Journal of Saffron Research (semi-annual)

Vol. 12, No. 1, Spring & summer, 2024

P: 51- 64

http://dx.doi.org/10.22077/JSR.2020.3747.1141

University of Birjand

Original Article

Effects of Gibberellic Acid and Plant Density on Antioxidant Activity and Secondary Metabolites of Saffron (*Crocus sativus* L.)

Mohammed Hossein Aminifard[1*], Masume Shakeri[2], Mohammed Ali Behdani[3], Seyed Jalal Tabatabaei[4]

1- Associate Professor of Horticulture Science Department and Special Plants Regional Research Center, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran.

2- M.Sc. Graduate Students Medicinal plant physiology, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.

3- Professor of Saffron Research Group, University of Birjand, Iran.

4-Professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran.

***Corresponding author**: mh.aminifard@birjand.ac.ir

Received 07 May 2021; Accepted 30 August 2021

Introduction: Saffron (*Crocus sativus* L.) belongs to the Iridaceae family, whose dry stigmas are the most expensive spices in the world and are widely used in food and pharmaceutical industries. Correct management of planting density is one of the most important factors in the formation of saffron yield. Choosing the appropriate planting density in saffron, while increasing the exploitation of this agriculture, increases the yield and reduces the period between planting and economic yield. On the other hand, gibberellins are classified as a diverse group of plant growth regulators that enhance some physiological and biochemical pathways in plants. Gibberellins are involved in many plant development processes and the improvement of some desirable traits such as increasing stem length, uniform flowering, reducing time to flowering, and increasing flower weight. Also, considering that the study of planting density factors and the simultaneous application of gibberellic acid hormone on the qualitative traits of the saffron medicinal plant has not been done, the purpose of this experiment is to investigate the effect of dense cultivation and gibberellic acid hormone on the antioxidant activity and effective substances of saffron.

Materials and Methods: To investigate the effects of gibberellic acid and plant density on the antioxidant activity and active ingredients of saffron, an experiment was conducted with a factorial arrangement based on a randomized complete block design at the Agricultural Research Station, University of Birjand during 2017-2018 growing season. Treatments consist of gibberellic acid (0 and 20 ppm) and plant density (100, 200, and 300 corms.m^{-2}) with three replications. After the land preparation operation including initial plowing, disk, and land leveling, plots with dimensions of 1x2 meters were created. The distance between the plots was 50 cm and the distance between the blocks was 2 meters (including the irrigation ditches). Since it is important to choose a

quality root for planting in order to create a high yield, healthy roots without wounds and scratches and free from any kind of disease were prepared and planted after weighing (the average weight of each root is 8 grams). Anthocyanin, phenol, antioxidant activity, safranal, crocin, picrocin, dry stigma yield, and photosynthetic pigments were measured. Data were analyzed using SAS 9.1 software and means were compared based on the Duncan test.

Results and Discussion: The results showed that gibberellic acid had a significant effect on different traits ($P<0.05$). The highest amount of phenol (629.77 mg. 100 g dry weight^{-1}) and antioxidant (39.53%) was obtained from the gibberellic acid treatment. Therefore, the effect of gibberellic acid at the level of one percent on stigma anthocyanin was also significant and the rate of this trait was 24% higher in the treatment of gibberellic acid application than the non-application treatment. Active ingredients of saffron are influenced by gibberellic acid treatments. The highest safranal (32.5 %), crocin (140.4 %), and picrocin (58.1%) obtained from the use of gibberellic acid, and the lowest safranal (28/3%), crocin (125.1 %), and picrocin (56.6 %) obtained from control. A planting density of 300 corms.m^{-2} had the highest dry stigma yield. Chlorophyll a and total were increased by application of 20 ppm of gibberellic acid by 14% and 12%, respectively, compared to the control. Plant density treatments were significantly affected only on some traits of active ingredients (safranal and picrocin) at the level of one percent and the highest these were obtained from plant density with 100 corms.m^{-2}, but it had no significant effect on other traits.

Conclusion: The current study's findings revealed that the use of 20 ppm gibberellic acid had positive effects on qualitative traits of saffron and low planting density (100 corms.m^{-2}) affected only some traits of saffron active ingredients (safranal and picrocin) and high planting density (300 corms.m^{-2}) affected the dry stigma yield.

Conflict of Interest: The authors declare no potential conflict of interest related to the work.

Keywords: Phenol, Safranal, Crocin, Plant density, Hormon, irrigation.

نشریه پژوهش‌های زعفران (دو فصلنامه)
جلد دوازدهم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۴۰۳
شماره صفحه:۶۴ - ۵۱
http://dx.doi.org/10.22077/JSR.2020.3747.1141

مقاله پژوهشی

مطالعه اثر هورمون جیبرلیک‌اسید و کشت پُرتراکم بر مواد مؤثره و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی زعفران (*Crocus sativus* L.)

محمد حسین امینی فرد[1*]، معصومه شاکری[2]، محمد علی بهدانی[3]، سید جلال طباطبایی[4].

۱-دانشیار گروه علوم باغبانی و مرکز پژوهشی گیاهان ویژه منطقه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم باغبانی، گرایش فیزیولوژی گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند.

۳-استاد گروه پژوهشی زعفران، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، ایران.

۴-استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: mh.aminifard@birjand.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۰۸

چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر هورمون جیبرلیک اسید و کشت پُر تراکم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مواد مؤثره زعفران، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال زراعی ۹۶-۹۵ اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل دو سطح جیبرلیک‌اسید (صفر و ۲۰ پی‌پی‌ام) و سه سطح تراکم کاشت (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ بنه در مترمربع) با سه تکرار بودند. صفات اندازه‌گیری شده شامل میزان آنتوسیانین، فنول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، سافرانال، کروسین، پیکروسین، عملکرد کلاله خشک و رنگدانه‌های فتوسنتزی بودند. نتایج نشان داد تیمار جیبرلیک اسید اثر معنی‌داری بر اکثر صفات داشت، به‌طوری‌که بیشترین میزان فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب ۶۲۹/۷ (میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک) و ۳۹/۵ درصد از تیمار مصرف اسیدجیبرلیک به‌دست آمد. همچنین نتایج بیانگر اثر معنی‌دار اسیدجیبرلیک در سطح یک درصد بر میزان آنتوسیانین کلاله بود، به‌طوری‌که میزان این صفت، ۲۴ درصد در تیمار اسیدجیبرلیک بیشتر از شاهد بود. مواد مؤثره زعفران نیز تحت تأثیر اسیدجیبرلیک قرار گرفت، به‌طوری‌که بیشترین میزان سافرانال (۳۲/۵ درصد)، کروسین (۱۴۰/۴ درصد) و پیکروسین (۵۸/۱ درصد) از تیمار مصرف اسیدجیبرلیک و کمترین میزان سافرانال (۲۸/۳ درصد)، کروسین (۱۲۵/۱ درصد) و پیکروسین (۵۶/۶ درصد) از تیمار شاهد حاصل شد. همچنین میزان کلروفیل a و کل برگ با مصرف ۲۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک اسید به‌ترتیب به‌میزان ۱۴ و ۱۲ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. تیمار تراکم کاشت تنها بر بعضی مواد مؤثره (سافرانال و پیکروسین) در سطح یک درصد معنی‌دار بود و بیشترین آنها به‌ترتیب به‌میزان ۳۳/۵۵ و ۵۸/۹۶ درصد از تراکم کاشت ۱۰۰ بنه در مترمربع مشاهده شد، امّا روی سایر صفات تأثیر معنی‌داری نداشت. تراکم کاشت ۳۰۰ بنه در مترمربع، بیشترین عملکرد کلاله خشک را داشت. به‌طور کلی با توجه به نتایج به‌دست آمده، مشخص شد مصرف ۲۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک - اسید سبب بهبود صفات کیفی زعفران گردید و تراکم کاشت پایین (۱۰۰ بنه درمترمربع) فقط در برخی صفات مواد مؤثره زعفران (سافرانال و پیکروسین) و تراکم کاشت بالا (۳۰۰ بنه در مترمربع) در عملکرد کلاله خشک تأثیر داشت.

