportés dans la littérature en ce qui concerne les conditions de plantation (date et profondeur de plantation) et les applications de fertilisants, champignons mycorhiziens et biostimulants qui favorisent la floraison et les rendements en safran.

Conditions de plantation

La période de plantation est influencée par les conditions climatiques qui diffèrent d'une région à une autre (Kumar et al., 2008), mais aussi par les habitudes acquises par les producteurs au cours des générations (Gresta et al., 2008b). Les cornes sont plantés dans la deuxième moitié de juin en Espagne, entre la mi-juillet et la fin août en Inde, du mois de mai au mois de septembre en Grèce et entre la fin août et le début septembre au Maroc (Gresta et al., 2008b). Quelques études ont testé l'effet de la date de plantation sur le rendement en safran. Dans le sud de l'Italie, une étude a montré un rendement légèrement supérieur pour les plantations effectuées à la fin juillet plutôt qu'à la fin août (Gresta et al., 2008a). Les plantations en début juin ou juillet donnent de meilleurs rendements que ceux plantés en mai ou à compter du mois d'août ou Septembre en Iran (Tookalloo et al., 2010), en Turquie (Amirnia et al., 2013) et au Pakistan (Rehman et Lodhi, 1977).

Il semble donc que les rendements soient meilleurs lorsque les plantations sont effectuées au début de l'été. Cependant, les cornes ne sont disponibles sur le marché nord-américain qu'à partir du mois d'août pour débiter de nouvelles plantations, car les producteurs doivent attendre que les plants soient dormants avant de les récolter pour la vente. L'opération de

l'arrachage et du tri des cormes a lieu après l'entrée en dormance des cormes, mais la période semble varier selon les régions et les pratiques de culture (Gresta et al., 2008b).

Les cormes de safran se divisent au fil des années et les nouveaux cormes se superposent aux anciens cormes; ceci nécessite que les cormes soient plantés plus profondément que pour d'autres cultures. Les profondeurs suggérées sont généralement de 10 cm et plus dans la plupart des pays producteurs du safran, bien que la profondeur optimale soit variable d'un pays à un autre influencée probablement par les conditions pédoclimatiques. Par exemple, à Navelli en Italie, la profondeur de plantation de 8 à 10 cm est connue comme étant optimale pour la production du safran lorsque cultivé comme une culture annuelle et de 10 à 20 cm lorsque cultivé comme une vivace (Gresta et al., 2008b). En Inde, il est recommandé de planter à 15 cm de profondeur (Alam, 2007).

Vafabakhsh et al. (2010) ont testé plusieurs profondeurs en Iran et ont trouvé que le safran produit davantage de fleurs à une profondeur de 20 cm qu'à 10 ou 30 cm. Ces chercheurs ont montré que la profondeur de plantation influence non seulement le rendement en fleurs et en safran, mais également la longueur des feuilles et le poids des cormes. Galavi et al. (2008) constatent qu'en augmentant la profondeur de plantation, certains paramètres de croissance ont diminué de manière significative : le taux de propagation du corme, le nombre de racines contractiles, le nombre de feuilles et le nombre de fleurs. Ils ont rapporté que la profondeur de plantation permettant d'optimiser la floraison était de 15 cm. D'autres paramètres comme la longueur des feuilles et la longueur des stigmates ont augmenté. De plus, l'apparition des feuilles et des fleurs était plus hâtive chez les cormes plantés plus profondément. Nazir et al. (2000) ont trouvé plus de cormes fils lorsque les cormes étaient plantés à 7,5 cm, par rapport à la plantation à 17,5 cm. Ce résultat est très commun chez les géophytes à cormes ou à bulbe (Hagiladi et al., 1992).

Chez les autres plantes à bulbes ou à cormes cultivées, les plantations se font généralement à une plus faible profondeur variant entre 0 et 20 cm (Hagiladi et al., 1992). On cite l'exemple de l'*Allium tuncelianum* où les bulbes plantés à 7,5 cm présentent en fin de saison un plus grand diamètre, un poids du bulbe et un nombre de bulbilles par plante plus élevées comparés à ceux plantés à 15 cm (Kizil et Khawar, 2015). D'autres chercheurs, dont Tessier (2017), ont travaillé sur l'effet de la profondeur de plantation pour la survie du bulbe. Il a trouvé que

pendant l'été, les bulbes de l'*Erythronium americanum* plantés à 5 et 10 cm de profondeur avaient une chance de survie significativement plus élevée que ceux plantés à 1 cm. Pendant l'hiver, il a trouvé qu'à 10 cm de profondeur, la survie des bulbes au printemps était plus élevée qu'à 5 cm et que la survie la plus faible était observé à 1 cm. En se rapprochant de la surface du sol, le taux de survie diminue l'été probablement à cause des périodes de sécheresse et l'hiver, à cause des périodes de gel.

Climat

La culture du safran est répandue dans plusieurs régions du monde ; elle semble donc en mesure de s'acclimater à plusieurs climats différents, tant le climat méditerranéen qu'un climat plus continental. On peut aussi la trouver sous différentes altitudes de 600 m à La Mancha en Espagne et jusqu'à 3200 m à Kargil en Inde (Kumar et al., 2008). Néanmoins, Fernández (2004) a présenté les conditions climatiques favorables à un bon rendement qui sont les suivantes : hiver doux, été chaud et pluies automnales.

La température du sol influence davantage le cycle de vie du safran que la température de l'air (Vafabakhsh et al., 2010), bien qu'évidemment les deux soient fortement liées. La plante tolère des températures froides durant l'hiver pouvant atteindre -18°C (Mollafilabi, 2004), mais le corme semble plus sensible au gel que les feuilles (Kumar et al., 2008). Nous pouvons tout de même craindre le gel des cormes lorsque la couverture nivale n'est pas suffisante sous un climat continental froid comme le Québec. Il est souligné que le safran peut survivre à la présence d'un couvert de neige temporaire (Kumar et al., 2008). Des essais préliminaires dans quelques régions du Québec semblent indiquer que la plante peut en fait très bien survivre sous un couvert de neige prolongé et qu'elle reprend ses activités photosynthétiques une fois la neige fondue.

Les cormes de safran doivent également être soumis à des températures du sol relativement élevées durant l'été pour favoriser l'induction florale (Molina et al., 2004a). Ces températures sont facilement atteintes sous climat méditerranéen (Molina et al., 2004b) et même potentiellement dépassées car Galavi et al. (2008) ont constaté en Iran que l'ajout de paillis sur les parcelles réduit la température du sol durant l'été et augmente légèrement le nombre

total de fleurs produites l'automne suivant. Cependant, cette étude n'a pas inclus de données de températures du sol afin de pouvoir comparer avec les seuils établis par Molina et al. (2004a). Nous ne savons pas pour le moment si les températures du sol sont suffisamment chaudes à la profondeur de plantation pour induire la production de bourgeons floraux sous un climat plus frais, bien que les premiers essais par des producteurs de safran au Québec, suggère que les cornes reflorissent la 2^e année. Finalement, les pluies automnales sont au rendez-vous au Québec pour stimuler l'émergence des fleurs et des feuilles, alors que des arrosages peuvent s'avérer nécessaires sous certains climats plus secs (Koocheki et al., 2014).

Sol et irrigation

Les cornes de safran affectionnent un sol sablonneux bien drainé et un pH entre 6,8 et 7,8 (Kumar et al., 2008). Il peut être cultivé dans des sols relativement pauvres comme c'est souvent le cas dans les cultures de safran en Iran et en Inde (Kumar et al., 2008). La texture du sol semble en fait plus importante que la disponibilité des nutriments. Gresta et al. (2010) ont montré que le calendrier floral peut être partiellement affecté par la texture du sol. Ils ont trouvé que dans le sol sablonneux, la période de floraison est respectivement 3 et 5 jours plus longue par rapport aux sols limoneux et argileux. Aussi, le safran a produit un plus grand nombre de fleurs et une plus grande quantité de safran lorsque plantés en sol sablonneux, alors que ceux plantés en sol argileux ont présentés les rendements les plus faibles (-38%). De même ces chercheurs ont trouvé que les sols sablonneux permettent à la plante de produire des cornes plus gros que les sols argileux.

Le safran est une culture reconnue pour ses faibles besoins en eau (Gresta et al., 2008b). Mais, comme toute autre culture, les cornes de safran ont besoin d'eau pour bien croître et se développer. Koocheki et al. (2014) ont montré qu'une irrigation insuffisante influence négativement le développement des cornes-fils et inhibe la production des fleurs et par conséquent le rendement en safran. Dans les régions arides et semi-arides, là où le safran est principalement cultivé, la sécheresse et la gestion de l'eau sont considérées comme des défis importants pour le développement et la durabilité de cette culture.

Fertilisation

Certains chercheurs ont présenté la fertilité d'un sol comme son aptitude à assurer de façon régulière et équilibrée la croissance et le développement des cultures jusqu'à la récolte (Fageria, 2007). Des facteurs chimiques, physiques et biologiques du sol déterminent son niveau de fertilité (Gray et Morant, 2003). Afin d'adopter une gestion raisonnée de la fertilité des sols tout en assurant les principaux besoins des cultures, la mesure la plus commune consiste à recourir à des fertilisants. Les fertilisants sont appliqués de différentes manières, sous forme d'engrais foliaires qui sont pulvérisés directement sur les feuilles et sous forme d'engrais solides incorporés dans le sol au moment de la plantation suivi d'applications durant la saison de croissance.

Mollafilabi (2004) mentionne que la culture de safran a besoin de faibles quantités de nutriments. Une application trop importante d'urée peut même diminuer les rendements. Les sols utilisés pour la culture du safran présentent une faible teneur en matière organique, de l'ordre de moins de 0,5% (Amiri, 2008; Koocheki et Seyyedi, 2015; Fallahi et Mahmoodi, 2018; Ghanbari et al., 2019). Afin d'augmenter la teneur en matière organique dans le sol, la technique la plus utilisée est l'épandage du fumier ou du compost à des doses qui varient selon la texture, le type du sol et sa richesse initiale (Kumar et al., 2008). Des ajouts de fumier variant entre 20 et 80 tonnes ha⁻¹ sont effectués au moment de la plantation (Kafi et Showker, 2007), et même jusqu'à 100 tonnes ha⁻¹ dans les sols les plus pauvres (Lachaud, 2012). L'ajout de fumier s'avère tout aussi efficace (Jahan et Jahani, 2007; Ghanbari et al., 2019) voire même plus efficace (Koocheki et Seyyedi, 2015) que les fertilisants chimiques (N, P, K combinés) pour augmenter les rendements en safran. La masse des cormes et leur teneur en nutriments sont également stimulées suite à l'application de fumier (Koocheki et Seyyedi, 2015). Dans une autre étude, une combinaison de fumier de vache (20 t ha⁻¹), d'urée (50 kg ha⁻¹) et de super phosphate (40 kg ha⁻¹) a donné de meilleurs rendements en stigmates que leur application individuelle dans un sol ne contenant que 0,4% de matière organique (Amiri, 2008). Plus récemment, une étude a montré un effet positif de l'application de vermicompost à raison de 8 à 24 tonnes ha⁻¹ sur la production de fleurs et de stigmates (Jami et al., 2020). La teneur en N et P des cormes augmente également davantage suite à l'application de vermicompost que de fertilisants chimiques (Seyyedi et al., 2018). Néanmoins, Kumar et al.

(2008) dans leur revue de littérature concluent qu'il est nécessaire d'ajouter à la fois des fertilisants et du fumier pour assurer de bons rendements en safran.

Au Québec, les sols sont assez riches en matière organique (ex. 3,5% dans le site à l'étude, Tableau A2). Dans une étude effectuée à Mshad en Iran, l'ajout d'azote sous forme d'urée ou de NPK a stimulé davantage la production de safran que l'ajout de fumier dans un sol contenant 1% de matière organique, alors que les meilleurs résultats ont été obtenus suite à l'ajout de fumier dans un sol plus pauvre ne contenant que 0,3% de matière organique (Behzad et al., 1992). Une quantité de 9 ppm de P dans le sol a été jugée suffisante pour obtenir un bon rendement en fleurs chez le safran (Behzad et al., 1992). Par conséquent, la nécessité d'ajouter un engrais contenant du phosphore dépend de la disponibilité dans le sol. Cependant, les cormes étant plantés profondément, il est difficile de les atteindre avec une fertilisation annuelle appliquée en surface, même si elle est souvent recommandée dans les safranières cultivées sur quelques années (Kumar et al., 2008). Il est donc important d'amender le sol avant de planter. Les fertilisants peuvent être mélangés au sol à la profondeur de plantation avant d'y déposer les cormes. Ainsi les racines ont directement accès aux fertilisants et la croissance des adventices est moins stimulée que lorsque les fertilisants sont appliqués en surface.

Il existe un engrais spécifique pour les plantes de safran, nommé commercialement Dalfard 15, qui est utilisé dans de nombreuses safranières en Iran, généralement par pulvérisation foliaire (Khorramdel et al., 2015). La pulvérisation foliaire permet un amendement annuel ce qui pourrait s'avérer nécessaire après quelques années afin d'améliorer la qualité et la quantité de safran produit. C'est un engrais entièrement soluble dans l'eau composé de 12% d'azote (N) sous forme de nitrate, 8 % de phosphore (P), 4% de potassium (K), 2000 ppm de fer (Fe) chélaté, 1000 ppm de manganèse (Mn), 1000 ppm de zinc (Zn) et 500 ppm de cuivre (Cu). Cette étude a montré que l'utilisation d'une concentration de 15% de cet engrais foliaire augmente le nombre de fleurs, le poids sec de la fleur, et le poids sec du stigmate du safran par rapport au groupe témoin (Khorramdel et al., 2015). L'application foliaire a été effectuée à trois reprises en février, mars et avril. L'ajout de l'engrais liquide correspond à un apport de 2,5 kg/ha d'N, 1,5 kg/ha de P et de 0,8 kg/ha de K au total pour les trois vaporisations.

Une application foliaire répétée d'urée ou d'un fertilisant complet au cours de l'hiver augmente également le nombre de fleurs produites l'automne suivant (Hosseini et al., 2004).

Mycorhizes

La mycorhize est la symbiose entre certains champignons du sol et les racines des plantes (Smith et Read, 1997). Ce terme a été inventé par le pathologiste forestier allemand Frank en 1877 et est dérivé de la combinaison de deux mots un grec «mykes» (champignon) et un autre latin «Rhiza» (racines), signifiant littéralement champignon racine. La première fois où ils ont découvert que les champignons des racines pouvaient être bénéfiques aux plantes, c'était chez la monotrope, *Monotropa uniflora* (Kamienski, 1881). Les mycorhizes arbusculaires représentent l'association la plus commune entre les plantes et les champignons du sol. On les trouve chez la majorité des herbacées. Le safran produit un système racinaire peu développé avec des grosses racines très peu ramifiées. Un tel système racinaire limite la capacité de la plante à fouiller le sol pour accéder aux éléments nutritifs. Les champignons mycorhiziens arbusculaires colonisent intensivement ce type de système racinaire et ont généralement un impact important sur la croissance et le rendement de ces espèces végétales (Baylis, 1975). Aimo et al. (2010) ont rapporté des taux de mycorhization chez le safran, suite à une inoculation avec des spores du genre *Glomus*, qui varient entre 10 et 30%. Lone et al. (2016) pour leur part ont rapporté des taux au champs variant entre 14 % et 90 % et Ghanbari et al. (2019) des taux au champs autour de 40% sans inoculation et des taux variant entre 60 et 80% dans les parcelles inoculées avec des spores de *Glomus mossae*. La présence de champignons mycorhiziens a permis d'augmenter le diamètre (Aimo et al., 2010) ou la masse des cormes durant la première année (Kianmehr, 1981) et la production florale durant la deuxième année de croissance (Aimo et al., 2010; Ghanbari et al., 2019; Jami et al., 2020). En outre, le moment de la floraison a été devancé chez les plants mycorhizés (Aimo et al., 2010). Lone et al. (2016) pour leur part ont montré un potentiel prometteur de la mycorhization chez le safran permettant d'améliorer la quantité de métabolites comme les glucides, les protéines et les composés phénoliques contenus dans les cormes et d'assimiler plus de microéléments et d'azote. Et finalement, l'ajout de *Rhizophagus intraradices* (anciennement appelé *Glomus intraradices*) et *Funneliformis mosseae* (anciennement appelé

Glomus mosseae) lors de la plantation a augmenté la production de fleurs et le rendement en safran (Caser et al., 2019b).

Les mycorhizes ont également un impact sur la microbiome du sol et le potentiel de réduire les stress biotiques et abiotiques chez les plantes. Ainsi, ils représentent une solution à plusieurs problèmes liés à la production et à la protection des végétaux. En effet, il faut maintenir ou rétablir l'équilibre entre le complexe « plante-mycorhize-parasite-environnement » pour assurer une agriculture durable. Le fonctionnement des mycorhizes comme agent de lutte biologique fait intervenir plusieurs mécanismes en interaction. Certains d'entre eux touchent directement la plante : une stimulation de croissance par un meilleur apport nutritif, une augmentation du rapport tige : racine et l'induction du mécanisme de défense lorsque le champignon mycorhizien colonise les racines (Smith et Read, 1997). D'autres mécanismes agissent sur le parasite, via une compétition directe entre celui-ci et les champignons mycorhiziens pour la disponibilité du carbone exsudé par les racines, et via les impacts des champignons mycorhiziens sur la microflore dont certaines bactéries qui peuvent elles-mêmes nuire aux pathogènes et finalement par la production de terpènes et composés phénoliques par les racines mycorhizées (Stenström et al., 1997).

Biostimulants

L'ajout de « biostimulants » est une approche récemment utilisée dans les stratégies de nutrition des plantes en raison de leurs multiples avantages pour l'agriculture durable. Ils constituent une forme de fertilisants prometteurs pour améliorer la productivité des plantes et la qualité des fruits. Ils contiennent une ou plusieurs substances et / ou microorganismes capables, en faibles quantités, de stimuler l'absorption des nutriments par les plantes. Ils leur confèrent également une meilleure tolérance aux stress abiotiques et améliorent la qualité des cultures. Leur activité biologique est due aux hormones, peptides, composés phénoliques, saccharides et autres constituants organiques qu'ils contiennent (Rouphael et Colla, 2020). Les formulations commerciales de biostimulants sont principalement à base d'algues, d'hydrolysats de protéines végétales ou animales, de substances humiques et/ou de microorganismes bénéfiques (Abou Chehade et al., 2018). En particulier, certains de ces

microorganismes bénéfiques ont des mécanismes particuliers permettant l'absorption des nutriments (surtout N et P) et la tolérance au stress environnemental, y compris l'échange de signaux entre les racines des plantes, les microorganismes (plant growth-promoting rhizobacteria) et les champignons mycorhiziens (Rouphael et Colla, 2020). Une réduction de la fertilisation en phosphore pourrait être obtenue grâce à l'utilisation d'isolats bactériens hautement efficaces pour solubiliser le P.

La connaissance des effets des biostimulants sur les plantes s'améliore constamment. Leur mode d'action semble difficile à cerner en raison de leur nature complexe contenant de multiples composants bioactifs qui contribuent, ensemble, à améliorer les performances des plantes (Calvo et al., 2014). Dans certains travaux de recherche, l'action des biostimulants à base de *Rhizobacteria* a été attribuée principalement à l'activité de l'acide 3-indoleacétique, celles à base d'acides humiques à l'activation d'ATPases et de pompes à proton ou encore dans le cas des hydrolysats de protéines, à la synthèse de flavonoïdes sous conditions de stress, pour n'en nommer que quelques-uns (Malik et al. 2021).

Une première étude a testé l'impact de l'ajout de *Pseudomonas fluorescens* seul ou en combinaison avec des champignons mycorhiziens du genre *Glomus* sur la croissance et le rendement en safran (Aimo et al., 2010). L'effet des mycorhizes sur la taille du corme après une saison était beaucoup plus marqué que l'effet de l'ajout de *P. fluorescens*. Cependant, une autre étude a montré que plusieurs des bactéries isolées à partir de la rhizosphère de plants de safran sont en mesure de stimuler la croissance des cormes et des racines de safran, et de réduire l'incidence de pourriture sur le corme (Ambardar et Vakhlu, 2013). Ces bactéries appartiennent aux genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobactercalcoaceticus* et *Chryseobacteria*. L'application d'un biostimulant à base d'extrait d'algues permet également d'augmenter le rendement en pétales, la teneur en caroténoïdes et l'activité antioxydante des pétales ainsi que la qualité du safran (Deh-Arbab et al., 2019). Les auteurs suggèrent que ces effets sont dus à une meilleure nutrition minérale ainsi qu'à la production de substances biologiques permettant de lutter contre les pathogènes des plantes.

Adventices, ravageurs de la culture et maladies

Une fois la safranière implantée, son entretien peut s'avérer exigeant en termes de main d'œuvre du fait que le safran est faiblement compétitif à l'égard des adventices. Il est recommandé dans les safranières en France de désherber surtout au début de l'été là où les champs sont totalement envahis par les mauvaises herbes (Aucante, 2000). La majorité de l'entretien a en fait lieu durant la saison estivale, même si la plante est alors en dormance. Même si dans les régions arides telles que l'Iran et l'Inde, la présence d'adventices devrait être moins importante du fait que les sols sont moins riches et le climat est très sec durant l'été, ces sols sont tout de même envahis et les producteurs ont recours au désherbage manuel ou à l'application d'herbicides (Kumar et al., 2008).

Plusieurs animaux consomment le safran et constituent une nuisance pour cette culture. Le sanglier et les rongeurs tels que les rats et les mulots raffolent des cormes (Lazérat, 2009). Aussi, les lapins, les lièvres et les chevreuils présentent un risque pour la production en s'attaquant aux feuilles de crocus. Les limaces apprécient également les feuilles ainsi que les fleurs (Lazérat, 2009).

Les champignons peuvent être des vraies menaces pour la culture de safran en provoquant plusieurs maladies et même la mort des cormes et de la plante entière. Ces champignons sont principalement le *Rhizoctonia violacea* qui engendre le pourrissement des cormes et la mort du plant; le *Sclerotium crocophilum* qui provoque la formation de lésions brunes sur les cormes suivi d'une pourriture sèche et le *Fusarium oxysporum* qui s'attaque également aux cormes (Bastiau, 1872). La lutte contre ces maladies reste difficile puisque les spores se propagent de plusieurs façons dont le vent, la pluie et les outils. Pour contrer ces maladies, plusieurs pratiques culturales visant à réduire les conditions d'humidité devraient être respectées, tel le fait de planter les cormes dans un sol bien drainé et de façon espacée. Le recours à la rotation des cultures, la plantation de cormes exempt de blessures et de maladies et l'application de produits antifongiques sur les cormes avant la plantation peuvent également réduire les risques de maladies (Gresta et al., 2008b). De plus, les cormes doivent

être conservés dans un endroit aéré dont l'humidité est bien contrôlée durant la période qui s'écoule entre le moment où ils sont arrachés et le moment où ils sont plantés.

