بررسی تغییرات برخی صفات رشدی، فیزیولوژیکی و تجمع فلزات سنگین در گیاه دارویی *Crocus sativus* L. تحت شرایط کشت در اقلیم مختلف

حبیب‌اله فرخی[۱]، احمد اصغرزاده[۲*]، ملیحه کاظمی صمدی[۳]

[۱]دانشجوی دکتری، گروه باغبانی، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران

[۲]استادیار، گروه باغبانی، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران

[۳]استادیار، گروه شیمی، واحد بجنورد، دانشگاه آزاد اسلامی، بجنورد، ایران

تاریخ دریافت: ۰۰/۶/۲۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۱۰/۲۶

چکیده

زعفران به عنوان با ارزش‌ترین محصول کشاورزی و دارویی جهان ، جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات صنعتی و صادراتی ایران، دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تغییرات صفات کمی، کیفی، فیزیولوژیکی و تجمع فلزات سنگین در نمونه‌های کشت شده زعفران در سه استان مهم تولید این گیاه دارویی، خراسان‌های شمالی (شهرستان شیروان)، رضوی (شهرستان تربت‌حیدریه) و جنوبی (شهرستان قائن) به‌صورت طرح آزمایشی بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ انجام شد. در این پژوهش صفات کمی (عملکرد گل و کلاله)، کیفی (محتوای سافرانال، پیکروکروسین و کروسین به روش آبی استخراج و اندازه‌گیری با اسپکتوفتومتری)، صفات فیزیولوژیک (آنتوسیانین، فلاونوئید، فنل کل، و فعالیت آنتی اکسیدانی به روش الکلی استخراج و اندازه‌گیری با اسپکتوفتومتری) و میزان تجمع فلزات سلنیوم، سرب و نیکل (استخراج به روش اسیدی و اندازه‌گیری با جذب اتمی) بررسی شد. همچنین تاثیر پارامترهای اقلیمی بر عملکرد کمی و کیفی آن بررسی شد. نتایج نشان داد که نمونه‌های کشت شده در سه استان خراسان‌های شمالی، رضوی و جنوبی از نظر صفات کمی، کیفی، فیزیولوژیکی و تجمع فلزات تفاوت معنی‌داری دارند. استان خراسان شمالی و رضوی با بالاترین عملکرد گل و کلاله و همچنین محتوای سافرانال و کروسین، بیشترین کمیت و کیفیت را داشتند. همچنین بیشترین محتوای آنتوسیانین، فلاونوئید، فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سرب در نمونه‌های استان خراسان شمالی مشاهده شد. دو پارامتر اقلیمی محتوای رطوبت نسبی و میانگین بارش سالیانه همبستگی بالایی با عملکرد کمی و کیفی داشتند و از عوامل محیطی تأثیرگذار بر کمیت و کیفیت زعفران محسوب می‌گردد. به‌طور کلی، استان خراسان شمالی و رضوی از نظر عملکرد کمی و کیفی زعفران از مزیت قابل توجهی در مقایسه با استان خراسان جنوبی برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: آنتی اکسیدان، اقلیم، سافرانال، رطوبت نسبی، زعفران، فلزات سنگین

*نویسنده مسئول: asgharzadehahmad95@yahoo.com

مقدمه

زعفران گیاهی چند ساله با نام علمی *Crocus sativus* L. از خانواده زنبقیان (Iridaceae) گران‌ترین ادویه و یکی از داروهای مهم در سطح جهان است که جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات صنعتی و صادراتی ایران دارد (Asishirazi et al., 2017; Kafi et al., 2018). زعفران عمدتاً در ایران (منبع بیش از ۹۰ درصد تولید جهانی) و پس از آن هند، اسپانیا، مراکش، یونان و ایتالیا کشت می‌شود (Cardone et al., 2020). از زمان‌های بسیار قدیم از زعفران به‌عنوان رنگدهی پارچه‌ها، چاشنی غذا و دارویی برای درمان بیماری‌های مختلف انسان استفاده می‌شده است (Cardone et al., 2019). تولید جهانی زعفران ۴۱۸ تن در سال در ۱۲۱،۳۳۸ هکتار تخمین زده شده است.

ارزش کیفی زعفران به علت وجود متابولیت‌های ثانویه اصلی و مشتقات آن می‌باشد (Naghdi Badi et al., 2011). این ماده به دلیل سه ترکیب اصلی فعال زیستی: کروسین، پیکروکروسین و سافرانال به‌عنوان گران‌ترین ادویه در سطح جهان شناخته شده و برای سلامتی انسان نیز مفید است (Cardone et al., 2020). ترکیبات زرد رنگ کروسین مسئول رنگ زعفران، مواد تلخ پیکروکروسین مسئول طعم و سافرانال مسئول عطر و بوی آن می‌باشد (Naghdi Badi et al., 2011).

کاشت زعفران با اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک سازگار بوده و سابقه کشت آن به بیش از ۷۵۰ سال در مناطق جنوبی و مرکزی خراسان، ایران بر می‌گردد (Lage and Cantrell, 2009; Kafi et al., 2018). اگرچه ایران با تولید سالانه ۲۰۰ تن زعفران خشک از بیش از ۶۰،۰۰۰ هکتار از زمین‌های قابل‌کشت، تولیدکننده اصلی این محصول در جهان است. با این حال، حداکثر عملکرد زعفران در ایران حدود ۷/۵ و متوسط آن ۳/۹۶ کیلوگرم در هکتار است که در مقایسه با کشورهایی مانند اسپانیا با ۱۵ و پاکستان با نه کیلوگرم در هکتار، تفاوت معنی‌داری دارد (Feli et al., 2018). عوامل زیادی در توسعه، رشد و نمو و عملکرد زعفران دخیل هستند که شرایط آب و هوایی و محیطی از مهم‌ترین آن‌هاست (Rahimi et al., 2017). شرایط اکولوژیکی و آب و هوایی، به‌عنوان مثال، دما، خاک و محتوای آب، به‌طور محسوسی بر صفات کمی و کیفی زعفران تأثیر می‌گذارد (Amirnia et al., 2014). دما مهم‌ترین عامل محیطی برای کنترل رشد و گلدهی در گونه‌های *کروکوس* است. گزارش شده است که درجه حرارت مطلوب برای شروع گل و ایجاد بنه‌ها در محدوده ۲۳-۲۷ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (Rahimi et al., 2017). علاوه بر این، دامنه کشت زعفران در جهان نشان می‌دهد که طیف گسترده‌ای از سازگاری با انواع خاک، دما و طول روز، تولید آن را از حوزه مدیترانه به خاورمیانه تشویق می‌کند (Baghalian et al., 2010; Moradi et al., 2020). در همین راستا، Lage و Cantrell (۲۰۰۹) گزارش کردند که تجزیه و تحلیل تأثیرات زیست‌محیطی بر کیفیت زعفران نشان داد که فقط ارتفاع از سطح دریا بر محتوای کروسین تأثیر می‌گذارد. مطالعه Cardone و همکاران (۲۰۱۹) از طریق تجزیه و تحلیل به مؤلفه‌های اصلی (PCA)[1] نشان داد که محل کشت با دمای هوا بالاتر و بدون بارندگی بیش از حد در طول دوره گلدهی، بهترین عملکرد کمی و کیفی کلاله را تولید می‌کند. شرایط محیطی مرتبط با منشأ جغرافیایی، از جمله ارتفاع از سطح دریا، دما، بارندگی، محتوای رطوبت نسبی و خصوصیات خاک، بر رشد و نمو گیاه تأثیر می‌گذارد و ممکن است اثرات شدیدی بر تولید متابولیت ثانویه گیاه ایجاد کند (Jelinek e al., 2012; Parizad et al., 2019). Parizad و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند

