



Original Article

Evaluation of Morphological and Biochemical Reactions of Saffron Plant to Salinity Stress

Masoumeh Isazadeh Matak¹, Saeid Navabpour^{*2}, Sadegh Atashi³

1- MSc in Agricultural Biotechnology, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Natural Resources and Agricultural Sciences, Gorgan, Iran.

2- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Natural Resources and Agricultural Sciences, Gorgan, Iran.

3- MSc student, Department of Horticultural Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

*Corresponding author: s.navabpour@gau.ac.ir

Received 02 July 2023; Accepted 06 August 2023

Extended Abstract

Introduction: Saffron is a plant from the lily family, which has a special place among medicinal plants due to its great medicinal and spice value. All the factors that cause abnormalities in the process of plant growth are called stress. Salinity is one of the most important and common environmental stresses in the world, including Iran, which affects the quantitative and qualitative performance of many agricultural and horticultural crops. Considering the origin of life from the seas, salinity stress is probably the first type of environmental stress that living organisms have encountered during evolution. Generally, salinity has a noticeable effect on all the morphological, physiological, biochemical and anatomical characteristics of most plants and has a negative effect on the growth and development, survival and production of plants and affects the performance components depending on when the stress is applied to the plant. It affects the high concentration of salts in the rhizosphere along with the reduction of soil water potential and the creation of physiological drought stress as well as the creation of ionic toxicity and the imbalance of ions due to salinity stress harms the plant. The increase of various salts in the soil or irrigation water causes the plant to face salinity stress. When the plant is placed in a salty environment, the osmotic potential of the soil solution becomes negative and toxic ions such as sodium and chlorine accumulate. Salinity affects many plant growth and physiology characteristics and prevents their proper growth and performance. The biosynthesis of secondary metabolites in medicinal plants is not only genetically controlled, but also influenced by other environmental factors including salinity.

Materials and Methods: In order to investigate the effect of salinity stress and ecotype on some biochemical characteristics of saffron plant, a factorial pot experiment was conducted based on a randomized complete block design with five levels of salinity (control, 50, 100, 150 and 250 mM) and three ecotypes (Ghainat, Torbat). Heydarieh and Sabzevar) were carried out with three replications in Pakdasht Varamin research greenhouse of Filistan village in 2017 and then transferred to the greenhouses of Gorgan

University of Agricultural Sciences and Natural Resources in late fall of 2017. The measured biochemical traits were (chlorophyll a, b, total, carotenoid, total phenol, total sugar, proline and crocin). Data analysis was done with SPSS (Version 22), SAS and Excel 2016 software, and comparison of means was done using LSD method.

Results and Discussion: Based on the results of data variance analysis, the effect of salinity stress on biochemical indices such as chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, phenol, carbohydrate, anthocyanin, proline and crocin is significant at the probability level of 1%. The effect of ecotype on all measured parameters was significant at the probability level of 1%. Also, the interaction effect of ecotype and salinity stress on chlorophyll a, carotenoid, phenol, carbohydrate, anthocyanin, proline and crocin was significant at the level of one percent, but on chlorophyll b, total chlorophyll, at the level of five percent. The results showed that salinity stress had obvious and significant effects on morphological and biochemical traits of saffron. Among the salinity levels, the 50 mM salinity level is superior to the other salinity levels in most of the studied traits. This ecotype of Ghainat showed superiority in most of the studied traits compared to the two ecotypes of Torbet Heydarieh and Sabzevar.

Conclusion: Sabzevar ecotype showed a higher content of crocin compared to the two ecotypes of Ghainat and Tarbiat Heydarieh at all levels of salinity stress. Based on the results of this research, the most tolerant ecotype to salinity stress is Ghainat ecotype, and the most sensitive ecotype to salinity stress is Sabzevar ecotype. Also, the best salinity level that had the least decrease in the studied traits was the salinity level of 50 mM.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Keywords: Crocin, Proline, Salt, Saffron, Phenolic, HPLC.



نشریه پژوهش‌های زعفران (دو فصلنامه)

جلد یازدهم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۴۰۲

شماره صفحه: ۱۳۸-۱۲۴

doi <http://dx.doi.org/10.22077/JSR.2023.6509.1217>

مقاله پژوهشی

ارزیابی واکنش‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی گیاه زعفران به تنش شوری

معصومه عیسی زاده ماتک^۱، سعید نواب‌پور^{۲*}، صادق آتشی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان، گرگان، ایران.

۲- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان، گرگان، ایران.

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

* نویسنده مسئول: *Email: s.navabpour@gu.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۱۵

چکیده

افزایش املاح مختلف در خاک یا آب آبیاری گیاه را با تنش شوری مواجه می‌سازد. گیاه با قرار گرفتن در محیط شور با منفی شدن پتانسیل اسمزی محلول خاک و انباشتگی یون‌های سمی نظیر سدیم و کلر صدمه می‌بیند. شوری بسیاری از خصوصیات رشد و فیزیولوژی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و مانع رشد و عملکرد مناسب آنها می‌شود. بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی نه تنها به صورت ژنتیکی کنترل می‌شود، بلکه تحت تأثیر عوامل محیطی دیگر شامل شوری نیز قرار می‌گیرد. به منظور بررسی اثر تنش شوری و اکوتیپ بر برخی از خصوصیات بیوشیمیایی گیاه زعفران، آزمایش‌های گلدانی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج سطح شوری (شاهد، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار) و سه اکوتیپ (قائنات، تربت حیدریه و سبزوار) با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی پاکدشت ورامین روستای فیلستان در سال ۱۳۹۷ انجام گرفت و سپس به گلخانه‌های دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در اواخر پاییز سال ۱۳۹۷ انتقال داده شد. صفات اندازه‌گیری شده بیوشیمیایی (کلرفیل *a*، *b*، کل، کاروتنوئید، فنل کل، قندکل، پرولین و کروسین) بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزارهای SPSS (Version 22)، SAS و Excel 2016 انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSD انجام شد. نتایج نشان داد که تنش شوری اثرات آشکار و معنی‌داری بر صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی زعفران داشت. در بین سطوح شوری، سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار در اغلب صفات مورد مطالعه نسبت به بقیه سطوح شوری برتری دارد. همچنین اکوتیپ قائنات در اغلب صفات مورد مطالعه نسبت به دو اکوتیپ تربت حیدریه و سبزوار برتری نشان داد.

واژه‌های کلیدی: کروسین، پرولین، شوری، زعفران، فنل کل، HPLC.

مقدمه

(Hasanuzzaman et al., 2013). همچنین شوری خاک در زمین‌های کشاورزی که با آب نامناسب آبیاری شوند نیز افزایش می‌یابد (Mahajan & Tuteja, 2005). مواد ثانویه به اقتضای ساختار طبیعی (وراثت) و هم تحت تاثیر تهییج‌های غیرطبیعی (تنشی) در گیاه ساخته می‌شوند به طوریکه حضور برخی از این مواد در تعدادی از افراد یک گونه، به طور مستثنی از افراد دیگر ممکن است به منزله نشانه فعالیت ژن‌های خاص سازگاری آن افراد نسبت به تنش‌های محیطی مشخصی به شمار آید و افراد مذکور را به عنوان یک جمعیت زیرگونه‌ای متفاوت از بقیه که نسبت به تنش‌های محیطی مشخصی پاسخ شیمیایی ویژه‌ای دارند معرفی کند. با توجه به اینکه محصول زراعی یا دارویی زمانی از نظر اقتصادی مقرون به صرفه خواهد بود که در کنار افزایش بیوماس میزان متابولیت‌های ثانویه آن نیز در حد مطلوب باشد و می‌توان با انتخاب ارقام گیاهی مناسب و کنترل عوامل محیطی به این امر دست یافت (Omidbeigi, 2018). لذا این تحقیق به منظور بررسی اثر تنش شوری بر برخی از صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی زعفران در شرایط گلخانه ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در گلخانه تحقیقاتی پاکدشت ورامین روستای فیلستان در سال ۱۳۹۷ انجام گرفت و سپس به گلخانه‌های دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اواخر پاییز سال ۱۳۹۷ انتقال داده شد. در این پژوهش ابتدا بنه‌های سالم و یک ساله‌ی گیاه زعفران شامل سه اکوتیپ (قائنات، تربت حیدریه و سبزوار) از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی تهیه شدند. بنه‌های توپر با وزن ۸-۱۰ گرم به گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۲۰ و ارتفاع ۱۶ سانتی‌متر که حاوی خاک مزرعه، همگن (با بافت سبک لومی - شنی) بودند، انتقال گردید و ۳ تا ۴ بنه در عمق ۱۰ سانتی‌متری در کشت گلدانی در گلخانه تحقیقاتی پاکدشت ورامین روستای فیلستان کاشته و به صورت فاکتوریل با طرح پایه بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل پنج سطح شوری و سه اکوتیپ زعفران بود. سطوح شوری مشتمل بر پنج سطح آب شور با غلظت‌های شوری صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار بود. برای اعمال تنش شوری، از