واژه‌های کلیدی: فنول، سافرانال، کروسین، فاصله کاشت، هورمون.

مقدمه

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. متعلق به خانواده Iridaceae است که کلاله‌های خشک آن گران-قیمت‌ترین ادویه در جهان بوده و کاربرد فراوانی در صنایع غذایی و دارویی دارد (Ahmadian-Kouchaksaraie et al., 2016). ایران با دارا بودن بیش از ۱۱۵ هزار هکتار محصول زعفران (از ۱۲۲هزار هکتار در سطح جهان) و تولید میانگین چهار تا ۱۳ کیلوگرم از این محصول در واحد سطح، بزرگترین تولیدکننده و صادرکننده کمی و کیفی این محصول در سطح جهان بشمار می‌رود (AghapourSabaghi, 2019; Ministry of Agriculture, 2019). کلاله این گیاه حاوی بیش از ۱۵۰ ماده شیمیایی است که از میان آن‌ها سه متابولیت ثانویهٔ اصلی شامل کروسین (عامل رنگ)، پیکروکرسین (عامل طعم) و سافرانال (عامل ایجاد عطر) در ایجاد اثرات فارماکولوژیک زعفران نقش مهم‌تری دارند. این گیاه در صنایع غذایی به‌عنوان طعم‌دهنده و در صنایع داروسازی به‌عنوان آرام‌بخش، ضداسپاسم، ضددرد، اشتهاآور و مقوی معده استفاده می‌شود (Razavi et al., 2013; Fallahi & Mahmoodi, 2018).

مدیریت صحیح تراکم کاشت یکی از مهم‌ترین عوامل در شکل‌گیری عملکرد زعفران می‌باشد (Naderi Darbaghshahi et al.,2009). انتخاب تراکم کاشت مناسب در زعفران ضمن افزایش بهره‌برداری این زراعت سبب افزایش عملکرد و کاهش طول دوره بین کاشت تا اقتصادی شدن عملکرد می‌شود (Abrishami, 1997). با توجه به اینکه عملکرد زعفران در سال اول کشت از نظر اقتصادی توجیه‌پذیر نیست، به‌نظر می‌رسد با استفاده از الگوهای کشت پُرتراکم، می‌توان تا حدودی کاهش عملکرد اولیه را جبران کرد (Koocheki et al., 2009). بهنیا و مختاری (Behnia and Mokhtari, 2010) با بررسی اثر تراکم‌های مختلف بنه زعفران (۵، ۱۰ و ۱۵ بنه) در طول ۳۰ سانتی‌متر بر عملکرد زعفران گزارش نمودند که افزایش تراکم بنه تا ۱۵ بنه در طول ۳۰ سانتی‌متر، منجر به بهبود عملکرد گردید. در این راستا نتایج تحقیق کوچکی و همکاران (Koocheki et al., 2012) نشان داد که در طی سه سال بهره‌برداری از زمین، افزایش تراکم بنه از چهار به ۱۲ تن بنه در هکتار، ضمن افزایش تعداد گل در واحد سطح، منجر به بهبود معنی‌دار عملکرد گل تَر و خشک و نیز وزن کلاله در واحد سطح شد. ملافیلابی و شوریده (Malafilabi & Shurideh, 2008) نیز کاشت بنه‌های با تراکم‌های بالا را در افزایش تولید مؤثر دانست. طی مطالعه‌ای احمدی و همکاران (Ahmadi et al., 2017) نشان دادند افزایش تراکم کاشت از ۵۰ به ۱۰۰ بنه در مترمربع سبب کاهش میزان آنتی‌اکسیدان زعفران گردید. همچنین محمدآبادی و همکاران (Mohammad-Abadi et al., 2007) نشان دادند که تراکم کاشت تأثیر معنی‌داری بر عملکرد وزن تازه گل و عملکرد کلاله خشک دارد. همچنین وزن تَر و خشک برگ در تراکم بالاتر بیشتر می‌شود. نتایج ارزیابی دو سطح تراکم کم (۵۵ بنه در مترمربع) و تراکم بالا (۷۵ بنه در مترمربع) در زعفران نشان داد که افزایش تراکم تأثیر مثبتی بر تعداد گل در واحد سطح می‌گذارد که متعاقباً عملکرد کلاله را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gresta et al., 2009). همچنین بهنیا و مختاری (Behnia & Mokhtari, 2009) نیز اثر روش کاشت (توده‌ای و ردیفی) و تراکم بنه زعفران (۵، ۱۰ و ۱۵ بنه در هر ۳۰ سانتی‌متر از ردیف کاشت) را بر عملکرد زعفران در طی یک دوره چهار ساله مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که در سال چهارم کشت ردیفی همراه با ۱۵ و ۱۰ بنه در هر ۳۰ سانتی‌متر از ردیف کاشت، بیشترین عملکرد را به خود اختصاص داد.

از طرف دیگر، جیبرلین‌ها به‌عنوان گروه متنوعی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی تقسیم‌بندی شده‌اند که برخی از مسیرهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را در گیاهان افزایش می‌دهند (Hashemabadi& Zarchini. 2010). جیبرلین‌ها در بسیاری از فرآیندهای نموی گیاه و بهبود برخی از صفات مطلوب چون افزایش طول ساقه، گلدهی یکنواخت، کاهش زمان تا گلدهی و افزایش وزن گل دخالت دارند (Srivastava & Srivastava, 2007). در آزمایشی دیگر مشاهده شد، چنانچه محلول جیبرلین و کینتین در جوانه بنه زعفران تزریق گردد، رشد بوته قوی‌تر، ریشه‌ها و برگ‌ها طویل‌تر و تعداد گل بیشتر می‌شود (Koul & Farooq, 1984). همچنین گزارش شده است که، کاربرد اسیدجیبرلیک و EDTA در گیاه یونجه باعث افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه شده است (López et al., 2007). بررسی تاثیر سه غلظت جیبرلیک‌اسید (۰، ۲۰۰ و۴۰۰ میلی‌مولار) بر مواد