1. Principle components analysis

که بیش از ۹۲ درصد زعفران ایران در استان‌های خراسان رضوی و جنوبی کشت می‌شود. از طرف دیگر، هیچ قانون خاصی در مورد کیفیت زعفران وجود ندارد، بنابراین کمتر به آلودگی آن، به‌ویژه از نظر تجمع فلزات سنگین در خاک‌های تحت تأثیر فعالیت‌های صنعتی و کشاورزی شدید توجه شده است. از این‌رو، پژوهش حاضر با هدف بررسی عملکرد کمی و کیفی و میزان برخی عناصر سنگین در زعفران کشت شده در سه استان خراسان شمالی، رضوی و جنوبی انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و شرایط اجرای پژوهش: پژوهش حاضر در سه استان مهم تولید زعفران یعنی خراسان شمالی (شهرستان شیروان)، رضوی (شهرستان تربت‌حیدریه) و جنوبی (شهرستان قائن) به‌صورت طرح آزمایشی بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۹-۱۳۹۸ انجام شد. مختصات و اطلاعات اقلیمی محل اجرای آزمایش در سه استان در جدول ۱ ارائه شده است. کشت در زمین‌های با شرایط خاکی و بافت نزدیک به هم و با مدیریت تقریباً یکسان انجام شد. بدین منظور، بنه‌هایی (از منشاء تربت‌حیدریه) با اندازه قطر افقی ۳ تا ۳/۵ سانتی‌متر و وزن ۱۴ تا ۱۹ گرم در اوایل مرداد ماه کاشته شدند. بنه‌ها در بسترهایی به عرض ۸۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر از سطح خاک، با سه ردیف بنه در هر بستر در عمق ۱۰ سانتی‌متر، فاصله ردیف‌های ۲۰ سانتی‌متر و فاصله داخل ردیف ۵ تا ۶/۷ سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفتند. در همه مناطق، خاک سال قبل به‌صورت آیش بود و کود و آبیاری به کار نرفت. مدیریت علف‌های هرز در طول آزمایش به‌صورت دستی انجام شد.

اندازه‌گیری عملکرد گل و کلاله: به‌منظور اندازه‌گیری عملکرد گل و کلاله و خصوصیات کیفی، نمونه‌گیری گل‌های کامل هر روز صبح زود در اولین ساعات پس از طلوع آفتاب قبل از اینکه گل کاملاً باز شود (از یک مترمربع)، به‌صورت دستی انجام گردید. بلافاصله پس از چیدن گل، کلاله‌ها را با دست جدا کرده و به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزاد در دمای ۵±۳۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. در نهایت عملکرد گل و کلاله در واحد سطح یک مترمربع محاسبه شد.

اندازه‌گیری محتوای کروسین، پیکروکروسین و سافرانال: برای اندازه‌گیری محتوای کروسین (عامل رنگ)، پیکروکروسین (عامل طعم) و سافرانال (عامل عطر)، کلاله‌های مربوط به هر مزرعه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه با استفاده از آون (BM-55E, Fanazma-Gostar Company, Iran) خشک شدند، سپس برای تجزیه شیمیایی پودر شدند. در ادامه براساس روش طیف نورسنجی فرابنفش-مرئی و ISO-3632 که دقیقاً استاندارد ملی ایران به شماره ۲۵۹-۲ از آن اقتباس شده است، اندازه‌گیری این متابولیت‌ها انجام شد (Maleki Farahani and Aghighi Shahverdi, 2015). بدین صورت که ۵۰۰ میلی‌گرم نمونه با ۹۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت یک ساعت و با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه توسط همزن مغناطیسی همزده شد و در ادامه به حجم ۱۰۰۰ میلی-لیتر رسانده شد. آبی از برای اندازه‌گیری کروسین، سافرانال و پیکروکروسین میزان جذب نمونه‌ها به-ترتیب در طول موج‌های ۴۴۰ ، ۳۳۰ و ۲۵۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (Jenway-6305 مجهز به میکروسل کوارتز) اندازه‌گیری شد. برای محاسبه محتوای این متابولیت‌ها، از فرمول [۱] استفاده شد (Esfanjani et al., 2017):

$$[1] \quad E^{1\%}_{1cm} = 10000 \times OD/m\ (100-H)$$

که در آن، $E^{1\%}_{1cm}$: میزان جذب عصاره آبی

زعفران، OD: جذب در طول موج خاص، m: وزن نمونه بر حسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر، و H: میزان رطوبت کلاله‌های خشک که معمولاً بین ۸ تا ۱۰ درصد است.

اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین: اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک از جمله محتوای آنتوسیانین، فلاونوئید، فنل کل، و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی از نمونه گل کامل در سه تکرار براساس روش‌های ارائه شده در ادامه انجام شد. اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین با استفاده از روش اختلاف pH که توسط Jang و همکاران (۲۰۰۸) ارائه‌شده است، اندازه‌گیری شد. نمونه‌های زعفران توسط اتانول استخراج شد و توسط دو بافر (کلرید پتاسیم ۰/۰۲۵ مولار، pH =۱ و استات سدیم ۰/۴ مولار، pH=۴/۵) رقیق گردید و میزان جذب آن‌ها به‌وسیله اسپکتروفتومتر قرائت شد و از فرمول‌های زیر، مقدار آنتوسیانین محاسبه گردید:

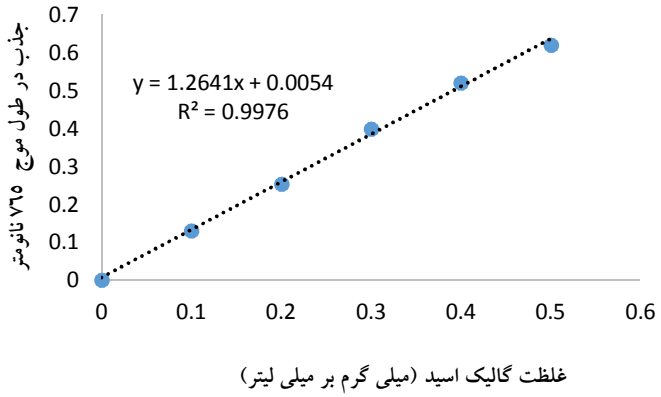
[2] $A = (A520\ nm - A700\ nm)\ (A520\ nm - A700\ nm)\ pH4$

[3] میزان آنتوسیانین $= A \times MW \times DF \times 103 / \varepsilon \times L$

که ε ضریب جذب مولی، MW وزن مولکولی آنتوسیانین غالب، DF فاکتور رقیق‌سازی و L ضخامت سل است.