گیاه زعفران در رده زنبقیان (Crocus) راسته ایریداسه گونه (*Crocus sativus L.*) می‌باشد. این گیاه دارای یک تا دو گل به رنگ‌های بنفش و نسبتاً صورتی می‌باشد (Wendelbo & Mathew, 1975). زعفران به دلیل دارا بودن آشیانه اکولوژیکی ویژه نسبت به سایر گیاهان و ویژگی‌های اقتصادی منحصر به فرد از اهمیت خاصی برخوردار است. علیرغم قدمت کاشت زعفران در مقایسه با بسیاری از محصولات کشاورزی رایج در کشور، این گیاه از فناوری‌های نوین سهم کمتری داشته و تولید آن بیشتر بر دانش بومی متکی می‌باشد (Alizadeh et al., 2021). از منظر اقتصاد کشاورزی محصول زعفران گرانترین ادویه گیاهی، همچنین کشور ایران یکی از قطب‌های تولید این محصول در جهان می‌باشد. به عبارتی می‌توان گفت این محصول دارای نیاز آبی بسیار ناچیز به نسبت مقایسه با سایر گیاهان قابل بررسی از ابعاد مختلف سیاسی و اجتماعی نظیر ممانعت از کوچ خانوار روستایی، اشتغال‌زایی جمعیتی حدود نیم میلیون نفر و از همه مهمتر سهم آن در تولید ناخالص ملی و نقش بسزایش بر درآمد حاصل از صادرات غیر نفتی کشور ایران بسیار حائز اهمیت است، خاستگاه اصلی این گیاه مناطقی نظیر استان‌های خراسان رضوی، جنوبی و شمالی بوده، همچنین کشت و تولید این محصول در سایر استان‌های ایران همچون فارس، کرمان، یزد و تهران مقرون به صرفه می‌باشد. سایر کشورهای تولید کننده مانند: اسپانیا، هندوستان، یونان، آذربایجان، مراکش و ایتالیا از عملکرد اقتصادی خوبی برخوردار می‌باشند (Sabeghe, 2004; Kafi et al., 2018).

شوری پس از خشکی از مهمترین و متداول‌ترین تنش‌های محیطی در سطح جهان و همچنین ایران است (Dadashi et al., 2016). سطح قابل‌توجهی از زمین‌های کشاورزی تحت تاثیر شوری قرار دارند و روز به روز به سطح این گونه زمین‌ها افزوده می‌شود. بیش از ۴۵ میلیون هکتار از اراضی که آبیاری می‌شوند تحت تاثیر شوری خاک قرار دارند و هر سال ۱/۵ میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی به دلیل شوری خاک از چرخه تولید خارج می‌شود (Pitman & Läuchli, 2002). همچنین انتظار می‌رود افزایش شوری اثر مخرب روی زمین‌های کشاورزی داشته باشد و ۵۰ درصد از این زمین‌ها تا نیمه قرن ۲۱ میلادی غیرقابل استفاده شود

تازه از هر تیمار آزمایشی در پنج میلی‌لیتر دی‌متیل‌سولفوکسید به مدت چهار ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شد. از نمونه حاصل ۲۵۰ میکرولیتر برداشته شد و مجدد دو میلی‌لیتر DMSO به آن اضافه شد. نمونه‌ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شده و از DMSO خالص به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد. اندازه‌گیری کلروفیل a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئید به ترتیب در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳، ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر انجام گرفت.

استخراج قندهای محلول با استفاده از روش سوموگی (Somogyi, 1952) انجام شد برطبق این روش ۴۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی با پنج میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد مخلوط و به مدت ده دقیقه در حمام آب گرم (بن‌ماری) با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. عصاره الکلی به دست آمده به مدت پانزده دقیقه با دور گردان ۱۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. محلول شفاف به دست آمده که حاوی قندهای محلول بود به یک بشر منتقل شد و عمل فوق چهار مرتبه دیگر روی بقایای بافت به‌جا مانده تکرار گردید. در نهایت عصاره الکلی با حرارت غیر مستقیم تغلیظ شد به طوری که حجم آن به یک پنجم حجم اولیه رسید. برای حذف کلروفیل، عصاره به دست آمده به نسبت یک به پنج با کلروفرم مخلوط گردید و بعد از هم زدن محلول به مدت پنج دقیقه به حال سکون رها شد. این عمل سبب جدا شدن کلروفیل از فاز آبی گردید. فاز آبی رویی به مدت ده دقیقه با سرعت گردان ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. فاز شفاف بالایی جدا شده و از آن برای اندازه‌گیری انواع قندهای محلول استفاده گردید.

اندازه‌گیری قند کل به روش (Sadasivam, 1992) انجام گردید. بدین منظور ۰/۲ میلی‌لیتر (۲۰۰ میکرولیتر) از عصاره تغلیظ شده با سه میلی‌لیتر آنترون مخلوط و به مدت بیست دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. میزان جذب نور هر یک از نمونه‌ها پس از سرد شدن در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت گردید. قبل از اندازه‌گیری قند کل نمونه، ابتدا باید منحنی استاندارد قند کل رسم گردد که برای رسم آن از محلول گلوکز یک میلی‌گرم در لیتر آب استفاده شد. پس از تهیه محلول گلوکز، در لوله‌های آزمایش شیشه‌ای مقادیر ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول

NaCl خالص در سطوح مذکور استفاده شد. بدین منظور میزان سطح هر تنش به صورت محلول در آب آبیاری در محدوده ظرفیت زراعی با غلظت مربوطه هر ده روز یکبار در سه نوبت طی دوره رشد انجام شد. بعد از ۳۰ روز اعمال تیمار، برداشت انجام شد. به این منظور از آب مقطر بعنوان تیمار شاهد و میزان کلرید سدیم بصورت محلول در آب مقطر جهت تنظیم شوری سایر تیمارها اعمال گردید. در ضمن دوره آبیاری به دفعات هر ده روز یکبار صورت پذیرفت. میزان آب آبیاری بر اساس مقدار لازم جهت رسیدن به محدوده ظرفیت مزرعه (F.C) به صورت وزنی_حجمی تنظیم شد. همچنین میزان شوری خاک در آغاز آزمایش و در پایان زمان اندازه‌گیری صفات نیز محاسبه شد. برای این منظور یک گرم از بافت خشک شده خاک با ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد در داخل ظروف یکسان ریخته و با ورقه آلومینیومی پوشانده شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شد و بعد از آن از کاغذ صافی عبور داده و برای انجام سایر آزمایش‌ها در یخچال و در یک محیط تاریک قرار داده شد.

میزان فنل کل به روش فولین سیوکالتو (McDonald et al., 2002) اندازه‌گیری شد ابتدا ۲۰ میکرولیتر از عصاره برداشته و با ۱/۱۶ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر فولین سیوکالتو به آن اضافه شد، بعد از یک تا هشت دقیقه استراحت، ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم یک مولار به محلول افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام بخار ۴۰ درجه سانتی‌گراد در تاریکی قرار گرفت. در نمونه شاهد متانول خالص جایگزین عصاره متانولی گردید. سپس نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UNICO 2800) قرائت گردید.

