Journal of Medicinal Plants Biotechnology
JMPB

Original Article

Effect of plant age on secondary metabolites and some physiological and biochemical traits of saffron (*Crocus sativus* L.) plants in Zanjan

Keyvan Aghaei [*1], ***Ali ammarellou*** [2], ***Mohsen Fathi*** [1]

1.Department of Biology, Faculty of Science, University of Zanjan, Zanjan, Iran
2. Research Institue of Modern Biological Techniques, University of Zanjan, Zanjan, Iran

ARTICLEINFO

Article history

Submitted:2022-7-3
Revised: 2022-7-27
Accepted:2022-9-19

KEYWORDS

Field age, photosynthetic pigments, Saffron, secondary metabolites, soluble proteins.

ABSTRACT

Saffron (*Crocus sativus* L.) is one of the oldest medicinal and spice plants in the world. Several factors affect the growth and production of saffron including: age and the number of corms per surface area, soil texture, the time of plant culture, time and kind of irrigation, mineral nutrition and ecological factors. It seems that the quantity and quality of saffron products are greatly different at different plant ages. The plant or field age has important effect on growth indices of saffron and its secondary metabolites. In order to investigate the effects of plant age on secondary metabolites and some physiological factors of saffron, a research project was conducted in a completely randomized design with three replications at the research field of medicinal plants of the University of Zanjan. Three saffron farms with different biological ages of one, two and five years old were selected as experimental treatments, and then three plots were randomly selected from each farm and the desired traits were measured. Results showed that, increasing of the age of saffron plants in this experiment increased fresh weight of plant and dry weight of stigma. 5-yraes old plants showed the highest amounts of these traits. Whereas, the contents of soluble proteins and sugars and photosynthetic pigments were higher at first year and decreased by increasing of plant age. Number of secondary metabolites decreased when the age of plants increased as in one–year old saffron plants 26 metabolites and in 5-year old plants only 15 metabolites were detected. Loliolid (18%) and thymol (17%) in 1-year old plants and thymol (19%) and camphor (14%) in 5-year old plants showed the highest level among all detected secondary compounds. Generally according to these results, plant age has an important effect on the number and kinds of secondary metabolites in saffron which should be considered at the time of saffron harvesting.

* Corresponding author: ***Keyvan Aghaei***
✉ E-mail: *keyvanaghaei@znu.ac.ir*
Journal homepage:

مجله زیست فناوری گیاهان دارویی
JMPB
Original Article

اثر سن گیاه بر ترکیبات ثانویه و برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.) در زنجان

کیوان آقائی [1*]، علی عمارلو [2]، محسن فتحی [1]
۱: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان
۲: گروه زیست فناوری پژوهشکده فناوری نوین زیستی، دانشگاه زنجان

اطلاعات مقاله
تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۲-۴-۱۴۰۱
بازنگری: ۵-۵-۱۴۰۱
پذیرش: ۲۸-۶-۱۴۰۱

واژگان کلیدی
پروتئین های محلول، ترکیبات ثانویه، رنگیزه های فتوسنتزی، زعفران، سن مزرعه

چکیده

زعفران (*Crocus sativus* L.) یکی از قدیمی ترین گیاهان دارویی و چاشنی در جهان است. تا کنون نقش عوامل متعددی از قبیل سن و تعداد بنه در واحد سطح، بافت خاک، زمان کاشت، آبیاری، تغذیه و عوامل اقلیمی در عملکرد زعفران مشخص شده است به نظر می‌رسد کیفیت و کمیت زعفران‌های برداشت شده در سالهای مختلف پس از کشت اولیه متفاوت است و سن مزرعه یا گیاه زعفران در شاخص-های رشدی و متابولیت‌های ثانویه آن نقش موثری داشته باشد لذا به منظور بررسی اثر سن مزرعه بر برخی صفات فیزیولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه زعفران، پژوهشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در مزرعه پژوهشی گیاهان دارویی دانشگاه زنجان (با توجه به بررسیهای مقدماتی یکنواختی قطعات مورد مطالعه و نبود ناهمگونی فاحش) اجرا گردید در این پژوهش، سه مزرعه زعفران با سنین زیستی یک ساله، دو ساله و پنج ساله به عنوان تیمارهای آزمایش در نظر گرفته شدند سپس از هر مزرعه، سه کرت به صورت تصادفی انتخاب و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند نتایج نشان داد، با افزایش سن مزرعه، وزن تر بوته و وزن خشک کلاله افزایش یافت و در مزرعه با سن پنج سال بیشترین مقادیر از نظر صفات فوق مشاهده گردید در حالیکه میزان پروتئین های محلول، قندهای محلول و رنگیزه های فتوسنتزی کلروفیلی و کاروتنوئیدی در سال اول بیشترین مقدار و در سال پنجم کمترین مقدار را نشان دادند تعداد ترکیبات ثانویه شناسایی شده با افزایش سن گیاه کاهش نشان داد بطوریکه در زعفران های یک ساله ۲۶ ترکیب و پنج ساله ۱۵ ترکیب شناسایی گردید در گیاهان یکساله، پروپانوئیک اسید به میزان ۱۸/۰۵ درصد، در گیاهان دو ساله، کامفور سولفونیل کلراید ($C_{10}H_{15}ClO_3S$) به میزان ۳۷/۹ و در گیاهان مزارع پنج ساله، سیکلو هگزا دی ان کربوکسی آلدهاید با ۱۹/۳۱ درصد عمده ترین ترکیبات تشکیل دهنده عصاره بودند به طور کلی سن گیاه عامل مهمی در تعداد ترکیبات و نوع و درصد ترکیبات ثانویه موجود در گیاهان زعفران بوده و در موقع برداشت زعفران باید به این موضوع نیز توجه کرد

*نویسنده مسئول: کیوان آقائی
✉ E-mail: keyvanaghaei@znu.ac.ir
Journal homepage:
CC BY

مقدمه

زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.) گیاهی علفی، چند ساله، متعلق به خانواده زنبقیان (Iridaceae) می‌باشد. زعفران ساقه حقیقی نداشته و پیاز (بنه) آن، ساقه زیرزمینی کوتاه، مدور، سخت، گوشتی، توپر و به رنگ سفید بوده که توسط پوششی از الیاف قهوه‌ای رنگ و شبکه مانند پوشیده شده است (مظفریان ۱۴۰۰). زعفران یکی از مهمترین گیاهان دارویی در ایران و جهان است که از دیر باز بعنوان چاشنی غذایی مورد استفاده قرار گرفته و در مطالعات متعدد به آثار ضدافسردگی، ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی آن اشاره شده است (Serrano-Diaz *et al.*, 2014). این گیاه دارویی ارزش صادراتی بالایی برای کشور ایران داشته که بخش اقتصادی آن، کلاله سه شاخه حاصل از گل است (Koocheki, 2013).