موثره زعفران (کروسین، سافرانال و پیکروکروسین) مشخص شد، با افزایش غظت اسیدجیبرلیک میزان مواد مؤثره افزایش یافت و غلظت ۴۰۰ میلی‌مولار بیشترین میزان صفات ذکر شده را نشان داد (MansuriIsfahaniet al, 2013). همچنین گزارش گردید که اسیدجیبرلیک سبب کاهش عطر گل‌های میمون گردید (Bushue et al., 1999). این هورمون در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور قابل توجهی باعث افزایش ارتفاع و تعداد برگ در گیاه گلایول شد (Leena & Valasala, 1992). همچنین گزارش شده است که کاربرد جیبرلیک‌اسید سبب افزایش رنگدانه فتوسنتزی درگیاه کروتون شد (Soad et al. 2010). بر اساس توضیحات ذکر شده و با توجه به اهمیت گیاه دارویی زعفران و مصارف گسترده آن در صنایع مختلف، تحقیقات هدفمند در جهت شناسایی عوامل مؤثر بر رشد و نمو و تولید متابولیت‌های ثانویه این گیاه می‌تواند ما را در رسیدن به حصول عملکرد کمی و کیفی قابل قبول یاری کند. همچنین با توجه به اینکه تا کنون مطالعه عوامل تراکم کاشت و اعمال همزمان هورمون جیبرلیک‌اسید بر روی صفات کیفی گیاه دارویی زعفران صورت نگرفته است، هدف از اجرای این آزمایش بررسی تأثیر کشت پُرتراکم و هورمون جیبرلیک‌اسید بر روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مواد مؤثره زعفران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تیمار و سه تکرار در مزرعه آموزشی و تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ انجام شد. محل اجرای این طرح دارای طول جغرافیایی ۵۹ درجه و ۱۳دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۵۶ دقیقه و ارتفاع ۱۴۸۰ متری از سطح دریا انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل دو سطح جیبرلیک‌اسید (صفر و ۲۰ پی‌پی‌ام) و سه سطح تراکم کاشت (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ بنه در مترمربع) با سه تکرار بودند. پس از عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم اولیه، دیسک و تسطیح زمین، کرت‌هایی به ابعاد ۱×۲ متر ایجاد شد. فاصله بین کرت‌ها ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین بلوک‌ها دو متر (با احتساب جوی‌های آبیاری)، در نظر گرفته گردید. از آنجا که انتخاب بنه مرغوب جهت کاشت در ایجاد عملکرد بالا حائز اهمیت است، لذا بنه سالم و بدون زخم و خراشیدگی و عاری از هر نوع بیماری تهیه و پس از توزین (میانگین وزنی هر بنه هشت گرم) کشت شدند. قبل از کشت جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری نمونه برداری مرکب شد (جدول ۱). بنه‌های زعفران در مهرماه ۱۳۹۵ بر اساس نقشه طرح آزمایشی در شیارهایی با عمق ۲۰ سانتی‌متر کاشته شدند. تیمار جیبرلیک‌اسید (به‌میزان ۲۰ پی‌پی‌ام) قبل از کاشت بصورت غوطه‌وری بنه‌ها و همچنین همراه با آبیاری اول با غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام به‌میزان دو لیتر در مترمربع زمانی که کرت‌ها بصورت یکسان غرقاب شدند اعمال شد (Shakeri et al. 2018). آبیاری اول در مهرماه ۱۳۹۵ پس از کاشت و به‌صورت سنگین به‌نحوی که تمام کرت غرقاب شود، انجام شد. بعد از آن نیز یک مرتبه سله‌شکنی خاک جهت ظهور گل‌ها صورت گرفت و آبیاری‌های بعدی طبق عرف منطقه و کنترل علف‌های هرز از طریق وجین دستی انجام شد. گل‌های زعفران در اولین ساعات صبح نیمه آبان ماه سال ۹۵ (سال اول)، با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای از کل سطح کرت‌ها برداشت شد و قسمت‌های مختلف گل در آون الکتریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و عملکرد کلاله خشک محاسبه گردید. سپس صفات شامل میزان آنتوسیانین، فنول، فعالیت آنتی‌اکسیدان و میزان سافرانال، کروسین و پیکروسین کلاله انجام گرفت. اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b و کلروفیل کل) نیز در طی فصل رشد و از برگ‌های جوان توسعه یافته در مرحله رشد رویشی زعفران در دی ماه انجام شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش از نرم افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر مقایسه شدند.

اندازه‌گیری آنتوسیانین گلبرگ و کلاله

اندازه‌گیری آنتوسیانین به روش pH افتراقی انجام گرفت. برای این منظور از دو بافر شامل پتاسیم کلرید و کلریدریک اسید با pH=۱ و سدیم استات و کلریدریک اسید با pH=۴/۵ استفاده شد. نمونه‌ها با بافر به حجم رسانده شدند و سپس در دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر میزان جذب برای هر دو بافر قرائت شد. میزان آنتوسیانین‌ها طبق رابطه زیر محاسبه شدند(Wrosotad, 1976).

جدول ۱-خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش

Table 1- physical and chemical properties of soil used in experiment

بافت خاک Texture	واکنش خاک pH	هدایت الکتریکی (دسی زیمنس بر متر) EC ($ds.m^{-1}$)	مواد آلی (درصد) Organic Matter (%)	نیتروژن کل (درصد) Total N (%)	پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) K ($mg.kg^{-1}$)	فسفر (میلی-گرم بر کیلوگرم) P ($mg.kg^{-1}$)
لومی Loam	7.7	2.3	0.68	0.06	420	40

. $A= (A_{max} – A_{700nm}) PH_1 – (A_{max}- A_{700n}m) PH_{4.5}$

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

A: جذب، 510 A: جذب در 510 نانومتر، 700 nm A: جذب در 700 نانومتر، MW: وزن مولکولی پلارگونیدین 3 - گلیکوزاید: 433/39 گرم بر مول، DF: درجه رقّت: 10، £: 15600، d: ۱

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلاله

جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی و با کمک ۲،۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) استفاده گردید (Turkmen et al., 2005). برای این منظور دو میلی‌لیتر از محلول اتانولی ۰/۱۵ میلی‌مولار DPPH به لوله آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر عصاره کلاله زعفران اضافه شد. سپس مخلوط بدست آمده به‌مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه ورتکس مخلوط شد، بعد از آن محلول به‌مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق تثبیت گردید. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (UNICO,2000,Germany) خوانده شد.

درصد آنتی اکسیدان =۱- (جذب نمونه/جذب شاهد)

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

محتوای فنول کل با استفاده از روش گالیک اسید و معرف فولین سیکالتو محاسبه شد (Chuah et al., 2008). به این منظور، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره کلاله زعفران به لوله آزمایش منتقل شده و بعد از پنج دقیقه ۰/۵ میلی‌لیتر فولین سیکالتو به آن اضافه و سپس دو میلی‌لیتر بیکربنات سدیم (۲۰۰ گرم در لیتر) به آن افزوده شد. سپس محلول به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق گذاشته و ۱۰ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه به آن اضافه شد و در طول موج ۷۲۵ نانومتر میزان جذب نمونه با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید.

اندازه‌گیری پیکروسین، سافرانال و کروسین کلاله

جهت اندازه‌گیری مواد مؤثره شامل کروسین، سافرانال و پیکروسین، روش استاندارد ملی ایران (INS, 2006) مورد استفاده قرار گرفت. براساس این روش، پنج میلی-گرم نمونه کلاله پودر شده با استفاده از آب مقطر به حجم ۱۰ سی‌سی رسانده شد، سپس این ترکیب به-مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی با کمک دور متوسط همزن مغناطیسی حل شد و میزان جذب در طیف‌های ۲۵۷ (پیکروسین)، ۳۳۰ (سافرانال) و ۴۴۰ (کروسین) نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شدند. عدد به‌دست آمده در رابطه زیر قرار گرفته و مقادیر صفات ذکر شده محاسبه گردید.