برای اندازه‌گیری میزان پرولین آزاد از روش باتن جونیس (Beaton Jones, 1990) استفاده شد ۰/۵ گرم نمونه گیاه را توزین و در ظرف شیشه‌ای کوچکی ریخته و روی آن ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک سه درصد اضافه شد. پس از ۴۸ ساعت نمونه‌ها به کمک کاغذ صافی واتمن صاف گردیدند. از محلول‌های صاف شده برای اندازه‌گیری پرولین استفاده شد.

برای تعیین غلظت کلروفیل و کاروتنوئید از روش آرنون (Arnon, 1967) استفاده شد. ابتدا ۰/۵ گرم نمونه برگ

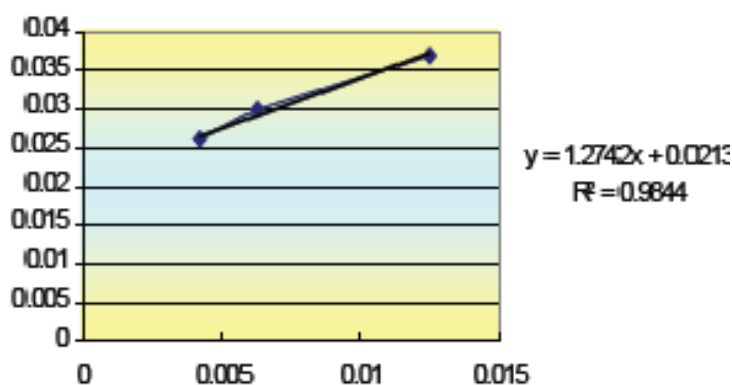
اندازه‌گیری برابر یک سانتی‌متر و C مقدار آنتوسیانین بر حسب مول بر گرم وزن تازه گیاه می‌باشد. در نهایت میزان آنتوسیانین بر حسب میکرومول در گرم وزن تر نمونه گیاه بیان گردید.

اندازه‌گیری کروسین: در انتهای رشد و زمان گلدهی، بعد از این که گیاهان برداشت شدند، ابتدا پس از جداسازی کلانله‌ها از گلبرگ‌های گیاه مقدار یک گرم از کلانله با نسبت ۱:۶ با متانول عصاره‌گیری شد. به این ترتیب که پس از ترکیب با متانول برای شکست بهتر مولکول‌ها در حلال به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه التراسوند قرار داده شده و بعد از آن به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار گرفت، محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل UNICO 2800) شد و بخش فوقانی محلول برای تزریق به دستگاه HPLC استفاده شد.

به منظور تهیه منحنی استاندارد ترکیب کروسین از شرکت مرک خریداری گردید و سپس غلظت‌های مختلف آن از جمله صفر، ۰/۰۲۴، ۰/۰۴۸ و ۰/۰۷۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. به این صورت که ابتدا یک محلول پایه با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برای هر یک تهیه و سپس حجم معینی از آن رقیق شده سپس با استفاده از مساحت زیر منحنی هر یک از استانداردها نمودار کالیبراسیون مربوطه رسم و معادله خط برای محاسبه غلظت هر ترکیب بدست آمد (شکل ۱).

فوق که به ترتیب حاوی ۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ میکروگرم گلوکز بود، اضافه گردید. در نهایت حجم محلول‌ها با آب مقطر به ۲۰۰ میکرولیتر رسانده شد. لوله آزمایشی که فاقد گلوکز بود به‌عنوان شاهد استفاده شد. پس از آن سه میلی‌لیتر آنترون به هر یک از لوله‌های آزمایش اضافه شد و پس از آن، لوله‌های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی-گراد قرار گرفت و پس از سرد شدن جذب آن‌ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر قرائت گردید (جدول ۳-۱) و منحنی استاندارد با معادله زیر رسم گردید (شکل ۳-۳). برای تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر معرف آنترون، ابتدا ۷۶ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد با ۳۰ میلی‌لیتر آب رقیق شد. بعد از سرد شدن ۱۵۰ میلی‌گرم آنترون در آن حل گردید و در ظرف‌های کهربایی نگهداری شد.

تعیین مقدار آنتوسیانین به روش وانگر (Wanger, 1979) انجام گردید. بدین صورت که یک گرم از نمونه گیاه با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی ساییده شده و عصاره به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از گذشت این مدت عصاره را به مدت ده دقیقه در دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ نموده و جذب محلول رویی با اسپکتوفتومتر Shimadzu UV-160 در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. مقدار آنتوسیانین با استفاده از فرمول $A = \epsilon bc$ به دست آمد، که در آن مقدار ϵ یا ضریب خاموشی معادل 3300 mMcm^{-1} ، مقدار جذب، b عرض کووت



شکل ۱. نمودار کالیبراسیون کروسین.

Fig 1. Crocin calibration diagram.

پارامترهای اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. همچنین اثر متقابل اکوتیپ و تنش شوری روی کلروفیل a، کارتنوئید، فنل، کربوهیدرات، آنتوسیانین، پرولین و کروسیل در سطح یک درصد ولی روی کلروفیل b، کلروفیل کل، در سطح پنج درصد معنی‌دار شد (۱).

براساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها، اثر متقابل تنش × اکوتیپ روی صفت کلروفیل (a) معنی‌دار شد. بیشترین کلروفیل (a) مربوط به اکوتیپ قائنات با ۱۲/۴۸ درصد نسبت به شاهد در تیمار تنش ۵۰ میلی-مولار بود اما اکوتیپ‌ها در این تیمار تنش، تفاوتی باهم نداشتند این نتایج بیانگر آن است که این گیاه با به کار گیری راه کارهای ویژه از جمله تولید اسمولیت‌های سازگار توانسته بر تجزیه کلروفیل و کاهش فعالیت فتوسنتزی در این مرحله از تنش غلبه کند، از آنجایی که تجزیه کلروفیل پاسخ عمومی به تنش است، می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات در میزان کلروفیل یکی از شاخص‌های مهم تنش محیطی است. کمترین کلروفیل (a) مربوط به اکوتیپ سبزوار در تنش شوری ۲۵۰ میلی-مولار می‌باشد (شکل ۲). خشکی فیزیولوژیکی حاصل از تنش شوری ممکن است موجب محدودیت در جذب آب شود. از سوی دیگر افزایش جذب نمک توسط گیاه، سبب اختلال در کارکرد سلولی و آسیب رساندن به فرآیندهای فیزیولوژیکی از قبیل فتوسنتز و تنفس می‌شود (Leopold & Willing, 1984).

شرایط دستگاه HPLC برای تعیین میزان کروسیل از دستگاه مدل ال-۷۱۰۰ پمپ لاکروم و دتکتور UV با ستون C-18 با ابعاد ۴۶×۲۵۰ سانتی‌متر و اندازه ذرات پنج میکرومتر استفاده شد. نمونه‌ها با سرعت جریان ۰/۶ میلی‌لیتر در دقیقه با دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۴۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (شکل ۳-۵). ابتدا به‌منظور شناسایی پیک مربوط به کروسیل استاندارد به دستگاه تزریق شد. زمان بازداری در نمونه با زمان بازداری ترکیب استاندارد در هر تزریق مقایسه شد. میزان کروسیل بر حسب درصد بیان می‌شود.

$$Y = bX + a \quad \text{معادله}$$

$$Y = 1.2742X + 0.0213$$

مجهول X در فرمول منحنی با جایگزین کردن سطح زیر نمودار نمونه تزریق شده بدست آورده می‌شود. مجهول X بر حسب قسمت در میلیون می‌باشد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ تجزیه و تحلیل آماری شده و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD انجام شد. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثر تنش شوری بر شاخص‌های بیوشیمیایی از قبیل کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، فنل، کربوهیدرات، آنتوسیانین، پرولین و کروسیل در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. اثر اکوتیپ روی همه‌ی