زعفران نیز همانند سایر گیاهان زراعی، جهت استفاده حداکثری از عوامل محیطی موثر بر رشد و نمو نیازمند مدیریت‌های زراعی مطلوب جهت نیل به حداکثر کمیت و کیفیت می‌باشد. در این رابطه عوامل زیادی مانند سن و تعداد بنه در واحد سطح، بافت خاک، زمان کاشت، آبیاری، تغذیه و عوامل اقلیمی نقش مؤثری در عملکرد زعفران دارند. پژوهش‌ها نشان داده که اندازه و سن بنه در عملکرد نهایی گل و کلاله زعفران نقش بسزایی دارد (عزیزی و همکاران، ۱۳۹۲). بنه نقش محوری در چرخه زندگی زعفران دارد زیرا منبع ذخیره مواد فتوسنزی مورد نیاز گیاه بعد از مرحله خواب و در مراحل اولیه رشد است. پیازهای زعفران به مدت ۸ تا ۹ سال در زمین مانده و هر ساله گل تولید می‌کنند. عمر مفید زعفران‌زار به عملیات مناسب داشت و تراکم کشت بستگی دارد (ملافیلابی و همکاران، ۱۳۹۳).

اثر سن مزرعه و منطقه جغرافیایی بر عملکرد کلاله زعفران در شهرستان بیرجند توسط رحیمی داغی و همکاران در سال ۱۳۹۴ مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که سن مزرعه بر عملکرد کلاله در زعفران تاثیر معنی‌داری دارد و میزان عملکرد کلاله به طور معنی‌داری تحت تاثیر خصوصیات خاک منطقه قرار می‌گیرد (رحیمی داغی، ۱۳۹۴). در تحقیق دیگری عملکرد و فراوانی بنه زعفران تحت تاثیر سن مزرعه توسط

ملافیلابی و همکاران مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که در مزارع ۸ ساله بیشترین وزن پوشش و تعداد بنه مشاهده می‌گردد (ملافیلابی، ۱۳۹۳). اندازه پوشش بنه، وزن تر و خشک ریشه و برگ، ضخامت برگ و میزان رنگیزه های فتوسنتزی در زعفران تحت تنش خشکی نیز مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته است و مشخص شده است که این صفات به شدت تحت تنش خشکی کاهش می‌یابند (ثابت تیموری و همکاران، ۱۳۸۹).

بررسی سطح زیر کشت زعفران در سال‌های اخیر، بیانگر افزایش سطح زیر کشت این محصول در مناطق مختلف کشور می‌باشد (آمارنامه کشاورزی، ۱۴۰۰). انتشار جغرافیایی زعفران در ایران شامل استان خراسان (قائنات، بیرجند و گناباد)، یزد، کرمان، گیلان و مازندران است. زعفران علاوه بر ایران در کشورهای حاشیه دریای مدیترانه از اسپانیا، فرانسه و یونان تا چین و هند کاشته می‌شود. کل تولید سالیانه زعفران در جهان حدود ۲۰۵ تن است که بیش از ۸۰ درصد آن در ایران برداشت می‌شود. از مجموع سطح زیر کشت زعفران در کشور، حدود ۷۸ درصد به استان خراسان رضوی اختصاص داشته و پس از آن، استان خراسان جنوبی با ۱۷ درصد در رتبه بعدی قرار دارد. تعداد استان‌های تولیدکننده زعفران نیز هر ساله افزایش می‌یابد که ممکن است ناشی از تغییرات اقلیمی، گرمایش جهانی به ویژه تأثیر گرمای تابستانه باشد که سبب شده است تا الگوهای اقلیمی مناسب‌تر زعفران در مناطق دیگر کشور نیز فراهم شود (کوچکی و همکاران، ۱۳۹۶). در رابطه با سطح زیر کشت زعفران در استان زنجان آمار ثبت شده دقیقی وجود ندارد. تنها می‌توان به اظهارات مجری طرح گیاهان دارویی سازمان جهادکشاورزی استان زنجان به نقل از خبرگزاری ایسنا اشاره کرد که بر این اساس، ۴۵ هکتار مزرعه زعفران در شهرستان ماه‌نشان وجود دارد. مجموع مزارع بارور و غیربارور زعفران استان زنجان، ۱۵۶ هکتار است. در سال ۱۴۰۲ بیش از ۱۷ هکتار توسعه سطح زیر کشت زعفران انجام شد که در این میان شهرستان ماه‌نشان بیشترین سطح کشت در استان یعنی ۴۵ هکتار را دارا بود (خبرگزاری ایسنا، ۱۴۰۲). با توجه به وضعیت آب و هوایی استان زنجان که

زمستان های سرد و تابستان های نسبتا گرم دارد به نظر می رسد که این استان ظرفیت مناسبی برای تولید زعفران با کیفیت داشته باشد. با توجه به اینکه تا کنون مطالعات وسیع و مناسبی در زمینه امکان سنجی کشت زعفران و بررسی ویژگی های زعفران کاشته شده در مناطق مختلف استان زنجان صورت نگرفته است طرح جامعی توسط پژوهشکده فناوری های نوین زیستی در دانشگاه زنجان در حال انجام است که پژوهش حاضر ناظر بر بخشی از نتایج این طرح می باشد.

مواد و روشها

به منظور انجام این پژوهش سه مزرعه آزمایشی زعفران کشت شده با سنین بیولوژیکی یک ساله، دو ساله و پنج ساله در مزرعه پژوهشی پژوهشکده فناوری-های نوین زیستی دانشگاه زنجان با مختصات جغرافیایی″۱۵ ′۲۴ °۴۸ طول شرقی و″۳۷ ′۴۰ °۳۶ عرض شمالی و ارتفاع ۱۶۳۸ متر از سطح دریا به عنوان تیمارهای آزمایش انتخاب شدند. سپس از هر مزرعه، سه کرت به ابعاد ۴×۳ متر (۱۲ متر مربع) در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انتخاب گردید و از هر کرت تعداد پنج بوته در مرحله گل‌دهی از خاک خارج و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند. صفات مورد اندازه‌گیری در این پژوهش شامل: وزن تر بوته، وزن خشک کلاله، میزان رنگیزه های فتوسنتزی کلروفیلی و کاروتنوئیدی، مقدار پروتئین های محلول و مقدار کربوهیدرات های محلول و نیز مقدار و نوع ترکیبات ثانویه تشکیل دهنده اسانس کلاله زعفران ها در سال های اول، دوم و پنجم بود.