$X=A/M\times 100$

X = مقدار ترکیب کیفی مشخص با واحد درصد

A = میزان جذب خوانده شده در طول موج مربوطه

M = وزن خشک کلاله با واحد میلی‌گرم

اندازه‌گیری کلروفیل برگ

اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل با استفاده از روش آرنون (Arnon, 1967) تعیین شد. برای این منظور ۰/۲ گرم از بافت تَر برگ در ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده، سپس حجم محلول با استون به ۲۰ میلی‌لیتر رسید. محلول حاضر به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. سپس میزان کلروفیل a در طول موج ۶۶۳ نانومتر و کلروفیل b در طیف جذبی ۶۴۵ نانومتر قرائت و اندازه‌گیری شد و بر اساس روابط زیر محاسبه شد.

Chlorophyll a=
$(19.3 \times A_{663}) - (0.86 \times A_{645})$ V/100W

Chlorophyll b =
$(19.3 \times A_{645}) - (3.6 \times A_{663})$ V/100W

Total Chlorophyll =
$(20.2 \times A_{645}) + (8.02 \times A_{663})$ V/1000W

V= حجم محلول صاف‌شده، A= جذب در طول موج‌های قرائت شده، W= وزن تَر نمونه بر حسب گرم

نتایج و بحث

میزان فنول کلاله

با توجه به جدول آنالیز واریانس داده‌ها، میزان فنول زعفران تنها تحت تأثیر تیمار هورمون جیبرلیک‌اسید قرار گرفت و تراکم کاشت و اثر برهمکنش این دو عامل نتوانستند تأثیر معنی‌داری بر صفت داشته باشند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین اثر ساده جیبرلیک‌اسید مشخص کرد استفاده از هورمون سبب افزایش میزان فنول گردید به‌گونه‌ای که با مصرف جیبرلیک‌اسید بیشترین میزان فنول (۶۲۹/۷ میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک) بدست آمد و کمترین آن (۶۲۳/۳ میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک) از تیمار عدم مصرف هورمون جیبرلیک‌اسید مشاهده شد (جدول۴).

در تحقیقی مشابه که اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر گیاه ریحان مورد مطالعه قرار گرفت مشخص شد، محتوای فنل کل و فلاونوئید تحت تأثیر جیبرلیک‌اسید قرار گرفت و در تیمار اسیدجیبرلیک نسبت به شاهد میزان فنل کل بیشتری حاصل شد (Abd Khani & Seluky.,2016). گوگولیاز و ماشوا (Gougoulias & Masheva, 2010) و همچنین الرشیدی و همکاران (Alrashdi et al., 2017) تأثیرات مثبت اسیدجیبرلیک را روی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنولی را گزارش کرده‌اند. شرف الدین وهمکاران، (Sharaf-Eldin et al., 2007) نشان دادند که اسیدجیبرلیک باعث افزایش ترکیبات فنلی در برگ‌های کنگرفرنگی شد. آناستازیا و همکاران (Anastasia et al.,2012) نیز گزارش کردند اسیدجیبرلیک، اکسین و کینتین به‌طور قابل توجهی ترکیبات فنلی خاص (اسیدگالیکوروتین) را در گیاهان عدس افزایش دادند. جیبرلیک‌اسید یک هورمون گیاهی است که تجزیه ترکیبات ذخیره‌ای گیاه توسط آن تسهیل می‌شود (Hajisamadi Asl et al., 2011). به گونه‌ای که اسیدجیبرلیک موجب تحریک آنزیم آلفا آمیلاز و دیگر آنزیم‌های هیدرولیزکننده می‌گردد، که خود عامل تجزیه‌کننده برای منبع ذخیره‌ای می‌باشند (Hajisamadi Asl et al., 2011). در نتیجه در افزایش مواد کربوهیدراتی گیاه موثر است و این می تواند سبب افزایش ترکیبات فنولی گردد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلاله

همان‌طور که در جدول تجزیه واریانس ملاحظه می‌شود، تنها اثر ساده جیبرلیک‌اسید بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلاله معنی‌دار بود. ولی اثر تراکم کاشت و متقابل این دو عامل معنی‌دار نشد (جدول۲). بر اساس نتایج آزمایش، مصرف جیبرلیک‌اسید نقش مؤثری در افزایش معنی‌دار صفت ذکر شده داشت. به‌طوری‌که با مصرف ۲۰ پی‌پی‌ام هورمون مذکور بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۳۹/۵۳ درصد) مشاهده شد (جدول ۴).

طی مطالعه‌ای که بر روی گیاه پیازی گلایول انجام گرفت، مشخص شد که گل های تیمار شده با اسیدجیبرلیک، درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در مقایسه با شاهد داشتند (Saeed et al., 2014) که با نتایج این تحقیق همخوانی داشت. گوگولیاز و ماشوا (Gougoulias & Masheva, 2010) و همچنین الرشیدی و همکاران (Alrashdi et al., 2017) تأثیرات مثبت اسیدجیبرلیک را روی فعالیت آنتی‌اکسیدانی را گزارش کرده‌اند. طبق نتایج حبیبی دستجرد و همکاران (Habibi Dastjerd et al., 2019) تیمار جیبرلیک‌اسید تأثیرات بیشتری بر تجمع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به اسید سالیسیلیک داشت. فاکتورهای متعددی کمیت و کیفیت مواد مؤثر گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند. می‌توان عنوان کرد که تنظیم‌کننده‌های رشد در متابولیسم اولیه گیاهان نقش کلیدی و اساسی داشته و رشد و نمو گیاهان و به‌ویژه مواد مؤثره گیاهان دارویی می‌تواند به تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی وابسته باشد. از بین این تنظیم‌کننده‌ها اسیدجیبرلیک به‌دلیل اثر شناخته شده آن بر رشد و نمو گیاه می‌تواند در افزایش محتوا و عملکرد ماده مؤثره گیاهان دارویی نقش اساسی داشته و

باعث افزایش بیوسنتز فراورده‌های مسیرهای متابولیسمی ثانویه گردد (Hajisamadi Asl et al., 2011). بررسی‌ها نشان می‌دهد که بین فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات فنولی ارتباط مثبتی وجود دارد (Wang & Lin, 2000). همچنین گزارش شده است جیبرلیک‌اسید نقش مهمی در بیوسنتز، عملکرد و اثرات فیزیولوژیکی سالیسیلیک اسید دارد. اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک هورمون مهم در پاسخ به تنش‌های اکسیداتیو مطرح است (Clarke *et al*, 2004). اسید سالیسیلیک باعث فعال شدن و سنتز متابولیت‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شود (Eraslan *et al*, 2008). لذا به‌نظر می‌رسد اسیدجیبرلیک به‌صورت غیر مستقیم سبب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد.

میزان آنتوسیانین کلاله

نتایج تحقیق نشان داد که اثر ساده جیبرلیک‌اسید بر میزان آنتوسیانین کلاله معنی‌دار گردید، امّا اثر تراکم کاشت و متقابل این دو عامل بر میزان صفت مذکور معنی‌دار نشد (جدول۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن است که میزان آنتوسیانین کلاله از تیمار مصرف ۲۰ پی‌پی‌ام هورمون جیبرلیک‌اسید به‌میزان ۲۴ درصد بیشتر از تیمار عدم مصرف جیبرلیک‌اسید بدست آمد (جدول ۴).