Récolte du safran

Récolte des stigmates

Les conditions dans lesquelles s'effectue la récolte du safran influencent sa qualité et sa valeur marchande (Basker et Negbi, 1983). La période de récolte est souvent de quelques jours voire au plus quelques semaines à l'automne. Pour une qualité optimale, les fleurs sont récoltées dans les premières heures de la matinée, lorsqu'elles sont à peine écloses (Lachaud, 2012). Certains chercheurs ont estimé le temps nécessaire pour la récolte du safran et ils ont trouvé qu'il faut entre 350 et 450 heures pour récolter 1 kg de safran correspondant à 200 000 à 400 000 stigmates (Gresta et al., 2008b). Il est aussi important de mentionner que la récolte manuelle est la façon la plus commune de récolter les fleurs du safran. Mais, une entreprise espagnole « Cia General Azafran » a conçu certaines machines pour la récolte des fleurs au champ (Alonso Diaz-Marta, 2008). Les fleurs sont coupées au niveau du sol à l'aide d'une barre tranchante. Ensuite, elles sont transportées dans les récipients d'une courroie transporteuse et collectées dans des caisses prévues à cet effet. Par conséquent, les rendements de la récolte des fleurs augmentent et les coûts de production diminuent. Cependant, elle présente des inconvénients, puisque on ramasse une grande quantité d'impuretés et certains stigmates resteront par terre. Les machines coupent aussi les feuilles qui ont émergé avec la fleur, ce qui pourrait affecter ensuite le développement et la croissance des futurs cormes. Après la récolte, d'autres opérations sont décisives pour maintenir la qualité de l'épice dont les conditions de séchage et de conservation.

Récolte des cormes

La vente des cormes est également un marché lucratif et certains producteurs visent davantage la production de cormes que de fleurs. Les cormes sont déterrés durant la dormance au cours de la période estivale. Bien que la culture du safran soit principalement

une culture pérenne, dans certaines régions dont entre autres l'Italie, les cormes sont récoltés au début de l'été et conservés dans des sacs de jute (Tammaro, 1999). Seuls les cormes les plus gros sont replantés à la fin de l'été et ils peuvent être plantés plus denses et moins profonds que dans les plantations où les cormes demeurent pendant plusieurs années. De plus, ils ne sont pas exposés aux ravageurs durant l'été ni à des conditions favorisant le développement de champignons pathogènes. Par ailleurs, le travail du sol lors de l'arrachage, puis de la plantation réduit le besoin de désherber durant l'été.

Objectifs du projet

L'objectif principal de notre étude est de développer une régie de culture du safran adaptée aux conditions agronomiques et climatiques du Québec. Il s'agit d'un projet novateur car très peu d'essais ont été menés à ce jour pour cultiver cette espèce de milieu aride, sous un climat beaucoup plus froid.

Les objectifs spécifiques sont les suivants :

- Déterminer la profondeur de plantation permettant de favoriser un rendement élevé en safran, mais également une croissance optimale des cormes tout en évitant une prolifération trop importante de petits cormes incapables de fleurir.
- Déterminer 1) quelles profondeurs permettent d'atteindre les températures estivales requises (23-27°C) pendant la durée préconisée (au moins 30 jours) pour favoriser l'induction florale; 2) à quelles profondeurs les cormes sont protégés du gel pendant tout l'hiver, et 3) à quel moment la température atteint 17°C favorisant ainsi la croissance des feuilles et des fleurs au début de l'automne.
- Déterminer la date de plantation qui favorise une floraison hâtive et un rendement en safran élevé.

- Déterminer l'impact d'une fertilisation biologique, de l'ajout de spores de mycorhizes et de deux types de biostimulants sur la phénologie, la floraison, le rendement en safran, la croissance des cormes et leur contenu en nutriments.
- Caractériser la phénologie du safran tout au cours de l'année en fonction des conditions de culture afin de déterminer leurs impacts sur le cycle vital de l'espèce.
- Déterminer à quel moment se développent les bourgeons floraux durant l'été afin d'estimer la période durant laquelle l'induction florale a lieu sous un climat froid, car aucune donnée n'existe dans la littérature.

Chapitre 1: The cultivation of Saffron (*Crocus sativus* L.) under cold climate

1.1.Résumé

Le safran, un crocus d'automne qui produit une épice très précieuse, est cultivé principalement sous des climats chauds. Néanmoins, plusieurs fermes de safran ont été installées récemment dans la province de Québec. Cela nous a conduit à tester plusieurs pratiques culturales susceptibles d'influencer la phénologie des plantes (émergence des pousses et des fleurs et sénescence des feuilles), le rendement du safran et la croissance des bulbes, y compris la profondeur de plantation (10, 15, 20, 25 et 30 cm), la période de plantation (de fin juillet à début septembre) et l'application d'une combinaison de fertilisation, de champignons mycorhiziens et de biostimulants au moment de la plantation. Étant donné que la température du sol influence de nombreux aspects du cycle de vie du safran, elle a été mesurée aux différentes profondeurs de plantation tout au long de l'année. Un suivi hebdomadaire de l'initiation florale a été également réalisé du printemps à la fin de l'été. L'émergence des pousses a été retardée et l'émergence finale réduite lorsque la profondeur de plantation augmentait. Cependant, une plantation peu profonde a probablement stimulé la production de cormes puisqu'il y avait plus de pousses par corme. Le meilleur moment pour planter le safran était de la fin juillet à la troisième semaine d'août. La fertilisation a accéléré l'émergence des feuilles à l'automne et amélioré la production de cormes et leurs teneurs en éléments nutritifs. La colonisation mycorhizienne était faible et provenait de sources indigènes. L'ajout de champignons mycorhiziens ou de biostimulants n'a eu aucun effet sur la floraison ou le rendement en safran. L'induction florale a très probablement eu lieu en juillet, c'est-à-dire après l'entrée en dormance des cormes mais avant que le bouton floral ne devienne apparent au début d'août. En général, la production de fleurs et de safran était faible à l'endroit où l'étude a eu lieu. Il semble que la température du sol ne soit pas demeurée suffisamment élevée pendant l'été pour favoriser l'induction florale et que les températures automnales aient diminué trop rapidement, limitant l'émergence des pousses et des fleurs la plupart des années.

Mots clés: Safran, climat froid, profondeur de plantation, date de plantation, induction florale, fertilisation, émergence, sénescence.

1.2. Abstract

Saffron, an autumn crocus that produces a highly valuable spice, is grown mainly under warm climates. Nevertheless, several saffron farms have been established recently in the province of Quebec. This led us to test several cultivation practices that could influence plant phenology (shoot and flower emergence, and leaf senescence), saffron yield and corm growth, including planting depth (10, 15, 20, 25 and 30 cm), planting period (from late July to early September), and the application of a combination of fertilization, mycorrhizal fungi and biostimulants at planting. Since soil temperature influences many aspects of saffron life cycle, it was monitored at the different planting depths throughout the year. A weekly monitoring of floral initiation was also carried out from spring to the end of the summer. Shoot emergence were delayed and final emergence reduced as planting depth increased. However, shallow plantation most likely stimulated the production of corms since there were more shoots per corm. The best time to plant saffron was from the end of July until the third week of August. Fertilization hastened leaf emergence in the autumn and improved corm production and their nutrient content. The mycorrhizal colonization was low and originated from native sources. Both the addition of mycorrhizal fungi or biostimulants had no effect on flowering or saffron yield. Floral induction most likely took place in July, that is after the entry into dormancy of the corms but before flower bud became apparent in early August. In general, flower and saffron production was low in the location where the study took place. It appears that soil temperature did not remain high for long enough during the summer to promote floral induction and autumn temperatures decreased too fast, limiting shoot and flower emergence most years.

Key words: Saffron, Cold-climate, planting depth, planting date, floral induction, fertilization, emergence, senescence.

1.3. Introduction

Saffron has been traditionally cultivated across the Mediterranean basin, and in Iran and India for hundreds, if not several thousand years. Even if considered a warm climate crop, saffron production has expanded across a broader longitudinal swath of Eurasia, under favourable

conditions similar to those in the Eastern Mediterranean and Asia Minor, where it likely originated (Gresta et al., 2008a). Cultivation of saffron or autumn crocus (Iridaceae: *Crocus sativus* L.) in eastern North America began several hundred years ago with Pennsylvania Amish communities; saffron production in the colder climate of Quebec and adjacent New England has been ongoing for the past 5 to 10 years (The North American Center for Saffron Research and Development, 2020). Given that these environments are much different from the Mediterranean basin, both in terms of climate and soil characteristics, many cultivation practices must be revisited to adapt saffron culture to these more northerly climates.

Saffron is the most expensive spice worldwide, consisting of the stigmas of the crocus flowers. Each corm of *Crocus sativus* L. produces a limited number of flowers. Each stigma must be harvested individually, by hand, as soon as the flower opens. Saffron has a peculiar life cycle that is characterized by a summer dormancy period, the emergence of the foliage and flowers in autumn, and long-lasting leaves that senesce by late spring. Soil and air temperatures play a very important role in the life cycle of this species, controlling the entry and exit of dormancy along with floral induction during the dormancy period (Molina et al., 2005). Corms require exposure to summer temperatures between 23 and 27°C for more than 50 days to optimize flower production in the following autumn (Molina et al., 2005). Many cultivation practices can influence the temperature to which the corm is exposed, such as depth of planting and date of planting. In a warm climate, saffron corms are planted 10 to 30 cm deep, but most studies recommend a depth of 10 to 20 cm (Galavi et al., 2008; Gresta et al., 2008a; Vafabakhsh et al., 2010). Soil temperature decreases with depth during the summer (Ping, 1987; Lubbe and Henry, 2019), which would suggest planting closer to the surface in more northern climates compared to warmer climates. However, shallow planting could expose the corm to freezing temperatures (Ping, 1987). Furthermore, it has been shown that corm or bulb production in many geophytes, including saffron, increases as depth decreases (Chipman and Thorpe, 1977; Hagiladi et al., 1992; Kumar et al., 2008; Verdaguer et al., 2010). This response could lead to the formation of numerous corms that are too small to flower (Kumar et al., 2008).

Date of planting can influence the temperature to which the corm is exposed during the summer; if planted in late summer, it can also delay shoot emergence. Planting time varies

greatly among producer countries, from early June to mid-September (Kumar et al., 2008). Yet, only a few studies have tested different planting dates within a single site and most have concluded that early summer was the best planting period to optimize saffron yield (Rehman and Lodhi, 1977; Gresta et al., 2008a; Tookaloo et al., 2010; Amirnia et al., 2013). Imported corms only become available on the North American market in August, whereas local plants do not senesce before early July (pers. obs., G.-A. Landry). Thus, corms from local sources are not available for sale on the market until mid- to late-July at the earliest.

Saffron is a slow-growing crop, yet mineral fertilization, together with the addition of mycorrhizal fungi and plant growth-stimulating bacteria, improve saffron yield (Kianmehr, 1981; Aimo et al., 2010; Lone et al., 2016). The best time to apply these amendments is at planting to avoid favouring weed growth through surface application. Manure is frequently applied to saffron fields to improve both soil organic matter and nutrient contents (Gresta et al., 2008a). Chemical fertilizers, especially those providing nitrogen, have also been used (Kumar et al., 2008), as well as foliar applications of a complete solution that also contains micronutrients to compensate for their low availability in soils with high pH (Hosseini et al., 2004). Acidic soils that are more typical of eastern North America would definitely require an adjustment of the fertilizer composition. Like most geophytes, saffron produces a coarse root system; these root systems can usually undergo extensive mycorrhization and benefit from this symbiosis (Smith and Read, 1997). Indeed, field-grown saffron is extensively mycorrhized (Kianmehr, 1981; Lone et al., 2016). The addition of inoculum of *Glomus spp.* or *Pseudomonas fluorescens* has been demonstrated to improve saffron growth and yield (Aimo et al., 2010).

The objectives of this study were to identify the depth and date of corm planting that optimize saffron yield. Soil temperature was recorded at the different depths throughout the year, and the timing of flower initiation was monitored through sequential harvesting of corms during spring and summer. Organic fertilization, in combination with mycorrhizal fungal spores and two different biostimulants, were also tested for their effects on saffron growth and yield. This study constitutes a first attempt to optimize saffron cultivation practices under northern climate conditions.

1.4. Materiel and Methods

1.4.1. Experimental Design and Plant Material

1.4.1.1. Material and Site Description

The study was conducted in 2016-2019, on a field site that was located near Baie-St-Paul, Quebec (47.43° N, 70.57° W, elevation 308 m). The climate of the region is humid continental (Kottek et al., 2006). Over the last 30 years (1981-2010), annual average temperature has remained close to the freezing point at about -1°C; annual precipitation totals around 1000 mm, of which almost 75% falls as rain. Monthly precipitation reaches 128 mm, but can exceed 180 mm during the summer. Snow is omnipresent during the winter months with annual snowfall averaging 275 cm. It can occur as early as October, but increases up to 60 centimetres per month from December to March, before generally ending in April or May (Environnement-Canada, 2019).

1.4.1.2. Plant Material

Organic saffron corms of Grade 8-9 or 9-10 (corresponding to a diameter of 2.5 cm to 3.2 cm) were either purchased from Pur Safran (dug up from their growing site at Notre-Dame-de-Montauban, QC, Canada) or imported from the Netherlands by Emporium Safran Québec. The purchase of corms from a local supplier (Pur Safran) earlier in the season allowed us to initiate first planting around July 20th (for more details, see Planting period). The smallest corms were set aside, and the old corm was detached from the new corm where these were still present. For each of the experiments, corms were then divided into groups of 40, with each group tagged with the plot number. Afterwards, each group was weighed and either large or small corms were exchanged between groups to standardize the total weight per plot, until variance among groups were less than 1%.

1.4.1.3. Trial Establishment

The field was a hay meadow, which was located on a sloping hillside. The land has been left uncultivated for at least two years, with a cover of grasses, perennials and some shrubs. The

soil is a glacial till with a sandy loam texture (66% sand, 24% silt, 10% clay; Dequen Soil Series that belongs to the Humo-Ferric Podzol Group). The experimental site was divided into three sections, one per experiment: 1) depth of planting; 2) planting period; and 3) fertilization trials. Experiments were conducted using a randomized complete block design. At the beginning of the summer, the vegetation was removed, after which the top 20 cm of soil was set aside using a mechanical shovel. Large rocks were also removed before the site was left fallow until the time of planting. Soil was loosened using a rake. For all experiments, 4 rows of 10 corms each per plot were planted, with a spacing of 15 cm within rows and between rows for a total length of 1.65 m and a width of 75 cm per plot (Figure A1). Plots were installed at a distance of 30 cm from each other.

Once the corms were planted, the topsoil was put back to form raised beds 20 cm above the corms. The use of a planting system of raised beds was selected to improve soil drainage at corm depth. The bed had a flat top at least 1.65 m wide (the width of the plot, which included 15 cm either side of the external rows). Raised beds were set up at a distance of 30 cm from each other, to allow easy access for flower harvest and measurements. They ran parallel to the slope. For the planting depth experiment, the 20 cm ridge was installed prior to planting, after which corms were dibble-planted at the desired depth.

1.4.1.4. Plot Maintenance

For all experiments, weekly weeding was done manually as required or with a flame-weeder during the dormancy period of saffron. No watering occurred.

1.4.2. Nutrient Analyses

Soil samples were collected at planting for each experiment prior to the addition of fertilizers, mycorrhizal fungi spores or biostimulants. A sample was collected in the middle of each plot at the planting depth of each plot and all samples from the same block were mixed to form a composite block sample per experiment. Macro- and micronutrients, organic matter, pH, CEC, and base saturation were determined by an independent laboratory (Agri Quanta Laboratory, Saint-Ours, Qc). Macronutrients and trace elements were extracted from the soil

using Mehlich III solution. The Mehlich extract was then used for the determination of phosphorus, potassium, calcium, magnesium, aluminum, manganese, copper, zinc and boron, using optical plasma emission spectrometry. Organic matter was measured by loss-on-ignition at 375 °C, while nitrogen was estimated by the Kjeldahl method. Data are presented in Table A2. The same techniques were used to analyze fertilizer composition. The amount of fertilizer to be added to each plot was then calculated.

1.4.3. Planting Depth

A first trial was set up in mid-August 2016. Corms were planted 20 cm, 25 cm or 30 cm deep. Since the site is located on a slope, four blocks along the slope gradient were established, with two repetitions of each treatment per block, for a total of 24 plots (960 corms) (Figures A2, A3).

Due to low emergence in spring 2017 and 2018, new plots were put in place in August 2018. We suspected that the plots were too close to the forest edge and were shaded at the beginning of the day in the autumn, reducing not only the amount of light received daily, but also the temperature of the soil. We chose a location farther from the forest edge to ensure that the plots received full sun exposure throughout the day. In addition to this modification, we wanted to test shallower depths, given that snow settles early in the autumn, thereby limiting the risk of corm freezing during winter. Therefore, we established new plots to test 10, 15, 20 and 25 cm depths. Each treatment was repeated once per block in 6 blocks for a total of 24 plots (960 corms; Figure A4).

1.4.4. Floral Induction Phenology

We randomly collected corms from plots that had been established by the landowner and which did not receive any specific treatment. Three corms were harvested every two weeks from mid-May 2018 until the plants entered dormancy. At this stage, i.e., once all leaves had reached complete senescence, corms were harvested every week during the summer, for a

total of 12 harvest dates. Corms were halved vertically, and then stained with methylene blue to better discriminate the different structures under a binocular microscope.

1.4.5. Planting Period

Corms were planted at four different dates during the summers of 2017 and 2018. In 2017, the corms were planted on July 25th, August 7th, August 21st and September 5th. During 2018, planting occurred on July 25th, August 8th, August 21st and September 7th. The two planting years constituted the blocks. There were 4 repetitions per block and per treatment, for a total of 32 plots (1280 corms; Figure A5). All corms were received at the same time within a single year, and randomly allocated to the different plots as described in the Plant Material section. The corms were then stored at 25 °C, in the dark, up to the first planting date. Thereafter, the temperature was lowered to 20 °C to simulate soil temperature in the field during the same period.

1.4.6. Fertilization, Mycorrhizae and Biostimulants

A factorial design in complete random blocks made it possible to test the following three factors: 1) biological fertilization at planting; 2) addition of mycorrhizal fungi spores; and 3) addition of either Turitek or the soil activator EarthAlive at planting. The fertilizer contained a mixture of feather meal 13-0-0 (462 kg ha⁻¹), bone powder 0-13-0 (1538 kg ha⁻¹), and Sul-Po-Mag 0-0-22 (1136 kg ha⁻¹). The mycorrhizal fungi (MykePro Gazon, Premier Tech containing 15 viable spores of *Rhizophagus intraradices* per g) were applied at a rate of 20 g (300 spores) per corm; the granules containing the spores were placed directly under the corm at the time of planting. Turitek Liquid Flowering and maturation (Ferme Eugénia, Rimouski, QC) is a combination of algae and liquid extracts from earthworm manure. Turitek was applied by soaking the corms in a solution of 1.5% v/v (Turitek / water) for 4 hours, followed by twice watering with 5000 L ha⁻¹ of 0.06% solution at two-week intervals after planting. The EarthAlive soil activator (Earth Alive Clean Technologies Inc., Lasalle, QC) is a biofertilizer that contains *Pseudomonas* and two *Bacillus* soil species. It was applied at a

rate of 26 mL per corm (5200 L ha⁻¹) at planting from a solution of 2.5 g L⁻¹. The 12 treatments, which include controls with no fertilization, no mycorrhizal fungi or no biostimulants, were repeated in four blocks, for a total of 48 plots (1920 corms; Figure A6).

1.4.7. Data Collection and Laboratory Analyses

Each autumn (2016, 2017, 2018 and 2019), emergence of the foliage from individual corms was noted once or twice a week. Counting and harvesting of flowers was performed every other day (2016 and 2018) or daily (2017) during the flowering season (autumn). The stigmas were removed from the harvested flowers and dried immediately (20 minutes at 50 °C) in a food dehydrator (Excalibur, Sacramento, CA) until the water content had decreased by 80-90% (Carmona and Alonso, 2004). Saffron was then weighed.

After complete snowmelt in 2017, 2018 and 2019, final emergence was noted, together with the number of shoots per corm. Final emergence included both the plants that had emerged during autumn and those that had emerged during the winter under the snow, minus those that did not survive the winter. At the end of May 2018, 2 to 3 roots from 3 corms per plot were harvested in the Fertilization trials to monitor mycorrhizal colonization, according to the method described by Trouvelot et al. (1986). A six-class mycorrhizal colonization scoring was used based on the percentage of mycorrhizal fungi structures in the roots. The six classes from 0 to 5 correspond to the following percentages: 0, no colonization; 1, trace; 2, less than 10%; 3, [11%-50%]; 4, [51%-90%]; and 5, more than 90%. The roots were cleared with 10% potassium hydroxide (KOH 10%), then with 1% hydrogen peroxide, and followed by 1% hydrochloric acid (HCl 1%). The roots were then stained with Trypan blue, followed by acidified glycerol to preserve the roots before observation. Each root was observed and evaluated separately.

Leaf senescence was estimated in each plot weekly between July 6 and July 30 in 2018, using 7 classes. Class 1 corresponded to 0 %; class 2 from 0 to 25%; class 3 from 25% to 50%; class 4 from 50% to 75 %; class 5 from 75% to 90%; class 6 from 90 to 100%; and the 7th class is when we noted 100% leaf senescence. All estimates were made on a per plot basis.

After complete leaf senescence (in late July), 6 corms per plot were dug up in the Planting Depth (2017), Planting Time (2018) and Fertilization (2018) trials. These corms were chosen randomly using random number table based on their positions (rows and columns). Fresh mass of the main corm and daughter-corms was recorded, along with their number. The six corms per plot that were harvested from the Fertilization trials were freeze-dried, then ground using a high-speed rotary mill (ZM-200, Retsch, Haan, Germany). A sub-sample of ground material was digested in an H₂O₂-H₂SO₄ mixture (Lowther, 1980). The nitrogen and phosphorus content were subsequently quantified by colorimetry, while potassium, calcium and magnesium were determined by atomic absorption spectrometry.

Soil temperature was monitored in the two Planting Depth trials. In each plot, a probe (Thermochron 4K, iButtonLink, LLC, Whitewater, WI, USA) recorded temperature continuously at the planting depth of the corms. In the first trial, temperature was recorded at 20 cm, 25 cm or 30 cm depth, from autumn 2016 until autumn 2018. New probes were added in the plots that were planted at 10, 15, 20 and 25 cm in the summer of 2018 and recording continued up to autumn 2019.