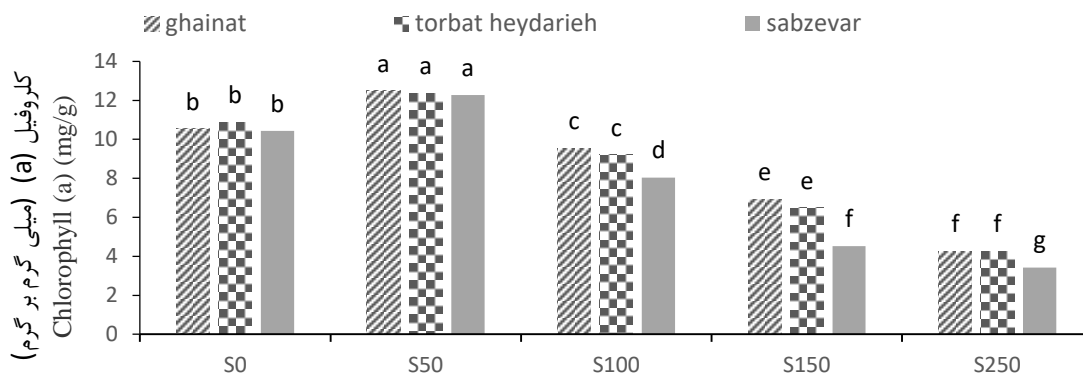
جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس تاثیر تنش شوری و اکوتیپ بر شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی زعفران.

Table 1. The results of variance analysis of the effect of salinity stress and ecotypes on the biochemical indicators of saffron medicinal plant.

میانگین مربعات average of squares										
کروسیل Crocin	پرولین Proline	آنتوسیانین Anthocyanin	کربوهیدرات Carbohydrates	فنل Phenol	کارتنوئید Carotenoid	کلروفیل کل Total chlorophyll	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	درجه آزادی df	منابع تغییرات Sources of changes
0/001 ^{ns}	0/000006 ^{ns}	0/0014 ^{ns}	0/80 ^{ns}	0/0017 ^{ns}	0/590 ^{ns}	0/917 ^{ns}	0/109 ^{ns}	0/594 ^{ns}	2	بلوک
0/113 ^{**}	0/000470 ^{**}	0/0730 ^{**}	67/65 ^{**}	1/8120 ^{**}	1344/230 ^{**}	24/699 ^{**}	11/517 ^{**}	4/475 ^{**}	2	اکوتیپ
0/006 [*]	0/000690 ^{**}	00/2540 ^{**}	76/79 ^{**}	0/5360 ^{**}	124/540 ^{**}	276/680 ^{**}	41/150 ^{**}	105/200 ^{**}	4	شوری
0/270 ^{**}	0/000480 ^{**}	0/0020 ^{**}	1/16 ^{**}	0/3570 ^{**}	0/709 ^{**}	0/800 [*]	0/282 [*]	0/780 ^{**}	8	اکوتیپ × شوری
0/002	0/000003	0/0010	0/18	0/0020	0/002	0/301	0/111	0/158	28	ecotype × salinity
5/600	13/590	4/570	2/720	0/640	0/640	4/440	8/360	4/750	cv (%)	خطا

ns, *, **: به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

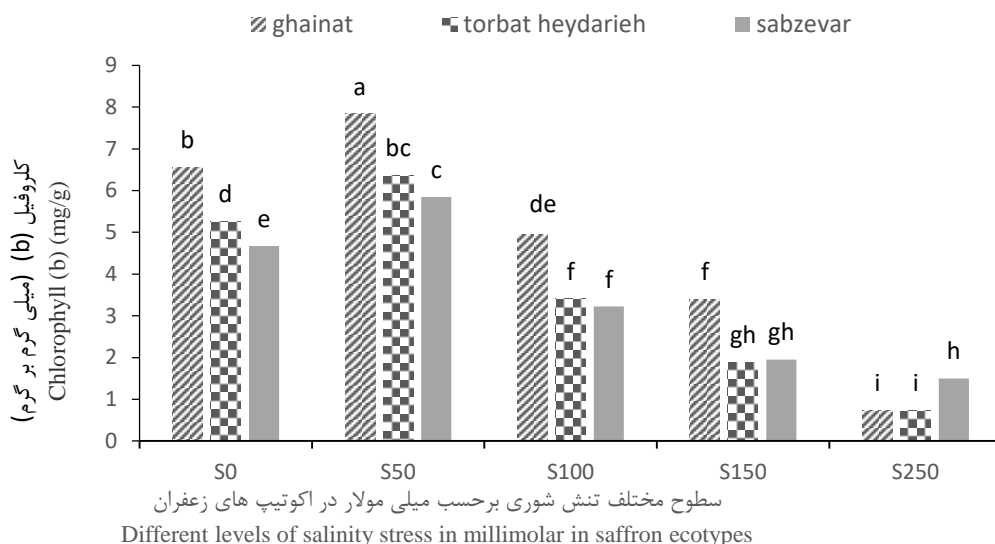
ns, *, **: The best type of non-significance and significance at 1% and 5% probability level.



سطوح مختلف تنش شوری بر حسب میلی مولار در اکوتیپ های زعفران
Different levels of salinity stress in millimolar in saffron ecotypes

شکل ۲. اثر متقابل تنش شوری و اکوتیپ بر کلروفیل (a) گیاه زعفران.

Fig 2. The mutual effect of salinity stress and ecotypes on chlorophyll (a) of saffron plant.



سطوح مختلف تنش شوری بر حسب میلی مولار در اکوتیپ های زعفران
Different levels of salinity stress in millimolar in saffron ecotypes

شکل ۳. اثر متقابل تنش شوری و اکوتیپ بر کلروفیل (b) گیاه زعفران.

Fig 3. Interaction effect of salinity stress and ecotypes on chlorophyll (b) of saffron plant.

همراه آن‌ها یعنی پراکسید هیدروژن، نیز می‌توانند باعث تجزیه رنگیزه‌های کلروفیل شوند و به دنبال تجزیه این مولکول‌ها، ساختارهای تیلاکوئیدی در کلروپلاست ناپدید می‌گردد (Navaris-Izzo et al., 1994).

مقایسات میانگین داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش × اکوتیپ برای صفت کلروفیل کل معنی‌دار شد. در بین تیمارهای تنشی بیشترین مقدار کلروفیل کل مربوط به اکوتیپ قائنات در تیمار تنش ۵۰ میلی‌مولار بود. همچنین کمترین مقدار کلروفیل کل مربوط به ارقام قائنات و تربت حیدریه در تنش شوری ۲۵۰ میلی‌مولار

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل تنش × اکوتیپ نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل (b) برای اکوتیپ قائنات در تیمار تنش ۵۰ میلی‌مولار بود و همچنین کمترین مقدار کلروفیل (b) مربوط به ارقام قائنات و تربت حیدریه در تنش شوری ۲۵۰ میلی‌مولار می‌باشد (شکل ۳) تنش شوری از جمله تنش‌هایی است که باعث تغییر در میزان این مولکول‌ها در سلول‌های گیاهی می‌شود. به این ترتیب که افزایش مقدار ترکیبات فعال اکسیژن طی تنش شوری باعث کاهش میزان کلروفیل‌ها می‌شود. همچنین رادیکال‌های سوپراکسید و محصول