مشابه با نتایج این آزمایش، حسن پور اصیل و همکاران (Hassanpour Asil et al., 2012) اظهار داشتند بیشترین میزان آنتوسیانین در گیاه زنبق با مصرف ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد. همچنین طی مطالعه‌ای روی ریحان مشخص گردید محتوای آنتوسیانین در تیمار اسید-جیبرلیک با ۱/۱۸ و جاسمونیک‌اسید با ۱/۰۴ واحد نسبت به شاهد افزایش یافت و در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (Abd Khani & Seluky.,2016). تحقیقات اخیر نشان داده است که تیمار جیبرلیک‌اسید منجر به افزایش آنتوسیانین می‌شود (Teszl´ak et al., 2005). توسعه پیگمان‌های سلول و سنتز آنتوسیانین با بالا رفتن میزان کربوهیدرات‌ها نسبت مستقیم داشته و هر عاملی که بتواند روی افزایش، جذب یا ساخته شدن قندها مؤثر باشد باعث افزایش میزان آنتوسیانین کل می‌شود. اسیدجیبرلیک، موجب تحریک آنزیم آلفا آمیلاز و دیگر آنزیم‌های هیدرولیزی می‌گردد، که خود عامل هیدرولیزکننده برای منبع ذخیره‌ای می‌باشد. در نتیجه در افزایش مواد هیدروکربنی گیاه موثر بوده و میزان آنتوسیانین را افزایش می‌دهد (Vitrac *et al*, 2000).

جدول۲. تجزیه واریانس تاثیر تراکم کاشت و اسیدجیبرلیک بر صفات کیفی گیاه زعفران

Table 2. Analysis of variation of plant density and Gibberellic acid on quantitative traits of saffron

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	فنول Phenol	آنتی‌اکسیدان Antioxidant	آنتوسیانین Antocyanin	سافرانال Safranal	کروسین Crocin	پیکروسین Picrocin	عملکرد کلاله خشک Dry stigma yield	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll
بلوک Block	2	38.889^{ns}	0.960^{ns}	10.581^{ns}	0.495^{ns}	28.676^{ns}	1.037^{ns}	2.435^{ns}	0.305^{ns}	0.005^{ns}	1.975^{ns}
تراکم کاشت Planting density	2	72.222^{ns}	1.135^{ns}	10.779^{ns}	146.346**	1327.746^{ns}	32.157**	0.023**	0.090^{ns}	0.002^{ns}	0.186^{ns}
جیبرلین Gibberellic acid	1	560.667**	7.881*	356.151**	242.358**	3132.735*	31.556*	0.010**	0.852*	0.013^{ns}	3.082**
تراکم کاشت×جیبرلین Planting density × Gibberellic acid	2	72.222^{ns}	0.553^{ns}	47.235^{ns}	26.154^{ns}	71.585^{ns}	8.176^{ns}	0.007**	0.124^{ns}	0.001^{ns}	0.559^{ns}
خطا Error	10	58.695	1.593	32.281	18.054	597.313	5.908	0.0001	0.156	0.007	0.334
ضریب تغییرات (٪) CV (٪)		1.22	3.22	24.45	13.95	18.40	4.23	7.43	20.69	19.92	13.75

**، * و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک در صد، پنج درصد و عدم معنی‌دار

* and ** are significant at 5 and 1% probability levels and ns: is non-significant, respectively

جدول ۳. مقایسه میانگین اثرات تراکم کاشت بر صفات کیفی گیاه زعفران

Table 3. Mean comparison of plant density on quantitative traits of saffron

تراکم کاشت (بنه در مترمربع) Planting density (corms.m^{-2})	سافرانال (٪) Safranal (%)	پیکروسین (٪) Picrocin (%)	عملکردکلاله خشک (گرم در مترمربع) Dry stigma yield (g.m^{-2})
100	33.55^{a}	58.96^{a}	0.12^{c}
200	29.82^{ab}	56.85^{b}	0.15^{b}
300	27.95^{b}	56.48^{b}	0.24^{a}

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری در سطح پنج درصد ندارند.

Means with the same letter are not significantly different at 5% probability level.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثرات جیبرلیک‌اسید بر صفات کیفی گیاه زعفران

Table 4. Mean comparison of gibberllic acid on quantitative traits of saffron

جیبرلیک‌اسید (میلیون در هزار) Gibberellic acid (ppm)	فنول (میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک) Phenol (mg. 100 g dry weight^{-1})	آنتی اکسیدان (درصد) Antioxidant (%)	آنتوسیانین کلاله (میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک) Anthocyanin (mg.100 g dry weight^{-1})	سافرانال کلاله (٪) Safranal (٪)	کروسین کلاله (٪) Crocin (٪)	پیکروکروسین کلاله (٪) Picrocin (٪)	عملکرد کلاله خشک (گرم در مترمربع) Dry stigma yield (g.m^{-2})	کلروفیل a (میلی- گرم در گرم وزن تَر) Chlorophyll a (mg.g fresh weight^{-1})	کلروفیل کل (میلی- گرم در گرم وزن تَر) Total chlorophyll (mg.g fresh weight^{-1})
شاهد control	623.33^{b}	38.77^{b}	20.66^{b}	28.32^{b}	125.17^{b}	56.66^{b}	0.19^{a}	1.78^{b}	3.96^{b}
۲۰ پی‌پی‌ام 20 ppm	629.77^{a}	39.53^{a}	25.80^{a}	32.56^{a}	140.40^{a}	58.19^{a}	0.14^{b}	2.03^{a}	4.44^{a}

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری در سطح پنج درصد ندارند.

Means with the same letter are not significantly differentat 5% probability level.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل تراکم کاشت و جیبرلیک‌اسید بر عمکرد کلاله خشک گیاه زعفران

Table 5- Mean comparison of interaction effects of planting density and gibberellic acid on dry stigma performance of saffron plant

تراکم کاشت (بنه در مترمربع) Planting density (corms.m^{-2})	جیبرلیک‌اسید (میلیون در هزار) Gibberellic acid (ppm)	عملکردکلاله خشک (گرم در مترمربع) Dry stigma yield (g.m^{-2})
100	0	0.12^{c}
200	0	0.16^{b}
300	0	0.30^{a}
100	20	0.11^{c}
200	20	0.15^{b}
300	20	0.17^{b}

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک اختلاف آماری معنی‌داری در سطح پنج درصد ندارند.

Means with the same letter are not significantly different at 5% probability level.

حسن‌پور اصیل و همکاران (Hassanpour Asil et al., 2012) در مطالعه خود بر روی گیاه زنبق بیان کردند با شکست خواب توسط اسید جیبرلیک ذخایر کربوهیدراتی موجود در بافت‌های پیاز به‌وسیله هیدرولیز نشاسته توانایی جابه‌جایی پیدا می‌کنند. امکان تبدیل ماکرو مولکول‌ها به‌خصوص نشاسته، به قندهای ساده مانند ساکاروز، گلوکز و فروکتوز، مقدمات این جا به جایی را فراهم می‌کند. انتقال و تجمع این مواد (قندها) که به‌عنوان منبع انرژی گیاه محسوب می‌شوند و در واحدهای ساختمانی به‌کار می‌روند، سبب توسعه و فراهم کردن انرژی موردنیاز جهت ساخت مواد ثانویه برای گیاه می‌گردد (Hassanpour Asil et al., 2012).