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید: اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید عصاره‌های زعفران با استفاده از روش Esmaeelian و همکاران (۲۰۲۰) انجام شد. بدین‌منظور، به ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره اتانولی از نمونه‌ها، ۲۰ گرم در لیتر $AlCl_3$ اضافه شد. پس از یک ساعت در دمای اتاق، جذب نمونه‌ها در ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. رنگ زرد نشانگر وجود فلاونوئیدها بود. نمونه‌های عصاره در غلظت نهایی ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر، محتوای کل فلاونوئیدهای به واحد میلی‌گرم کوئرسین بر گرم ماده خشک محاسبه شد.

اندازه‌گیری محتوای فنل کل: محتوای فنل کل با استفاده از روش Folin–Ciocalteu (Baba et al., 2015)، با تغییرات جزئی اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها (۵۰ میلی‌گرم وزن تازه) با ۵۰۰ میکرولیتر ۹۰ درصد متانول همگن شدند. سپس نمونه در g ×۱۰۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. ماده رویی (۲۰ میکرولیتر) با ۶۸۰ میکرولیتر آب مقطر رقیق شده و ۵۰ میکرولیتر معرف فنل مخلوط گردید. پس از افزودن ۳۰۰ میکرولیتر ۵ درصد کربنات سدیم، مخلوط در ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی انکوبه شد. میزان جذب محلول رویی در ۷۶۵ نانومتر با استفاده از اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد و یک منحنی استاندارد با استفاده از اسید گالیک (GA) تهیه و میزان فنل کل در نمونه‌ها محاسبه گردید (شکل ۱)



شکل ۱: منحنی استاندارد گالیک اسید در اندازه‌گیری محتوای فنل کل

اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH): اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی با تعیین میزان مهار رادیکال ۱،۱-دی فنیل-۲-پیکریلیدرازیل (DPPH) با توجه به روش توصیف شده توسط Sunohara و Matsumoto (۲۰۰۴) و Ghahremani و همکاران (۲۰۲۱) انجام شد. مخلوط واکنش (حجم ۳ میلی‌لیتر)، متشکل از ۰/۵ میلی‌لیتر محلول بافر اسید استیک ۰/۵ میلی‌لیتر در pH ۵/۵، ۱ میلی‌لیتر ۰/۲ میلی‌مولار DPPHدر اتانول و محلول ۱۵۰ میکرومول بر میلی‌لیتر، به‌شدت با نمونه‌های مختلف پس از انکوبه کردن در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه، DPPH باقیمانده با جذب در ۵۱۷ نانومتر تعیین شد و فعالیت مهار رادیکال هر نمونه با استفاده از نسبت کاهش جذب (DPPH٪) به محلول شاهد DPPH (۱۰۰٪) بیان شد (فرمول ۲).

[4] (%) = 100 (A-B)/A

که در آن A و B جذب ۵۱۷ نانومتر از شاهد و جذب نمونه مخلوط واکنش است.

اندازه‌گیری محتوای فلزات سنگین: به‌منظور اندازه‌گیری محتوای فلزات سنگین زعفران شامل سلنیوم، سرب و نیکل، نمونه‌ها در کوره (۶۰ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد) خشک شدند. به ۱۵ میلی‌لیتر از ترکیب سه اسید (اسیدهای نیتریک، پرکلراید و سولفوریک به‌ترتیب با نسبت ۵: ۱: ۱) یک گرم نمونه گیاه اضافه شد. سپس مخلوط‌ها در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد هضم شدند تا محلول شفافی به‌دست آمد که با استفاده از آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر کاهش یافت (Williams and Lambert, 1959). در نهایت، غلظت فلزات سنگین همچون سلنیوم، سرب و نیکل در زعفران مناطق مورد مطالعه با استفاده از طیف‌سنج جذب اتمی (مدل Avanta-P، GBC-Australia) تعیین شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری

تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزارهای تجزیه و تحلیل آماری SAS (SAS Institute, Cary, NC, USA, Version 9.2) و Minitab (نسخه ۱۹) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسات میانگین داده‌ها با آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت. همبستگی ساده (پیرسون) بین صفات مورد اندازه‌گیری و پارامترهای عملکرد کمی و کیفی با ویژگی‌های اقلیمی با استفاده نرم‌افزارهای ذکر شده انجام شد.

نتایج

عملکرد گل و کلاله: نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که نمونه‌های برداشت شده از سه استان مختلف از نظر صفات عملکرد گل و عملکرد کلاله تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۲). استان‌های خراسان شمالی و رضوی بیشترین عملکرد گل (۰/۷۷۷ و ۰/۷۹۷ گرم در مترمربع) و عملکرد کلاله (۰/۰۹۴ و ۰/۰۹۴ گرم در مترمربع) را نشان دادند. از طرف دیگر استان خرسان جنوبی دارای کمترین میانگین عملکرد گل و کلاله بود (جدول ۲).

محتوای پیکروکروسین، کروسین و سافرانال: براساس یافته‌های پژوهش، نمونه‌های مورد آزمایش از نظر صفات محتوای پیکروسین و کروسین تفاوت معنی‌داری داشتند ولی از نظر محتوی سافرانال تفاوت غیرمعنی‌دار بود (جدول ۲). استان‌های خراسان شمالی و رضوی بیشترین محتوای کروسین (۶۰/۷۱۱ و ۶۸/۳۴ درصد) و پیکروکروسین (۲۴/۸۳ و ۲۷/۰۸ درصد) را داشتند. کمترین میانگین این دو متابولیت در استان خراسان جنوبی مشاهده شد (جدول ۲). از نظر میانگین عددی، سافرانال نیز از این روند که

استان‌های شمالی و رضوی میانگین بالاتری در مقایسه با استان خراسان جنوبی داشتند، پیروی کرد و میانگین عددی سافرانال در دو استان شمالی و رضوی بالاتر از استان جنوبی بود (جدول ۲).

محتوای آنتوسیانین: نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد تفاوت معنی‌داری از نظر محتوای آنتوسیانین در بین نمونه‌های سه استان خراسان شمالی، رضوی و جنوبی وجود داشت. بیشترین محتوای آنتوسیانین (۴/۶۸۸ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) در استان خراسان شمالی مشاهده شد و دو استان خراسان‌های رضوی و جنوبی به‌ترتیب با میانگین ۳/۱۲۴ و ۲/۹۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک دارای کمترین میانگین آنتوسیانین بودند (جدول ۳).