1.4.8. Statistical Analysis

Each of the three experiments was analyzed independently, using a general linear model. A series of analyses of variance followed by Tukey multiple range tests were performed, using 5 % probability level. Blocks were assigned as a random factor. Treatments were fixed factors. Most experiments were set up in the summer of 2017. It was planned to analyze the data from autumn 2017 and 2018 using a factorial design with repeated measurements. Since there were no flowers in 2018, the analyses were conducted separately for the two years, with the exception of the Planting period experiment. Here, years constituted true repetitions (blocks); therefore, the experiment was analyzed as a two-way ANOVA. The two Planting depth trials were analyzed separately, since they were set up two years apart. The fertilization trial was analyzed as a factorial design with 3 fixed factors (fertilization, mycorrhizal fungi and biostimulants) and one random factor (block). The soil temperature daily means were compared between the different depths using repeated measure ANOVAs. Data were

analyzed separately for spring (mid-May to the end of June), summer (July 1st to August 31th), autumn (September 1st to October 31st) and winter (November to early May) to avoid masking differences among depths due to temperature inversions, which take place between seasons. For the winter, monthly means were used, given that temperature did not fluctuate much between days. Phenology of leaf and flower emergence data in the autumn was analyzed in all three experiments using a repeated measures model, with treatment, date of measurements and their interaction as fixed factors. All statistical analyses were performed using Statistix version 10 (Tallahassee, FL, USA).

1.4.9. Labelling

For all experiments, we used the following abbreviations to discriminate the planting year (P) from the year in which the observations took place. For example, corms that were planted in 2016 and observed during the 2016-2017 season (autumn 2016 up to summer 2017) are identified as P16 – S16/17. Since the growing season of saffron starts in autumn, the year of observation starts in the autumn and ends the following summer.

1.5. Results and Discussion

1.5.1. Planting Depth

1.5.1.1. Soil Temperature

As expected, soil temperature significantly increased ($F_{2,21} = 4.12$, $P = 0.031$) with increasing closeness to the soil surface during the summer (Figure 1.1a). Yet, differences were small, 0.6°C on average for July and August, between 20 and 30 cm depths. When soil warmed up, differences were close to 1°C, but as soil cooled, temperature temporarily became uniform across depths. An inversion occurred in the autumn as soil cooled faster close to the surface than further down (Figure 1.1a,c). This inversion remained up to January; afterwards, temperatures no longer differed among depths (Figure 1.1c; month x depth interaction: $F_{12, 126} = 3.3$, $P < 0.001$). The same behaviour was observed the following year for the 10 to 25

cm depth plots, where soil temperature was slightly but significantly cooler closer to the surface from November to January (Figure 1.1d; month x depth interaction: $F_{18, 108} = 2.9$, $P < 0.001$). Soil temperature differed by about 0.5 °C between 10 and 25 cm ($F_{3, 18} = 3.0$, $P = 0.057$) throughout the winter and remained generally around 0 °C, even close to the soil surface (10 cm), whereas minimum air temperature in January and February can reach -35.1 °C (Environnement-Canada, 2017).

The summer 2017 was cooler than the summer 2018 and 2019 (Figure 1b; $F_{2, 11} = 59.8$, $P < 0.001$). Thereafter, temperatures dropped faster in 2018 and 2019, than in 2017 ($F_{2, 112} = 97.1$, $P < 0.001$). The number of days that the soil was at 23 °C or higher – the minimum temperature required to induce flower bud production (Molina et al., 2004a) – was low at 20 cm in all three years where we recorded soil temperature (1 day in 2017 up to 12 days in 2018). This temperature was sustained for only one to five days before cooling again. Surprisingly, soil temperature did not differ among the shallower depths (10 to 25 cm) in July and August 2019 ($F_{3, 20} = 2.2$, $P = 0.126$) but reached 23°C or higher during 12 to 16 days at 10 and 15 cm depths, including 5 to 6 days in a row at the end of July.

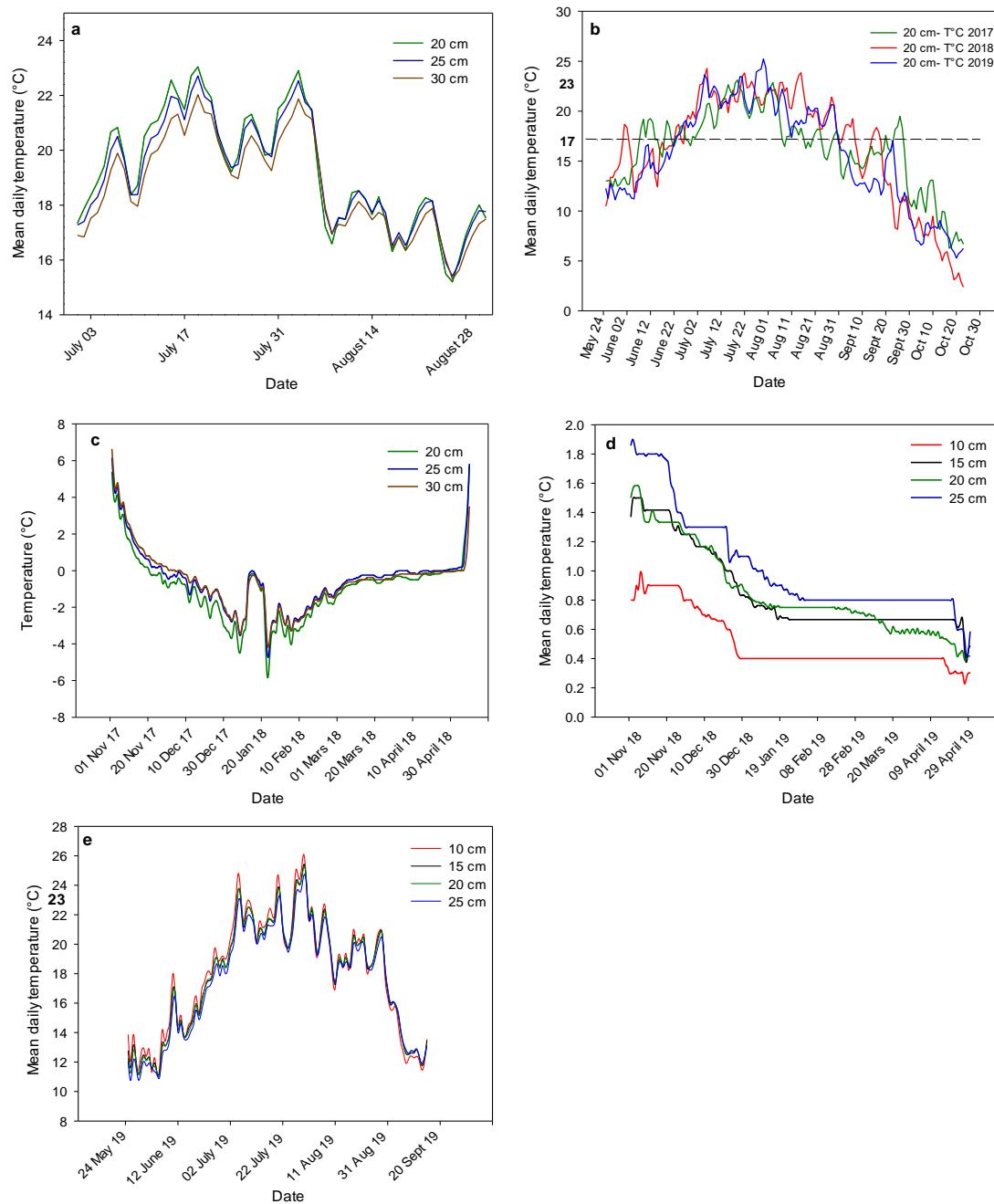


Figure 0.1: Mean daily soil temperature as a function of soil depth. a) Mean daily soil temperature measured at 20, 25 and 30 cm depths between 1 July and 31 August 2017. b) Mean daily soil temperatures measured at 20 cm depth from May to October in 2017, 2018 and 2019. c) Mean daily soil temperatures measured at 20, 25 and 30 cm depths from November 2017 to April 2018. d) Mean daily soil

temperature measured at 10, 15, 20 and 25 cm depth from November 2018 to April 2019 and e) from May 2019 to September 2019. N = 8 in 2017 and 2018, and N = 6 in 2019.

1.5.1.2. Depths of 20, 25 and 30 cm

During autumn 2016, planting depth had a significant effect on saffron shoot emergence (Figure 1.2a). Shoots started to emerge earlier from corms that were planted closer to the surface than from those that were planted deeper (Table A3); significant differences were maintained until the last survey (23 November 2016; Table 1.1). Final emergence the following spring took into account the plants that had emerged before the permanent snow cover (final emergence data from the autumn) in addition to those that had emerged under the snow during the winter minus those that emerged in the autumn but did not survive the winter. Final emergence at the end of the first growing season in spring 2017 was much higher, with more than 90% emergence in each plot, than values recorded in the autumn (Figure 1.2a); nevertheless there was still a slight but significant difference in final emergence between corms planted at 30 cm (93%) and those planted at 20 or 25 cm (99%). During the following autumn (2017), percent shoot emergence before the arrival of permanent snow cover were very much lower than in 2016 (Figure 1.2b), yet corms planted closer to the surface emerged earlier than those planted deeper (Table A3). However, at the last recording period, differences were no longer significant ($P = 0.061$; Table 1.1). During spring 2018, emergence remained very low (mean \pm SE: 24.3% \pm 8.0%) and did not differ among planting depth treatments.

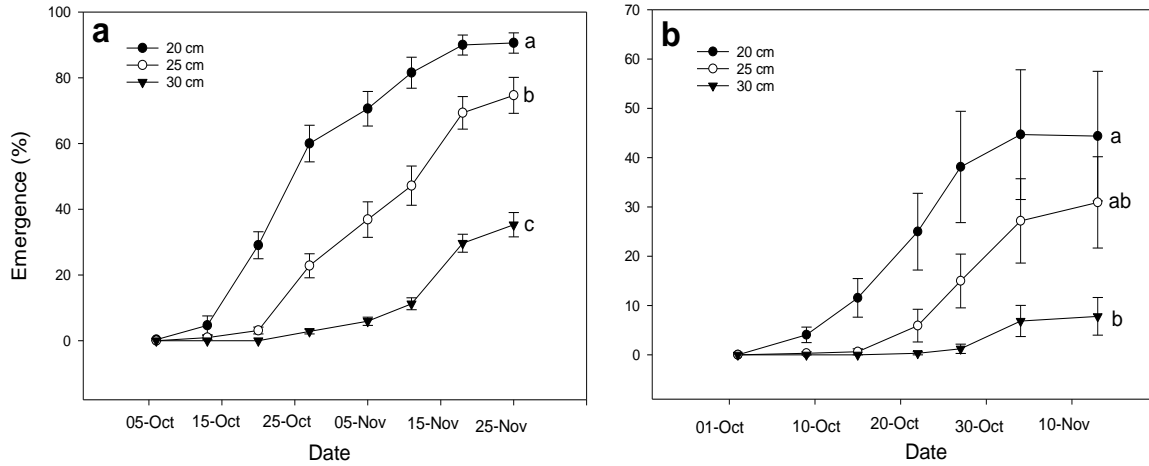


Figure 0.2: Autumn percent shoot emergence (mean \pm SE) (a) in 2016 and (b) in 2017 at 20, 25 and 30 cm depths. N = 8. Corms were planted in late summer 2016. A posteriori analyses of treatment effects following repeated measure ANOVA are presented as lowercase letters.

Insufficient numbers of flowers were available in the plots in 2016 and 2017 to perform statistical tests (average flowering rates of 2.5% and 0.8%, respectively) and to determine the effect of the treatments on flowering.

We counted the number of shoots per planted corm in spring 2017 as a proxy for the number of corms that had been produced. In 2017, corms planted at 20 cm had produced on average 3.6 ± 0.1 shoots per corm, those planted at 25 cm produced 3.2 ± 0.2 shoots, and those planted at 30 cm had produced 2.2 ± 0.1 shoots per corm; differences between the 30 cm and the two shallower treatments were significant (Table 1.1). However, both total corm mass produced per planted corm and the mass of the largest corm did not differ among treatments after one growing season.

Table 1.1: Effects of planting depth on saffron phenology, flowering and corm production for two planting depth trials and for either one or two seasons following planting. *F*-statistics and *P*-values of one-way ANOVAs are presented. Significant results are highlighted in bold. Shoot emergence during autumn was also analysed as repeated measures. See Table A3 for details of these analyses. P16: planting year 2016; S16-17: growing season from autumn 2016 to early summer 2017.

Experiment	Planting Depth				Planting Depth	
	20, 25, 30 cm		10 to 25 cm			
Planting year	P16		P18			
Growing season	S16-17	S17-18	S18-19			
Variables	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
% emergence in autumn	40.7 ^a	<0.001	3.27 ^a	0.061	72.2 ^b	<0.001
% emergence in spring	6.15 ^a	0.009	0.89 ^a	0.430	5.6 ^b	0.009
Shoots per corm	30.2 ^a	<0.001	-	-	21.5 ^c	<0.001
Total corm mass	0.3 ^a	0.735	-	-	-	-
Biomass largest corm	0.2 ^a	0.807				

^a 2, 18; ^b 3, 15; ^c 3, 18 (only half of the blocks were measured in spring 2019).

Senescence was more or less synchronous between planting depth treatments in early summer 2018 (Figure 1.3; Table A3), despite differences in the dates of emergence the previous autumn (Figure 1.2b). Although we did not record leaf senescence on a weekly basis in summer 2017, we did record the date at which all leaves had completely senesced, which was July 25th. June was colder in 2017 than in 2018 (Figure 1.1b), which likely delayed the entry into senescence of the plants in 2017.

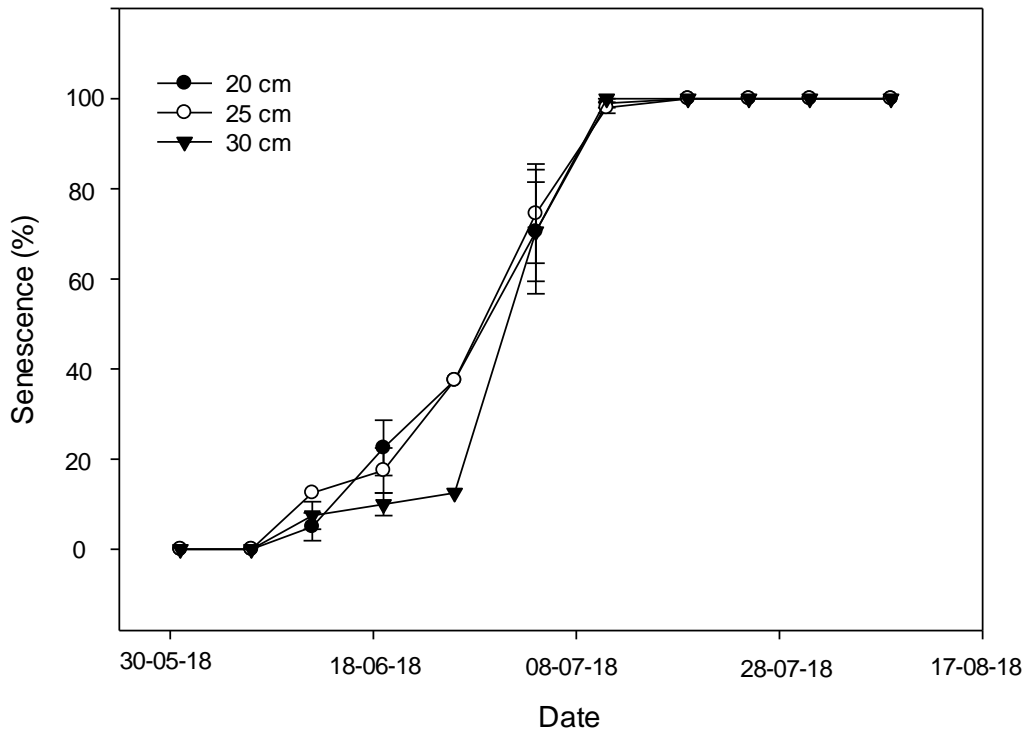


Figure 0.3: Evolution of leaf senescence in summer 2018 for corms that were planted in 2016 at different depths (20, 25 or 30 cm).

We excavated some corms during the summer 2018 in an attempt to find the cause of the low emergence that was observed in spring 2018 ($24.3\% \pm 8.0\%$). Fungal isolation tests were performed (Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection, MAPAQ), which indicated that decaying corms were infected with many non-pathogenic fungi, bacteria and nematodes, which are decomposers. We suspect that saffron did not perform well in these plots, due to the nearby forest border, which reduces the duration of daily sun exposure in the autumn, together with possible drainage problems. Therefore, it seems likely that the low emergence observed in autumn 2017 (Figure 1.2b) reflects not only a delay in emergence for corms that have been deeply planted, but also possible mortality during summer 2017.

1.5.1.3. Depth of 10, 15, 20 and 25 cm

As observed in the first trial, shoots emerged earlier and attained a higher percent emergence before snowfall for corms that were planted closer to the surface than for those that were planted deeper (Figure 1.4a,b; Tables 1.1 and A3). During autumn 2018, 90% of the corms planted at 10 cm depth had emerged by early October, whereas about 20% of corms at 20 cm had produced an emerging shoot by the end of October. Despite a high level of leaf emergence for shallow planted corms, none of them flowered. We suspect that cold temperatures that were recorded during autumn 2018 (Figure 1.1b) would explain the absence of flowers in the plots, despite high leaf emergence. Spring emergence was significantly different among depths the next spring, although most corms had produced at least one shoot, i.e., around 98.3% of corms that were planted at 10 cm depth and 93.8% of corms that were planted at 25 cm. The effect of planting depth on shoot production was also evident in this experiment, with an increasing number of shoots produced as planting depth decreased. As corms planted at 10 or 15 cm were exposed for a longer period to 23 °C or more during summer compared to those that were planted deeper (Figure 1.1d), this should have improved their flowering rate. Yet, shoot emergence the following autumn (2019) was much lower than in 2018 (Figure 1.4) and almost none flowered, despite similar soil temperatures during the autumn of the two years. Differences among depths exhibited very similar patterns in 2018 and 2019.

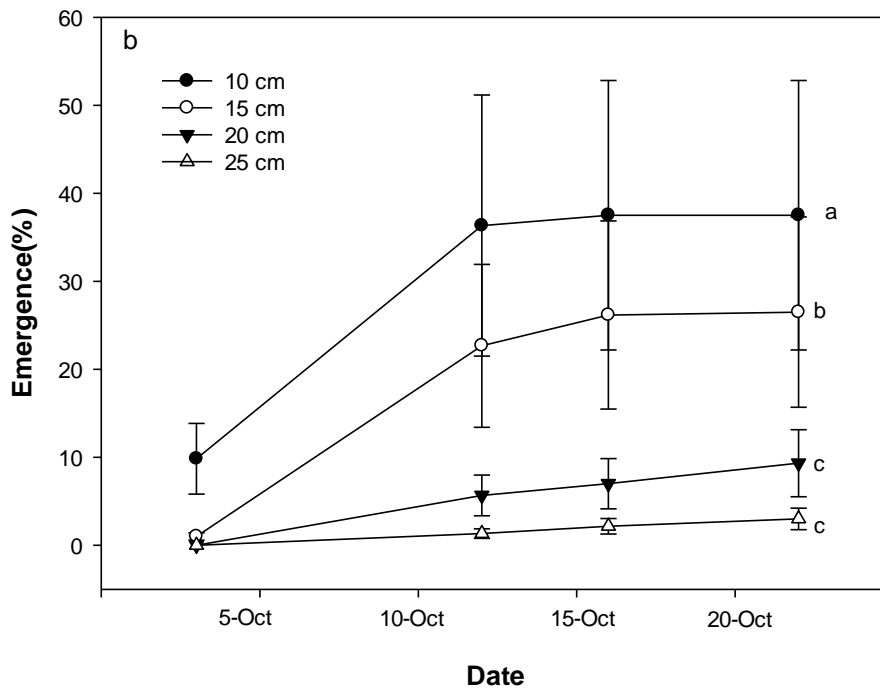
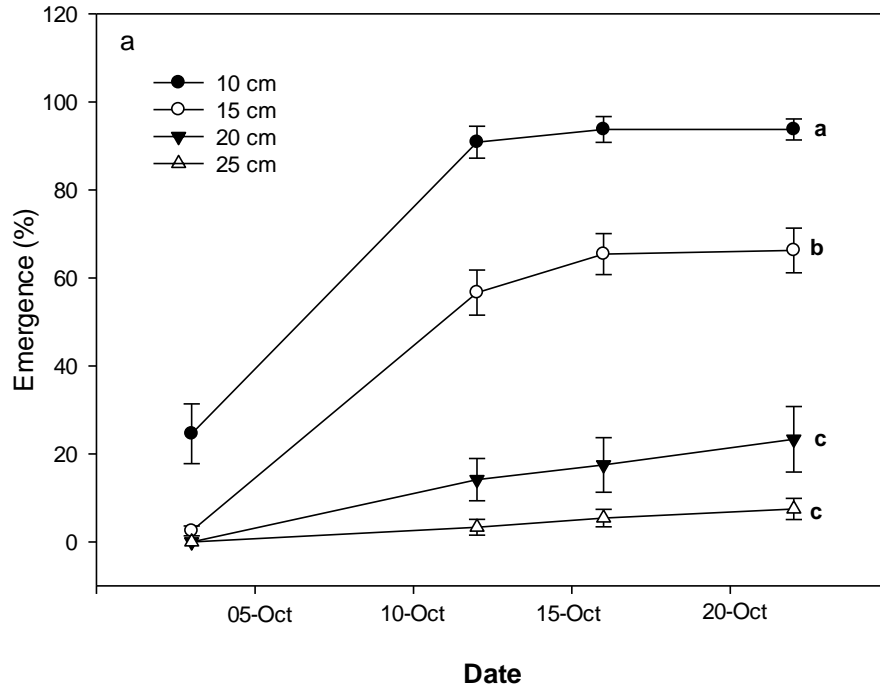


Figure 1.4: Percent shoot emergence (mean \pm SE) in autumn 2018 (a) and autumn 2019 (b) for corms planted in 2018 at 10, 15, 20 and 25 cm depths; N = 6. A posteriori analyses of treatment effects following repeated measure ANOVA are presented as lowercase letters.

1.5.1.4. Discussion

As expected, soil temperature decreased with depth during the summer, although to a much lower degree than expected. Cavins and Dole (2002) reported much larger differences in temperatures between 15 and 30 cm on raised field beds as soon as the soil warmed up in late spring. We suspect that the narrow width (about 1.0 m wide) of the raised beds in the present study strongly increased heat exchange with the air, reducing the difference between depths compared to flat planting conditions. Similarly, winter temperatures only differed by about 0.5 °C, but in this case, a heavy snow blanket might explain the homogeneity of temperatures across depths. Nevertheless, planting on raised beds is necessary to improve drainage as saffron is sensitive to wet soil conditions (Kumar and Sharma, 2018).

We reported delayed emergence of the leaves for corms that had been planted deeper. We expect this effect to be simply due to the longer distance the shoot must travel before reaching the soil surface, as have been suggested for spring geophytes (Hagiladi et al., 1992; Lubbe and Henry, 2019). Under warmer climates such as those in Iran, which accounts for 90% of world saffron production (Jahan and Jahani, 2007), shoots from deeper corms emerged a few days ahead of those that had been planted closer to the surface (Galavi et al., 2008). The authors attributed this effect to cooler temperature to which the corms are exposed in deeper soil, which can induce faster shoot emergence. Indeed, shoot emergence can take place at a range of temperatures, but temperatures around 17 °C hasten shoot growth compared to either warmer or cooler temperatures (Molina et al., 2010). In the present study, the soil reached near 17 °C at about the same time at all depths, which occurred between mid-August and early September, depending upon the year (Figure 1.1a,b,d). The delay in emergence at greater depth is thus most likely due to the greater distance that the shoot must travel before reaching the soil surface.