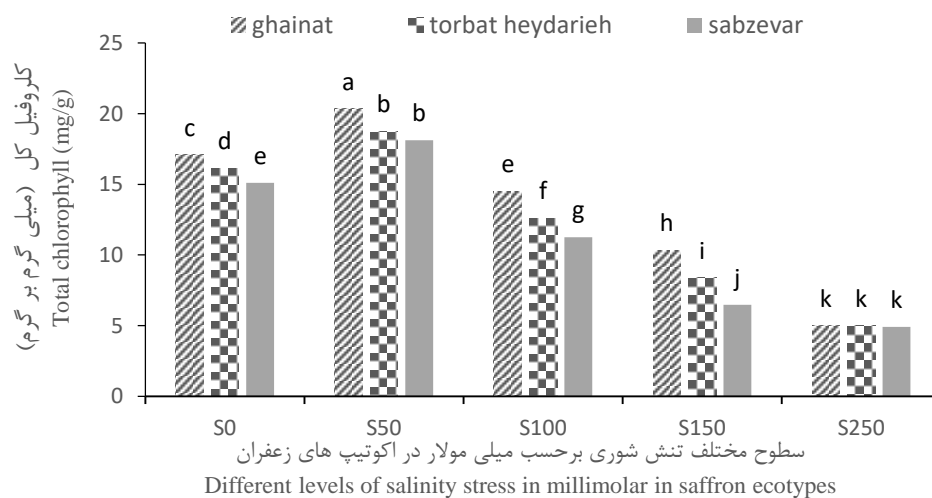
همکاران (Afshar Mohammadian et al., 2017) در بررسی تاثیر تنش خشکی که خود یکی از پیامدهای تنش شوری در گیاهان است، مشاهده کردند که میزان کاروتنوئیدهای در دو رقم گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris. L*) با افزایش میزان خشکی کاهش پیدا کرد که احتمالاً می‌تواند نتیجه اکسیداسیون کاروتنوئیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن باشد. کاروتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی اکسیداسیون خود را ایفا کنند.

ترکیبات فنولی

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل تنش \times اکوتیپ نشان داد که بیشترین مقدار ترکیبات فنولی برای اکوتیپ قائنات در تیمار تنش ۵۰ میلی‌مولار بود و همچنین کمترین مقدار ترکیبات فنولی مربوط به اکوتیپ سبزوار در تنش شوری ۲۵۰ میلی‌مولار می‌باشد (شکل ۶). ترکیبات فنولی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها و آنتوسیانین‌ها می‌باشند که معمولاً در میوه، سبزی، برگ، آجیل، دانه، ریشه و سایر اندام‌های گیاهی دیده می‌شوند، این مواد طیف گسترده‌ای از اثرات مطلوب زیستی از جمله خصوصیات آنتی اکسیدانی دارند (Dehghani Bidgoli et al., 2018).

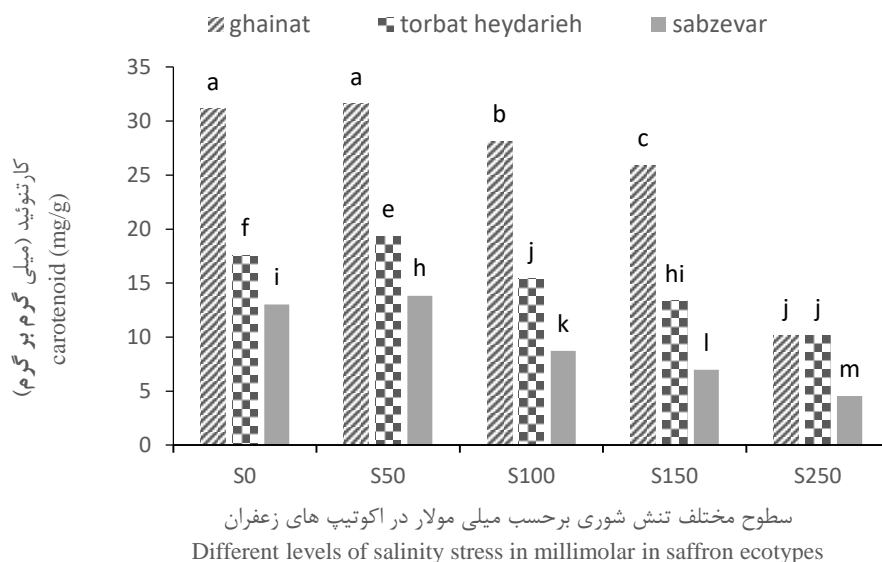
می‌باشد (شکل ۴). همانگونه که نتایج نشان می‌دهد، با افزایش شدت تنش شوری میزان کلروفیل مقداری کاهش یافت. یکی از دلایل احتمالی این امر رقابت و پیشی گرفتن گلوتامین کیناز (آنزیم کاتالیز کننده پرولین) به هنگام تنش شوری از آنزیم گلوتامات لیگاز (اولین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل) است که باعث می‌شود تا پیشساز گلوتامات (پیش ساز مسیر سنتز کلروفیل و پرولین) بیشتر به مصرف پرولین برسد و بنابراین بیوسنتز کلروفیل با محدودیت مواجه می‌شود (Bybord et al., 2010). علت دیگر آن نیز احتمالاً به دلیل سست شدن اتصال کلروفیل با پروتئین‌های کلروپلاستی، با افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز (متلاشی کننده ساختار کلروپلاست) در اثر افزایش غلظت یون‌های سمی سدیم و کلر و تنظیم کننده‌های رشدی مانند اسید آبسزیک و اتیلن تحت تنش شوری باشد (Oraei, et al., 2009). محتوای کلروفیل برگ می‌تواند به دلیل کمبود یون‌های منیزیم و پتاسیم (به‌عنوان عناصر اصلی در سنتز کلروفیل) و کاهش نسبت پتاسیم به سدیم و همچنین تخریب ساختمان کلروفیل کاهش یابد (Oraei, et al., 2009).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل تنش \times اکوتیپ نشان داد که بیشترین مقدار کارتنوئید برای قائنات در تیمار تنش ۵۰ میلی‌مولار بود و همچنین کمترین مقدار کارتنوئید مربوط به اکوتیپ سبزوار در تنش شوری ۲۵۰ میلی‌مولار می‌باشد (شکل ۵). افشار محمدیان و

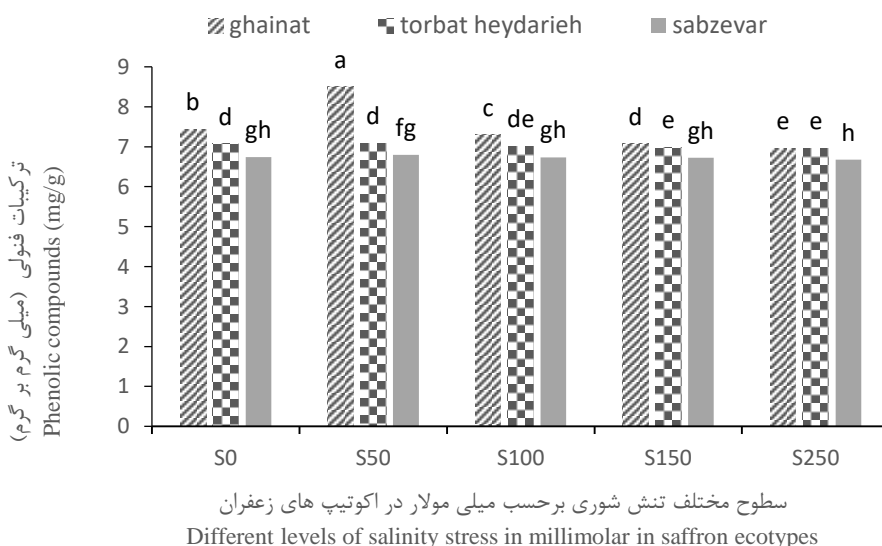


شکل ۴. اثر متقابل تنش شوری و اکوتیپ بر کلروفیل کل گیاه زعفران.

Fig 4. The mutual effect of salinity stress and ecotypes on the chlorophyll of the whole saffron plant.



شکل ۵. اثر متقابل تنش شوری و اکوتیپ بر کارتنوئید گیاه زعفران.
Fig 5. Interaction effect of salinity stress and ecotypes on carotenoids of saffron plant.



شکل ۶. اثر متقابل تنش شوری و اکوتیپ بر ترکیبات فنولی گیاه زعفران.
Fig 6. Interaction effect of salinity stress and ecotypes on phenolic compounds of saffron plant.