کروسین، سافرانال و پیکروسین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد، که تنها اثر جیبرلیک‌اسید بر کروسین کلاله معنی‌دار بود و تراکم کاشت و همچنین برهمکنش دو عامل بر میزان کروسین معنی‌دار نبود. میزان سافرانال و پیکروسین تحت تأثیر تراکم کاشت و جیبرلیک اسید قرار گرفتند، ولی اثر متقابل دو عامل تأثیر معنی‌دار آماری ایجاد نکرد (جدول۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین مقدار سافرانال و پیکروسین به‌ترتیب به‌میزان ۳۳/۵۵ و ۵۸/۹۶ درصد از تراکم کاشت ۱۰۰ بنه در مترمربع به‌دست آمد و همچنین کمترین آنها نیز از تراکم ۳۰۰ بنه در مترمربع بدست آمد (جدول ۳). همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر ساده جیبرلیک‌اسید نشان داد که مصرف جیبرلیک‌اسید افزایش معنی‌داری در صفات نامبرده داشت به‌طوری‌که بیشترین مقدار کروسین، سافرانال و پیکروسین به‌ترتیب به‌میزان ۱۴۰/۴۰، ۳۲/۵۶ و ۵۸/۱۹ درصد از تیمار مصرف ۲۰ پی‌پی‌ام هورمون جیبرلیک‌اسید و کمترین آنها نیز از تیمار صفر پی‌پی‌ام حاصل شد (جدول ۴).

طی مطالعه‌ای مشخص گردید که افشانه کردن جیبرلیک‌اسید میزان اسانس گیاه اسطوخودس را تحت تأثیر قرار داد به‌طوری‌که با افزایش غلظت، میزان اسانس افزایش یافت (Hajisamadi Asl et al., 2011). بعلاوه طبق نظر ال- نگار و همکاران (El-Naggar et al., 2009) اسیدجیبرلیک می‌تواند باعث تحریک آغازش گلدهی شده و این امر می‌تواند منجر به افزایش میزان اسانس تولیدی از گل آذین شود. مطالعه خیری (Kheiry, 2006) نشان داد جیبرلین و بنزیل آدنین میزان اسانس گل مریم را کاهش داداند. که با نتایج ما تناقض داشت. با توجه به اینکه اسیدجیبرلیک به عنوان یک ترکیب ترپنوئیدی ارتباط تنگاتنگ و مستقیمی با متابولیسم اولیه و ثانویه به‌ویژه مسیر بیوسنتزی اسانس‌ها و ترکیبات معطر دارد، همین امر می‌تواند دلیل افزایش صفات بیوشیمیایی زعفران در این آزمایش همین موضوع باشد. احمدی و همکاران (Ahmadi et al., 2017) طی بررسی تأثیر اسید هیومیک و تراکم کاشت بر صفات بیوشیمیایی زعفران داشتند اظهار داشتند، بیشترین میزان پیکروسین از تیمار تراکم کاشت متوسط (۷۵ بنه در مترمربع) به‌دست آمد. همچنین تأثیرگذاری کم تراکم بر مواد مؤثره را می‌توان به رقابت بین بنه‌ها بر سر جذب مواد غذایی نسبت داد. محققین گزارش کردند، که تراکم زیاد بنه‌های زعفران و تجمع آن‌ها در مزرعه می‌تواند، باعث ایجاد رقابت شدید برای عناصر غذایی و کاهش فضای مناسب برای رشد گردد (Koocheki *et al*., 2009) که این عامل می‌تواند روی میزان مواد مؤثره زعفران نیز تأثیر منفی بگذارد.

عملکرد کلاله خشک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشخص کرد که عملکرد کلاله خشک تحت تأثیر معنی‌دار تیمارهای آزمایشی قرار گرفتند (جدول ۲). بیشترین و کمترین میزان این صفت به‌ترتیب از تیمار تراکم کاشت ۳۰۰ بنه در مترمربع و ۱۰۰ بنه در مترمربع به دست آمد (جدول ۳). همچنین جیبرلیک‌اسید سبب کاهش معنی‌دار صفت مذکور گردید و تیمار عدم مصرف جیبرلیک‌اسید بیشترین میزان این صفت را تشان داد (جدول ۴). مطابق جدول (۵) تیمار برهمکنش تراکم کاشت ۳۰۰ بنه در مترمربع و عدم مصرف جیبرلیک‌اسید بیشترین عملکرد کلاله خشک را سبب شد و سایر تیمارها باهم تفاوت معنی‌داری نداشتند. مشابه این نتایج، درباغشاهی و همکاران (Darbaghshahi *et al*, 2009) گزارش کردند که افزایش تراکم کاشت از دو به هشت بنه در هر کپه بطور معنی‌داری منجر به افزایش عملکرد کلاله و شاخص برداشت زعفران شد. کوچکی و همکاران (Koocheki et al., 2009) در بررسی اثر عمق و تراکم کاشت بر خصوصیات زراعی زعفران بیان داشتند که بیشترین عملکرد گل و کلاله در کاشت ۱۱ تن بنه در هکتار و عمق کاشت ۱۵ سانتی‌متر به‌دست آمد. محققین بیان نمودند که، تراکم بالای کاشت زعفران می‌تواند با تسریع گلدهی و با بهره‌برداری زودتر از عوامل محیطی نظیر آب، مواد غذایی، نور و خاک باعث افزایش کارایی اقتصادی زعفران گردد(Koocheki et al. 2011).

میزان کلروفیل برگ

با توجه به نتایج جدول آنالیز واریانس داده‌ها، صفت کلروفیل a و کل تنها تحت تأثیر تیمار جیبرلیک‌اسید قرار گرفت و سایر تیمارها تأثیر معنی‌داری بر این صفت نداشتند و همچنین کلروفیل b تحت تأثیر هیچکدام از تیمارها قرار نگرفت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانین اثر ساده تیمارها نشان داد کلروفیل a و کل با مصرف ۲۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک‌اسید به‌ترتیب به‌میزان ۱۴ و ۱۲ درصد بیشتر از تیمار عدم مصرف جیبرلیک‌اسید بود (جدول ۴).

نتایج مربوط به صفت کلروفیل برگ نشان داد که تیمار اسیدجیبرلیک اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد دارد که این نتایج با نتایج مینت و همکاران (Mynett et al., 2001) در فریزیا و یعقوبی و همکاران (Yaqubi et al. 2013) در مینا چمنی در مورد تأثیر اسیدجیبرلیک بر افزایش شاخص سبزینگی برگ مطابقت داشت. عباسپور و رضایی (Abbaspour & Rezaei, 2015) نیز بیان کردند تیمار با اسیدجیبرلیک سبب افزایش میزان کلروفیل a در گیاه دارویی بادرشبو شد. همچنین کاربرد جیبرلین در برگ‌های شیپوری، از تخریب کلروفیل جلوگیری کرد (Majidian et al., 2012). محققین گزارش کردند که اسیدجیبرلیک در گل نرگس تخریب کلروفیل را به تأخیر می‌اندازد (Hassanpour Asil et al., 2012). گزارش شده است که جیبرلین‌ها به‌طور

مؤثری موجب حفظ کلروفیل در گیاه و جلوگیری از زردی برگ‌ها پس از برداشت گل های شاخه بریدنی می‌شوند (Majidian et al., 2012). اسیدجیبرلیک تجزیه و از بین رفتن کلروفیل را در طیف روند پیری کاهش می‌دهد که ممکن است به‌دلیل نقش ساختاری جیبرلیک‌اسید درغشاء کلروپلاست باشد و نیز باعث تحریک فتوسنتز شود که در نتیجه طول عمر برگ افزایش می‌یابد (Skutinket al, 2001). ثابت شده است که اسیدجیبرلیک فعالیت آنزیم ریبولوز بی‌فسفات کربوکسیلاز-اکسیژناز (رابیسکو) که آنزیم عمده فتوسنتزی در گیاهان است، را افزایش می‌دهد که می-تواند منجر به افزایش پیگمان‌های فتوسنتزی (کلروفیل) در گیاه گردد (Nazarbeigi et al., 2014).