In Iran, corms planted at 15 cm produced more flowers than those planted at either 10 or 20 cm (Galavi et al., 2008), while in another Iranian study, corms that were planted at 20 cm produced more flowers than either at 10 or 30 cm (Vafabakhsh et al., 2010). In India, it is recommended that growers plant corms 15 cm deep (Alam, 2007), whereas in Italy, corms are planted at 10 to 20 cm if they are cultivated as a perennial crop (Gresta et al., 2008b). The

results from the present study suggest that 10 to 15 cm might also be the optimal planting depth for cultivation of saffron under a colder climate. Snow cover was most likely sufficient in this site to maintain the temperature near 0 °C throughout the winter months, even at 10 cm below the soil surface, based on the data that we collected in the 2018-2019 season. Frost risk thus appears to be low even at 10 cm and we could expect that planting saffron 10 to 15 cm deep would not put the plant at great risk of frost damage either during late autumn or early spring in locations where the snow cover establishes early and melts after air temperature has increased above 0 °C. In areas where snow cover is not constant throughout the winter, damage could occur to shallow planted corms, as suggested by Kumar et al. (2008).

Planting depth influences not only shoot emergence, as shown in the present study, but also affects many growth parameters such as leaf width, leaf and flower number, corm diameter and contractile root production both in saffron (Galavi et al., 2008), and in bulbous species such as *Allium tuncelianum* (Kizil and Khawar, 2015) and *Narcissus* cultivars (Hagiladi et al., 1992). Another response that has been reported repeatedly in saffron is the stimulatory effects that shallow depth has on corm production (Galavi et al., 2008; Kumar et al., 2008). Production of many small corms reduces the size of the main corm (Galavi et al., 2008), thereby negatively affecting the production of saffron spice from the main corms. Small corms (< 10 g) can take many years before they attain the size where they can successfully flower (Kumar et al., 2008). Yet, they will compete with one another and with the larger corms for nutrients. Therefore, shallow planting might require more frequent excavation and replanting of the corms, but this disadvantage could be more than offset by a higher yearly saffron yield that is associated with earlier emergence under cool climates. Corm depth did not influence the timing of leaf senescence, which appears to be induced by a period of high temperature in late spring, and early summer. Senescence occurred late compared to what has been reported under warmer climates (Kumar et al., 2008). The dormancy period, therefore, is shortened considerably under cool climates.

None of the treatments led to flower and saffron production. In the first trial, the location of the site was apparently not suitable. In the second trial, soil temperatures appeared to be too

cold to allow for flower production in the first autumn (2018) and to induce flower bud formation in the second growing season (2019).

1.5.2. Floral Induction

No buds were visible on the corms during the spring and early summer on control corms harvested the summer 2018 (Figure 1.5a). We started noticing the presence of a bud by early August (Figure 1.5b), and the shoot became apparent by mid-September (Figure 1.5c). Molina et al. (2004a) reported that it takes about two months following leaf senescence before floral initiation takes place in saffron. Flower initiation also occurs early August in Spain, as is the case in Azerbaijan (Azizbekova and Milyaeva, 1999). Therefore, despite the fact that we relied on a somewhat rudimentary observation of the bud development under a binocular microscope rather than on thin histological sections observed under a light microscope, we are confident that bud development did not take place much earlier than early August. Therefore, we can conclude that, corms must be exposed to temperatures that are necessary to induce flower initiation prior to early August. Earlier work has shown that optimal soil temperatures that are required for floral induction vary between 23 and 27 °C, and corms need to remain at these temperatures for 10 to 12 weeks (Molina et al., 2005) to induce maximum flower production. After an exposure to 25 °C for 30 days, plants reached 70% of maximum flowering. We are obviously below these expected conditions, with an average soil temperature of 20 to 22 °C for a duration of 6 weeks from early July to mid-August, depending on the year (Figure 1.1). Soil temperature remains too cool in the summer in our site, especially at greater depths, which most likely restricted flower induction. We suspect that autumn temperatures also played a role, since corms conditioned under warm climates, then planted at the end of the summer, also exhibited very limited flowering.

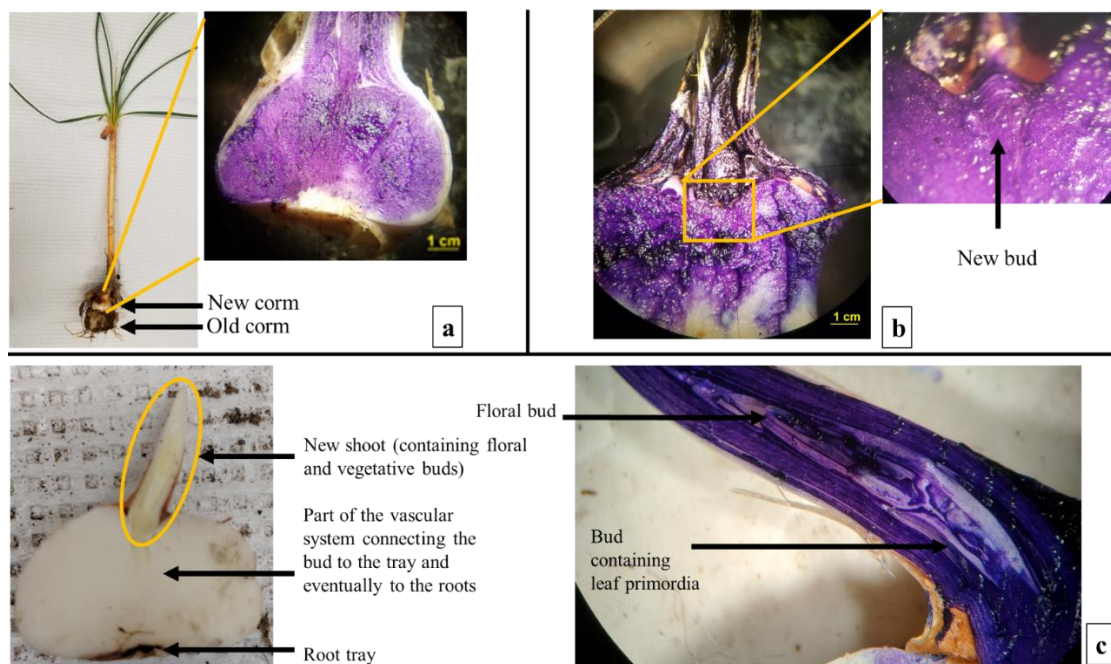


Figure 0.5: Saffron bud development during the summer. a) First week of sampling (late-May); b) 8th week of sampling (early August); c) 14th week of sampling (mid-September). Corm sections were stained with Toluidine Blue O colorant (TBO), and observed at 10 X.

1.5.3. Planting Period

Leaf emergence was affected by corm planting period. In 2017, shoots of corms that had been planted in early September emerged later compared to those of corms that were planted in late July or August, although at the last recording date (4 November 2017) differences were no longer significant (Figure 1.6a; Tables 1.2 and A3). The planting period also had a significant effect on the number of flowers (Figure 1.6b) and the quantity of dry saffron harvested per m² (Figure A7; Table 1.2). Despite very similar shoot emergence among the three first planting dates, corms planted on late August 2017 produced twice as many flowers and dry saffron compared to those planted at the other three periods. The average percent flowering for this experiment was 29% (data not shown).

In 2018, temperatures during the flowering period were much lower than in the previous year (Figure 1.1b). The low percent emergence (Figure 1.7) and the small shoot size at the time

of snow arrival (pers. obs.) most likely explained the absence of flowers. There were no statistical differences among planting dates on the phenology of leaf emergence in 2018 (Table A3). Nevertheless, corms planted in early September exhibited a slight delay in emergence as was the case in 2017, a delay that they recovered towards the end of the season, similarly to what was observed in 2017.

Tableau 1.2: Effects of planting date on saffron phenology, flowering and corm production. F-statistics and P-values of two-way ANOVAs are presented for autumn and spring emergence, testing the effect of planting date, year and their interaction. Flower and saffron production, together with corm mass, were monitored only for corms that were planted in 2017. Significant results are highlighted in bold. Shoot emergence during autumn was also analysed as repeated measures. See Table A3 for details of these analyses.

Variables	Planting date^a		Year		Date × Year	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
% emergence in autumn ^b	0.18	0.912	3.68	0.067	1.07	0.382
% emergence in spring ^b	5.69	0.004	23.7	<0.001	2.79	0.062
Flower number ^c	9.23	0.002	-	-	-	-
Dry saffron ^c	5.59	0.012	-	-	-	-
Shoots per corm ^c	0.31	0.817	-	-	-	-
Corm number ^c	2.62	0.099	-	-	-	-
Total corm mass ^c	0.20	0.895	-	-	-	-
Mass of the largest corm ^c	0.79	0.522	-	-	-	-

^a degrees of freedom for Planting Date: 3, for Year : 1, for the interaction: 3.

^b degrees of freedom for the error term: 24; ^c degrees of freedom for the error term: 12.

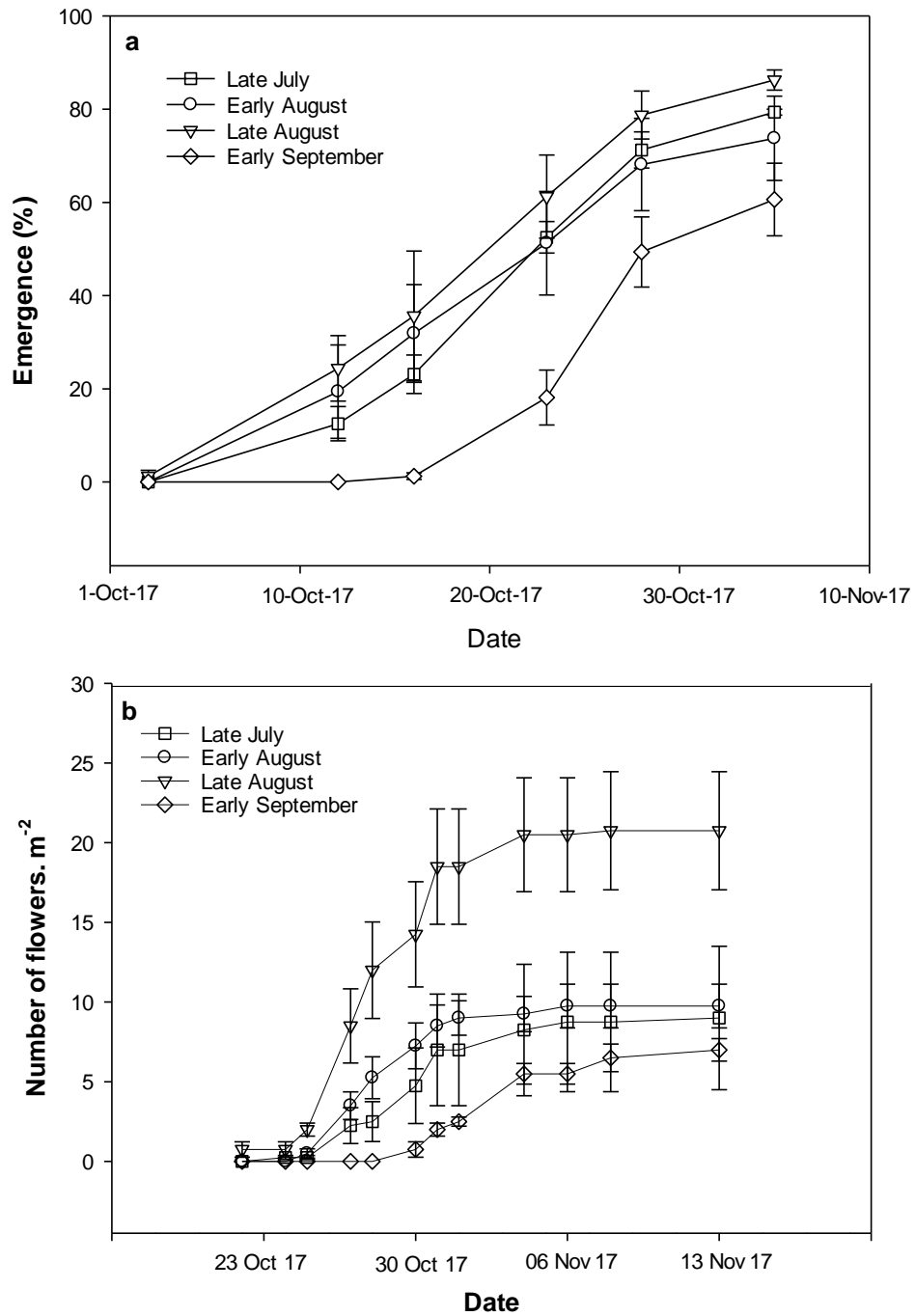


Figure 0.6: (a) Evolution of shoot emergence and (b) cumulative number of flowers harvested in autumn 2017 for corms planted at different dates during summer 2017. Mean \pm SE; N = 4.

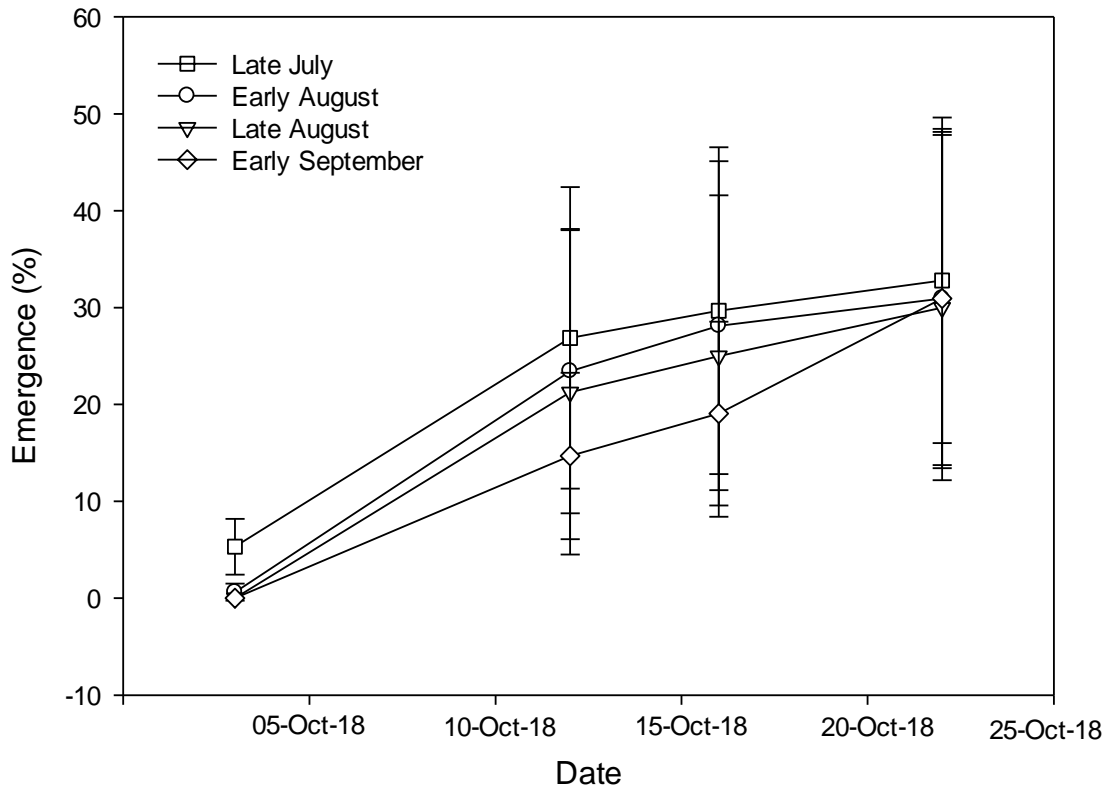


Figure 0.7: Evolution of shoot emergence in the autumn of 2018 (mean \pm SE) for corms planted at different dates during late summer 2018. N = 4.

In both years, shoot emergence continued throughout the winter; by spring 2018, it had reached around 90% for all planting dates (Figure 1.8; Table 1.2), whereas for corms planted in summer 2018, we noted a lower final emergence, averaging 72%, the following spring compared to those planted in the summer 2017. Shoot emergence from corms that were planted in early September was lower than for those planted at the end of August 2018, confirming that early September is too late for saffron planting in this location, as it delayed shoot emergence in the autumn in both years and reduced final emergence the following spring in 2018.

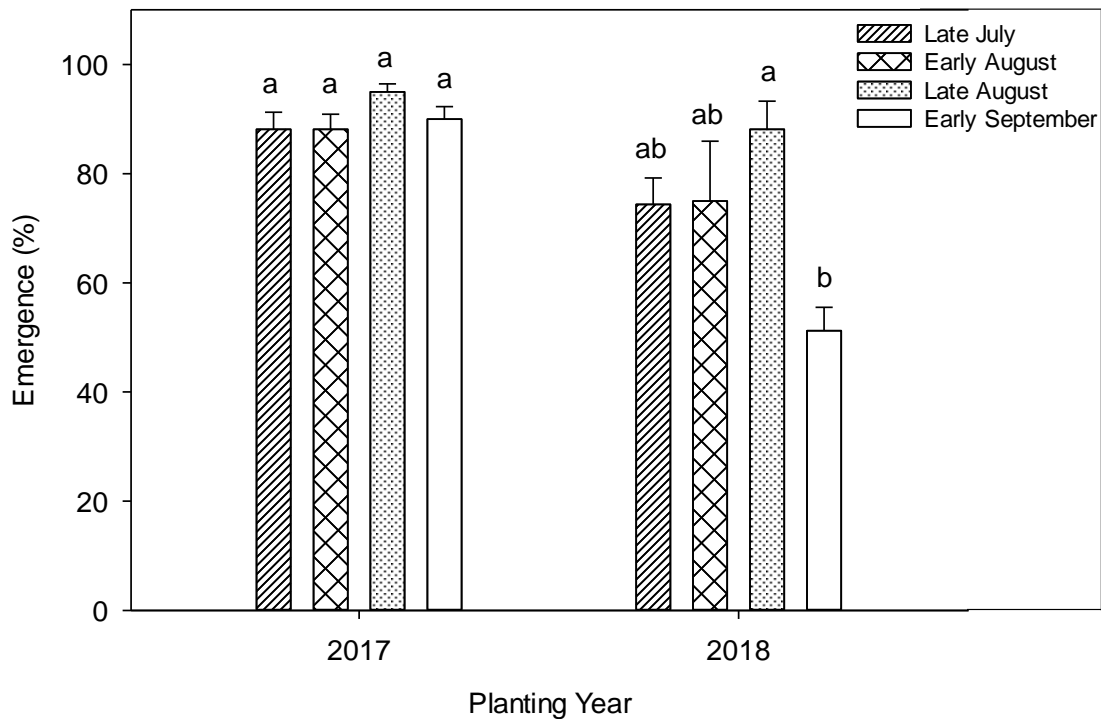


Figure 1.8: Final shoot emergence (mean \pm SE) the following spring for corms planted in 2017 and 2018 according to corm planting dates; N = 4.

As for the planting depth experiment (Figure 1.3), leaf senescence in early summer 2018 was relatively synchronous among all planting date treatments of 2017 (data not shown; Table A3). Weather conditions had a pre-eminent effect on leaf senescence in early summer, overcoming the effects of variation in date of shoot emergence during the previous autumn. After one growing season, corms have similar masses regardless of planting date (Table 1.2). Therefore, emergence later during the autumn did not influence biomass that the plant had accumulated in the corm by the end of the season. This is in accordance with what we reported in the planting depth experiment where corms planted deeper emerged later in the autumn, but produced similar size corms after one growing season as those planted shallower.

Some studies have demonstrated that the optimum period for planting saffron corms is between June 5 and July 5, i.e., immediately after corms enter dormancy (Bayat et al., 2016).

These periods are suitable for warmer climates where senescence occurs early in the summer, although much later planting dates (mid-September up to October) have been reported in warmer climates (Gresta et al., 2008b). There are many factors suggesting that early planting is not suitable under colder climates. Temperature of exposure is more easily controlled for corms that are exposed to air than for those exposed to soil temperatures. As mentioned previously, soil temperature in the present location was cool and the warmest period did not last long enough to optimize floral induction. Keeping the corms at warm temperature indoors and planting them in late summer might be a better strategy to insure sufficient exposure to warm temperatures. Even in Spain, where corms enter dormancy in early June, excavating corms in mid-July and transferring them to 17 °C – the temperature at which shoot growth is fastest – did reduce the number of flowers that were produced to 0.25 flower per corm, whereas if these lifted corms are incubated at 25 °C until early September, they can produce 2.25 flowers per corm (Molina et al., 2005). Logistic reasons also favour planting later in the summer under colder climates. Corms enter dormancy in early July in Quebec (pers. obs., G-A. Landry). They cannot be harvested, sorted out, and shipped before mid-July at the earliest, which is when we received the corms from a local producer for this experiment, whereas those from abroad are not available before mid-August. If corms become available earlier in the season, it would nevertheless be preferable to keep them inside under warm temperature and plant them at the end of the summer to insure optimal temperature exposure during the summer.

Leaf senescence was greatly delayed in the present study compared to what has been reported in different regions where saffron is grown. In Spain, leaf senescence is completed by early June (Molina et al., 2005), whereas in India and Iran, it is completed by early May (Kumar et al., 2008; Fallahi and Mahmoodi, 2018). Even in cooler climates such as England, leaf senescence is well advanced by mid-May (Yadollahi et al., 2007). Therefore, it appears that the delay in senescence can be attributed to the long period under snow cover, where carbon fixation cannot take place. Despite warmer temperatures in June, the plant remains active to complete its annual life cycle.

One group of agronomic species grown under cool climate that exhibits a very long life cycle are winter cereals. Seeding takes place in the autumn and grain harvest the following summer.

Knapp and Knapp (1978) studied the response of winter wheat (*Triticum aestivum*) in central New York state to the date of seeding (from the end of August to the third week of October) and found that wheat planted in mid- to late-September had greater winter survival and produced significantly more grain with a higher test weight than did those that had been planted later. Indeed, winter survival appears to be the main factor explaining the reduced yield in winter cereals that are planted late, whereas autumn weather conditions play a more important role in saffron. Nevertheless, the effects of earlier cereal planting varied between years due to differences in autumn weather conditions. We also observed variation among years, but early September appears to be too late for planting saffron corms in the present location. This experiment would need to be repeated in different locations to confirm the optimal planting dates for saffron under northern climates.