محتوای فلاونوئید: نتایج نشان داد که از نظر محتوای فلاونوئید تفاوت معنی‌دار مابین نمونه‌های زعفران در استان‌های مختلف وجود داشت. استان خراسان شمالی با میانگین ۱۶/۵۴ میکروگرم بر گرم کوئرسین، بیشترین محتوای فلاونوئید را داشت و دو استان خراسان رضوی و جنوبی به‌ترتیب با میانگین ۱۳/۶۹ و ۱۲/۸۵ میکروگرم بر گرم کوئرسین، کمترین میانگین این صفت را نشان دادند (جدول ۳).

محتوای فنل کل: از نظر محتوای فنل کل تفاوت معنی‌داری مابین نمونه‌های برداشت شده مشاهده شد، به‌طوری که استان خراسان شمالی با میانگین ۱۴۰/۰ میکروگرم بر میلی‌گرم، بیشترین محتوای فنل کل را داشت و دو استان خراسان رضوی و جنوبی به‌ترتیب با میانگین ۱۲۳/۸ و ۱۱۷/۸ میکروگرم بر میلی‌گرم کمترین میانگین این صفت را داشتند (جدول ۳).

میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی: نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده نشان داد که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی تفاوت معنی‌داری در نمونه‌های سه استان داشت. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به استان خراسان شمالی با میانگین ۵۵/۲۱ درصد بود و دو استان خراسان رضوی و جنوبی به‌ترتیب با میانگین ۴۶/۹ و ۴۲/۲ درصد دارای کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی بودند (جدول ۳).

محتوای سلنیوم: آنالیز داده‌های به‌دست‌آمده نشان از معنی‌دار بودن محتوای سلنیوم در نمونه‌های زعفران برداشت شده از استان‌های مختلف بود. به‌طوری که استان خراسان رضوی با ۱/۸۶ میکروگرم بر کیلوگرم سلنیوم، دارای بیشترین میانگین بود که در گروه مشترک آماری با استان خراسان شمالی (۱/۶۵ میکروگرم بر کیلوگرم) قرار داشت. کمترین محتوای سلنیوم نیز در استان خراسان جنوبی با میانگین ۱/۴۱ میکروگرم بر کیلوگرم به‌دست آمد (جدول ۳).

محتوای سرب: یافته‌های آزمایش نشان داد که تفاوت معنی‌داری از نظر محتوای سرب در نمونه‌های زعفران برداشت شده وجود داشت. به‌طوری که نمونه‌های خراسان شمالی با میانگین ۶/۹۱ میکروگرم بر کیلوگرم سرب بیشترین محتوای این صفت را داشت. دو استان دیگر (خراسان رضوی و جنوبی) به‌ترتیب با میانگین ۳/۴ و ۲/۱۷ میکروگرم بر کیلوگرم کمترین محتوای سرب را نشان دادند (جدول ۳).

محتوای نیکل: میزان نیکل در نمونه‌های زعفران سه استان مورد بررسی تفاوت معنی‌داری داشت. دو استان خراسان رضوی و جنوبی با میانگین ۳/۹۵ و ۳/۸۱ میکروگرم بر کیلوگرم نیکل دارای بالاترین محتوای این فلز سنگین در نمونه‌های زعفران بودند. از طرف دیگر استان خراسان شمالی با میانگین ۲/۰۹ میکروگرم بر کیلوگرم نیکل، کمترین میانگین این صفت را داشت (جدول ۳).

جدول ۱: ویژگی‌های جغرافیایی و اقلیمی محل اجرای پژوهش در سه استان خراسان جنوبی، رضوی و شمالی ایران

استان	شهر اجرای آزمایش	Longitude (E)	Latitude (N)	ارتفاع از سطح دریا (متر)	محتوای رطوبت نسبی (درصد)	حداقل دمای زمستانه (سانتی‌گراد)	حداکثر دمای تابستانه (سانتی‌گراد)	تعداد روزهای یخبندان سالانه	میانگین دمای سالانه (سانتی‌گراد)	میانگین بارش سالیانه (میلی‌متر)
خراسان شمالی	شیروان	۵۷° ۹۹' ۱۱۱"	۳۷° ۱۷' ۱۱۱"	۱۱۶۸/۳۳	۶۰	۲۵/۲	۴۱/۶	۱۰۷	۱۳/۱	۲۲۶/۷
خراسان رضوی	تربت‌حیدریه	۵۹° ۱۹' ۱۷۸"	۳۵° ۳۹' ۰۸۹"	۱۳۲۳/۳۳	۴۵	۲۴/۶	۴۰/۶	۸۸	۱۴/۳	۲۴۶/۲
خراسان جنوبی	قائن	۵۸° ۹۵' ۸۵۶"	۳۳° ۴۱' ۳۸۹"	۱۷۶۸/۳۳	۴۰	۲۷/۲	۴۲/۰	۸۸	۱۴/۷	۱۶۱/۰

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر محیط‌های مختلف کشت (استان‌های خراسان شمالی، رضوی و جنوبی) بر عملکرد کمی و کیفی زعفران

تیمارهای آزمایشی	عملکرد گل (گرم در مترمربع)	عملکرد کلاله (گرم در مترمربع)	سافرانال (٪)	پیکروکروسین (٪)	کروسین (٪)
خراسان شمالی	۰/۷۷۷+۰/۰۲۲ a	۰/۰۹۴+۰/۰۰۳ a	۱۴/۹۷۱+۰/۴۸۵ a	۲۴/۸۳+۲/۲۷۷ ab	۶۰/۷۱۱+۶/۳۳۲ a
خراسان رضوی	۰/۷۹۷+۰/۰۴ a	۰/۰۹۴+۰/۰۰۴ a	۱۴/۲۶۹+۰/۷۱۵ a	۲۷/۰۸۳+۲/۶۱ a	۶۸/۳۴۹+۲/۷۴۸ a
خراسان جنوبی	۰/۶۴۶+۰/۰۳ b	۰/۰۷۸+۰/۰۰۳ b	۱۲/۰۴+۰/۸۳۵ a	۲۲/۲۵۷+۲/۰۵۸ b	۴۵/۸۴۷+۳/۷۴۹ b
LSD = ۰/۰۵	۰/۱۲۵	۰/۰۱۲	۳/۲۸	۳/۴۱	۹/۶۲

در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشترک‌اند، تفاوت معنی‌داری از لحاظ آزمون مقایسه میانگین حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) ندارند (α=۰/۰۵)

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر محیط‌های مختلف کشت (استان‌های خراسان شمالی، رضوی و جنوبی) بر برخی صفات فیزیولوژیکی و تجمع فلزات سنگین در گیاه زعفران