نتیجه گیری

بر اساس نتایج این آزمایش، مشخص شد که جیبرلیک-اسید توانسته است بر اکثر شاخص‌های کیفی و مواد مؤثره گیاه دارویی زعفران اثر مثبت بگذارد، ولی تراکم کاشت تأثیر کمی بر این صفات داشت. در این تحقیق، تیمار ۲۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک، بیشترین تأثیر را بر خصوصیات کیفی گیاه (خواص آنتی‌اکسیدانی و مواد مؤثره زعفران) داشتند. اما تراکم کاشت، تنها مواد مؤثره سافرانال و پیکروسین گیاه را تحت تأثیر قرار داد، بطوریکه تراکم کاشت ۱۰۰ بنه در متر مربع، بیشترین میزان این صفات را ایجاد کرد، در حالیکه، تراکم کاشت ۳۰۰ بنه در متر مربع بیشترین عملکرد کلاله خشک را داشت. بطور کلی، با توجه به نتایج این مطالعه، به نظر می‌رسد که استفاده بهینه از تنظیم‌کننده‌های رشدی مانند جیبرلیک اسید می‌تواند برای بهبود بخشیدن به صفات کیفی و مواد مؤثره گیاه ارزشمند زعفران مد نظر قرار گیرد.

منابع

Abbaspour, H., Rezaei, H., 2015. Effects of gibberellic acid on Hill reaction, photosynthetic Pigment and phenolic compounds in Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in different drought stress levels. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology). 27(5), 893-903. [in Persian with English Summary].

Abd Khani, S., Seluky, M., 2016. Changes in phenolic, anthocyanin and antioxidant enzymes in different stages of growth of basil (*Ocimum basilicum*L.) under the influence of growth regulators. Journal of Medicinal Plants. 2(15), 164-175. [in Persian].

Abrishmi, M. H. (1997). *Iranian saffron, historical, cultural and agricultural knowledge*. Astan Quds Razavi, Printing and Publishing Institute. 892. [in Persian].

Aghapour Sabaghi, M., 2019. Investigating the factors affecting Iran's saffron exports to BRICS countries (data panel approach). Scientific-Research Journal of Saffron, 7(3), 411-420. [In Persian].

Ahmadi, F., Aminifard,M.H., Khayyat, M., Samadzade, A.R., 2017. Effects of different humic acid levels and planting density on antioxidant activities and active ingredients of saffron (*Crocus sativus* L.). Saffron Agronomy & Technology. 5(1), 61-71. [in Persian].

Ahmadian-Kouchaksaraie, Z., Niazmand, R., and Najaf najafi, M. 2016. Optimization of the subcritical water extraction of phenolic antioxidantsfrom *Crocus sativus* petals of saffron industry residues: Box-Behnkendesign and principal component analysis. Innovative Food Science and Emerging Technologies 36, 234-244.

Alrashdi, A.M., Al-Qurashi, A.D., Awad, M.A., Mohamed, S.A., Al-rashdi, A.A., 2017. Quality, antioxidant compounds, antioxidant capacity and enzymes activity of 'El-Bayadi'table grapes at harvest as affected by preharvest salicylic acid and gibberellic acid spray. Scientia Horticulturae. 220(6), 243-249.

Anastasia, E., Giannakoula, F., Jelena, J., Maksimovic, M., Maksimovic, DZ., 2012. The effects of plant growth regulators on growth, yield, and phenolic profile of lentil plants. Journal of Food Composition and Analysis. 28(1), 46–53.

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

Behnia, M.R., Mokhtari, M., 2009. Effect of planting methods and corm density in saffron (*Crocus sativus* L.). 3 rd International Symposium on Saffron. Forthcoming Challenges in Cultivation, Research and Economics. 20-23 May, Korokos, Kozani, Greece.

Behnia, M.R., Mokhtari, M., 2010. Effect of planting methods and corm density in saffron (*Crocus sativus* L.) yield. Acta Horticulturae. 850, 131 -136.

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

Clarke, S.M., Mur, L.A.J., Wood, J.E., Scott, I.M., 2004. Salicylic acid dependent signaling promotes basal hermotolerance but is not essential for acquired thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. Plant Journal. 38(3), 432–447.

Darbaghshahi, M. R. N., Khajebashi, S. M., Banitaba, S. A. & Dehdashti, S. M., 2009. Effects of planting method, density and depth on yield and production period of saffron (*Crocus sativus* L.) in Isfahan Region. Seed and Plant.24, 643-657.

El-Naggar, A.H., El-Naggar, A.A.M., Ismaiel, N.M., 2009. Effect of phosphorus application and gibberellic acid on the growth and flower quality of (*Dianthus caryophyllus* L.). American Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science. 6(4), 400-410.

Eraslan, F., Inal, A., David, J.,Gunes, A., 2008. Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L.cv. Matado) grown under boron toxicity and salinity. Plant Growth Regulation. 55(3), 207-219.

Fallahi, H. R. and Mahmoodi, S., 2018. Impact of water availability and fertilization management on saffron (*Crocus sativus* L.) biomass allocation. Journal of Horticulture and Postharvest Research, 1(2), 133-148.

Gougoulias, N., Masheva, L., 2010. Effect of gibberillic Acid (GA_3) on polyphenols content and antioxidative activity of some table grape varieties of *Vitis vinifera* L. Oxidation Communications. 33(3), 652-660.

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

Habibi Dastjerd, Z., Naseri, L.A., Amiri, J., Dolati Baneh, H., 2019. Effects of gibberellic-acid and salicylic-acid on phytochemical characteristics, antioxidant capacity and nutrient elements of Bidane-Sefid grape. Journal of Plant Production (Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources). 26(3), 103-120.

Hajisamadi asl, B., Hassanpouraghdam,M.B., Khalighi, A., 2011. Effects of gibberellic acid (GA_3) foliar application on growth characteristics and essential oil of lavender (*Lavandula officinalis* Chaix.). Journal of Agricultural Science and Sustainable Production. 2 (21), 24-32. [in Persian].

Hashemabadi, D., 2010. Yield and quality management of rose (*Rosa hybrida*cv. Poison) with plant growth regulators. Plant Omics Journal. 3(6), 167-171.

Hassanpour Asil, M., Mortazavi, H., Hatamzadeh, A., Qasemnejad, M., 2012. The effect of gibberellic acid and calcium in reducing the growth period of iris (*Iris hollandica* var. Blue Magic) in the greenhouse and increasing the shelf life of cut flowers. Science and technology of greenhouse crops. 3(1), 63-70. [in Persian].

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

Kheiry, A., 2006. Effects of GA_3 and 6-BA on the quality and essence of tuberose. M.Sc. Thesis, University of Tehran, Department of Horticultural Sciences, Karaj, Iran. [in Persian].