1.5.4. Fertilization

1.5.4.1. Emergence

Fertilization stimulated an early shoot emergence (Figure 1.9; Table A4). This positive effect of fertilization on emergence was still evident at the last recording date (4 November 2017; Table A5), whereas the addition of mycorrhizal fungi had a marginally positive effect on the emergence at the last recording date in autumn ($P = 0.064$). The average percent flowering in 2017 for this trial was 71%, with an average 14.1 flowers per m². None of the treatments influenced the rate at which flowers were produced (Table A4) or the total number of flowers that were produced (Table A5). The mycorrhiza by biostimulant interaction had a significant effect on dry saffron yield (Figure A8). Plots where mycorrhizal fungi but no biostimulants were added produced more dry saffron (1.13 g) than plots without mycorrhizal fungi and biostimulants (0.86 g) or plots that were treated with Turitek (around 0.76 g; with or without mycorrhizal fungi addition). This effect of mycorrhizal fungi might be due to the slightly higher shoot emergence that was recorded in the plots where their spores had been added. In spring 2018, regardless of the treatment that was applied, the final emergence was high, exceeding 90% in most plots (data not shown). Differences between fertilized and non-fertilized plots were no longer apparent (Table A5).

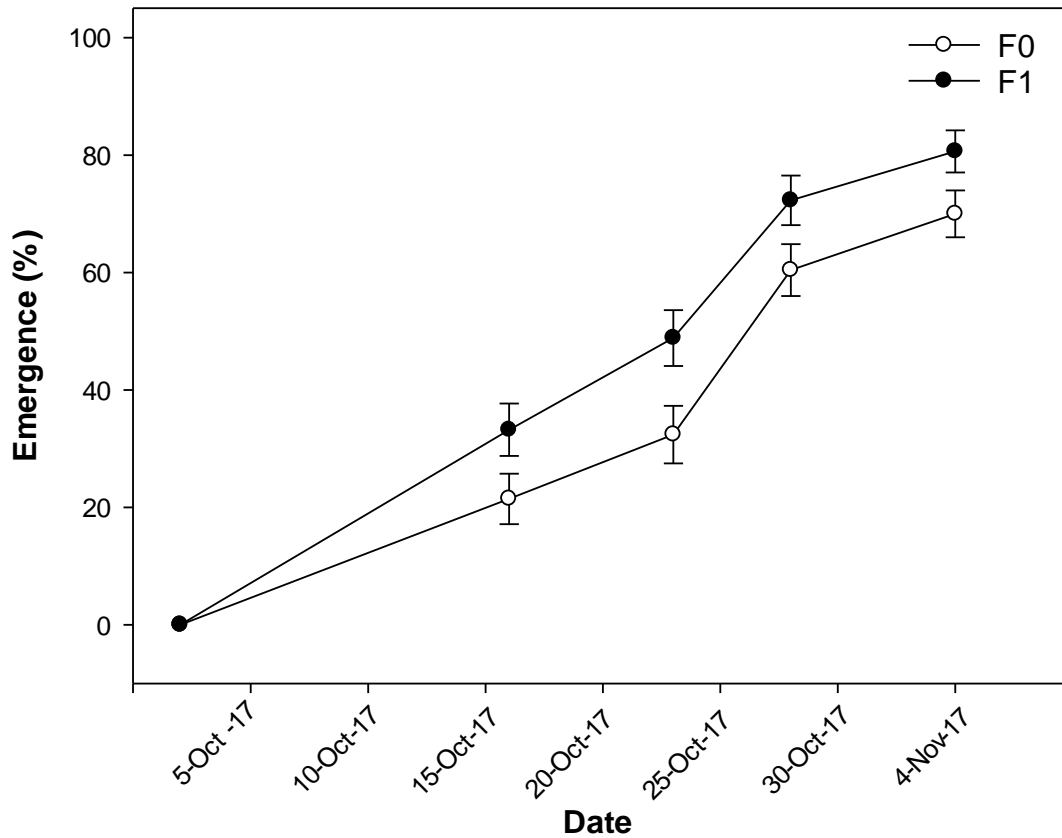


Figure 1.9: Evolution of shoot emergence (mean \pm SE) in autumn 2017 for corms that were planted in 2017 according to the different treatments of fertilization that were applied. F0, no fertilization; F1, fertilization. N = 4.

1.5.4.2. Effects of Fertilization on Corm Production

Fertilization stimulated the production of corms, both in terms of number and total corm mass (Figure 1.10a,b; Table A5). The largest corm produced per planted corm was also greater in the fertilized than in the non-fertilized plots (Figure 1.10c). The only negative effect of the fertilization treatment was a reduction in the mean corm mass (Figure 1.10d), most likely due to production of a larger number of very small corms. Knowing that the recommended fresh mass ensuring flower production is 10 g (Kumar et al., 2008), the largest corm that is produced is sufficiently large to flower, but many small ones are not. The addition of mycorrhizal fungi or biostimulants did not influence corm production.

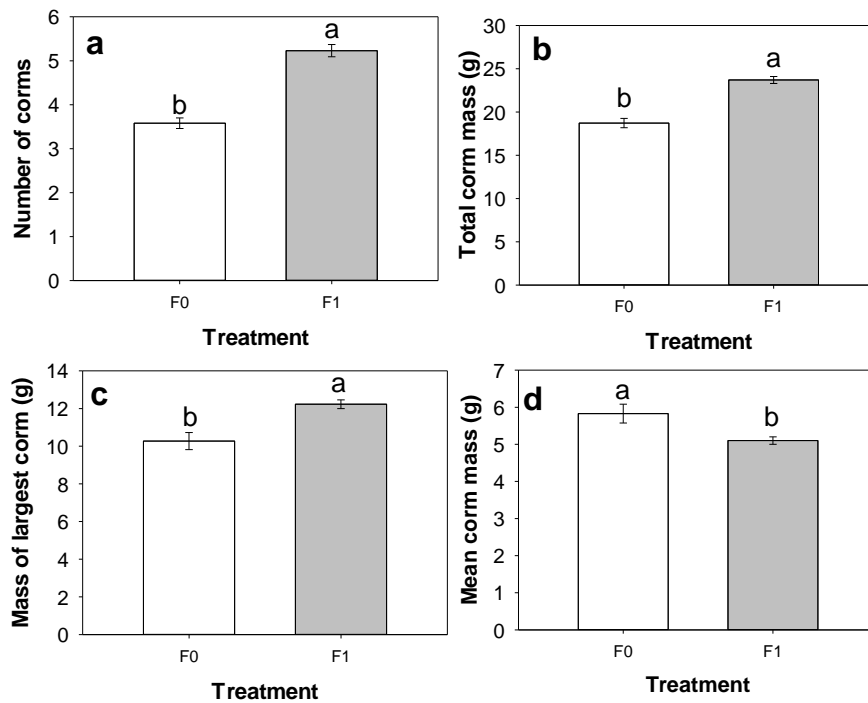


Figure 1.10: Effects of fertilization on the number of corms, total corm fresh mass, the fresh mass of the largest corm and the mean corm fresh mass (mean \pm SE) that were harvested after one complete growing season (June 2018). N = 4. F0 = non-fertilized plants; F1 = fertilized plants.

1.5.4.3. Effects of Fertilization on Nutrients and Root Mycorrhizal Infection

As was the case for the other variables, fertilization was the only treatment that did influence nutrient accumulation in corms (Table A5). Under fertilization, absorption of N and Mg increased, whereas absorption of P decreased (Figure 1.11). Potassium and Ca concentrations were not affected by the fertilizer treatment. As has been reported for the other experiments (Planting Depth and Planting Date), senescence in early summer 2018 was relatively synchronous among treatments (Table A4). By July 25, most plants had reached 100% senescence.

Fertilization also affected root mycorrhizal colonization. In unfertilized plots, the mean mycorrhizal colonization in saffron roots was $20.4\% \pm 10.2\%$ and about one-fifth of the infected root segments contained arbuscules ($20.6\% \pm 10.6\%$). In fertilized plots, mean

mycorrhizal colonization was much lower, i.e., at around $5.8\% \pm 4.9\%$, and only $6.0\% \pm 4.3\%$ of the infected segments had arbuscules.

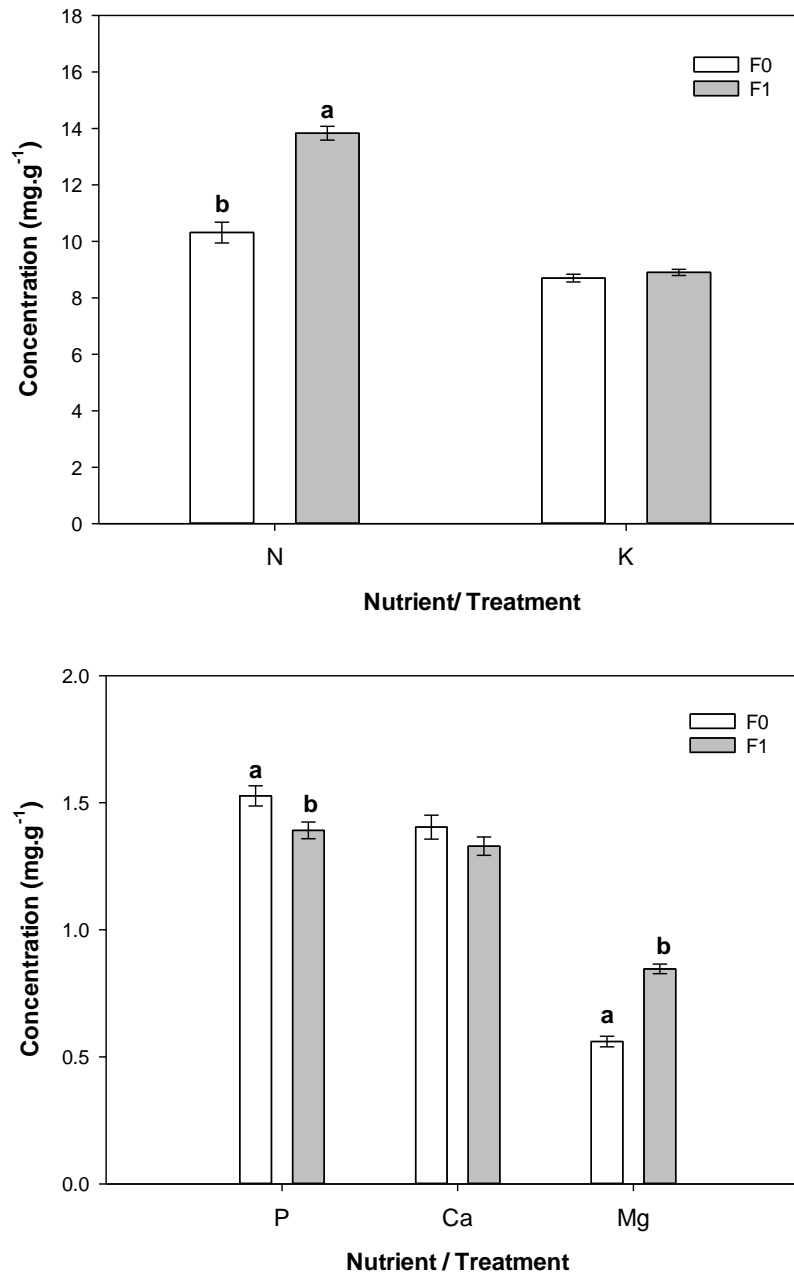


Figure 0.11: Effects of fertilization on corm N, K, P, Ca and Mg concentrations after one complete growing season (June 2018); N= 4 . F0 = non-fertilized plants; F1 = fertilized plants.

1.5.4.4. Discussion

Fertilization hastened shoot emergence the first autumn but had no effect on flower production, contrary to what has been reported by other researchers. Both flower number and saffron yield were improved when complete foliar fertilizer (Hosseini et al., 2004; Khorramdel et al., 2015), manure (Jahan and Jahani, 2007; Koocheki and Seyyedi, 2015; Ghanbari et al., 2019), a combination of manure and chemical fertilizer (Amiri, 2008), or vermicompost was applied (Jami et al., 2020). The effect of vermicompost and mycorrhiza addition on flower production lasted at least two years, and leaf area and dry mass were also stimulated. Addition of manure or other sources of organic matter is recommended in saffron production, due to the very low level of organic matter (< 0.5%) in most saffron fields (Amiri, 2008; Koocheki and Seyyedi, 2015; Fallahi and Mahmoodi, 2018; Ghanbari et al., 2019). Carbon reached 3.5% in the present study (Table A2). In richer soil containing 1% organic matter, the addition of N as urea or NPK induced a larger gain in saffron yield than the addition of manure, whereas in a poorer soil, manure had a greater impact than did chemical fertilizer (Behzad et al., 1992). Therefore, application of chemical fertilizers was justified, despite its limited impact at least during the planting year.

Fertilization had a modest impact on saffron growth, but it did improve N and Mg concentrations, indicating that the plants were able to absorb at least part of the nutrients from the fertilizer. Seyyedi et al. (2018) also reported increased N concentrations in corms that had been fertilized, but the increase was more important in large corms than in smaller daughter corms. We reported N concentrations of 14 mg g⁻¹ for fertilized plants, whereas the previous authors reported between 9 and 12 mg g⁻¹, depending upon the corm size after one single season, which most likely reflected similar N concentrations in both studies. Lone et al. (2016) reported N concentrations between 14 and 18 mg g⁻¹, but these corms were harvested after 120 days (September to January) and, therefore, they might be overestimating the nutrient concentrations, given that carbohydrate reserves are not at their maxima at this time of the year (Renau-Morata et al., 2012; Lopez-Corcoles et al., 2015; Fallahi and Mahmoodi, 2018). Similarly, phosphorus levels in the present study are in the middle range of what Seyyedi et al. (2018) reported for their different corm size classes after one growing season. The absence of flowers during the second autumn (2018, data not shown) is most

likely not due to low nutrient availability, but rather to low temperatures either during the summer or the autumn as discussed previously.

Saffron produces a coarse root system with thick, unbranched roots (Figure 1.3a). Such a root system limits the plant's ability to search the soil for nutrients. Arbuscular mycorrhizal fungi intensively colonize this type of root system and generally have a significant effect on the growth and yield of these plant species (Baylis, 1975). It is thus surprising that the addition of mycorrhizal fungi spores at planting did not improve the colonization, above that recorded from natural sources. These spores contain *Rhizophagus intraradices* (formerly *Glomus intraradices*), a species that has been reported to infect saffron roots (Caser et al., 2019a). Aimo et al. (2010) showed that mycorrhizal fungi in the genus *Glomus* help increase the diameter of the saffron corms in the first year and induce a higher flower production in the second year of growth. The timing of flowering is also affected by beneficial microorganisms (Aimo et al., 2010). In another study, *Rhizophagus intraradices* alone did not improve flower and saffron yield or corm size (Caser et al., 2019b). Only when *Rhizophagus intraradices* was combined with *Funneliformis mossae* (formerly *Glomus mossae*) did flower number and saffron yield increase. In another study, addition of *Funneliformis mossae* also improved flower and stigma production in saffron (Ghanbari et al., 2019). The lack of an effect in the present study cannot be related to the intensity of mycorrhizal colonization, as Aimo et al. (2010) reported a mycorrhizal colonization in saffron that varies between 10 and 30%, while ours varied between 0.07 and 55.2%, with an average of 13%. Further essays should be carried using *Funneliformis mossae*, as two studies indicated improved yield when saffron was infected with this mycorrhizal fungi.

Fertilization depressed the level of arbuscular mycorrhizal colonization in saffron roots even further, as has been repeatedly shown in the literature (Elbon and Whalen, 2015). This reduction in mycorrhizal colonization level in the fertilized plots might explain reductions in P concentrations, as was observed in fertilized plants. Indeed, positive plant growth responses to arbuscular mycorrhizal colonization are frequently attributed to increased P uptake through the symbiosis (Smith and Smith, 2012). Despite the addition of P in fertilized plots, the podzolic nature of soils in the area might limit P availability. Soils in the plots had an acidic pH around 5.3 (Table A2), and are rich in iron and aluminum, which bind phosphorus

very strongly and make it unavailable (Penn and Camberato, 2019). Phosphorus added through fertilization might have ended up mostly adsorbed by the soil colloids. We conclude that saffron could benefit from mycorrhizal symbioses, but we still need to determine the best technique and fungal species to ensure arbuscular mycorrhizal colonization of saffron roots at planting.

Biostimulants had very limited impact on saffron. We reported a complex interaction between biostimulants and mycorrhizal fungi addition on saffron yield, but no other variable was influenced by the presence of either biostimulant. Some studies have reported positive effects of different biostimulants (Deh-Arbab et al., 2019), including some that contain *Pseudomonas* (Aimo et al., 2010; Ambardar and Vakhlu, 2013), a bacterium that is present in the EarthAlive biostimulant that we tested. As is the case for fertilizers, mycorrhizal fungi and biostimulant-specific compositions might strongly influence plant response; further tests will be required to identify the best composition that improves plant growth, mineral nutrition and protection against disease.

1.6. Conclusion

This study allowed us to characterize the effects of planting depth and planting date on saffron phenology, flower production, and corm biomass. Shallow planting at 10 to 15 cm depth should be favoured, although corm proliferation might reduce their capacity to flower. Nevertheless, the strongly reduced flowering during the second growing season, which we observed in all experiments, is most likely due to the soil temperature being not warm enough and for too short a duration to stimulate floral induction in July, or to the fast cooling of temperature during autumn, even when corms are planted closer to the surface. Corms must be planted before September to avoid delay in leaf and flower emergence. Fertilization improved corm growth, but we did not record any effect on flowering due to low temperature in the autumn of the second season. Mycorrhizal colonization remained low, around 20%, and most likely originated from native sources. Neither biostimulant had a significant effect on saffron growth and yield. Other compositions of mycorrhizal fungi and biostimulants would need to be tested to identify those that are most compatible with saffron and the

specific soil conditions at the growing site. Techniques that can improve soil temperature, such as the application of solar mulch during dormancy, as well as plastic tunnels would be worth trying in an effort to come closer to the optimal temperature condition for saffron flower production. Indeed, caterpillar tunnels installed after snow melt and removed in late autumn are presently being tested to determine whether they can improve soil temperature to the point of increasing and stabilizing saffron yield. Other aspects that could influence saffron yield, such as soil physicochemical properties, would also need to be assessed to obtain a more complete description of the growing conditions that optimize saffron yield under northern climates.

Conclusion

Ce projet visait à évaluer l'impact de certains aspects de la régie de culture du safran lors de la plantation des cormes, afin de l'adapter aux conditions climatiques et édaphiques de la région de Baie St-Paul. Nous avons premièrement testé différentes profondeurs de plantation. L'émergence des feuilles et des fleurs est retardée et plus faible avec l'augmentation de la profondeur de plantation ce qui diminue les rendements en safran. Dans ce secteur, le couvert nival s'installe tôt et est important, ce qui fait que le sol ne gèle que très rarement (température autour de 0°C). Il n'est donc pas nécessaire de planter les cormes en profondeur pour éviter le gel. D'ailleurs, une comparaison des taux d'émergence à la fin de l'automne vs au printemps montre une augmentation sauf dans les cas où la majorité des plants avaient déjà émergé, indiquant d'une part une faible mortalité hivernale et d'autre part que les feuilles continuent à croître, bien que très lentement, durant l'hiver. Le deuxième essai nous a permis de constater que même à 10 cm les cormes survivent très bien. Il faudra établir la profondeur optimale qui favorise une émergence hâtive, une exposition à des températures élevées à l'été et à l'automne tout en limitant une division excessive des cormes qui n'est pas du tout favorable à la production de fleurs.

Les rendements en safran peuvent être également influencés par la période de plantation. La meilleure période de plantation au Québec semble être de la fin juillet jusqu'à la troisième semaine du mois d'août, bien que les résultats diffèrent un peu d'une année à l'autre. Il est cependant clair qu'il faut éviter de planter en septembre. Nous ne savons pas si une plantation hâtive telle celle proposée dans certains pays producteurs (Gresta et al., 2008a; Tookaloo et al., 2010) pourraient être bénéfiques, mais pour le moment, il est impossible d'obtenir des cormes pour une plantation en juin ou début juillet. La température d'exposition durant la dormance étant cruciale pour l'induction florale, il y a tout de même fort à parier qu'une plantation en début d'été au Québec ne serait pas bénéfique de toute façon.

La fertilisation biologique appliquée au moment de la plantation a stimulé une émergence plus hâtive à l'automne mais sans impact sur les rendements en safran. Elle a également permis une meilleure croissance des cormes et une teneur plus élevée en nutriments. Il semble donc important de fertiliser lors de la plantation, bien que différentes combinaisons de

fertilisants devront être testés. Le taux de mycorhization des racines était relativement faible, autour de 20%, en absence de fertilisation, alors qu'en présence de fertilisation ce taux était encore plus faible. De plus, ces taux de mycorhization étaient observés tant dans les parcelles où des spores de champignons mycorhiziens avaient été ajoutés que dans les parcelles sans ajout de champignons mycorhiziens. Il est possible que la souche commerciale utilisée, *Glomus intraradices*, ne soit pas appropriée pour le safran, bien que des essais d'innoculation contenant à la fois du *Glomus intraradices* et du *Glomus mossae* semblent avoir fonctionné (Lone et al., 2016). Malheureusement, ces auteurs n'ont pas estimé le taux de mycorhization, mais les plants mycorhizés contenaient davantage de nutriments que ceux non mycorhizés. Le taux de mycorhization des racines de safran varie au cours du temps et est maximum en mars et avril du moins en Iran et au Cachemire (Kianmehr, 1981; Lone et al., 2016). Un suivi à la fin de l'automne et au tout début du printemps aurait permis de vérifier si les taux de mycorhization étaient plus élevés qu'en fin de saison. Finalement, les deux biostimulants que nous avons testés n'ont eu aucun effet sur le safran. Évidemment, d'autres biostimulants présentant des compositions différentes du Turitek et du EarthAlive, pourraient s'avérer bénéfiques.

Le cycle de vie du safran est modifié par les conditions climatiques. Bien que l'émergence des feuilles et des fleurs débutent à peu près au même moment ici qu'en région méditerranéenne, celle des fleurs se termine abruptement avec l'arrivée du froid et de la neige. La présence d'un couvert nival pendant de longs mois combinés à un printemps frais par rapport au climat méditerranéen, prolonge la durée de vie des feuilles du safran cultivé au Québec. En soi, cette prolongation n'est pas problématique sauf pour le fait que la dormance est ainsi écourtée. Nous avons montré que le bourgeon floral apparaît au début août. Par conséquent, l'induction florale a fort probablement lieu après la fin de sénescence du feuillage soit vers le début ou la mi-juillet, mais avant le début août. Molina et al. (2005) ont montré l'importance non seulement de la température mais aussi de la durée d'exposition à des températures élevées pour favoriser l'induction florale. Nous sommes ici très loin d'atteindre 50 jours d'exposition du corme dormant à des températures entre 23 et 27°C afin d'optimiser la floraison.