سنجش صفات بیوشیمیایی

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی با استفاده از روش Arnon, 1949 ، اندازه گیری مقدار کربوهیدرات های محلول با روش Roe,1955 و پروتئین های محلول با روش Bradford, 1976 در نمونه های برگ و ریشه انجام شد.

سنجش ترکیبات ثانویه کلاله

تعداد و درصد ترکیبات ثانویه کلاله‌های خشک(۱۰ گرم) در آزمایشگاه پس از پودر شدن به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) با استفاده از دستگاه GC/ MS مدل - Agilent 5975 با استفاده از دو ستون DB-1

با طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میکرون و DB-wax با همان ابعاد، مطابق روش ارائه شده توسط لوزانو و همکاران (Lozano et al., 1999) در آزمایشگاه ویرومد (ViroMed) تهران اندازه‌گیری گردید.

تحلیل آماری داده ها

داده‌های به دست آمده با نرم افزار SAS var. 9.1 تجزیه واریانس شدند. مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد صورت گرفت. رسم نمودارها با نرم افزار Excel (نسخه ۲۰۱۶) انجام گردید.

نتایج و بحث

اثرسن گیاه بروزن تربوته

وزن تر بوته یک ساله، دوساله و پنج ساله در سطح احتمال یک درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۱). وزن تر بوته یک ساله و پنج ساله به ترتیب با ۱۷/۷۰ و۴۹/۸۲ گرم کمترین و بیشترین مقدار را دارا بودند (شکل ۱). وزن تر بوته دو ساله با ۲۸/۸۴ گرم نسبت به زعفران یک ساله ۶۲/۹۳ درصد بالاتر و نسبت به پنج ساله ۴۲/۱۱ درصد پایین تر بود (شکل۱). عملکرد زعفران در سال اول به شدت متأثر از اندازه و ذخائر بنه‌های مادری بوده که با رشد و نمو خود در سال اول، سبب وجود آمدن بنه‌های دختری می‌شوند که به عنوان عامل تکثیر گیاه در سال دوم محسوب شده و بنه‌های تولید شده جدید نیز عملکرد سال‌های بعدی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Mohammad Abadi et al., 2011). به عبارت دیگر، از آن جا که گل زعفران قبل از هر اندام هوایی دیگر ظاهر می‌شود و تشکیل گل و عملکرد اقتصادی زعفران در هر سال وابسته به ذخیره مواد فتوسنتزی در بنه زعفران در فصل زراعی قبل از آن می‌باشد، هر بنه در طی سال بعد مواد فتوسنتزی مازاد خود را جهت تشکیل بنه‌های جدید و همچنین آغازش و تکامل گل به اندام‌های زیرزمینی منتقل می‌نماید (نصیری محلاتی و همکاران، ۱۳۸۶).

اثرسن گیاه بروزن خشک کلاله

با افزایش سن مزرعه و گیاه عملکرد خشک کلاله نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. عملکرد کلاله خشک در سال اول ۰/۱۴۵ گرم در متر مربع بود

که در دو ساله به ۰/۳۵۰ و در پنج ساله به ۰/۵۸۸ گرم در متر مربع افزایش یافت که به ترتیب افزایشی ۱۴۱/۳ و ۳۰۵/۵ درصدی نسبت به مزرعه یک ساله داشتند (جدول ۲). گزارش شده که سن مزرعه بر عملکرد زعفران اثر معنی‌داری داشته و بالاترین عملکرد گل در مزرعه سه ساله مشاهده شد (کوچکی و ثابت تیموری، ۱۳۹۳). در پژوهش دیگری گزارش شده که افزایش سال برداشت بنه (سن مزرعه) از دو به چهار سال کاهش عملکرد خشک کلاله را به دنبال داشت به طوری که بالاترین عملکرد خشک کلاله با ۰/۷۶۱ گرم در متر مربع در سال دوم مزرعه زعفران مشاهده گردید (کوچکی و همکاران، ۱۳۹۶). در پژوهش‌های دیگری نیز گزارش شده است که با افزایش سن مزرعه تا سال چهارم وزن کلاله افزایش و سپس در سال‌های بعدی شروع به کاهش می‌کند (عزیزی و همکاران، ۱۳۹۲).

اثر سن گیاه بر رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئیدی

محتوای کلروفیل a، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در سطح احتمال یک درصد و کلروفیل b در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر سن گیاه قرار گرفت (جدول ۱). برگ زعفران‌های سال پنجم با ۲/۱۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر کمترین محتوای کلروفیل a را داشت در حالی که زعفران‌های یک ساله و دو ساله از نظر محتوای کلروفیل a با یکدیگر مشابه بود (جدول۲). محتوای کلروفیل b (۰/۹۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کلروفیل کل (۳/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در مزرعه پنج ساله کمترین مقدار را داشت و بین مزرعه یک ساله و دو ساله از نظر صفات ذکر شده تفاوتی وجود نداشت. محتوای کاروتنوئیدها در مزرعه دو ساله و پنج ساله با۱/۰۶۰ و ۰/۵۵۵ میلی‌گرم بر گرم به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را داشت (جدول۲)

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر سن مزرعه بر خصوصیات فیزیولوژیکی زعفران.

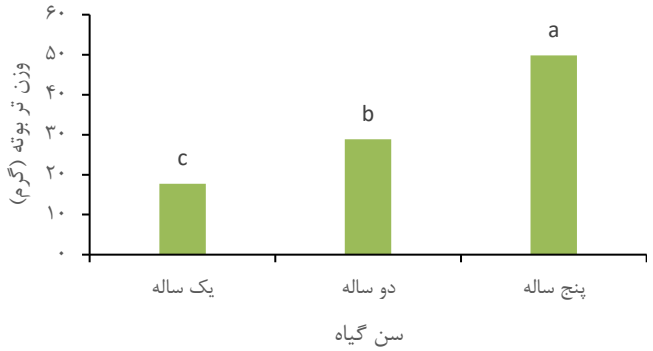
					میانگین مربعات (M)					
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	تعداد برگ	وزن تر بوته	کاروتنوئید	پروتئین ریشه	پروتئین برگ	کربوهیدرات ریشه	کربوهیدرات برگ
تیمار	۲	/۷۹** ۰	/۱۱۳* ۰	/۵۰** ۱	/۱۱ns ۰	/۹۴** ۷۹۷	۱۹/۷۳** ۹۰۱۴	۱۰۹۳/۱۷ns ۰	۱۲۳/** ۳۵۰	۰/۱۶**	۰/۱۰۲**

خطای آزمایشی	۴	۰/۰۱۷	۰/۰۰۹	۰/۰۴	۰/۱۱	۴/۰۱	۸۳۲/۲۶	۱۱۱۹/۴۷	۵۶۰۴/۴۵	۰/۰۰۲	۰/۰۰۷
ضریب تغییرات	-	۴/۸۶	۸/۵۸	۵/۷۸	۴/۴۱	۶/۲۳	۳/۴۴	۱۰/۰۱	۹/۶۷	۸/۰۶	۱۹/۱۲

*، ** و ns به‌ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح پنج درصد، یک درصد و عدم معنی‌داری.