تیمارهای آزمایشی	آنتوسیانین (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)	فلاونوئید (میکروگرم بر گرم کوئرسین)	فنل کل (میکروگرم بر میلی‌گرم گالیک اسید)	میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (٪)	سلنیوم (میکروگرم بر کیلوگرم)	سرب (میکروگرم بر کیلوگرم)	نیکل (میکروگرم بر کیلوگرم)
خراسان شمالی	۴/۶۸+۰/۶۲ a	۱۶/۵۴+۰/۷۶ a	۱۴۰/۰۱+۵/۰۰ a	۵۵/۲۱+۲/۲۸ a	۱/۶۵۶+۰/۰۹۱ ab	۶/۹۱۲+۰/۳۴۸ a	۲/۰۹+۰/۱۹ b
خراسان رضوی	۳/۱۲+۰/۱۳ b	۱۳/۶۹+۰/۲۶ b	۱۲۳/۸۵+۱/۷۴ b	۴۶/۹۵+۲/۳۵ b	۱/۸۶۳+۰/۰۲۶ a	۳/۴+۰/۸۷۴ b	۳/۹۵+۰/۲۹ a
خراسان جنوبی	۲/۹۰+۰/۴۲ b	۱۲/۸۵+۰/۵۴ b	۱۱۷/۸۲+۲/۷۴ b	۴۲/۲۱+۲/۲۵ b	۱/۴۱۱+۰/۰۷۶ b	۲/۱۷۵+۰/۲۶۶ b	۳/۸۱+۰/۲۲ a
LSD = ۰/۰۵	۱/۴۱	۲/۵۴	۹/۸۶	۷/۷۱	۰/۳۳	۱/۷۲	۱/۰۴

در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشترک‌اند، تفاوت معنی‌داری از لحاظ آزمون مقایسه میانگین حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) ندارند (α=۰/۰۵)

جدول ٤: همبستگی ساده بین صفات کمی، کیفی و فیزیولوژیک گیاه دارویی زعفران در محیط‌های کشت مختلف

	۱	۲	۳	٤	٥	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱
۲	۰/۸۵**										
۳	۰/۹۱**	۰/٦۸**									
٤	۰/۷٥**	۰/٦۷**	۰/٥٤**								
٥	۰/۷۷**	۰/۷۲**	۰/٥۹**	۰/۷۹**							
٦	۰/٥۰**	۰/٥٥**	۰/٦۱**	۰/٤۲*	۰/۳۷*						
۷	۰/٤۸*	۰/٥٦**	۰/٦۲**	۰/۲۱ns	۰/٤۳*	۰/۸۲**					
۸	۰/٤۳*	۰/٤۸*	۰/٥۷**	۰/۲۷ns	۰/٤٤*	۰/٦۷**	۰/۷۳**				
۹	۰/٥۸**	۰/٦۹**	۰/٦۲**	۰/٤۳*	۰/٤٦*	۰/٦٤**	۰/٦۷**	۰/۹۲**			
۱۰	۰/٦۰**	۰/٦۷**	۰/٤٤*	۰/۳۲*	۰/۷۳**	۰/۱٦ns	۰/۳۷*	۰/۱۳ns	۰/۱٥ns		
۱۱	۰/٥٥**	۰/٥۳**	۰/۷٤**	۰/۱۹ns	۰/۳٥*	۰/٦۸**	۰/۸٤**	۰/۹۰**	۰/۸۷**	۰/۲۱ns	
۱۲	-۰/۲۱ns	-۰/۲۸ns	-۰/٤۲*	۰/۰۷ns	-۰/۰۱ns	-۰/٦٥**	-۰/٦۷**	-۰/۷۹**	-۰/۷۲**	۰/۱٤ns	-۰/۷٤**

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ٥ و ۱ درصد

۱: عملکرد گل، ۲: عملکرد کلاله، ۳: سافرانال، ٤: پیکروکروسین، ٥: کروسین، ٦: آنتوسیانین، ۷: فلاونوئید، ۸: فنل کل، ۹: DPPH، ۱۰: سلنیوم، ۱۱: سرب، ۱۲: نیکل

همبستگی ساده بین صفات کمی و کیفی: نتایج همبستگی ساده (پیرسون) بین صفات کمی و کیفی زعفران در جدول ۴ ارائه شده است که نشان از وجود همبستگی‌های مثبت و منفی در بین صفات مورد مطالعه بود. به‌طور مثال، عملکرد گل و کلاله با تمامی صفات رشدی و عملکردی و همچنین صفات فیزیولوژیکی همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت ولی با محتوای نیکل همبستگی منفی نشان داد. در بین صفات مورد مطالعه همگی صفات به‌غیراز محتوای نیکل زعفران دارای همبستگی مثبت بودند.

به‌منظور بررسی روابط بین عملکرد کمی و کیفی زعفران (عملکرد گل و کلاله و محتوای متابولیت‌های پیکروکروسین، کروسین و سافرانال) با پارامترهای اقلیمی مناطق، همبستگی ساده بین این صفات انجام و نتایج آن در جدول ۵ ارائه شده است. براساس یافته‌های پژوهش، افزایش درصد رطوبت نسبی، تعداد روزهای یخبندان، میانگین بارش سالیانه، و عرض جغرافیایی منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد گل، عملکرد کلاله، محتوای سافرانال و کروسین گردید. برعکس، افزایش حداقل درجه حرارت زمستانه، حداکثر درجه حرارت تابستانه، میانگین دمای سالیانه، ارتفاع از سطح دریا و طول جغرافیایی کاهش معنی‌دار در میانگین صفات کمی و کیفی مشاهده شد. به‌بیان بهتر، افزایش یا کاهش دمای بیش از حد از میانگین، منجر به افت عملکرد کمی و کیفی زعفران شد.

جدول ۵: همبستگی ساده بین عملکرد کمی و کیفی زعفران با پارامترهای اقلیمی محیط‌های مورد مطالعه

	عملکرد گل	عملکرد کلاله	سافرانال	پیکروکروسین	کروسین
درصد رطوبت نسبی	۰/۵۷**	۰/۶۵**	۰/۷۱**	۰/۲۰ns	۰/۴۳*
حداقل درجه حرارت زمستانه	-۰/۴۶*	-۰/۵۵**	-۰/۶۴**	-۰/۱۲ns	-۰/۳۰*
حداکثر درجه حرارت تابستانه	-۰/۷۹**	-۰/۷۶**	-۰/۶۱**	-۰/۵۱**	-۰/۸۲**
تعداد روزهای یخبندان	۰/۶۶**	۰/۷۳**	۰/۷۵**	۰/۲۷ns	۰/۵۳**
میانگین دمای سالیانه	-۰/۶۳**	-۰/۷۰**	-۰/۷۳**	-۰/۲۴ns	-۰/۴۹*
میانگین بارش سالیانه	۰/۸۳**	۰/۸۲**	۰/۷۴**	۰/۴۸*	۰/۸۰**
ارتفاع از سطح دریا	-۰/۷۳**	-۰/۷۵**	-۰/۷۷**	-۰/۲۸ns	-۰/۶۴**
عرض جغرافیایی	۰/۶۸**	۰/۷۲**	۰/۷۶**	۰/۲۸ns	۰/۵۷**
طول جغرافیایی	-۰/۳۰*	-۰/۴۳*	-۰/۴۵*	-۰/۲۱ns	-۰/۲۵ns

ns، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی تغییرات عملکرد کمی و کیفی (عملکرد گل و کلاله و محتوای سافرانال، پیکروکروسین، و کروسین)، صفات فیزیولوژیک و میزان تجمع برخی صفات سنگین در نمونه‌های کشت شده در سه استان مهم تولید زعفران در کشور (خراسان شمالی، رضوی و جنوبی) بود. نتایج نشان داد که نمونه‌های کشت شده در این سه