Les résultats de notre étude ont permis de montrer que le safran peut difficilement être cultivé dans le secteur de Baie St-Paul, du moins en l'absence de mesures visant à favoriser le réchauffement du sol. Les taux d'émergence et de floraison n'ont été élevés qu'en 2017, et aucune fleur n'a été produite en 2018, tant dans les parcelles installées en 2017 que parmi celles mises en place en 2018. Même chose à l'automne 2019. La température est le paramètre le plus décisif dans les rendements de cette culture sous climat nordique. A priori, on pourrait penser que l'hiver serait le principal obstacle à la culture du safran au Québec. Mais, le défi majeur est d'avoir un été assez chaud avec des températures du sol entre 23 et 27°C pour idéalement 55 jours. Ces conditions sont nécessaires pour assurer un bon taux d'induction florale. Par ailleurs, un automne relativement chaud favorise une émergence hâtive des feuilles et des fleurs ce qui permet de maximiser les rendements avant l'arrivée de la neige.

Le choix de l'emplacement pourrait faciliter le réchauffement. Un terrain avec une pente sud-est serait souhaitable et évidemment en plein champs pour augmenter le réchauffement solaire. Lors des premiers essais (expérience profondeur de plantation 20 à 30 cm), les parcelles étaient situées trop près de la forêt ce qui faisait en sorte que les parcelles étaient à l'ombre en tout début de journée à l'automne, limitant la quantité totale de lumière reçue par jour, mais aussi la chaleur absorbée par le sol. De plus, cette parcelle était en bas de pente, ce qui a favorisé l'accumulation de l'eau surtout au printemps lors de la fonte de la neige. Par ailleurs, la structure du sol, nous semble un élément important à considérer. Un sol léger qui offre un bon drainage et un réchauffement rapide est préférable à un sol plus lourd. Le travail du sol doit également être fait en profondeur pour l'ameublir et ainsi favoriser le drainage et le réchauffement. Lors de notre étude, le travail de terrain n'a pas toujours été fait de façon optimale et nous avons pu observer que les feuilles avaient de la difficulté à percer le sol dans certaines parcelles. Par ailleurs, des butons plus larges permettraient de réduire la surface d'échange du sol situé plus en profondeur avec l'air ambiant pour ainsi favoriser son réchauffement durant l'été et ralentir son refroidissement à l'automne.

Des essais qui n'ont pas été inclus dans ce mémoire, ont été entrepris afin de tenter de réchauffer le sol. Des parcelles ont été couvertes de mini-tunnels ou de paillis plastique de type « Solar » après le début de la sénescence des feuilles en juillet (Lapointe et al., 2019).

Ils ont été retirés à la mi-septembre. Les résultats ont montré une augmentation de 2°C en installant le paillis plastique « Solar » par rapport aux deux autres traitements (mini-tunnels et témoins) pour une période de 4 semaines dès la fin juillet et jusqu'à la mi-août. Cette augmentation de 2°C a permis de maintenir la température du sol au-dessus des 23°C nécessaires pour une induction florale optimale. Malheureusement, l'automne 2018 a été froid et la tombée de neige a été hâtive ce qui a retardé l'émergence et éliminé complètement la floraison. Nous n'avons donc pu observer l'impact d'un réchauffement de 2°C pendant 4 semaines sur le rendement en safran. Une entrée en dormance plus hâtive, combiné à un réchauffement du sol durant l'été serait en fait souhaitable pour favoriser l'induction florale. L'installation de mini-tunnels plus tôt en saison (ex. début juin) pourrait peut-être favoriser une sénescence plus hâtive. Le recours à des défoliants pourrait également s'avérer intéressant, mais à notre connaissance leur application n'est pas autorisée dans une régie de culture biologique.

Nous avons également mené des essais portant sur l'orientation des cornes au moment de la plantation. Ces essais ont permis de confirmer un léger retard dans l'émergence des feuilles et des fleurs la première année chez les cornes plantés à 180° (Tableau A6, $P = 0,067$; Figure A9). Cependant, le suivi à plus long terme a montré que le corne est en mesure de reprendre la position verticale de plantation (0°) au fil des années (Figure A10). Il est donc possible de mécaniser la plantation. Une étude économique s'échelonnant sur un cycle complet de culture (5 à 7 ans) devrait être menée pour évaluer si la perte de rendement la première année est compensée par la réduction des coûts de main d'œuvre lors de la plantation. Selon Galigani et Pegna (1999), il faut 100 h à la main pour planter 55 000 cornes de safran sur une surface de 1000 m² et seulement 5 heures avec un planteur d'oignon tiré par un tracteur.

Une autre avenue à explorer, en combinaison avec une induction précoce de la sénescence serait la récolte annuelle des cornes telle que pratiquée en Italie (Tammaro, 1999). Cette récolte annuelle est pratiquée pour limiter la propagation des pathogènes. Les cornes peuvent ainsi être plantés moins profondément (8 à 10 cm), et plus densément que lorsque la culture est pérenne. L'arrachage des cornes permet aussi d'éliminer ceux qui sont endommagés ou trop petits. Cette pratique permettrait de plus, en climat plus nordique, d'exposer les cornes à des températures élevées durant plusieurs semaines lors de leur entreposage au sec. De plus,

la récolte annuelle permet de remettre le sol à nu. Le contrôle des mauvaises herbes s'avère difficile dans les safranières au Québec, dès la 2^e année de culture. Le fauchage et le pyrodés herbage doivent être pratiqués à plus d'une reprise durant la période de dormance des cormes pour limiter leur expansion (obs. pers.).

L'ajout de mini-tunnels à l'automne pourrait aussi s'avérer utile pour accélérer l'émergence des feuilles et des fleurs, bien que leur présence rendrait la récolte des fleurs beaucoup plus laborieuse. La culture hors sol et le recours à des tunnels de production en horticulture permettent de prolonger la saison de culture à l'automne et ainsi produire des fruits et légumes réputés sensibles au froid jusqu'en octobre. Ces techniques pourraient permettre d'augmenter significativement les rendements en safran, mais une étude technico-économique est essentielle pour assurer que ces investissements en coût et en temps soient rentables. De plus, il faudrait pouvoir enlever les tunnels rapidement pour permettre l'accumulation de neige sur le safran dès la floraison terminée. La culture en serre a également été proposée, mais les coûts de chauffage élevés durant l'hiver nous semblent prohibitifs. De plus, même si aucune étude n'a démontré le besoin de vernalisation, des essais préliminaires de culture en chambre de croissance (données non publiées) et des échanges avec des spécialistes du safran (Margret Skinner, *University of Vermont*; Mohammad Amine Serghini, Université Ibn Zohr, Maroc) suggèrent que la plante a besoin d'une période de vernalisation au froid pour pouvoir produire des bourgeons floraux l'été suivant.

Les régions situées plus au sud au Québec devraient offrir un climat plus propice à la culture du safran que la région de Charlevoix. Un été et un automne plus chaud que dans la région de Baie St-Paul, ainsi qu'une arrivée plus tardive de la neige devrait favoriser les rendements. En effet, Behdani et al. (2008) ont montré que les secteurs de la région du Khorasan en Iran (principale région productrice de safran) qui présente les meilleurs rendements en safran sont ceux où la température moyenne en novembre – mois où la majorité de la floraison a lieu – se situait autour de 10 à 12°C. Cette température est plus typique du mois de septembre que du mois d'octobre, dans la région de Baie St-Paul. Cependant, dans la région de Montréal, le mois d'octobre peut présenter des moyennes journalières qui s'approche de 10°C, voire même 12°C certaines années, par exemple en 2017 (Environnement-Canada, 2017). Néanmoins, nous croyons qu'il est essentiel qu'un couvert de neige s'installe tôt après la

floraison, car les températures hivernales sont probablement trop froides pour que le safran puisse survivre en absence de neige. Le safran peut tolérer des températures de l'air de -10°C voir même de -18°C (Mollafilabi, 2004), mais le corme semble plus sensible que le feuillage (Kumar et al., 2008). Les plants, y compris les cormes peuvent tolérer une exposition d'une heure à -10°C (Koocheki et Seyyedi, 2019), mais nous ne savons pas s'ils peuvent survivre à une exposition plus longue. Cependant, même dans les secteurs plus propices telles les régions situées dans le sud du Québec, les rendements semblent laisser à désirer (comm. pers. Guy-Anne Landry), et plusieurs producteurs québécois ont déjà abandonné cette culture. Il faut également noter que le marché du vrai safran demeure à développer en Amérique du Nord.

En conclusion, cette étude a permis de circonscrire les profondeurs de plantation et les dates de plantation à privilégier pour la culture du safran au Québec. Mais elle a surtout fait ressortir l'importance des températures estivales et automnales sur les rendements en safran. Il est possible de cultiver le safran au Québec, mais il faut s'assurer de choisir un emplacement favorisant un réchauffement du sol, un sol léger qui se draine bien et se réchauffe rapidement et avoir recours à des paillis durant l'été et des tunnels durant l'automne pour augmenter les températures et ainsi se rapprocher des températures optimales pour le safran.

Bibliographie

- Abdullaev, F., 2007.** Biological properties and medicinal use of saffron (*Crocus sativus* L.). *Acta Horticulturae* 739, 339-345.
- Abou Chehade, L., Al Chami, Z., De Pascali, S.A., Cavoski, I., Fanizzi, F.P., 2018.** Biostimulants from food processing by-products: agronomic, quality and metabolic impacts on organic tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 98, 1426-1436.
- Ahmad, M., Zaffar, G., Mir, S., Razvi, S., Rather, M., Mir, M., 2011.** Saffron (*Crocus sativus* L.) strategies for enhancing productivity. *Research Journal of Medicinal Plants* 5, 630-649.
- Aimo, S., Gosetti, F., D'Agostino, G., Gamalero, E., Gianotti, V., Bottaro, M., Gennaro, M.C., Berta, G., 2010.** Use of arbuscular mycorrhizal fungi and beneficial soil bacteria to improve yield and quality of saffron (*Crocus sativus* L.). *Acta Horticulturae* 850, 159-164.
- Alam, A., 2007.** Status and prospects of mechanization in saffron cultivation in Kashmir. *Acta Horticulturae* 739, 383-388.
- Alonso Diaz-Marta, H.L., 2008.** Le livre blanc: Le Safran en Europe : problèmes et stratégies pour valoriser la qualité et améliorer la compétitivité. Edition Alexandros, Athènes, Grèce.
- Ambardar, S., Vakhlu, J., 2013.** Plant growth promoting bacteria from *Crocus sativus* rhizosphere. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 29, 2271-2279.
- Amiri, M.E., 2008.** Impact of animal manures and chemical fertilizers on yield components of saffron (*Crocus sativus* L.). *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science* 4, 274-279.
- Amirnia, R., Bayat, M., Gholamian, A., 2013.** Influence of corm provenance and sowing dates on stigma yield and yield components in saffron (*Crocus sativus* L.). *Turk. J. Field Crops* 18, 198-204.
- Aucante, P., 2000.** Le safran. Actes Sud, Arles, France.
- Azizbekova, N.S., Milyaeva, E.L., 1999.** Saffron cultivation in Azerbaijan, In: Negbi, M. (Ed.), *Saffron Crocus sativus* L. Harwood Academic Publishers, Australia, pp. 56-64.
- Bagur, M.J., Salinas, G.L.A., Jimenez-Monreal, A.M., Chaouqi, S., Llorens, S., Martinez-Tome, M., Alonso, G.L., 2018.** Saffron: An old medicinal plant and a potential novel functional food. *Molecules* 23, 21.
- Basker, D., Negbi, M., 1983.** Uses of saffron. *Economic Botany* 37, 228-236.

- Bastiou, P., 1872.** Thèse. Monographie du Safran. École supérieure de pharmacie de Paris, Hachette, Paris, France.
- Bayat, M., Rahimi, M., Ramezani, M., 2016.** Determining the most effective traits to improve saffron (*Crocus sativus* L.) yield. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 22, 153-161.
- Baylis, G.T.S., 1975.** The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from it. In: Sanders, F.E., Mosse, B., Tinker, P.B. (Eds.), *Endomycorrhizas*. Academic Press, New York, pp. 373-389.
- Behdani, M.A., Koocheki, A., Rezvani, P., JamiI AL-Ahmadi, M., 2008.** Agro-ecological zoning and potential yield of saffron in Khorasan-Iran. *Journal of Biological Sciences* 8, 298-305.
- Behzad, S., Razavi, M., Mahajeri, M., 1992.** The effect of mineral nutrients (NPK) on saffron production. *Acta Horticulturae* 306, 426-430.
- Calvo, P., Nelson, L., Kloepper, J.W., 2014.** Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil* 383, 3-41.
- Carmona, M., Alonso, G.L., 2004.** A new look at saffron: Mistaken beliefs. *Acta Horticulturae* 650, 373-391.
- Caser, M., Demasi, S., Marisa, Í., Victorino, Í., Donno, D., Faccio, A., Lumini, E., Bianciotto, V., Scariot, V., 2019a.** Arbuscular mycorrhizal fungi modulate the crop performance and metabolic profile of saffron in soilless cultivation. *Agronomy* 9, 232.
- Caser, M., Victorino, I.M.M., Demasi, S., Berruti, A., Donno, D., Lumini, E., Bianciotto, V., Scariot, V., 2019b.** Saffron cultivation in marginal alpine environments: How AMF inoculation modulates yield and bioactive compounds. *Agronomy* 9, 15.
- Cavins, T.J., Dole, J.M., 2002.** Precooling, planting depth, and shade affect cut flower quality and perennialization of field grown spring bulbs. *HortScience* 37, 79-83.
- Chipman, E.W., Thorpe, E., 1977.** Effects of hilling and depth of plant setting on the incidence of multiple hearts and shape of sweet spanish onion bulbs. *Canadian Journal of Plant Science* 57, 1219-1221.
- De Hertogh, A., Le Nard, M., 1993.** The physiology of flower bulbs. A comprehensive treatise on the physiology and utilization of ornamental flowering bulbous and tuberous plants. Elsevier, Amsterdam.
- Deh-Arbab, S.K., Aminifard, M.H., Fallahi, H.-R., Kaveh, H., 2019.** Evaluating the effects of growth promoting fertilizer containing seaweed extract and mother

corm weight on antioxidant activity and stigma quality of saffron. *Plant Productions* 43, 213-226.

Elbon, A., Whalen, J.K., 2015. Phosphorus supply to vegetable crops from arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Biological Agriculture and Horticulture* 31, 73-90.

Elliott, B., 2006. The Royal Horticultural Society pocket diary 2006. Frances Lincoln Ltd, London, England.

Environnement-Canada, 2017. Climate normals and averages, http://climat.meteo.gc.ca/index_f.html. Accessed on May 17th 2020.

Environnement-Canada, 2019. Climate normals and averages, http://climat.meteo.gc.ca/index_f.html. Accessed on May 17th 2020.

Fageria, N.K., 2007. Soil fertility and plant nutrition research under field conditions: Basic principles and methodology. *Journal of Plant Nutrition* 30, 203-223.

Fallahi, H.-R., Mahmoodi, S., 2018. Impact of water availability and fertilization management on saffron (*Crocus sativus* L.) biomass allocation. *Journal of Horticulture and Postharvest Research* 1, 131-146.

Fernández, J.-A., 2004. Biology, biotechnology and biomedicine of saffron. *Recent Research Developments in Plant Science* 36, 127-159.

Galavi, M., Soloki, M., Mousavi, S., Ziyaie, M., 2008. Effect of planting depth and soil summer temperature control on growth and yield of saffron (*Crocus sativus* L.). *Asian Journal of Plant Sciences* 7, 747-751.

Galigani, P.F., Pegna, F.G., 1999. Mechanized saffron cultivation, including harvesting. In: Negbi, M. (Ed.), *Saffron*. Hardwood Academic Publishers, Australia, pp. 99-109.

Ghanbari, J., Khajoei-Nejad, G., van Ruth, S.M., Aghighi, S., 2019. The possibility of improvement of flowering, corm properties, bioactive compounds, and antioxidant activity in saffron (*Crocus sativus* L.) by different nutritional regimes. *Industrial Crops and Products* 135, 301-310.

Gray, L.C., Morant, P., 2003. Reconciling indigenous knowledge with scientific assessment of soil fertility changes in southwestern Burkina Faso. *Geoderma* 111, 425-437.

Gresta, F., Lombardo, G.M., Avola, G., 2010. Saffron stigmas production as affected by soil texture. *Acta Horticulturae* 850, 149-152.

Gresta, F., Lombardo, G.M., Siracusa, L., Ruberto, G., 2008a. Effect of mother corm dimension and sowing time on stigma yield, daughter corms and qualitative

aspects of saffron (*Crocus sativus* L.) in a Mediterranean environment. Journal of the Science of Food and Agriculture 88, 1144-1150.

Gresta, F., Lombardo, G.M., Siracusa, L., Ruberto, G., 2008b. Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. A review. Agronomy for Sustainable Development 28, 95-112.

Gresta, F., Santonoceto, C., Avola, G., 2016. Crop rotation as an effective strategy for saffron (*Crocus sativus* L.) cultivation. Scientia Horticulturae 211, 34-39.

Hagh-Nazari, S., Keifi, N., 2007. Saffron and various fraud manners in its production and trades. Acta Horticulturae 739, 411-416.

Hagiladi, A., Umiel, N., Ozeri, Y., Elyasi, R., Abramsky, S., Levy, A., Lobovsky, O., Matan, E., 1992. The effect of planting depth on emergence and development of some geophytic plants. Acta Horticulturae 325, 131-138.

Hosseini, M., Sadeghiand, B., Aghamiri, S.A., 2004. Influence of foliar fertilization on yield of saffron (*Crocus sativus* L.). Acta Horticulturae 650, 207-209.

Jahan, M., Jahani, M., 2007. The effects of chemical and organic fertilizers on saffron flowering. Acta Horticulturae 739, 81-86.

Jami, N., Rahimi, A., Naghizadeh, M., Sedaghati, E., 2020. Investigating the use of different levels of Mycorrhiza and Vermicompost on quantitative and qualitative yield of saffron (*Crocus sativus* L.). Scientia Horticulturae 262, 109027.

Kafi, M., Showker, T., 2007. A comparative study of saffron agronomy and production systems of Khorasan (Iran) and Kashmir (India). Acta Horticulturae 739, 123-132.

Kamienski, F., 1881. Die Vegetationsorgane der *Monotropa hypopitys* L. Botanische Zeitung 29, 457-461.

Khorrarnadel, S., Nasrabadi, S.E., Mahmoodi, G., 2015. Evaluation of mother corm weights and foliar fertilizer levels on saffron (*Crocus sativus* L.) growth and yield components. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants 2, 9-14.

Kianmehr, H., 1981. Vesicular-arbuscular mycorrhizal spore population and infectivity of saffron (*Crocus sativus*) in Iran. New Phytologist 88, 79-82.

Kizil, S., Khawar, K.M., 2015. Effect of planting depths on some agronomic characteristics of *Allium tuncelianum*. Scientific Papers-Series B-Horticulture 59, 229-232.

Knapp, W.R., Knapp, J.S., 1978. Response of winter wheat to date of planting and fall fertilization. Agronomy Journal 70, 1048-1053.

- Koocheki, A., Seyyedi, S.M., 2015.** Relationship between nitrogen and phosphorus use efficiency in saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by mother corm size and fertilization. *Industrial Crops and Products* 71, 128-137.
- Koocheki, A., Seyyedi, S.M., 2019.** Mother corm origin and planting depth affect physiological responses in saffron (*Crocus sativus* L.) under controlled freezing conditions. *Industrial Crops and Products* 138, 1-12.
- Koocheki, A., Seyyedi, S.M., Eyni, M.J., 2014.** Irrigation levels and dense planting affect flower yield and phosphorus concentration of saffron corms under semi-arid region of Mashhad, Northeast Iran. *Scientia Horticulturae* 180, 147-155.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., Rubel, F., 2006.** World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift* 15, 259-263.
- Kumar, R., Sharma, O.C., 2018.** Enhancing saffron (*Crocus sativus*) productivity by land configuration and corm intensity manipulation under Kashmir condition. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 88, 798-804.
- Kumar, R., Singh, V., Devi, K., Sharma, M., Singh, M.K., Ahuja, P.S., 2008.** State of art of saffron (*Crocus sativus* L.) agronomy: A comprehensive review. *Food Reviews International* 25, 44-85.
- Lachaud, C.M., 2012.** La bible du safranier. Tout savoir sur le *Crocus sativus* et sur le safran. C.M. Lachaud, Laval-sur-Luzège, France.
- Lapointe, L., Denis, M.-P., Ayari, M.A., 2019.** Optimiser la rentabilité du safran par l'augmentation de la température du sol lors de la période de dormance. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, Programme d'appui au développement de l'agriculture et de l'agroalimentaire en région, Rapport final, projet No. 1718-4051-009QC., Québec, pp. 19; https://www.agrireseau.net/documents/99650/optimiser-la-rentabilite-du-safran-par-l_augmentation-de-la-temperature-du-sol-lors-de-la-periode-de-dormance?a=99651&r=safraan.
- Lazérat, V., 2009.** Secrets de safranière. Lucien Souny, Limoges, France.
- Lone, R., Shuab, R., Koul, K.K., 2016.** AMF association and their effect on metabolite mobilization, mineral nutrition and nitrogen assimilating enzymes in saffron (*Crocus sativus*) plant. *Journal of Plant Nutrition* 39, 1852-1862.
- Lopez-Corcoles, H., Brasa-Ramos, A., Montero-Garcia, F., Romero-Valverde, M., Montero-Riquelme, F., 2015.** Phenological growth stages of saffron plant (*Crocus sativus* L.) according to the BBCH Scale. *Spanish Journal of Agricultural Research* 13, E09SC01.

- Lowther, J.R., 1980.** Use of a single sulphuric acid-hydrogen peroxide digest for the analysis of *Pinus radiata* needles. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 11, 175-188.
- Lubbe, F.C., Henry, H.A.L., 2019.** The cost of depth: frost avoidance trade-offs in herbaceous plants. *Plant and Soil* 444, 213-224.
- Malik, A., Mor, V.S., Tokas, J., Punia, H., Malik, S., Malik, K., Sangwan, S., Tomar, S., Singh, P., Singh, N., et al., 2021.** Biostimulant-treated deedlings under sustainable agriculture: A global perspective facing climate change. *Agronomy* 11, 14.
- Molina, R., Valero, M., Navarro, Y., Guardiola, J.L., Garcia-Luis, A., 2005.** Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). *Scientia Horticulturae* 103, 361-379.
- Molina, R.V., Garcia-Luis, A., Coll, V., Ferrer, C., Valero, M., Navarro, Y., Guardiola, J.L., 2004a.** Flower formation in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.). The role of temperature. *Acta Horticulturae* 650, 39-47.
- Molina, R.V., Garcia-Luis, A., Valero, M., Navarro, Y., Guardiola, J.L., 2004b.** Extending the harvest period of saffron. *Acta Horticulturae* 650, 219-225.
- Molina, R.V., Renau-Morata, B., Nebauer, S.G., Garcia-Luis, A., Guardiola, J.L., 2010.** Greenhouse saffron culture – Temperature effects on flower emergence and vegetative growth of the plants. *Acta Horticulturae* 850, 91-94.
- Mollafilabi, A., 2004.** Experimental findings of production and echo physiological aspects of saffron (*Crocus sativus* L.). *Acta Horticulturae* 650, 195-200.
- Nazir, M., Nasir, M., Allah, B., Khan, M., Summrah, M., Nawaz, M., 2000.** Effect of different planting depth of corms on the yield of saffron under Soan Valley climatic conditions. *Sarhad Journal of Agriculture* 16, 485-487.
- Penn, C.J., Camberato, J.J., 2019.** A critical review on soil chemical processes that control how soil pH affects phosphorus availability to plants. *Agriculture* 9, 120.
- Ping, C.L., 1987.** Soil temperature profiles of two Alaskan soils. *Soil Science Society of America Journal* 51, 1010-1018.
- Rehman, S., Lodhi, F., 1977.** Trials of introduction of saffron crocus (*Crocus sativus* L.) in Baluchistan (Pakistan). *Journal of Science and Technology* 1, 6-10.
- Renau-Morata, B., Nebauer, S.G., Sanchez, M., Molina, R.V., 2012.** Effect of corm size, water stress and cultivation conditions on photosynthesis and biomass partitioning during the vegetative growth of saffron (*Crocus sativus* L.). *Industrial Crops and Products* 39, 40-46.