Koocheki, A., Jamshid Eyni, M., and Seyyedi, S.M., 2014a. The effects of mother corm size, manure and chemical fertilizers on replacement corm criteria and yield of saffron (*Crocus sativus* L.). Journal of Saffron Research. 2(1), 34-46. [In Persian with English Summary].

Koocheki, A., Rezvani Moghaddam, P., Mollafilabi, A., and Seyyedi, S.M., 2014b. The effects of high corm density and manure on agronomic characteristics and corms behavior of saffron (*Crocus sativus* L.) in the second year. Journal of Saffron Research. 1(2), 144-155. [In Persian with English Summary].

Koocheki, A.R., Tabrizi, L., Jahani, M., Mohammadabadi, A.A., 2012. An evaluation of the effect of saffron (*Crocus sativus*L.) corm planting rate and pattern on the crop's performance. Iranian Journal of Horticultural Science. 42(4), 379-391. [in Persian].

Koocheki A, Siahmarguee A, Azizi G, Jahani Kondori M. 2011. The effect of high density and depth of planting on agronomic characteristic of Saffron (*Crocus sativus* L.) and corms behavior Journal of Agroecology. 3(1), 36-49. [in Persian with English Summary].

Koocheki, A.R., Tabrizi, L., Jahani, M., Mohammad-Abadi, A.A., Mahdavi Damghani, A., 2009. Performance of saffron (*Crocus sativus*L.) under different planting patterns and high corm density. 3rd International Symposium on Saffron.

Forthcoming Challenges in Cultivation, Research and Economics. 20-23th May, Korokos, Kozani, Greece.

López, M.L., Peralta-Videa, J.R., Castillo-Michel, H., Martinez-Martinez, A., Duarte-Gardea, M., Gardea-Torresdey, J.L., 2007. Lead toxicity in alfalfa plants exposed to phytohormones and ethylenediaminetetraacetic acid monitored by peroxidase, catalase, and amylase activities. Environmental Toxicology Chemistry: An International Journal. 26(12), 2717-2723.

Majidian, N., Naderi, RA., Khaliqi, A., Majidian, M., 2012. The effect of gibberellin and benzyl adenine growth regulators on the production of calla potted plant of Childsiana cultivar. Journal of Horticultural Science. 25(4), 361-368. [in Persian].

Malafilabi, A., Shurideh, H., 2008. New methods of saffron production. 4th International Saffron Festival. Khorasan Razavi, Iran. November 28-27.

Mansuri Isfahani, S.M., Mortezanejad, M., Naderi Darbaghshahi, M.R., 2013. Impact of Giberlic acidon Concentration of crocin, picrocrocin and safranal in *Crocus sativusL*. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 6(1), 1000-1003.

Ministry of Agriculture. (2019). Details of the implementation of the saffron support purchase plan in 1998. Deputy of Agricultural Affairs, Saffron Performance Report in Iran, 3 pages. [In Persian].

Mohammad-Abadi, A.A., Rezvani-Moghaddam, P., Sabori, A., 2007. Effect of plant distance on flower yield and qualitative and quantitative characteristics of forage production of saffron (*Crocus sativus* L.) in Mashhad conditions. Acta Horticulturae (ISHS). 739, 151-153. [in Persian].

Mollafilabi, A., Shoorideh, H., 2009. The new methods of saffron production. 4th National Festival of Saffron, Khorasan- Razavi, Iran. [in Persian].

Mynett, K., Startek, L., Zurawik, P. Ploszaj, B. 2001. The effect of gibrescoland flordimex on the emergence andgrowth of freesia rocz. AR w Poznaniu CCCXXXII, Ogrodn. 33, 103-110 [in Polish].

Naderi Darbaghshahi, M.R., Khajebashi, S.M., Banitaba, S.A., Dehdashti, S.M., 2009. Effects of planting method, density and depth on yield and production period of saffron (*Crocus sativus*L.) in Isfahan region. Seed and Plant 24(4), 643–657. [in Persian].

Nazarbeigi, E., Fallahi, H.A., Naseri, R., Mirzaei, A., 2014. Investigation of the effect of different concentrations of sodium chloride, salicylic acid and gibberellic acid on the content proline and chlorophylls a and b in two canola cultivars (Haval 104 and RGS). Applied Research in Plant Ecophysiology. 1(2), 25-37.[in Persian].

Razavi, M., Ayman Shahidi, M., Abnus, H. and Hosseinzadeh, H., 2013. A review of cardiovascular effects of saffron and its active ingredients. Agriculture and Technology of Saffron, 1(2), 3-13. [in Persian].

Shakeri M, Aminifard MH, Behdani MA, Tabatabaei S.J., 2018. Effect of gibberellin cacid hormone and mother corm weight on vegetative and reproductive growth of saffron (*Crocus sativus* L.). Journal of Crop Production Research. 25(2), 153-165. [In Persian with English Summary].

Sharaf-Eldin, M.A., Schnitzler Nitz, WH. G., Razin, M., El-Oksh, I.I., 2007. The effect of gibberellic acid (GA3) on some phenolic substances in globe artichoke (*Cynara cardunculus* var scolymus L.) Fiori). Scientia Horticulturae. 111(4), 326–329.

Saeed, T., Hassan, I., Abbasi, N.A. 2014. Effect of gibberellic acid on the vase life and oxidative activities in senescing cut gladiolus flowers. Plant Growth Regular 72, 89–95.

Skutink, E., Lukaszews, A., Serek, M., Rabiza, J., 2001. Effect of growth regulators on postharvest characteristics of *Zantedeschia athiopica*. Postharvest. Journal of Postharvest. Biology and Technology. 21(2), 241-246.

Soad, M.M., Taha, I.L.S., Farahat, M.M., 2010. Vegetative growth and chemical constituents of croton plants as affected by foliar application of benzyl adenine and gibberellic acid. Journal of American Science. 6(7), 126-130.

Srivastava, N.K., Srivastava, A.K., 2007. Influence of gibberellic acid on 14 CO_2 metabolism, growth, and production of alkaloids in *Catharanthus roseus*. Photosynthetica. 45(1), 156–60.

Teszl´ak, P., Ga´al, K., Nikfardjam, M., 2005. Influence of grapevine flower treatment with gibberellic acid (GA_3) on polyphenol content of *Vitis vinifera* L. wine. Analytica Chimica Acta. 543(1-2), 275–281.

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

Vitrac, X., Larronde, F., Krisa, S., Decendit, A., Deffieux, G., Mérillon, J.M., 2000. Sugar sensing andCa^{2+}–calmodulin requirement in *Vitis vinifera*cells producing anthocyanins. Phytochemistry. 53(6), 659-665.

Wang, S.Y., Lin, H.S., 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and

developmental stage. Journal of Agricultural Food Chemistry. 48(2), 140–146.

Wrosotad, RE., 1976. Color and pigment analysis in fruit products. Oregon State University Publications Limited, Cornwalis.

Yaqubi, L., Hatamzadeh, A., Bakhshy, D., 2013. The effect of gibberellic acid and methyl jasmonate on some morphological and physiological characteristics of two grass enamel cultivars. Proceedings of the 8th Iranian Congress of Horticultural Sciences; Bu Ali Sina University.3100-3096. [in Persian].

COPYRIGHTS

© 2024 by the authors. Published by University of Birjand – Saffron Research Group. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)