استان از نظر صفات کمی، کیفی و فیزیولوژیکی تفاوت معنی‌داری دارند (جداول ۲ و ۳). براساس یافته‌های پژوهش، کشت زعفران در استان‌های خراسان شمالی و رضوی در مقایسه با خراسان جنوبی از برتری معنی‌دار در میانگین صفات عملکرد کمی و کیفی از جمله عملکرد گل، عملکرد کلاله، محتوای سافرانال، پیکروکروسین و کروسین برخوردار بودند (جدول ۲). در این راستا، Rahimi و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که اختلاف معنی‌دار بین مکان‌های کشت زعفران از نظر صفات کمی و کیفی وجود دارد که یافته‌های تحقیق حاضر را تأیید می‌کند. عملکرد و کیفیت زعفران به غلظت متابولیت‌های اولیه آن و شرایط محیطی بستگی دارد. رطوبت نسبی بالاتر و همچنین میانگین بارش سالیانه بیشتر، از ویژگی‌های دو منطقه خراسان شمالی و رضوی در مقایسه با خراسان جنوبی بود (جدول ۱). از طرف دیگر نتایج همبستگی ساده بین صفات عملکرد کمی و کیفی و پارامترهای اقلیمی (جدول ۵) نشان داد که دو پارامتر اقلیمی ذکر شده دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار با میانگین عملکرد کلاله، عملکرد گل، محتوای سافرانال و کروسین داشتند. Kamyabi و همکاران (۲۰۱۴) و Maleki و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که میزان بارش و دمای محیط بیشترین تأثیر را در کشت زعفران در میان عوامل محیطی دارند. دما مهم‌ترین عامل محیطی است که رشد و جریان گونه‌های زعفران را کنترل می‌کند (Haghighi et al., 2020). علاوه بر این، Gresta و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که دما و رطوبت محیط قطعاً در القا گل و ظهور گل زعفران نقش دارد. این محصول را می‌توان در مناطق معتدل، نیمه‌خشک و خشک با ارتفاع ۱۵۰۰ تا ۲۸۰۰ متر از سطح دریا کشت کرد (Rahimi et al., 2017). Ghorbani و Koocheki (۲۰۱۷) گزارش کردند که شرایط آب و هوایی مناسب برای افزایش محصول زعفران، تابستان‌های گرم، باران‌های پاییزی و زمستان‌های معتدل است.

ارتفاع از سطح دریا نیز ممکن است بر عملکرد و کیفیت زعفران تأثیر بگذارد (Cardone et al., 2019; Parizad et al., 2019). در مطالعه حاضر، رابطه منفی بین ارتفاع و عملکرد کمی و کیفی زعفران به‌دست آمد (جدول ۵). تجزیه و تحلیل همبستگی روابط شفاف را در پارامترهای کمی، کیفی و بین صفات کمی و کیفی نشان می‌دهد (Gresta et al., 2009). به‌نظر می‌رسد افزایش بیش از حد ارتفاع از سطح دریا با توجه به افزایش تشعشعات فرابنفش منجر به افت عملکرد کمی و کیفی زعفران می‌شود. به‌طور کلی، ارتفاع ۱۲۵۰ تا ۱۳۵۰ متر برای دستیابی به حداکثر عملکرد کمی و کیفی، مطلوب به نظر می‌رسد. با این حال، Al Madini و همکاران (۲۰۱۹) اشاره کردند که کشت زعفران در ارتفاع ۱۵۰۰ تا ۲۸۰۰ متر امکان‌پذیر است، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ارتفاع مطلوب برای دستیابی به حداکثر عملکرد کمی و کیفی، حدود ۱۳۰۰ متر بود. با این حال، زعفران را می‌توان با بازدهی خوب در شرایط محیطی بسیار متفاوت کشت کرد (Caser et al., 2019). ترکیبی از عوامل محیطی خاص می‌تواند برای دستیابی به بهترین عملکرد کیفی و کمی مهم باشد (Rahimi et al., 2017).

ویژگی‌های فیزیولوژیکی زعفران همچون محتوای فلاونوئید و محتوای فنل کل و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی اختلاف معنی‌داری را در نمونه‌های کشت شده در سه استان مورد آزمایش نشان دادند (جدول ۳). با این حال، روند کاهشی در میانگین متابولیت‌های فنل و فلاونوئید و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی زعفران از شمال به جنوب خراسان مشاهده شد. به‌طوری که بیشترین میانگین این صفات در استان خراسان شمالی و کمترین در استان خراسان

جنوبی به‌دست آمد (جدول ۳). همراه با این روند، پارامترهای اقلیمی رطوبت نسبی و تعداد روزهای یخبندان سالانه از خراسان شمالی به جنوبی کاهش نشان داد. در داده‌های اقلیمی، متوسط دما و ارتفاع سالانه در استان خراسان شمالی و بیشترین تعداد روزانه یخبندان سالانه، پارامترهای شاخص این استان بودند. به نظر می‌رسد، این سه عامل اقلیمی عوامل تنش‌زای محیطی بر گیاه محسوب می‌گردد. در پاسخ به این شرایط، گیاه تعاملات فیزیولوژیکی خود را تغییر می‌دهد تا مکانیسم‌های دفاعی مانند فنل کل، فلاونوئیدها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش دهد (Xu et al., 2015; Hashim et al., 2020). Zargoosh و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که تأثیر مکان‌های کشت بر پتانسیل آنتی‌اکسیدان و میزان کل فنل گیاه *Scrophularia striata* در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند. بنابراین، می‌توان اظهار داشت که پیچیدگی تأثیر عوامل اکولوژیکی از یک‌طرف و ظهور فرآیندهای شیمیایی مختلف در گیاه تحت چنین اثراتی، از سوی دیگر، منجر به سنتز ترکیبات مختلف با پتانسیل آنتی‌اکسیدان متفاوت در یک گیاه در مناطق مختلف کشت می‌گردد (Zargoosh et al., 2019). اگرچه تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی توسط فرآیندهای ژنتیکی هدایت می‌شود، ولی عوامل محیطی به‌شدت سنتز آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Figueiredo et al., 2008). بنابراین، عوامل محیطی مانند دما باعث تغییر در رشد گیاهان دارویی و همچنین کمیت و کیفیت اجزای فعال آن‌ها مانند اسانس، گلیکوزیدها، استروئیدها و آلکالوئیدها می‌شود. عوامل تعیین کننده تولید گیاه آب و هوا، خاک و موقعیت جغرافیایی است. این عوامل می‌توانند تأثیر قابل توجهی در افزایش یا کاهش کمی و کیفی عملکرد گیاه داشته باشند (Liu et al., 2018; Zargoosh et al., 2019).