شکل ۱- تأثیر سن گیاه بر وزن تر بوته زعفران.

جدول۲: مقایسه میانگین وزن خشک کلاله و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاهان یک، دو و پنج ساله زعفران



سن گیاه	وزن خشک کلاله (ملی گرم بر متر مربع)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئیدها (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)
یک ساله	۰/۱۴۵ (± ۰/۰۱۴) c	۲/۸۶ (± ۰/۰۸)a	۱/۲۰ (± ۰/۰۶)a	۴/۰۷ (± ۰/۱۲)a	(± ۰/۰۱۷)b ۰/۸۹۶
دو ساله	۰/۳۵۰ (± ۰/۰۱۵)b	۳/۱۲ (± ۰/۱۷)a	۱/۲۷ (± ۰/۰۹)a	۴/۴۰ (± ۰/۲۰)a	۱/۰۶۰ (± ۰/۱۲)a
پنج ساله	۰/۵۸۸ (± ۰/۰۲۲)a	۲/۱۳ (± ۰/۱۱)b	۰/۹۰ (± ۰/۰۴)b	۳/۰۴ (± ۰/۱۸)b	(± ۰/۰۱۲)c ۰/۵۵۵

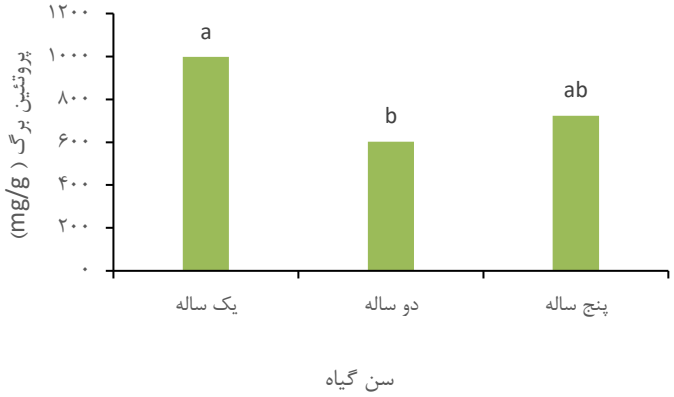
در هر ستون سطوح تیماری که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل در زعفران دوساله مشاهده گردید. هرچند با زعفران یک ساله از این نظر تفاوت معنی‌داری نداشتند و زعفران پنج ساله کمترین میزان محتوای کلروفیلی را داشت. این احتمال وجود دارد که در سال پنجم گیاه بیشترین هزینه خود را صرف تکثیر پیازهای دختری نموده به همین دلیل تشکیل رنگیزه‌های کلروفیلی کاهش یافته باشد. در واقع ممکن است تولید غده‌های دختری مقدم بر رنگیزه‌های کلروفیلی بوده باشد. از آن جا که کاروتنوئیدها نقش محافظتی دارند به نظر می‌رسد که گیاه سال دوم پس از استقرار (سال اول) بیشترین محافظت را از برگ‌ها به عمل می‌آورد تا بدین سبب بتواند با حفظ میزان

توان فتوسنتزی خود، به حداکثر تولید برسد. خلاف این واکنش را در مزرعه پنج ساله می‌توان دید که به نظر می‌رسد گیاه با افزایش سن خود، بیشترین انرژی را صرف تولید بنه‌های دختری می‌نماید. از سوی دیگر، پیش‌ساز بسیاری از ترکیبات ثانویه در گیاهان با پیش‌ساز ترکیبات کاروتنوئیدی یکسان است (Taiz and Zeiger, 2013) بنابراین شاید بتوان گفت که در سال پنجم به دلیل ساخت ترکیبات ثانویه بیشتر مانند کروسین و سافرانال غیره میزان تولید ترکیبات کاروتنوئیدی کاهش می‌یابد.

اثرسن گیاه برمیزان پروتئین های محلول ریشه و برگ

مقدار پروتئین های محلول ریشه تحت تأثیر سن مزرعه قرار نداشت ولی پروتئین برگ به‌طور معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) تحت تأثیر سنین مختلف مزرعه قرار گرفت (جدول۱). برگ زعفران‌های یک ساله بیشترین (۰/۹۹۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و دو ساله کمترین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) محتوای پروتئین برگ را دارا بودند (شکل۲).



شکل۲: تأثیر سن گیاه بر محتوای پروتئین برگ زعفران

به نظر می‌رسد که بیشترین تولیدات فتوسنتزی صرف تولید پروتئین های محلول برگ می شود تا از خطرات احتمالی ناشی از دمای پایین و آسیب احتمالی به برگ جلوگیری به عمل آید. بسیاری از ترکیبات ضد تنش در گیاهان منشأ پروتئینی دارند. از آنجا که برگ‌ها بیشتر از ریشه‌ها در معرض تنش دمای پایین قرار دارند بنابراین منطقی است که میزان پروتئین برگ بالاتر از ریشه باشد. قبادی و همکاران (۱۳۹۵) گزارش کردند که بنه-های درشت‌تر به دلیل اندازه و ذخیره

غذایی بیشتر باعث افزایش میزان رنگیزه-های فتوسنتزی، قند، پروتئین‌ها و عملکرد زعفران حتی در سال اول رشد گردید.

اثر سن گیاه بر محتوای کربوهیدارت‌های ریشه و برگ

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر تأثیر معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۱) سن مزرعه بر غلظت کربوهیدرات‌های محلول ریشه و برگ بود (جدول۱). زعفران‌های پنج ساله با ۰/۹۰۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین کربوهیدرات ریشه را داشت (شکل۲).