- Rouphael, Y., Colla, G., 2020.** Editorial: Biostimulants in agriculture. *Frontiers in Plant Science* 11.
- Seyyedi, S.M., Ebrahimian, E., Rezaei-Chiyaneh, E., 2018.** Saffron daughter corms formation, nitrogen and phosphorous uptake in response to low planting density, sampling rounds, vermicompost and mineral fertilizers. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 49, 585-603.
- Smith, S.E., Read, D.J., 1997.** Mycorrhizal symbiosis, second edition. Academic Press, San Diego.
- Smith, S.E., Smith, F.A., 2012.** Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. *Mycologia* 104, 1-13.
- Stenström, E., Damm, E., Unestam, T., 1997.** Le rôle des mycorhizes dans la protection des arbres forestiers contre les agents pathogènes du sol. *Revue Forestière Française* 49, 121-128.
- Tammaro, F., 1999.** Saffron (*Crocus sativus* L.) in Italy. In: Negbi, M. (Ed.), Saffron. Hardwood Academic Press, Australia, pp. 48-55.
- Tessier, J.T., 2017.** Importance of depth in soil to corm survival in *Erythronium americanum* (Liliaceae). *Rhodora* 119, 33-43.
- The North American Center for Saffron Research and Development, 2020.** For saffron research and development. University of Vermont. <https://www.uvm.edu/~saffron/>
- Tookaloo, M.R., Mohassel, M.H.R., Mollafilabi, A., 2010.** The effect of planting date, corm weight and gibberellin concentration on quantity and quality characteristics of saffron. *Acta Horticulturae* 850, 189-192.
- Trouvelot, A., Kough, J.L., Gianinazzi-Pearson, V., 1986.** Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S. (Eds.), Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. INRA Publications, Paris, pp. 217-221.
- Vafabakhsh, J., Mokhtarian, A., Rahimi, H., Ahmadian, J., 2010.** Investigation of correlations between saffron flowering pattern and climatological parameters under different levels of irrigation and planting depth. *Acta Horticulturae* 850, 145-147.
- Verdaguer, D., Sala, A., Vilà, M., 2010.** Effect of environmental factors and bulb mass on the invasive geophyte *Oxalis pes-caprae* development. *Acta Oecologica* 36, 92-99.

Yadollahi, A., Azam-Ali, S., Cocking, E., Shojaei, Z.A., 2007. Possibility of growth and development of saffron in the UK. *Acta Horticulturae* 739, 139-149.

Annexe A

Table A1: Tableau récapitulatif des différentes conditions de cultures du safran rapportées comme optimales ou comme étant la norme par différents auteurs.

Conditions favorisant les rendements en fleurs et en safran		Pays	Étude
Période de plantation	Deuxième moitié de juin	Espagne	Gresta et al., 2008b
	Entre la mi-juillet et la fin août	Inde	
	Du mois de mai au mois de septembre	Grèce	
	Entre la fin août et le début septembre	Maroc	
	Fin juillet	Sud Italie	Gresta et al., 2008a
	Début juin ou juillet	Iran	Tookaloo et al., 2010
		Turquie	Amirnia et al., 2013
Pakistan		Rehman et Lodhi, 1977	
Profondeur de plantation	10 cm et plus	La plupart des pays	Gresta et al., 2008b
	8 à 10 cm (comme culture annuelle)	Navelli (Italie)	
	10 à 20 cm (comme culture pérenne)		
	15 cm	Inde	Alam, 2007
	20 cm	Iran	Vafabakhsh et al., 2010
	15 cm		Galavi et al., 2008
	7,5 cm	Khushab (Pakistan)	Nazir et al., 2000 cité dans Kumar et al., 2008

Fertilisation	Ajout de fumier.	Iran	Jahan et Jahani, 2007 ; Ghanbari et al., 2019 ; Koocheki et Seyyedi, 2015
	Combinaison de fumier de vache (20 t ha ⁻¹), d'urée (50 kg ha ⁻¹) et de super phosphate (40 kg ha ⁻¹).		Amiri, 2008
	Ajout du vermicompost à raison de 8 à 24 tonnes ha ⁻¹ .		Jami et al., 2020 ; Seyyedi et al., 2018
	Ajout de 9 ppm de P.		Behzad et al., 1992
	Dalfard 15 (engrais foliaire) appliqué à 3 reprises durant l'hiver.		Khorrarnedel et al., 2015
	Application foliaire répétée d'urée ou d'un fertilisant complet au cours de l'hiver.		Hosseini et al., 2004
	Ajout de 20 à 80 tonnes de fumier ha ⁻¹ .		Iran et Inde
Mycorhizes	Inoculation avec des spores de <i>Funneliformis mosseae</i> .	Iran	Ghanbari et al., 2019
	Inoculation avec des spores de <i>Glomus mosseae</i> .	Iran	Jami et al., 2020
	Inoculation avec des spores du genre <i>Glomus</i>	Italie	Aimo et al., 2010
	Ajout de <i>Rhizophagus intraradices</i> et <i>Funneliformis mosseae</i> .		Caser et al., 2019b
Biostimulant	Ajout de <i>Pseudomonas fluorescens</i> seul ou en combinaison avec des champignons mycorrhiziens du genre <i>Glomus</i> .	Italie	Aimo et al., 2010
	Ajout de bactéries isolées à partir de la rhizosphère de plants de safran (<i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> et <i>Chryseobacteria</i>) favorise la croissance végétative du safran.	Inde	Ambardar et Vakhlu, 2013
	Application d'un biostimulant à base d'extrait d'algues.	Iran	Deh-Arbar et al., 2019

Table A2: Results of soil analysis for the different experiments.

Parameters	Planting depth		Planting Period		Fertilization	
	Mean	Standard Error	Mean	Standard Error	Mean	Standard Error
pH water	5.42	0.01	5.45	0.03	5.32	0.02
pH buffer	5.83	0.04	5.83	0.07	6.02	0.05
Organic matter (%)	3.34	0.36	3.68	0.24	3.57	0.21
P (kg/Ha)	68.8	15.9	75.2	21.6	24.6	7.7
K (kg/Ha)	113.6	7.4	421.8	187.8	402.3	110.1
Ca (kg/Ha)	822.9	63.3	1307.2	337.4	753.5	197.2
Mg (kg/Ha)	91.4	6.9	166.3	51.2	195.0	58.5
Al (ppm)	2002	24	1951	112	2001	115
CEC	17.4	0.3	19.1	0.5	16.2	0.5
Satur. in P	1.54	0.37	1.79	0.62	0.61	0.17
Cu (ppm)	0.29	0.06	0.66	0.06	0.11	0.01
Fe (ppm)	214.9	5.6	239.4	20.9	226.0	33.2
Mn (ppm)	10.4	0.5	29.9	14.6	38.5	14.3
Zn (ppm)	2.31	0.16	5.11	1.46	2.42	0.66
B (Mehlich in ppm)	0.34	0.02	0.56	0.16	0.45	0.16
S (Mehlich in ppm)	15.5	0.5	18.6	1.9	47.3	12.1
Na (ppm)	8.3	1.0	21.8	11.3	22.1	4.8
N total (g/kg)	1.49	0.09	1.74	0.12	1.43	0.17
Sand (%)	57.5	3.5	65.0	-	64.5	1.5
Loam (%)	31.0	2.0	26.0	-	21.5	2.5
Clay (%)	11.5	1.5	9.0	-	14.0	1.0

Table A3: Results of repeated measures ANOVA on shoot emergence and flower production during the autumn in 3 experiments: a) Planting depth 20 to 30 cm, b) Planting depth 10 to 25 cm and c) Planting date. The planting year is indicated in parentheses (e.g. P17 means planted in late summer 2017). As the assumption of sphericity was not met for any of the variables, we calculated the Geisser-Epsilon F and P value to estimate the effect of Date of measurement and of the interaction Treatment \times Date of measurements.

Variable	Treatment		Date of measurement		Treatment \times Date of measurement	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
a) Planting depth 20-25-30 cm						
Emergence in 2016 (P16)	56.9 (2, 21) ^a	< 0.001	515.4 (7, 147)	< 0.001	29.8 (14, 147)	< 0.001
Emergence in 2017 (P16)	5.4 (2, 21)	0.013	22.9 (6, 126)	< 0.001	4.1 (12, 126)	0.023
Leaf senescence in 2018 (P16)	0.2 (2, 12) ^b	0.830	240.3 (6, 72)	< 0.001	0.73 (12, 72)	0.571
b) Planting depth 10-15-20-25 cm						
Emergence in 2018 (P18)	61.2 (3, 20)	< 0.001	183.3 (3, 60)	< 0.001	15.3 (9, 60)	< 0.001
Emergence in 2019 (P18)	56.3 (3, 20)	< 0.001	137.0 (3, 60)	< 0.001	8.5 (9, 60)	< 0.001
c) Planting date						
Emergence in 2017 (P17)	4.1 (3, 12)	0.033	215.5 (5, 60)	< 0.001	2.7 (15, 60)	0.029
Emergence in 2018 (P18)	0.4 (3, 12)	0.753	49.4 (3, 36)	< 0.001	0.8 (9, 36)	0.570
Number of flowers in 2017 (P17)	20.4 (3, 12)	< 0.001	176.5 (11, 132) ^c	< 0.001	5.6 (33, 132)	< 0.001
Leaf senescence in 2018 (P17)	0.6 (3, 12)	0.609	252.1 (9, 108)	< 0.001	0.84 (27, 108)	0.560

^a degrees of freedom for the treatments and interaction terms followed by the degrees of freedom for the error term are presented in parentheses.

^b due to mortality there were a reduced number of plots that were surveyed for leaf senescence than for emergence. Only plots where there were emerged plants were surveyed.

^c there were more frequent counting of flowers than of leaf emergence in 2017 explaining the higher degrees of freedom for flower.

Table A4: Results of repeated measures ANOVA on shoot emergence and flower production during the autumn and leaf senescence the following spring/summer in the fertilization experiment. Data analyzed are from the 2017/2018 season, as there were a very limited number of shoot and no flower that emerged in the autumn 2018 (2018/2019 season). Given that the assumption of sphericity was not met for these variables, we calculated the Geisser-Epsilon F - and P -values to estimate the effect of Date of measurement and of all interactions with Date of measurements.

Effect	Variable					
	Emergence		Number of flowers		Leaf senescence	
	F	P	F	P	F	P
Fertilization (FER)	4.8 ^a	0.034	0.1 ^a	0.788	0.1 ^a	0.714
Mycorrhizal fungi (MYC)	2.5 ^a	0.127	0.5 ^a	0.475	1.1 ^a	0.294
Biostimulants (BIO)	0.2 ^b	0.847	1.5 ^b	0.237	1.1 ^b	0.358
FER × MYC	2.2 ^a	0.151	0.1 ^a	0.953	0.1 ^a	0.786
FER × BIO	1.3 ^b	0.297	0.9 ^b	0.400	0.4 ^b	0.693
MYC × BIO	0.2 ^b	0.787	1.5 ^b	0.244	0.3 ^b	0.716
FER × MYC × BIO	3.2 ^b	0.052	1.4 ^b	0.272	0.9 ^b	0.430
Date of measurement (DAY)	190.5 ^c	<0.001	531.8 ^e	<0.001	615.4 ^g	<0.001
FER × DAY	2.0 ^c	0.139	0.3 ^e	0.731	0.3 ^g	0.714
MYC × DAY	1.6 ^c	0.201	1.0 ^e	0.370	1.7 ^g	0.191
BIO × DAY	0.5 ^d	0.766	1.0 ^f	0.390	0.7 ^h	0.599
FER × MYC × DAY	1.7 ^c	0.184	0.1 ^e	0.929	0.5 ^g	0.594
FER × BIO × DAY	0.8 ^d	0.514	1.3 ^f	0.270	0.8 ^h	0.515
MYC × BIO × DAY	0.1 ^d	0.985	1.8 ^f	0.148	0.4 ^h	0.784
FER × MYC × BIO × DAY	1.1 ^d	0.390	1.7 ^f	0.177	1.0 ^h	0.394

^{a-h} degrees of freedom for the treatments and interaction terms, degrees of freedom for the error term: ^a 1, 36; ^b 2, 36; ^c 4, 144; ^d 8, 144; ^e 11, 496; ^f 22, 396; ^g 8, 288; ^h 16, 288.

Table A5: Effects of the application of fertilizers (FER), mycorrhizal fungi (MYC) and biostimulants (BIO) at planting on saffron phenology, flowering, corm production, mycorrhizal colonization, corm biomass and nutrient concentrations. *F*- and *P*-values of three-way ANOVAs are presented. Significant results are highlighted in bold. Planting took place in late summer 2017 and data reported are for the 2017/2018 season.

Variable	Factor ^a													
	FER		MYC		BIO		FER × MYC		FER × BIO		MYC × BIO		FER×MYC×BIO	
	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Emergence in autumn	6.2	0.018	3.67	0.064	0.11	0.897	1.28	0.267	1.21	0.312	0.19	0.828	2.08	0.141
Emergence in spring	2.08	0.159	2.67	0.112	0.21	0.811	0.71	0.404	0.21	0.809	1.32	0.281	4.41	0.020
Number of flowers	0.37	0.546	1.13	0.296	2.46	0.101	0.09	0.771	1.75	0.190	2.67	0.084	2.96	0.066
Saffron yield	1.02	0.319	0.43	0.518	4.39	0.020	0.14	0.710	2.25	0.121	3.48	0.042	2.18	0.129
Number of corms	89.3	<0.001	0.14	0.710	0.26	0.769	0.48	0.492	2.86	0.072	0.97	0.390	1.06	0.357
Shoots per corm	9.85	0.004	1.88	0.180	0.09	0.910	1.64	0.210	0.89	0.420	0.06	0.946	1.40	0.261
Total corm biomass	27.11	<0.001	1.01	0.322	1.21	0.312	0.12	0.730	0.36	0.701	0.28	0.757	0.09	0.918
Biomass largest corm	13.0	<0.001	0.07	0.793	1.49	0.240	2.58	0.118	1.00	0.379	0.40	0.674	0.20	0.820
Mycorrhizal colonization	36.5	<0.001	3.19	0.083	1.72	0.196	0.08	0.780	0.39	0.683	1.78	0.185	3.69	0.036
Arbuscular content	33.1	<0.001	2.58	0.118	1.77	0.186	0.01	0.941	0.12	0.890	0.37	0.694	2.43	0.103
N	63.3	<0.001	0.55	0.465	0.68	0.516	0.04	0.847	1.08	0.351	1.02	0.371	0.11	0.901
P	8.33	0.007	0.25	0.618	1.07	0.353	0.14	0.711	0.47	0.632	0.16	0.852	1.30	0.285
K	1.13	0.295	0.47	0.498	0.20	0.818	0.09	0.761	0.79	0.461	0.24	0.787	0.83	0.447
Ca	1.66	0.207	3.65	0.065	0.50	0.611	0.16	0.688	0.13	0.880	1.26	0.297	1.90	0.166
Mg	115.0	<0.001	0.13	0.720	1.03	0.367	0.06	0.801	0.55	0.582	0.64	0.533	0.31	0.734

^a degrees of freedom for the treatments and interaction terms: FER: 1; MYC: 1; BIO: 2; FER × MYC: 1; FER × BIO : 2; MYC × BIO : 2; FER × MYC × BIO: 2; degrees of freedom for the error term: 33.

Table A6: Results of ANOVA for shoot emergence as a function of corm orientation at planting.

Variable	Treatment	
	$F_{4,12}$	P
Autumn 2017	2.92	0.067
Spring 2018	0.99	0.448
Autumn 2018	- ^a	-
Spring 2019	0.58	0.682

^a no statistical tests were run since there were no emergence.

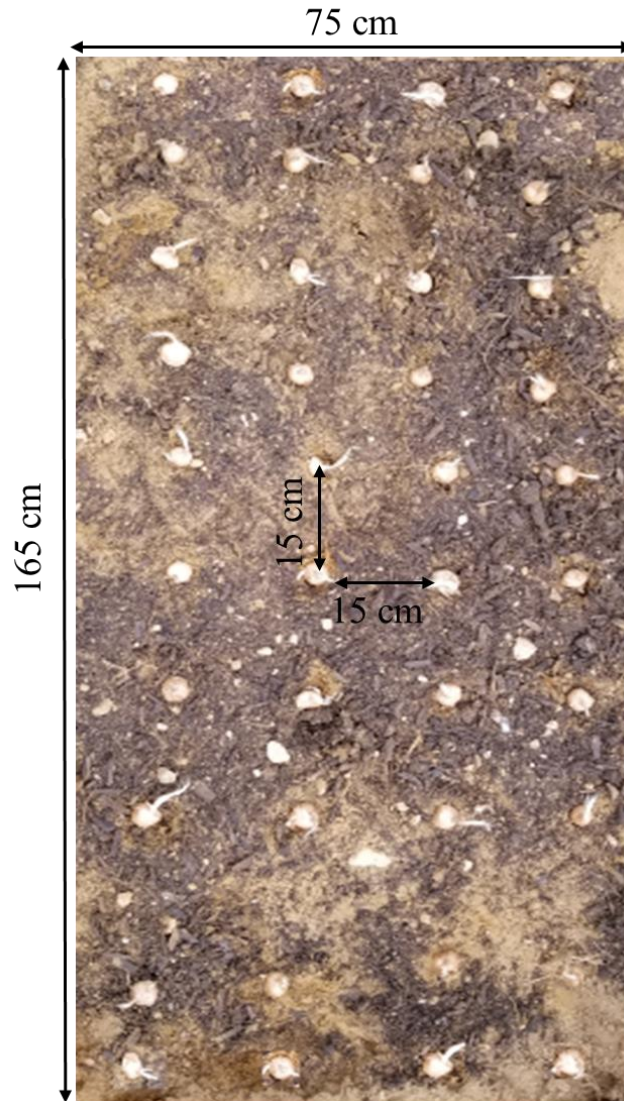


Figure A1: Picture of a plot at the time of planting. Each plot contained forty corms planted in 4 rows of 10 corms each. Corms were planted 15 cm from each other.

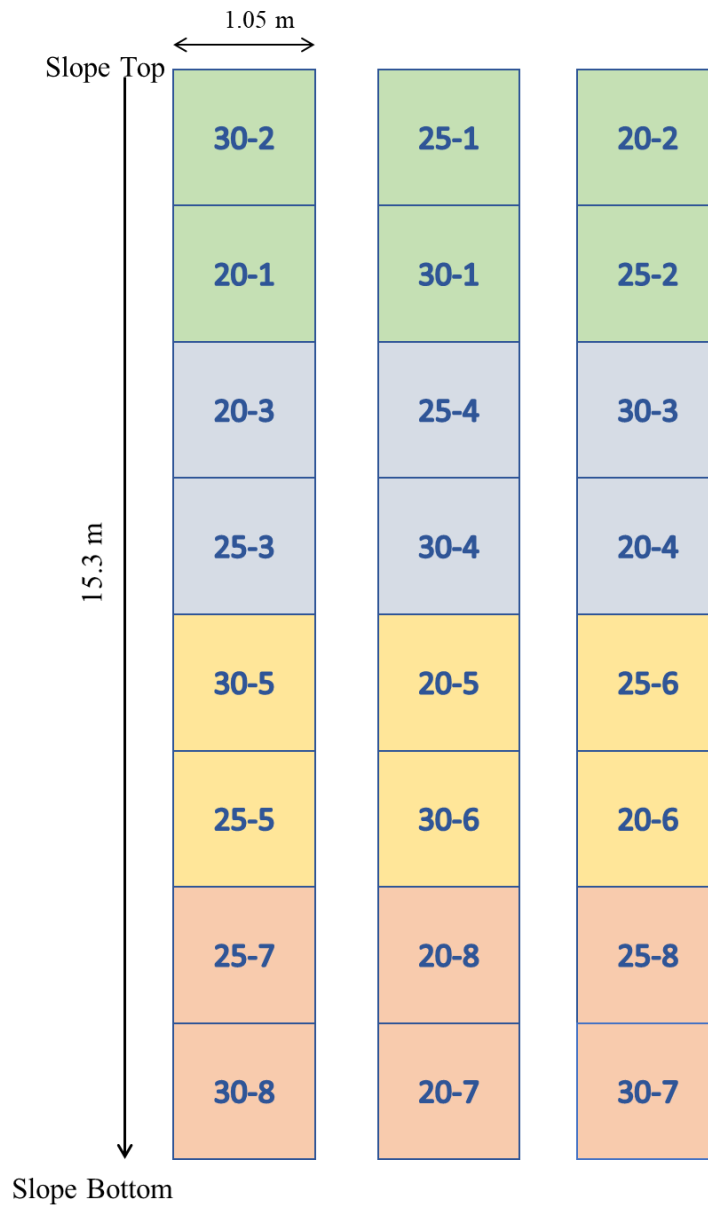


Figure A2: Illustration of the experimental design of the Planting Depth Experiment (20, 25 and 30 cm) set up in 2016. Each color indicates a different block. Plots are labelled according to treatment (20, 25 or 30) and replicate (1 to 8). Note that the shape of the plots does not correspond to the reality, as plots were 0.75 m wide (4 rows of corms) and 1.65 m long (10 corms per row). Furthermore, there was 0.3 m between each plot along the slope.