پژوهشگران بر این باورند که بسیاری از عوامل محیطی و گیاهی همچون آب، هوا، خاک، ارتفاع از سطح دریا و تفاوت بین گونه‌ها، روش‌های استخراج و اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌ها بر میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان از جمله فنل و فلاونوئیدها تأثیر می‌گذارد (Hashim et al., 2020; Mykhailenko et al., 2020). به‌طور کلی، خواص آنتی‌اکسیدانی و اثرات زیستگاه بر میزان متابولیت‌های ثانویه تأکید شده است (Zargoosh et al., 2019).

در سال‌های اخیر، آلودگی‌های خاک و گیاه با فلزات سنگین در اثر فعالیت‌های بشری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی محسوب می‌شود و از طریق زنجیره غذایی زندگی بشر را به مخاطره می‌اندازد (Barki Vandi et al., 2017). محتوای فلزات سنگین سلنیوم، سرب و نیکل در زعفران کشت شده در استان‌های خراسان شمالی، رضوی و جنوبی نشان داد که نتایج متفاوت می‌باشد. سلنیوم، سرب و نیکل در نمونه‌های زعفران در مکان‌های مورد مطالعه، مشاهده شد ولی میزان فلزات کادمیوم و آرسنیک در این نمونه‌ها قابل ردیابی نبود. از نظر تجمع سلنیوم و نیکل استان خراسان رضوی دارای بیشترین مقدار بود. از طرف دیگر، کمترین میزان سلنیوم و نیکل به‌ترتیب در استان‌های خراسان جنوبی و شمالی به‌دست آمد (جدول ۳). همبستگی بین صفات نشان داد که بیشترین تأثیر منفی بر عملکرد گل و کلاله مربوط به محتوای نیکل بود (جدول ۴). نکته قابل توجه وجود سلنیوم در نمونه‌های زعفران بود. این عنصر با عملکرد کمی و کیفی زعفران همبستگی مثبت و معناداری داشت (جدول ۴). در همین راستا، محققان مختلف تأثیرات مثبت سلنیوم بر عملکرد کمی و کیفی گیاهان مختلف را بیان کرده‌اند. به‌عنوان مثال Shahverdi و همکاران (۲۰۱۸) گزارش دادند که سلنیوم یک عنصر مفید برای رشد و تولید گیاه استویا

(*Stevia rebaudiana* Bertoni) محسوب می‌شود، که نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که سلنیوم یک عنصر اساسی برای انسان و حیوانات است، که برخی از نقش‌های مفید را در گیاهان بازی می‌کند (Iqbal et al., 2015). کاربرد سلنیوم باعث رشد فزاینده ماش (*Vigna radiate* L.) و گندم (*Triticum aestivum* L.) در هر دو شرایط تحت تنش و عدم تنش (شوری، خشکسالی و تنش‌های گرمایی) شد (Shahzadi et al., 2017; Shahverdi et al., 2018; Shahverdi et al., 2020). علاوه بر این، محتوای کم فلزات سنگین (سرب، نیکل، کادمیوم و آرسنیک) نیز برای کیفیت گیاه مهم است (Esmaeili et al., 2013). جذب عناصر مختلف توسط گیاهان از طریق سیستم ریشه از خاک به گیاه خاص، ساختار گیاهشناسی بافت خاص، نوع خاک و عنصر بستگی دارد (Shahid et al., 2018).

نتیجه‌گیری نهایی

پژوهش حاضر بر مطالعه تغییرات صفات کمی و کیفی و صفات فیزیولوژیکی زعفران در سه استان استراتژیک تولید زعفران (استان‌های خراسان شمالی، رضوی و جنوبی) در ایران (تحت تأثیر پارامترهای مختلف اقلیمی) متمرکز شده است. بر اساس نتایج، صفات کمی و کیفی از جمله عملکرد گل و عملکرد کلاله، محتوای کروسین، سافرانال و پیکروکروسین به‌شدت تفاوت معنی‌داری در استان‌های مختلف داشتند. عملکرد گل و کلاله زعفران و همچنین صفات کیفی زعفران از جمله سافرنال و کروسین در خراسان‌های شمالی و رضوی از میانگین بالاترین برخوردار بودند. بارش سالیانه بالاتر و رطوبت نسبی زیاد دو ویژگی شاخص آب و هوا در این مناطق بودند. نتیجه قابل توجه این مطالعه، رابطه مثبت و معنی‌دار بین سلنیوم و عملکرد کمی و کیفی زعفران بود. به نظر می‌رسد وجود سلنیوم در محیط رشد گیاه زعفران منجر به افزایش عملکرد می‌شود. از آنجا که بین محتوای سلنیوم و عملکرد کمی و کیفی زعفران رابطه مثبت و معناداری وجود داشت، این موضوع نیاز به بررسی در مطالعات پیش رو دارد. به‌طورکلی، یافته‌های این مطالعه نشان داد که استان خراسان شمالی و رضوی از نظر عملکرد کمی و کیفی زعفران از مزیت قابل توجهی در مقایسه با استان خراسان جنوبی برخوردار هستند.

References

1. Al Madini, A.M., Sassine, Y.N., El-Ganainy, S.M., Hourani, W. and Sebaaly. Z.E. 2019. Comparative study on phenology, yield and quality of iranian saffron cultivated in Lebanon and Iran. Fresenius Environmental Bulletin, 28: 9655-9660.
2. Amirnia, R., Bayat, M. and Tajbakhsh, M. 2014. Effects of nano fertilizer application and maternal corm weight on flowering at some saffron (*Crocus sativus* L.) ecotypes. Turkish Journal of Field Crops, 19: 158-168.
3. Asishirazi, H., Hosseini, S.A. and Keikhosravi, F. 2017. Hypoglycemic interactional effects of saffron (*Crocus sativus*) aqueous extract and swimming training in streptozotocin induced diabetic rats. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 24(4): 273-279.
4. Baba, S.A., Malik, A.H., Wani, Z.A., Mohiuddin, T., Shah, Z., Abbas, N. and Ashraf, N. 2015. Phytochemical analysis and antioxidant activity of different tissue types of *Crocus sativus* and oxidative stress alleviating potential of saffron extract in plants, bacteria, and yeast. South African Journal of Botany, 99: 80-87.