کربوهیدرات ریشه در زعفران سنین یک ساله و دو ساله (۰/۵۰۸ و ۰/۴۹۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) نیز از نظر آماری با یکدیگر تفاوت معنی داری نداشت (جدول۱). کربوهیدرات برگ در مزارع سنین پنج ساله و یک ساله با ۰/۲۹۶ و ۰/۶۶۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر به ترتیب کمترین و بیشترین مقدار را داشت (شکل۳). تجمع کربوهیدرات‌ها در ریشه و برگ می‌تواند به علت افزایش تولیدات فتوسنتزی و همچنین افزایش غلظت شیره سلولی و کاهش احتمالی خطرات تنش سرما باشد.

شکل۳- تأثیر سن گیاه بر محتوای کربوهیدرات برگ زعفران

افزایش میزان مواد فتوسنتزی در گیاه سبب افزایش تولید مواد پرورده شده که علاوه بر تولید عملکرد بیشتر باعث تولید بیشتر قندهای محلول برگ می شود (محمدقاسمی و همکاران، ۱۴۰۱). گزارش‌ها بیانگر آن است که در بنه‌های درشت زعفران، اندوخته غذایی بیشتری موجود می‌باشد، در نتیجه سبب افزایش کربوهیدرات‌های محلول می‌گردد (قبادی و همکاران، ۱۳۹۵). در ابتدای پاییز و قبل از ظهور برگ‌ها، رشد و نمو گیاه وابسته به ذخایر موجود در بنه مادری می‌باشد، بنه-های بزرگ‌تر به دلیل داشتن اندوخته غذایی و تولید انرژی بیشتر، موجب رشد و نمو بهتر ریشه و اندام هوایی در گیاه زعفران می‌شوند (Amirshekari *et*

al., 2007). بنابراین یکی از دلایل افزایش متابولیت‌ها و مواد مؤثره کلاله زعفران و نیز خصوصیات کمی و کیفی گل را می‌توان افزایش رشد و نمو و تولید مواد فتوسنتزی بیشتر در بنه‌های درشت‌تر دانست (انصاریان مهابادی و همکاران، ۱۳۹۶).

شکل۴: تأثیر سن گیاه بر محتوای کربوهیدرات ریشه زعفران

اثرسن گیاه برترکیبات ثانویه

نتایج آنالیز ترکیبات ثانویه کلاله‌های گرفته شده از بوته‌های با سنین یک ساله، دو ساله و پنج ساله به ترتیب در جدول های ۳ و ۴ و ۵ آورده شده است. ترکیبات ثانویه شناسایی شده در گیاهان یک‌ساله، دو ساله و پنج‌ساله به ترتیب ۲۶، ۱۹ و ۱۵ ترکیب بود. درگیاهان یک‌ساله زعفران بیشترین ترکیبات ثانویه تشکیل‌دهنده پروپانوئیک اسید به میزان ۱۸/۰۵ درصد، سیکلو هگزادی ان کربوکسی آلدهاید به میزان ۱۷/۳ درصد و دی‌هیدروکسی تری متیل سیکلو هگزان به میزان ۵/۸۷ درصد بود. در گیاهان دو ساله ترکیبات کامفور سولفونیل‌کلراید ($C_{10}H_{15}ClO_3S$) به میزان ۳۷/۹٪، سیکلو هگزادی ان کربوکسی آلدهاید ۲۱/۶۷٪، بنزن دی متیل ۶/۵۷٪ بیشترین ترکیبات ثانویه تشکیل‌دهنده را به خود اختصاص داده بودند. در گیاهان مزارع پنج ساله بیشترین ترکیبات شامل سیکلو هگزا دی ان کربوکسی آلدهاید با ۱۹/۳۱ درصد، کامفور سولفونیل‌کلراید ($C_{10}H_{15}ClO_3S$) ۱۴/۸۳ درصد و هیدروکسی تری متیل سیکلو هگزان ان کربالدهاید با ۷/۰۵ درصد بود. مقایسه ترکیبات ثانویه گیاهان زعفران مورد بررسی در سالهای مختلف نشان می‌دهد: ترکیب سیکلو هگزا دی ان کربوکسی آلدهاید در عصاره‌های هر سه مزرعه دیده می شود که میزان آن در سال دوم از بقیه بیشتر است هرچند تفاوت خیلی زیاد نیست. ترکیب کامفور در عصاره های گیاهان دو ساله و پنج ساله به مقدار قابل توجهی افزایش یافته است و باز هم در گیاهان دو ساله از بقیه بیشتر است. در

حالیکه این ترکیب در عصاره گیاهان یک ساله مشاهده نگردید. ترکیبی به نام آدامانتانول نیز که در گیاهان دو ساله و پنج ساله به ترتیب به میزان حدود ۳ و ۴ درصد دیده می‌شود، در گیاهان یک ساله مشاهده نشد.

سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاه متأثر از متابولیت‌های اولیه است و هر عاملی که سبب تقویت فتوسنتز و متابولیت‌های اولیه شود، افزایش مقادیر متابولیت‌های ثانویهٔ گیاه را در پی دارد. ترکیبات ثانویهٔ شیمیایی در گیاهان تحت تأثیر چند ژن که بر اثر شرایط محیطی و تنش‌ها تغییر می‌کنند، سنتز می‌شوند و به نظر می‌رسد نقش مهمی در ساز و کار دفاعی گیاهان دارویی در شرایط تنش دارند (توکلی و همکاران، ۱۳۹۹). کروسین از مسیر غیر موالونیک اسید در پلاستیدها که مواد اولیهٔ کاروتنوئیدها را به وجود می‌آورد و روش موالونیک اسید در سیتوپلاسم بیوسنتز می‌شود. مطالعهٔ تغییرات کمی و کیفی متابولیت‌های ثانویه در زعفران نشان داده است برخی از ژن‌هایی که در تنظیم رونویسی از ژنهای مربوط به متابولیت های ثانویه درگیر هستند مانن ژنهای CsLYC، CsUGT2 و CsBCH ممکن است تحت تاثی سن گیاه قرار گرفته و فعالیت آنها کم یا زیاد شود (Mir *et al.*, 2012; Ahrazem *et al.*, 2010). تنظیم و رونویسی بیان ژن‌های کاروتنوئید، سازوکار مهمی است که با استفاده از آن، بیوسنتز و انباشت کاروتنوئیدهای خاص یا مشتقات آن‌ها طی رشد گل و رسیدگی زعفران تنظیم می‌شود. بیوسنتز مشتقات کاروتنوئیدی اصلی زعفران شامل کروسین، پیکروکروسین و کروستین از طریق تجزیهٔ اکسیداتیو زئازانتین و بتاکاروتن رخ می‌دهد. تجمع این کاروتنوئیدها در زعفران در سطح رونویسی ژن‌های BCH، PSY و β-LYC2 کنترل می‌شود (توکلی و همکاران، ۱۳۹۹). همچنین گزارش گردیده که دلیل کاهش متابولیت‌های ثانویه در زعفران در مزارع با سن بیولوژیکی بالا، به دلیل کاهش اندازه بنه در مزارع سنین بالا، نزدیک شدن بنه‌ها به سطح خاک و کاهش دسترسی به عناصر غذایی و همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز این ترکیبات باشد (تاجیک و همکاران، ۱۳۹۱).