افزایش ترکیبات فنلی وابسته به افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در متابولیسم ترکیبات فنلی مطرح می‌شود که اشاره بر سنتز از نو فنل‌ها تحت تنش شوری دارد. افزایش فنل‌های محلول برای دخالت در بیوسنتز لیگنین نیز منعکس کننده نوعی تغییر آناتومیکی القا شده توسط تنش مثل افزایش پایداری دیواره سلولی و ایجاد سد فیزیکی در برابر تنش نمکی است (Adil et al., 2007). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل تنش × اکوتیپ رقم نشان داد که بیشترین مقدار کربوهیدرات برای اکوتیپ قائنات در تیمار تنش ۵۰ میلی‌مولار بود و

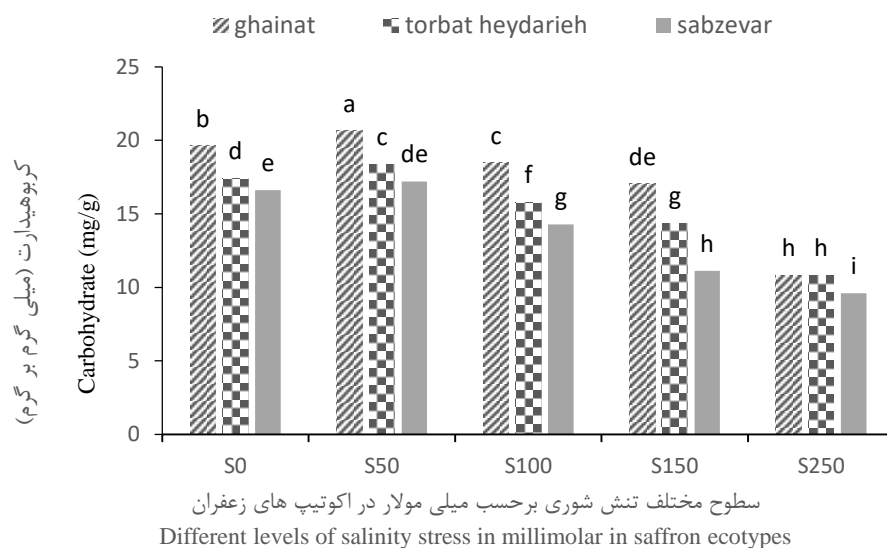
تولید ترکیبات فنلی تحت اثر شوری در گیاهان مختلف پیشنهاد شده است. این ترکیبات آنتی‌اکسیدان‌های نیرومندی در بافت‌های گیاهی تحت تنش هستند و این ویژگی به علت ساختار اسکلتی و گروه فنلی این متابولیت هاست. گروه‌های هیدروکسی آزاد متصل به حلقه آروماتیک توان جاروب کردن رادیکال‌های آزاد را داشته، بدین لحاظ آسیب‌های اکسیداتیو را کاهش داده، ساختارهای سلولی را از تأثیرات منفی شوری محافظت می‌کند (Al-Amier & Craker, 2006). به طور کلی

غلظت قندهای محلول می‌تواند یک پاسخ نسبت به (RWC) و پتانسیل آب باشد، زیرا افزایش در غلظت ساکارز و سطح قندهای محلول تحت شرایط تنش شوری به سبب بهبود وضعیت آب برگ در القای تحمل به شوری نقش مهمی بازی می‌نماید و می‌تواند از کاهش شدید میزان پتانسیل آب و همچنین محتوی نسبی آب برگ جلوگیری کند.

آنتوسیانین

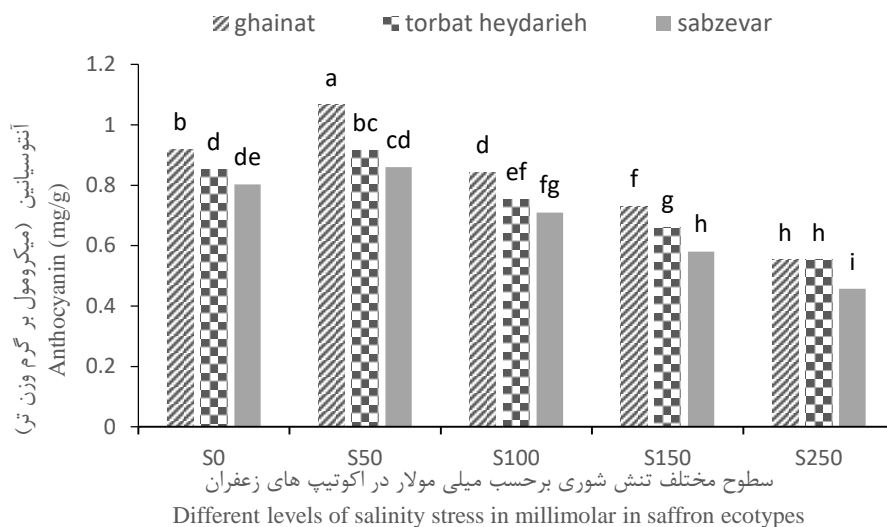
مقایسات میانگین داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش × اکوتیپ برای صفت آنتوسیانین معنی‌دار شد. در بین تیمارهای تنش بیشترین مقدار آنتوسیانین مربوط به اکوتیپ قائنات در تیمار تنش ۵۰ میلی‌مولار بود. همچنین کمترین مقدار کلروفیل کل مربوط به اکوتیپ سبزوار در تنش شوری ۲۵۰ میلی‌مولار می‌باشد (شکل ۸). آنتوسیانین‌ها فلانوئیدهایی با ترکیبات گلوکوزیدی هستند که وجود قند برای تشکیل آن‌ها ضروری است (Amini Fard et al., 2021).

همچنین کمترین مقدار کربوهیدرات مربوط به اکوتیپ سبزوار در تنش شوری ۲۵۰ میلی‌مولار می‌باشد (شکل ۷). علاوه بر گزارش‌های بسیاری که بیانگر افزایش غلظت قندهای محلول در اثر تنش اسمزی می‌باشد، گزارش‌هایی نیز مبنی بر کاهش غلظت قندهای محلول در اثر تنش شوری در گیاهان مختلف وجود دارد (Lechtenberg et al., 2008). کاهش مقدار قند می‌تواند به علت کاهش فتوسنتز باشد، زیرا کاهش آب موجب کاهش آماس شده و از دست دادن فشار آماس به بسته شدن روزنه‌ها در نتیجه کاهش فتوسنتز منجر می‌شود، Chinnusamy & Jagendorf (2005). افزایش مقدار قندهای محلول به‌عنوان واکنش میان‌مدت به خشکی و شوری شاخصی برای تنظیم اسمزی در شرایط تنش می‌باشد. همچنین عمل فیزیولوژیک این قندها ممانعت از اتصال بین غشاهای مجاور هم در طول دوره تنش با نگهداری لیپیدها و پایداری پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی با دنباله‌های خطی پروتئین‌ها، تنظیم ژن و تنظیم اسمزی می‌باشد (Ho et al., 2001). افزایش



شکل ۷. اثر متقابل تنش شوری و اکوتیپ بر کربوهیدرات گیاه زعفران.

Fig 7. The mutual effect of salinity stress and ecotypes on the carbohydrates of saffron plant.



شکل ۸. اثر متقابل تنش شوری و اکوتیپ بر آنتوسیانین گیاه زعفران.

Fig 8. Interaction effect of salinity stress and ecotypes on anthocyanins of saffron plant.