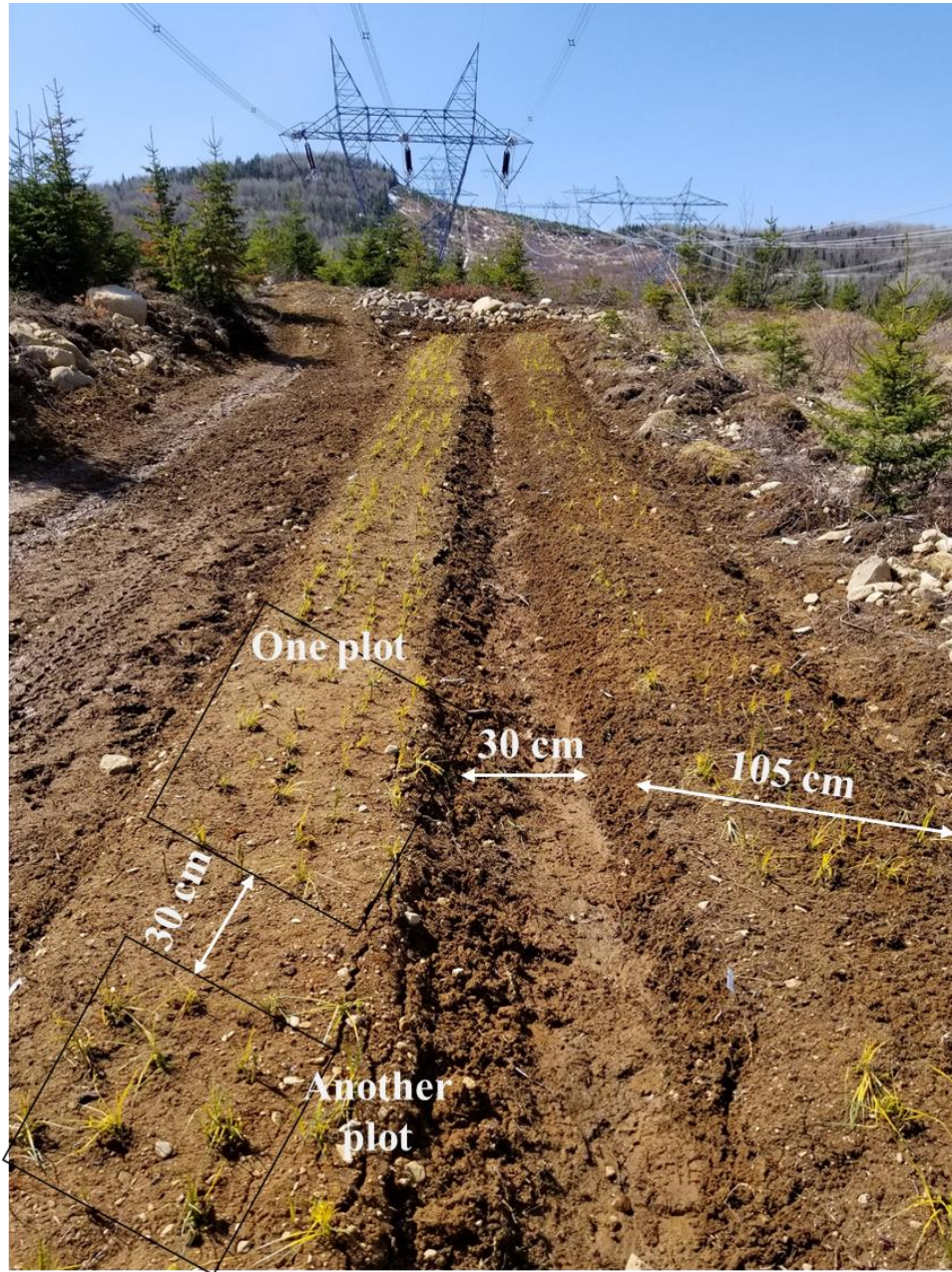


Figure A3: Picture showing the position of two plots on the raised beds in the Fertilization experiment. There was a distance of 30 cm between each plot, as well as between each raised bed.

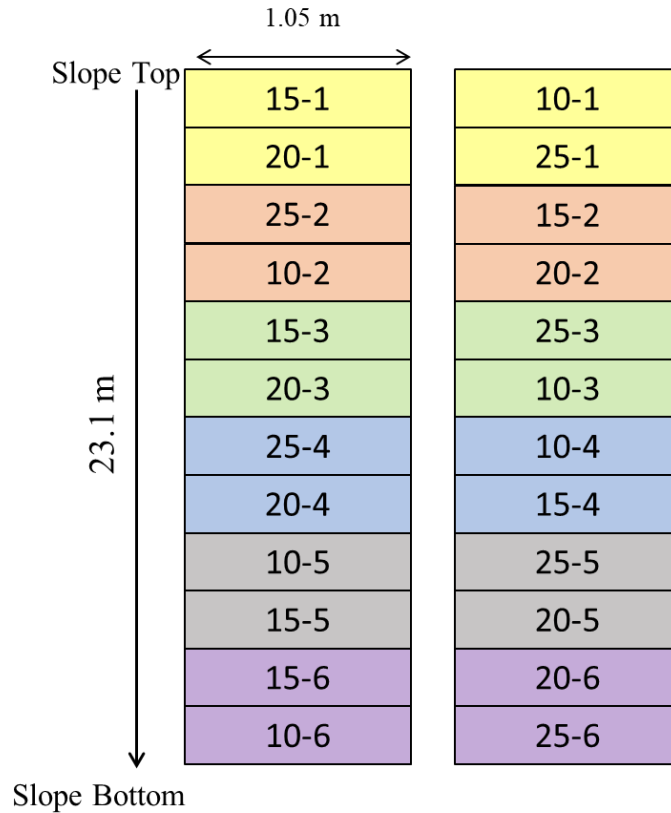


Figure A4: Illustration of the experimental design of the Planting Depth Experiment (10, 15, 20 and 25 cm) set up in 2018. Each color indicates a different block. Plots are labelled according to treatment (10, 15, 20 or 25) and replicate (1 to 6). Note that the shape of the plots does not correspond to the reality, as plots were 0.75 m wide (4 rows of corms) and 1.65 m long (10 corms per row). Furthermore, there was 0.3 m between each plot along the slope.

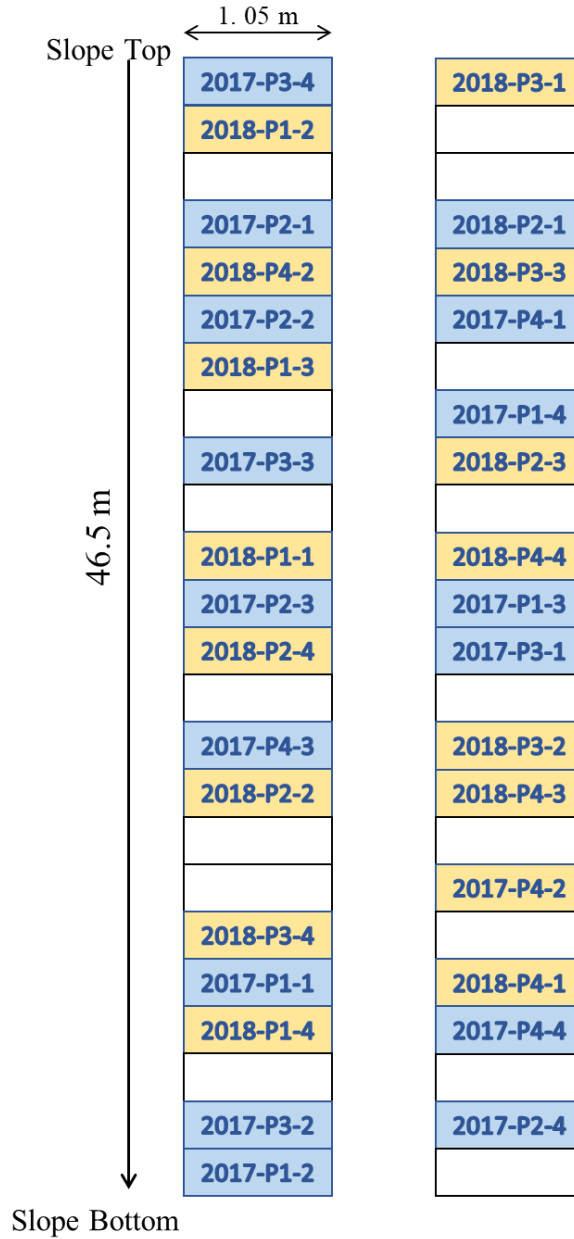


Figure A5: Illustration of the experimental design of the Planting Date Experiment. Each year represents a different block. Plots are labelled according to block (2017 and 2018), treatment (P1 to P4, for the 4 different dates) and replicate (1 to 4). Note that the shape of the plots does not correspond to the reality, as plots were 0.75 m wide (4 rows of corms) and 1.65 m long (10 corms per row). Furthermore, there was 0.3 m between each plot along the slope.

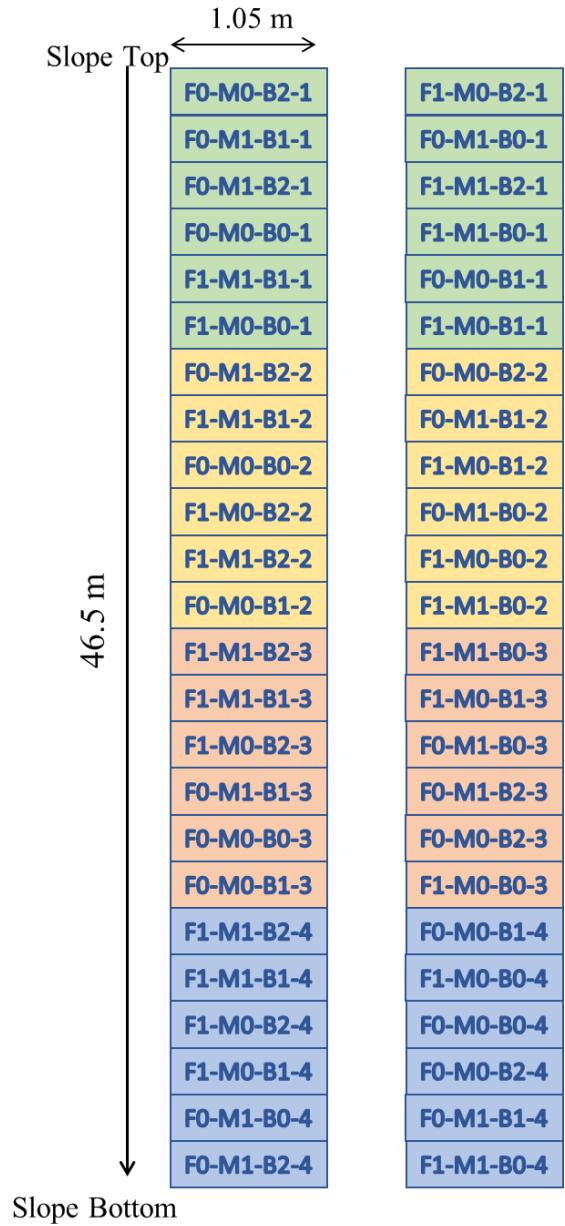


Figure A6: Illustration of the experimental design of the Fertilization Experiment. Each color indicates a different block. Plots are labelled according to the treatment combination (F, M and B) and replicate (1 to 4). Treatments: F: Fertilization, M: Mycorrhizas, B: Biostimulant, 0: no treatment applied, 1 or 2: Treatment applied. Note that the shape of the plots does not correspond to the reality, as plots were 0.75 m wide (4 rows of corms) and 1.65 m long (10 corms per row). Furthermore, there was 0.3 m between each plot along the slope.

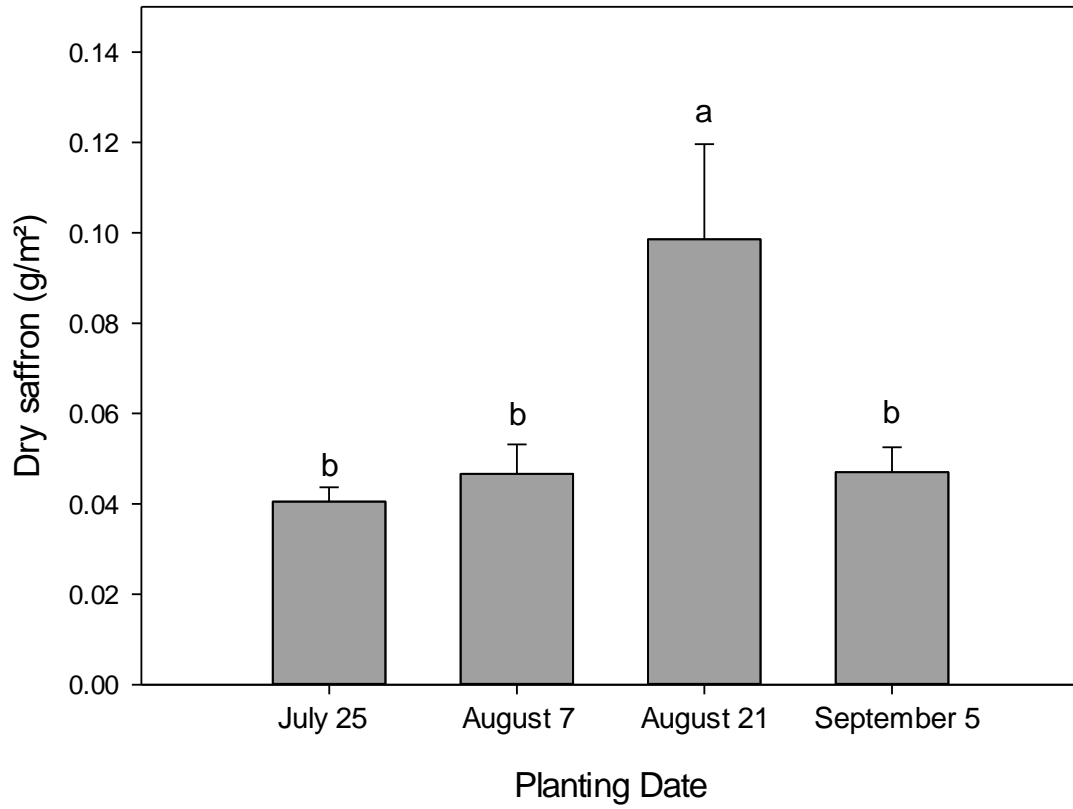


Figure A7: Saffron yield as a function of date of planting in autumn 2017 for corms planted in late summer 2017. N = 4.

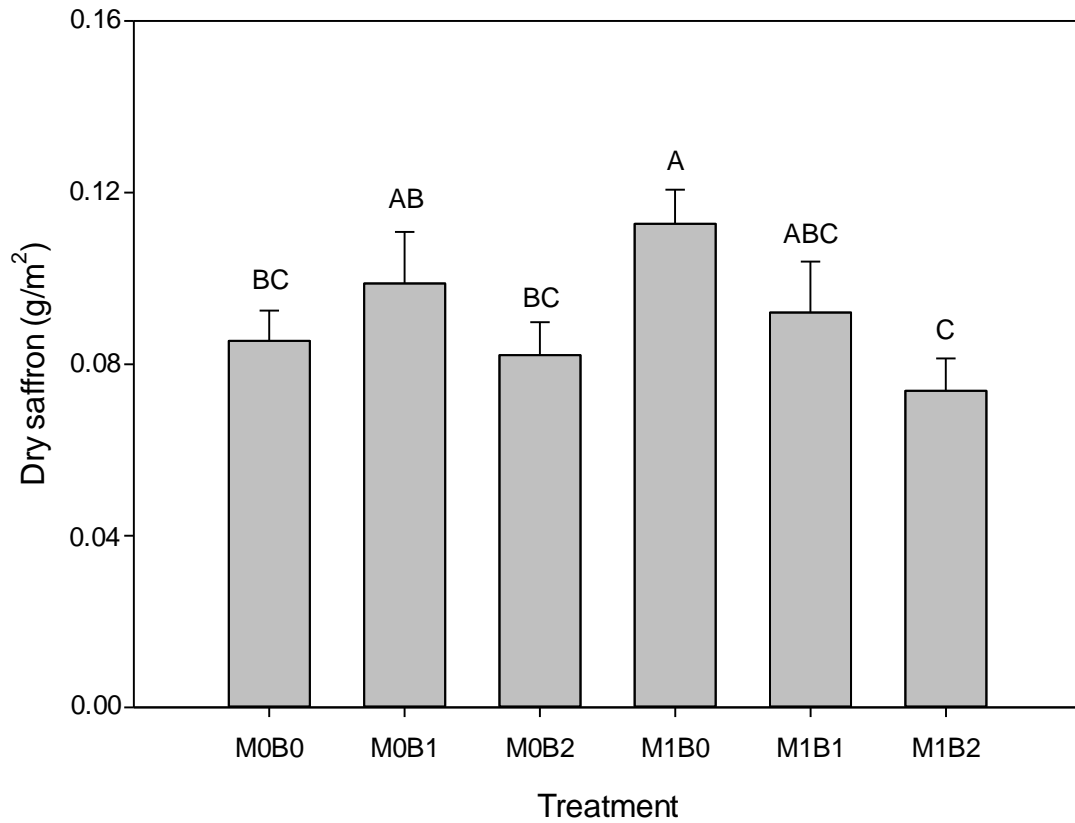


Figure A8: Effect of the addition of mycorrhizal fungal spores and biostimulants on saffron yield in autumn 2017 for corms planted in late summer 2017. M0: no mycorrhizal fungal spores added, M1: mycorrhizal fungal spores added; B0: no biostimulants added; B1: Turitek added; B2: EarthAlive soil activator added. N = 4. Different letters indicate significant differences among treatment groups according to LSD tests. See Table A5 for the results of the ANOVA.

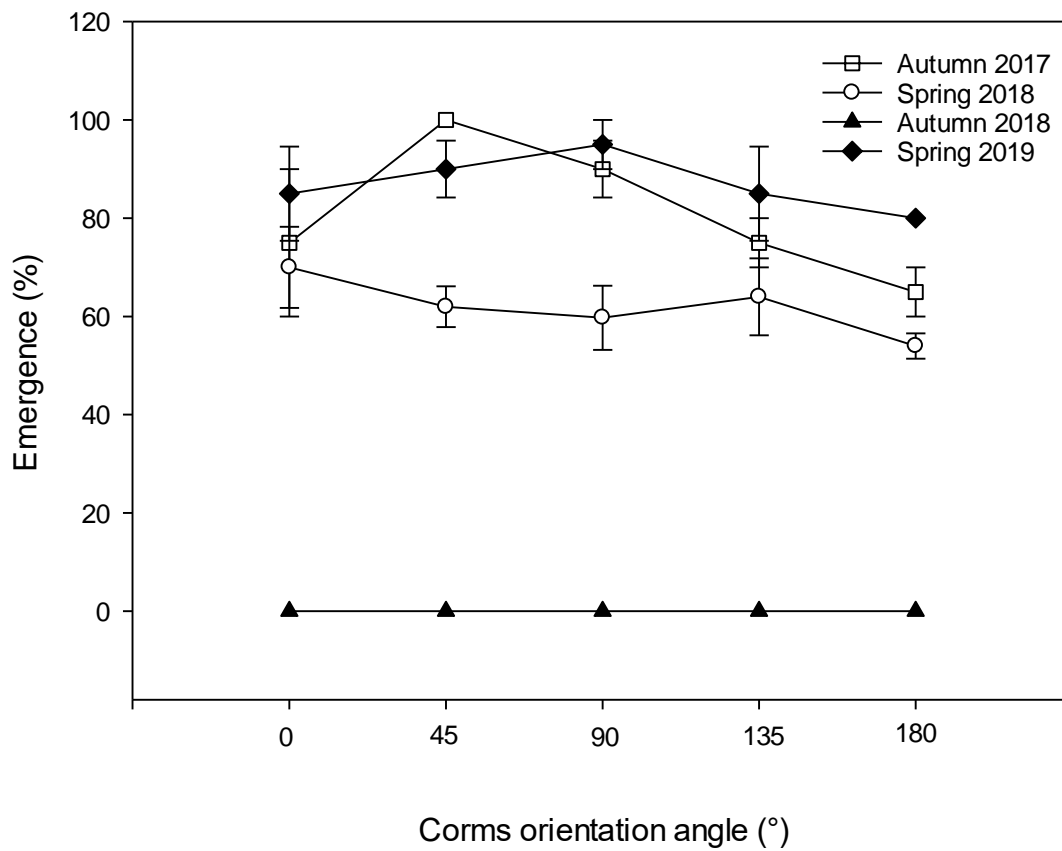


Figure A9: Leaf emergence as a function of corm orientation in autumn 2017 and 2018, spring 2018 and 2019. N = 8.

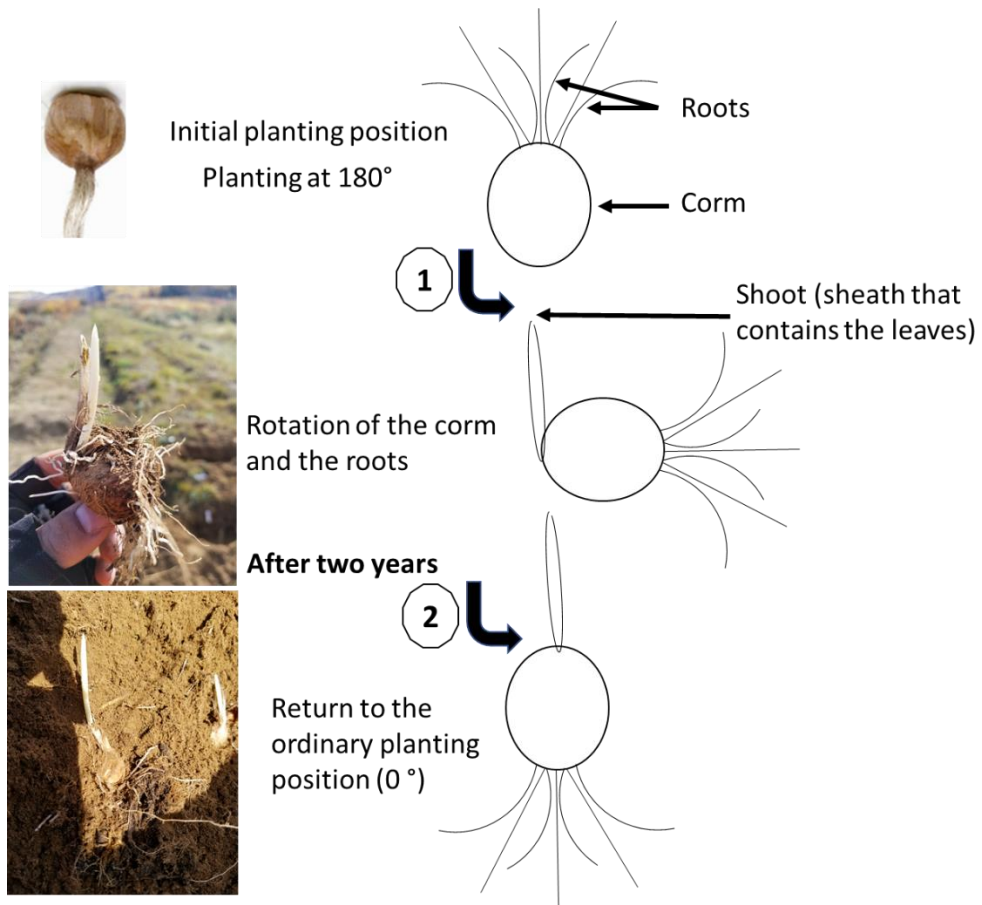


Figure A10: Suggested movement for corms planted upside down (180 °) based on their positions when dug out after two years (autumn 2019).