جدول ۳- درصد و نوع ترکیبات ثانویه تشکیل‌دهنده کلاله زعفران‌های یک ساله

Compound Label	RT	Name	DB Formula	Value compound

				٪
Cpd 1: 2,2-Dimethoxybutane	5.824	2,2-Dimethoxybutane	0	0.34
Cpd 2: Carbonic acid, propargyl 4-benzyloxyphenyl ester	6.032	Carbonic acid, propargyl 4-benzyloxyphenyl ester	$C_{17}H_{14}O_4$	2.21
Cpd 4: Ethyne, chloro-	6.991	Ethyne, chloro-	C_2HCl	0.32
Cpd 6: 2(5H)-Furanone	8.082	2(5H)-Furanone	$C_4H_4O_2$	2.82
Cpd 7: Isophorone	11.142	Isophorone	$C_9H_{14}O$	0.99
Cpd 8: 1,4-Cyclohexanedione, 2,2,6-trimethyl-	11.703	1,4-Cyclohexanedione, 2,2,6-trimethyl-	$C_9H_{14}O_2$	0.41
Cpd 9: 1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde,2,6,6-trimethyl-	12.195	1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	$C_{10}H_{14}O$	17.3
Cpd 10: 2-Oxobicyclo(3.2.2)nona-3,6-dien-1-yl benzoate	12.902	2-Oxobicyclo(3.2.2)nona-3,6-dien-1-yl benzoate	0	0.25
Cpd 11: 4-Hydroxy-3,5,5-trimethylcyclohex-2- enone	13.47	4-Hydroxy-3,5,5-trimethylcyclohex-2-enone	$C_9H_{14}O_2$	0.42
Cpd 12: trans-1,2-Diethoxycyclohexane	13.533	trans-1,2-Diethoxycyclohexane	$C_{10}H_{20}O_2$	0.24
Cpd 13: 4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-3-oxocyclohexa-1,4-dienecarbaldehyde	14.467	4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-3-oxocyclohexa-1,4-dienecarbaldehyde	$C_{10}H_{12}O_3$	0.55
Cpd 14: 4-Hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-1-enecarbaldehyde	14.776	4-Hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-1-enecarbaldehyde	$C_{10}H_{16}O_2$	5.87
Cpd 17: .beta.-D-Glucopyranose, 1,6-anhydro-	15.381	.beta.-D-Glucopyranose, 1,6-anhydro-	$C_6H_{10}O_5$	0.56
Cpd 19: Methyl-2-O-methyl.beta.l arabinopyranoside	17.167	Methyl-2-O-methyl.beta.l-arabinopyranoside	$C_7H_{14}O_5$	1.22
Cpd 20: Acetic acid, rubidium salt	17.375	Acetic acid, rubidium salt	$C_2H_3O_2Rb$	0.25
Cpd 21: 1,5-Diphenyl-2H-1,2,4-triazoline-3- thione	18.22	1,5-Diphenyl-2H-1,2,4-triazoline-3-thione	$C_{14}H_{11}N_3S$	0.52
Cpd 23: Phthalic acid, octyl trans-hex-3-enyl ester	19.028	Phthalic acid, octyl trans-hex-3-enyl ester	$C_{22}H_{32}O_4$	0.21
Cpd 24: 3-Methylbut-2-enoic acid, 2-dimethylaminoethyl ester	19.23	3-Methylbut-2-enoic acid, 2-dimethylaminoethyl ester	$C_9H_{17}NO_2$	0.28
Cpd 27: Cyclohexane, 1,1'-(1,3-propanediyl)bis-	21.469	Cyclohexane, 1,1'-(1,3-propanediyl)bis-	0	0.31
Cpd 28: Bicyclo[2.2.1]heptane, 2-ethyl-	21.57	Bicyclo[2.2.1]heptane, 2-ethyl-	C_9H_{16}	0.24
Cpd 31: 4H-1,2,4-triazol-3-ol, 5-[(phenylmethyl)thio]-	23.948	4H-1,2,4-triazol-3-ol, 5-[(phenylmethyl)thio]-	0	0.19

Cpd 33: Thiocyanic acid, 4-amino-3-nitrophenyl ester	24.453	Thiocyanic acid, 4-amino-3-nitrophenyl ester	0	0.67
Cpd 34: Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 3-allyl-6,6- dimethyl-2-methylene-	25.5	Bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol, 3-allyl-6,6-dimethyl-2-methylene-	$C_{13}H_{20}O$	2.45
Cpd 35: Propanoic acid, 3-(3-hydroxybicyclo[2.2.1]hept-2-yliden)-2-methyl	25.74	Propanoic acid, 3-(3-hydroxybicyclo[2.2.1]hept-2-yliden)-2-methyl	$C_{11}H_{16}O_3$	18.05
Cpd 37: 2-Methylcyclohexyl 2,3,4,5,6-pentafluorobenzoate	28.106	2-Methylcyclohexyl 2,3,4,5,6-pentafluorobenzoate	0	0.35
Cpd 38: Ethylamine, N,N-dioctyl-2-(2-thiophenyl)-	28.377	Ethylamine, N,N-dioctyl-2-(2-thiophenyl)-	0	0.36

جدول ۴- درصد و نوع ترکیبات ثانویه تشکیل‌دهنده کلاله زعفران های دو ساله.