گونه که نتایج نشان می‌دهد. نکته قابل توجه دیگر اینکه روند افزایش غلظت پرولین در پاسخ به تنش شوری به صورت خطی نیست و با افزایش شدت تنش به تدریج واکنش تدافعی گیاه کاهش یافته است که این امر ممکن است به دلیل این باشد که اعمال تنش شوری شدید به صورت یکباره باعث می‌شود متابولیسم گیاه به سرعت دچار اختلال شود و گیاه نتواند سازوکار دفاعی مناسبی از خود نشان دهد. هرگونه گیاهی بسته به توان تحملی که نسبت به یک تنش دارد تا سطح مشخصی پاسخ‌های مقاومت ایجاد می‌کند و چنانچه شدت تنش از سطح مشخصی بالاتر رفت، پاسخ‌های مقاومتی گیاه نیز ضعیف‌تر می‌شود. علت دیگر می‌تواند این باشد که پرولین بعد از تنش به سرعت شکسته می‌شود که ممکن است عامل‌هایی را فراهم کند که باعث حمایت از چرخه فسفوریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری شود و انرژی لازم (ATP) برای برگشت از حالت تنش را فراهم کند (Sato et al., 2002). همچنین علت دیگر آن مطابق مطالعاتی که توسط چروت و آزوز (Cheruth & Azooz, 2009) انجام شد، حضور کلسیم در شرایط تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم پرولین اکسیداز و کاهش محتوای پرولین در گیاه می‌شود که با نتایج این آزمایش مطابقت داشت.

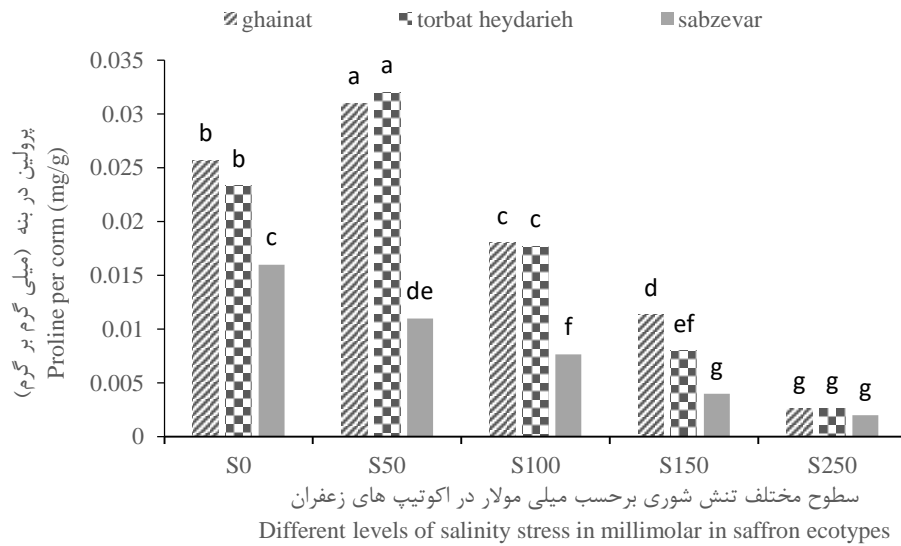
پرولین در بنه

مقایسات میانگین داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش × اکوتیپ برای صفت پرولین در بنه معنی‌دار شد. در بین تیمارهای تنش بیشترین مقدار پرولین در بنه مربوط به اکوتیپ تربت حیدریه در تیمار تنش ۵۰ میلی‌مولار بود. همچنین کمترین مقدار پرولین در بنه مربوط به اکوتیپ سبزواری در تنش شوری ۲۵۰ میلی‌مولار می‌باشد (شکل ۹). تغییرات غلظت پرولین به‌عنوان شاخص تحمل به تنش شوری و آبی تلقی می‌شود (Nicolas et al., 1993). خشکی و شوری بر میزان تجمع ترکیبات آلی مانند پرولین در تمام اندام‌های گیاهان می‌افزاید، زیرا کلرید سدیم موجب تحریک ژن‌های سنتز کننده آنزیم گلوتامین کیناز (اولین آنزیم مسیر بیوسنتز پرولین به صورت خود به خودی) پرولین می‌شوند. شدت ساخت آن به سرعت و میزان توسعه تنش، نوع و سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ها بستگی دارد (Bajji et al., 2001). میزان بیش از حد تجمع پرولین در تنش شوری می‌تواند نشان از تجزیه گسترده پروتئین‌ها و کاهش استفاده از آن‌ها در ساخت پروتئین‌ها باشد (Pireivatlou Johari et al., 2010). مطالعات نشان داده است که نقش سازگاری پرولین بیش از آن که به رشد گیاه مربوط باشد، به بقای گیاه ارتباط دارد (Paleg & Aspinal, 2000) با افزایش شدت تنش شوری همان

درصد مربوط به اکوتیپ قائنات در تنش شوری ۲۵۰ میلی‌مولار می‌باشد (شکل ۱۰). میزان کروسین و پیکروکروسین با افزایش غلظت شوری کاهش یافت که محققان فوق این کاهش را به کاهش فعالیت آنزیمی در گیاه زعفران نسبت دادند (Yarami & Sepaskhah, 2015).

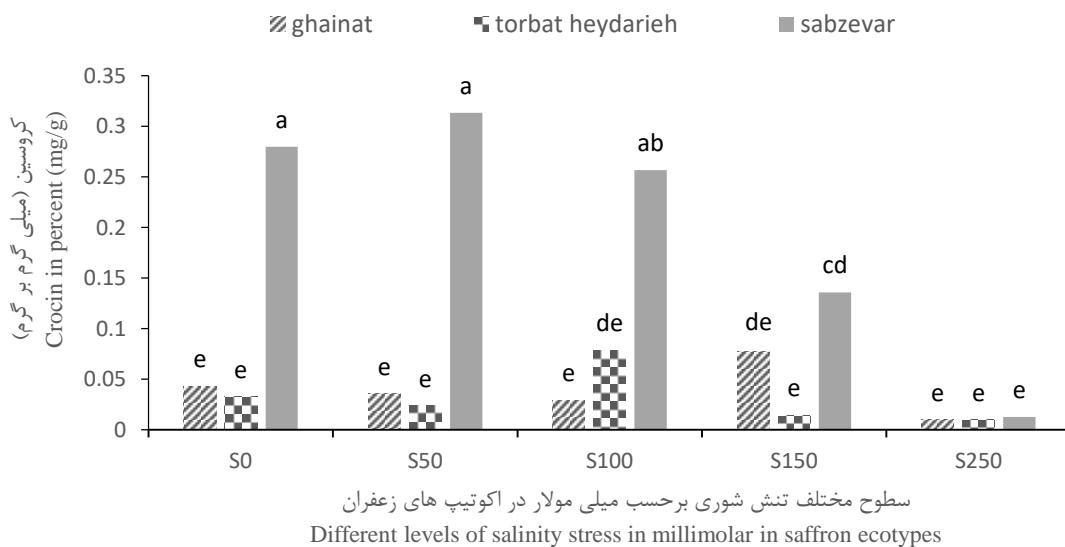
کروسین بر حسب درصد

مقایسات میانگین داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش × اکوتیپ برای صفت کروسین بر حسب درصد معنی‌دار شد. در بین تیمارهای تنش بیشترین مقدار کروسین بر حسب درصد مربوط به اکوتیپ سبزوآر در تیمار تنش ۵۰ میلی‌مولار بود. همچنین کمترین مقدار کروسین بر حسب



شکل ۹. اثر متقابل تنش شوری و اکوتیپ بر پرولین در بنه گیاه زعفران.

Fig 9. Interaction effect of salinity stress and ecotypes on proline in saffron corm.



شکل ۱۰. اثر متقابل تنش شوری و اکوتیپ بر کروسین گیاه زعفران.

Fig 10. Interaction effect of salinity stress and ecotypes on crocin in terms of percentage of saffron plant.

نتیجه‌گیری

اکوتیپ قائنات نسبت به تیمارهای دیگر از نظر اغلب صفات مورد بررسی برتری دارند. از نظر صفت محتوی کلروفیل a، بین اکوتیپ‌ها مورد بررسی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. اکوتیپ سبزواری در محتوی کروسین نسبت به دو اکوتیپ قائنات و تربیت حیدریه در تمامی سطوح تنش شوری مقدار بالاتری را نشان داد. براساس نتایج حاصل از این پژوهش، متحمل‌ترین اکوتیپ نسبت به تنش شوری اکوتیپ قائنات، و حساس‌ترین اکوتیپ نسبت به تنش شوری اکوتیپ سبزواری می‌باشد. همچنین بهترین سطح شوری که کمترین کاهش صفات مورد بررسی را داشت، سطح شوری ۵۰ میلی مولار بود.