Compound Label	RT	Name	DB Formula	Value compoun ٪d
Cpd 1: Benzene	4.871	Benzene	C_6H_6	0.89
Cpd 2: 2,2-Dimethoxybutane	5.817	2,2-Dimethoxybutane	0	0.43
Cpd 3: Toluene	5.994	Toluene	C_7H_8	5
Cpd 4: Methanamine, N-hydroxy-N-methyl-	6.707	Methanamine, N-hydroxy-N-methyl-	C_2H_7NO	0.41
Cpd 5: Benzene, 1,3-dimethyl-	7.313	Benzene, 1,3-dimethyl-	C_8H_{10}	6.57
Cpd 6: 2(5H)-Furanone	8.082	2(5H)-Furanone	$C_4H_4O_2$	4.92
Cpd 8: Isophorone	11.136	Isophorone	$C_9H_{14}O$	0.68
Cpd 9: 1,4-Cyclohexanedione, 2,2,6-trimethyl-	11.697	1,4-Cyclohexanedione, 2,2,6-trimethyl-	$C_9H_{14}O_2$	0.49
Cpd 10: 1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde,2,6,6-trimethyl-	12.195	1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	$C_{10}H_{14}O$	2 1.67
Cpd 12: 5-Acetyl-4-amino-3-(2-N piperidinylethylthio) thieno[2,3-c]isothiazole	13.47	5-Acetyl-4-amino-3-(2-N-piperidinylethylthio)thieno [2,3-c]isothiazole	0	0.96
Cpd 13: 4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-3- oxocyclohexa-1,4-dienecarbaldehyde	14.46	4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-3-oxocyclohexa-1,4- dienecarbaldehyde	$C_{10}H_{12}O_3$	0.73
Cpd 14: 4-Hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-1-enecarbaldehyde	14.782	4-Hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-1-enecarbaldehyde	$C_{10}H_{16}O_2$	5.45
Cpd 16: .beta.-D-Glucopyranose, 1,6-anhydro-	15.4	.beta.-D-Glucopyranose, 1,6-anhydro-	$C_6H_{10}O_5$	1.19
Cpd 17: .beta.-l-Arabinopyranoside, methyl	16.864	.beta.-l-Arabinopyranoside, methyl	$C_6H_{12}O_5$	0.87
Cpd 19: Pyrazolo[1,5-a]pyridine, 3-methyl-2-phenyl-	23.053	Pyrazolo[1,5-a]pyridine, 3-methyl-2-phenyl-	$C_{14}H_{12}N_2$	0.58
Cpd 21: 1-Formyl-2,2,6-trimethyl-3-cis-(3- methylbut-2-enyl)-5-cyclohexene	24.453	1-Formyl-2,2,6-trimethyl-3-cis-(3-methylbut-2-enyl)-5-cyclohexene	$C_{15}H_{24}O$	1.37

Cpd 22: 2-Adamantanol, 2-(bromomethyl)-	25.513	2-Adamantanol, 2-(bromomethyl)-	$C_{11}H_{17}BrO$	3.71
Cpd 23: (+)-Camphor-10-sulfonyl chloride	25.759	(+)-Camphor-10-sulfonyl chloride	$C_{10}H_{15}ClO_3S$	37.9
Cpd 24: Phthalic acid, cyclobutyl tetradecyl ester	28.383	Phthalic acid, cyclobutyl tetradecyl ester	0	0.71

جدول ۵- درصد و نوع ترکیبات ثانویه تشکیل‌دهنده کلاله زعفران های پنج ساله

Compound Label	RT	Name	DB Formula	Value compound ٪
Cpd 1: 1,3,5,7-Tetroxane	4.821	1,3,5,7-Tetroxane	0	0.31
Cpd 2: Butane, 2-chloro-2-methyl-	4.89	Butane, 2-chloro-2-methyl-	$C_5H_{11}Cl$	0.29
Cpd 3: 2-Methoxy-3-methyl-butyric acid, methyl ester	5.83	2-Methoxy-3-methyl-butyric acid, methyl ester	$C_7H_{14}O_3$	0.43
Cpd 6: 2(5H)-Furanone	8.133	2(5H)-Furanone	0	2.33
Cpd 7: 1H-Pyrazole, 4,5-dihydro-5,5-dimethyl-4-isopropylidene-	11.142	1H-Pyrazole, 4,5-dihydro-5,5-dimethyl-4-isopropylidene-	$C_8H_{14}N_2$	1.63
Cpd 8: 2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	11.394	2,6,6-Trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	$C_9H_{12}O_2$	0.25
Cpd 9: 1,4-Cyclohexanedione, 2,2,6-trimethyl-	11.71	1,4-Cyclohexanedione, 2,2,6-trimethyl-	$C_9H_{14}O_2$	0.74
Cpd 10: 1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	12.202	1,3-Cyclohexadiene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	$C_{10}H_{14}O$	19.31
Cpd 12: 4-Hydroxy-3,5,5-trimethylcyclohex-2-enone	13.47	4-Hydroxy-3,5,5-trimethylcyclohex-2-enone	$C_9H_{14}O_2$	1.38
Cpd 13: 4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-3- oxocyclohexa-1,4-dienecarbaldehyde	14.467	4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-3-oxocyclohexa-1,4- dienecarbaldehyde	$C_{10}H_{12}O_3$	1.37
Cpd 14: 4-Hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-1-enecarbaldehyde	14.782	4-Hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-1-enecarbaldehyde	$C_{10}H_{16}O_2$	7.05
Cpd 21: 2-(4-Benzyl-5-mercapto-4H-[1,2,4]triazol-3-yl)-phenol	21.501	2-(4-Benzyl-5-mercapto-4H-[1,2,4]triazol-3-yl)-phenol	0	0.29
Cpd 25: 2-Adamantanol, 2-(bromomethyl)-	25.5	2-Adamantanol, 2-(bromomethyl)-	$C_{11}H_{17}BrO$	4.62
Cpd 26: (+)-Camphor-10-sulfonyl chloride	25.734	(+)-Camphor-10-sulfonyl chloride	$C_{10}H_{15}ClO_3S$	14.83
Cpd 29: Hexane, 3,4-bis(1,1-dimethylethyl)-2,2,5,5-tetramethyl-	28.377	Hexane, 3,4-bis(1,1-dimethylethyl)-2,2,5,5-tetramethyl-	$C_{18}H_{38}$	0.3

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که با افزایش سن گیاه عملکرد صفات اندازه گیری شده و نیز نوع و مقدار ترکیبات ثانویه در گیاه زعفران تغییر پیدا کرد. به طور کلی نتایج نشان داد که برخی صفات مانند وزن تر بوته و وزن خشک کلاله که صفت بسیار مهمی می‌باشد با افزایش سن مزرعه افزایش می‌یابد در حالیکه مقدار پروتئین‌ها و قندهای محلول و نیز مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در سال اول نسبت به سالهای بالاتر بیشتر می‌باشد. از نظر نوع و تعداد ترکیبات ثانویه زعفران هم اثر سن گیاه مشهود بود بطوریکه افزایش سن تعداد ترکیبات ثانویه را کاهش داد و درصد برخی ترکیبات کاهش و برخی افزایش یافتند.

منابع

- آمارنامه کشاورزی ۱۴۰۰. گزارش سطح، تولید و عملکرد محصولات زراعی در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۴۰۰. مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات وزارت جهاد کشاورزی. تاریخ انتشار: خرداد ۱۴۰۱. ۹۸ صفحه. http//akj1-keshvar-1399_1400.pdf
- انصاریان مهابادی، ش.، دادی، ا.، قربانی جاوید، م.، و سلطانی، ا. ۱۳۹۶. تأثیر پرایمینگ بنه با اسید سالیسیلیک و وزن بنه مادری بر گلدهی و خصوصیات کیفی کلاله زعفران. زراعت و فناوری زعفران، ۷(۱): ۵۳-۴۱.
- تاجیک، س.، زرین کمر، ف.، بطحائی، س.ز. ۱۳۹۱. بررسی میزان رنگیزه کاروتنوئیدی کروسین، پیکروکروسین و سافرانال در گونه زعفران . *Crocus sativus* L در مناطق قائن و طبس. مجله زیست¬شناسی ایران، ۲۵(۳): ۴۲۹-۴۲۳.
- توکلی، ف.، رفیعی‌الحسینی، م.، راوش، ر.، رفیعیان کوپایی، م. ۱۳۹۹. بررسی متابولیت‌های ثانویه و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه زعفران تحت تأثیر الیسیتور پلی‌اتیلن‌گلایکول. مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران، ۱۲(۴۵): ۴۲-۲۳
- ثابت تیموری، م.، کافی، م.، اورسجی، ز و ارجی، ک. ۱۳۸۹. اثر تنش خشکی، اندازه و پوشش بنه بر خصوصیات مورفواکوفیزیولوژیکی زعفران (*Crocus sativus* L.) در شرایط گلخانه.
- خبر گزاری ایسنا. ۱۴۰۲. https://www.isna.ir/news/14021010064
- رحیمی داغی، س.، محمودی ، س.، بخشی، م. و سیاری، م.ح. ۱۳۹۴. اثر سن مزرعه و منطقه جغرافیایی بر عملکرد کلاله و برخی از خصوصیات خاک مزارع تحت کشت زعفران در شهرستان بیرجند. نشریه پژوهش های زعفران، ۱: ۱۷-۱.
- عزیزی، ا.، جهانی کندری، م.، دیوان، ر. ۱۳۹۲. بررسی اثر خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک و سن مزرعه بر

ویژگی‌های زراعی زعفران (*Crocus sativus* L.). بوم شناسی کشاورزی، ۵(۲):۱۳۴-۱۴۲.

- قبادی، ف.، قربانی جاوید، م.، سروش‌زاده، ع. ۱۳۹۵. ارزیابی عملکرد و صفات رویشی زعفران (*Crocus sativus* L.) تحت تأثیر تاریخ کاشت و اندازه بنه در دشت ورامین. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۲ (۵): ۸۵۷-۸۶۷.
- کوچکی، ع.، ثابت تیموری، م. ۱۳۹۳. تأثیر سن مزرعه، وزن بنه و مقادیر کود دامی بر عملکرد بنه و کلاله زعفران (*Crocus sativa* L.) در شرایط مشهد. نشریه زراعت، ۱۰۵: ۱۵۷-۱۴۸.
- کوچکی، ع.، کرباسی، ع.ر.، و سیدی، س.م. ۱۳۹۶. بررسی برخی دلایل کاهش عملکرد زعفران در طی ۳۰ سال اخیر. زراعت و فناوری زعفران، ۵(۲): ۱۰۷-۱۲۲.
- محمدقاسمی، ح.، قربانی جاوید، م.، اکبری، غ.ع.، مرتضویان، م.م. ۱۴۰۱. تأثیر کاربرد کود زیستی و شیمیایی پتاسیم و وزن بنه برخصوصیات فیزیولوژیک و عملکرد گل زعفران (*Crocus sativus* L.). به زراعی، ۱۰(۲):۲۱۵-۲۳۰.
- مظفریان، و. ۱۴۰۰. شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران. انتشارات فرهنگ معاصر. چاپ چهارم. ۱۴۴۴ صفحه.
- ملافیلابی، ع.، کوچکی، ع.، رضوانی مقدم، پ.، نصیری محلاتی، م. ۱۳۹۳. اثر سن مزرعه و منطقه بر عملکرد و فراوانی بنه در گروه های مختلف وزنی زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.). پژوهشهای زراعی ایران، ۱۲(۴):۶۱۲-۶۰۵.
- نصیری محلاتی، م.، کوچکی، ع.، برومند رضازاده، ز.، تبریزی، ل. ۱۳۸۶. بررسی اثر وزن و دوره انبارداری بنه بر نحوه تخصیص مواد فتوسنتزی در گیاهه زعفران (*Crocus sativus* L.)، پژوهش¬های زراعی ایران، ۵(۱): ۱۵۵-۱۶۶.
- Ahrazem, O., Rubio-Moraga, A., López, R. C., & Gómez-Gómez, L. (2010). The expression of a chromoplast-specific

in Crocus sativus L. *Physiology and molecular biology of plants*, *18*, 371-375.

- Mohammad Abadi, A.A., Rezvani Moghaddam, P., and Fallahi, J. 2011. Effects of planting pattern and the first irrigation date on growth and yield of saffron (*Crocus sativus* L.). Agroecology 3 (1): 84-93.

- Serrano-Diaz, J., Sanchez, A. M., Martinez-Tome, M., Winterhalter, P., & Alonso, G. L. (2014). Flavonoid determination in the quality control of floral bioresidues from *Crocus sativus* L. *Journal of agricultural and food chemistry*, *62*(14), 3125-3133.

- Taiz, L., and Zeiger, E. 2013. Plant physiology, 5th edn. Sunderland: sinauer associates.

lycopene beta cyclase gene is involved in the high production of saffron's apocarotenoid precursors. *Journal of Experimental Botany*, *61*(1), 105-119.

- Amirshekari, H., Sorooshzadeh, A., Modaress Sanavy, A., and Jalali Javaran, M. 2007. Study of effects of root temperature, corm size, and gibberellin on underground organs of saffron (*Crocus sativus* L.). Iranian Journal of Biology 19: 5–18. (In Persian with English Summary).

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

- Mir, J. I., Ahmed, N., Wafai, A. H., & Qadri, R. A. (2012). Relative expression of CsZCD gene and apocarotenoid biosynthesis during stigma development