نتایج بدست آمده نشان داد که افزایش تنش شوری تا سطح ۲۵۰ میلی‌مولار سبب کاهش کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، ترکیبات فنولی، کربوهیدرات‌ها، آنتوسیانین، پرولین در بنه و کروسین در گیاه زعفران گردید. در بین سطوح شوری، سطح شوری ۵۰ میلی مولار در اغلب صفات مورد مطالعه نسبت به بقیه سطوح شوری برتری دارد. همچنین اکوتیپ قائنات در اغلب صفات مورد مطالعه نسبت به دو اکوتیپ تربیت حیدریه و سبزواری برتری نشان داد. اثر متقابل شوری و اکوتیپ نشان داد که سطح شوری ۵۰ میلی مولار و

منابع

- Adil, H.I., Cetin, H.I., Yener, M. E., & Bayindirh, A. (2007). Subcritical (carbon dioxide + ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts. *The Journal of Supercritical Fluids*, 43: 55-63.
- Afshar Mohammadian, M., Omidpour., M., & Jamal Omid, F. (2017). The effect of different levels of drought stress on the chlorophyll fluorescence indices of two varieties of bean. *Journal of Plant Research*. 31(3): 694-709, [in Persian].
- Al-Amier, H., & Craker, L. E. (2006). In vitro selection for stress tolerant spearmint. *Botanicals and Medicinals*, 306-310.
- and planting method on qualitative compounds of saffron (*Crocus sativus* L.). *International Journal of Plant Production*, 10(2), 123-138.
- Alizadeh, M.B., Makarian, H., Ebadi, A., & Shafaroodi, A. (2021). Evaluation of the effect of different fertilizer treatments on yield and some reproductive traits of saffron (*Crocus sativus* L.) in the climatic conditions of Ardabil. *Journal of Saffron Research*. 9(1): 11-27. [in Persian].
- Amini Fard , M.H., Khandandeh Arbab, S., Hossein, M., Falhi ., & H., Kaveh, H. (2021). Studying the effect of different levels of amino acid and the weight of mother corm on antioxidant activity Amini Fard and the effective ingredients of saffron (*L. sativus Crocus*). *Journal of Saffron Research*. 10(2): 183-194. [in Persian].
- Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, 23:112-121.
- Bajji, M., Lutts, S., and Kinet, J.M. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*, 160:669-681.
- Beaton Jones, J., & Case, V. W. (1990). Sampling, Handling and analyzing plant tissue sample in: Westerman, R.L., (eds.). *Soil Testing, and plant analysis 3rd ed.* SSSA, Inc. *Madison Wisconsin, USA*, 784p.
- Bybordi, A., Tabatabaei, S.J., & Ahmadv, A. (2010). Effect of salinity on the growth and peroxidase and IAA oxidase activities in canola. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(1):109-112. [in Persian].
- Cheruth, A.J., & Azooz, M.M. (2009). Exogenous calcium alters pigment composition, γ -glutamyl kinase and proline oxidase activities in salt-stressed *Withania somnifera*. *Plant Omics Journal*, 2(2):85-90.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A., & Zhu, J.K. (2005). Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science*, 45:437-448.
- Dadashi, M., Majidi Harvan, A., Soltani, A., & Nourinia, A. (2016). Evaluation of the response of different atmospheric lines to salinity stress. *Scientific-research journal of agricultural sciences*, 13:2. [in Persian].
- Dehghani Bidgoli, R., Salari, A., & Bashiri, M. (2018). Effect of irrigation regimes on phenolic compounds and antioxidant activity of saffron stigma extract. *Journal of Saffron Research*. 7(1): 109-122. [in Persian].
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M. (2013). Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. *In Ecophysiology and responses of plants under salt stress*, pp. 25-87.
- Ho, S.Y., Pack, M., & Farber, S.A. (2001). Real-time imaging of lipid processing in wild type and mutant zebrafish. *FASEB journal* : official publication of the Federation of

- American Societies for Experimental Biology. 15(5):A1102.
- Johari Pireivatlou, M. (2010). Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines. *African Journal of Biotechnology*, 9:36-40. [In Persian].
- Kafi, M., Barzoi, A. Salehi, M. Kamandi, A. Masoumi, A., & Nabati, J. (2018). Physiology of environmental stress in plants. *Mashhad Academic Jihad Publications*. 502 pages. [in Persian].
- Lechtenberg, M., Schepmann, D., Niehues, M., Hellenbrand, N., Wunsch, B., & Hensel, A. (2008). Quality and functionality of saffron: quality control, species assortment and affinity of extract and isolated saffron compounds to NMDA and $\sigma 1$ (sigma-1) receptors. *Planta Medicinal*. 74:764-772.
- Leopold, A.C., & Willing, R.P. (1984) Evidence for toxicity effects of salts on membranes. In: Staples. R.C, and G.H. Toenniessen (Eds). *Salinity Tolerance in Plants*. Wiley. New York, 67-76.
- Mahajan, S., and Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics*, 444:139-158.
- McDonald, S. Prenzler, P.D., Autolovich, M., & Robards, K. (2001). Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food chemistry*, 73: 73-48.
- Navaris-Izzo, F, G. Pinzino, M.F. Quartacciand., & C.L.M. Sgherri.(1994). Intracellular membrane kinetics of superoxide production and changes in thylakoids of resurrection plant upon dehydration and rehydration. *Process Rog Soc Edin*, 102: 187-191.
- Nicolas, M.E., Munns, R., Samarakoon, A.B., & Gifford, R.M. (1993). Elevated carbon dioxide improves the growth of wheat under salinity. *Australian Journal of Plant Physiology*, 20(3):349- 360.
- Omidbeigi, R. 2018. Investigating the chemical types of Iranian car chamomiles and comparing with the modified type. *Tarbiat Modares Journal of Agricultural Sciences*. [in Persian].
- Oraei, M., Tabatabaei, S.J., Fallahi, S.J., & Imani, A. (2009). The effects of salinity stress and rootstock on the growth, photosynthetic rate, nutrient and sodium concentrations of almond (*Prunus dulcis* Mill.). *Journal of Horticultural Science*, 23(2):131-140.
- Pitman, M.G. and Läuchli, A. 2002. Global impact of salinity and agricultural ecosystems. In *Salinity: environment-plants-molecules*, pp. 3-20.
- Sabeghe, H. (2004). The comprehensive plan for the organization of Iran's saffron product. *Ministry of Agricultural Jihad - Organization of Agricultural Jihad of Khorasan Razavi Province*. (in Persian)
- Sadasivam, S., & Manickam, A. (1992). In: *Biochemical Methods for Agricultural Sciences*, Wiley Eastern Ltd. *New Delhi*, pp. 184-185.
- Satoh, R., Nakashima, K., Seki, M., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2002). ACTCAT, a novel cis-acting element for proline and hypo osmolarity-responsive expression of the ProDH gene encoding proline dehydrogenase in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 130:709-719.
- Wanger, G.J. (1979). Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, anthocyanins in protoplasts. *Plant physiology*, 64: 88-93.
- Wendelbo, P., & Mathew, B. (1975). Iridaceae: 9-10. In: Rechinger, K.H., (Ed.). *Flora Iranica* (Vol 112). Graz: Akademische Druck-u, Verlagsanstalt. Somogyi, M. 1952. *J. Biol. Chem*, 194:19-23.
- Yarami, N., & Sepaskhah, A.R. (2015). Physiological growth and gas exchange response of saffron (*Crocus sativus* L.) to irrigation water salinity, manure application and planting method. *Agric Water Manage*. 154, 43-51.

COPYRIGHTS

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