5. Baghalian, K., Sheshtamand, M.S. and Jamshidi, A. 2010. Genetic variation and heritability of agro-morphological and phytochemical traits in Iranian Saffron (*Crocus sativus* L.) populations. Industrial Crops and Products, 31: 401-406.
6. Barki Vandi, N., Sobhan Ardakani, S. and Cheraghi, M. 2017. Health risk assessment of heavy metals (As, Al, Zn and Cu) in lemon balm and borage Marketed in Hamedan City. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 24: 265-271.
7. Cardone, L., Castronuovo, D., Perniola, M., Cicco, N. and Candido, V. 2019. Evaluation of corm origin and climatic conditions on Saffron (*Crocus sativus* L.) yield and quality. Journal of the Science of Food and Agriculture, 99: 5858-5869.
8. Cardone, L., Castronuovo, D., Perniola, M., Cicco, N. and Candido, V. 2020. Saffron (*Crocus sativus* L.), the king of spices: An overview. Scientia Horticulturae, 272: 109560.
9. Caser, M., Victorino, Í.M.M., Demasi, S., Berruti, A., Donno, D., Lumini, E., Bianciotto, V. and Scariot. V. 2019. Saffron cultivation in marginal alpine environments: how AMF inoculation modulates yield and bioactive compounds. Agronomy, 9: 12-18.
10. Esfanjani, A.F., Jafari, S.M. and Assadpour, E. 2017. Preparation of a multiple emulsion based on pectin-whey protein complex for encapsulation of saffron extract nanodroplets. Food Chemistry, 221: 1962-1969.
11. Esmaeelian, M., Jahani, M., Feizy, J. and Einafshar, S. 2020. Effects of ultrasound-assisted and direct solvent extraction methods on the antioxidant and antibacterial properties of Saffron (*Crocus sativus* L.) corm extract. Food Analytical Methods, 15: 1-14.
12. Esmaeili, N., Ebrahimzadeh, H., Abdi, K., Mirmasoumi, M., Lamei, N. and Shamami, M.A. 2013. Determination of metal content in *Crocus sativus* L. corms in dormancy and waking stages. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 12: 31-38.
13. Feli, A., Maleki Farahani, S. and Besharati, H. 2018. The effect of urea fertilizer and different organic and bio-fertilizers on quantitative and qualitative yield and some soil properties in Saffron cultivation. Journal of Crops Improvement, 20: 345-356.
14. Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G. and Scheffer, J.J. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour and Fragrance Journal, 23: 213-226.
15. Ghahremani, A., Ganji-Moghadam, E., Tatari, M. and Khosroyar, S. 2021. Effect of drought stress (polyethylene glycol) on antioxidant and some physiological traits of Paneer-boot (*Withania coagulans* Dunal). Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, 28: 274-285.
16. Ghorbani, R. and Koocheki, A. 2017. Sustainable cultivation of Saffron in Iran. in, *Sustainable agriculture reviews* (Springer).
17. Gresta, F., Avola, G., Lombardo, G., Siracusa, L. and Ruberto, G. 2009. Analysis of flowering, stigmas yield and qualitative traits of Saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by environmental conditions. Scientia Horticulturae, 119: 320-324.
18. Haghighi, R., Tabatabaei, B.E.S., Maibody, S.A.M.M., Talebi, M., Molina, R., Nebauer, S.G. and Renau-Morata, B. 2020. A flowering inhibitor of the temperature-dependent pathway in *Crocus sativus* L. Molecular Biology Reports, 47: 2171-2179.
19. Hashim, A.M., Alharbi, B.M., Abdulmajeed, A.M., Elkelish, A., Hozzein, W.N. and Hassan, H.M. 2020. Oxidative stress responses of some endemic plants to high altitudes by intensifying antioxidants and secondary metabolites content. Plants, 9: 869.
20. Iqbal, M., Hussain, I., Liaqat, H., Ashraf, M.A., Rasheed, R. and Rehman, A.U. 2015. Exogenously applied selenium reduces oxidative stress and induces heat tolerance in spring wheat. Plant Physiology and Biochemistry, 94: 95-103.

21. Jang, A., Srinivasan, P., Lee, N.Y., Song, H.P., Lee, J.W., Lee, M. and Jo, C. 2008. Comparison of hypolipidemic activity of synthetic gallic acidlinoleic acid ester with mixture of gallic acid and linoleic acid, gallic acid, and linoleic acid on highfat diet induced obesity in C57BL/6 Cr Slc Mice. Chemico-biological Interactions, 174(2): 109-117.
22. Jelínek, L., Dolečková, M., Karabin, M., Hudcova, T., Kotlikova, B. and Dostalek, P. 2012. Influence of growing area, plant age, and virus infection on the contents of hop secondary metabolites. Czech Journal of Food Sciences, 30: 541-547.
23. Kafi, M., Kamili, A.N., Husaini, A.M., Ozturk, M. and Altay, V. 2018. An expensive spice Saffron (*Crocus sativus* L.): a case study from Kashmir, Iran, and Turkey. in, *Global perspectives on underutilized crops* (Springer).
24. Kamyabi, S., Habibi Nokhandan, M. and Rouhi, A. 2014. Effect of climatic factors affecting saffron using analytic hierarchy process (AHP);(Case Study Roshtkhar Region, Iran). Saffron Agronomy and Technology, 2: 75-90.
25. Lage, M. and Cantrell, C.L. 2009. Quantification of Saffron (*Crocus sativus* L.) metabolites crocins, picrocrocin and safranal for quality determination of the spice grown under different environmental Moroccan conditions. Scientia Horticulturae, 121: 366-373.
26. Liu, J., Dhungana, B. and Cobb, G.P. 2018. Environmental behavior, potential phytotoxicity, and accumulation of copper oxide nanoparticles and arsenic in rice plants. Environmental Toxicology and Chemistry, 37: 11-20.
27. Maleki, F., Kazemi, H., Siahmarguee, A. and Kamkar, B. 2017. Development of a land use suitability model for Saffron (*Crocus sativus* L.) cultivation by multi-criteria evaluation and spatial analysis. Ecological Engineering, 106: 140-153.
28. Maleki Farahani, S. and Aghighi Shahverdi, M. 2015. Evaluation the effect of nono-iron fertilizer in compare to iron chelate fertilizer on qualitative and quantitative yield of saffron. Journal of Crops Improvement, 17: 155-168.
29. Moradi, A., Zarinkamar, F., De Domenico, S., Mita, G., Di Sansebastiano, G.P. and Caretto, S. 2020. Salycilic acid induces exudation of crocin and phenolics in saffron suspension-cultured cells. Plants, 9: 949.
30. Mykhailenko, O., Gudžinskas, Z., Kovalyov, V., Desenko, V., Ivanauska, L., Bezruk, I. and Georgiyants, V. 2020. Effect of ecological factors on the accumulation of phenolic compounds in Iris species from Latvia, Lithuania and Ukraine. Phytochemical Analysis, 1: 1-19.
31. Naghdi Badi, H., Omidi, H., Golzad, A., Torabi, H. and Fotookian, M.H. 2011. Change in crocin, safranal and picrocrocin content and agronomical characters of Saffron (*Crocus sativus* L.) under biological and chemical of phosphorous fertilizers. Journal of Medicinal Plants, 10(40): 58-68.
32. Parizad, S., Dizadji, A., Habibi, M.K., Winter, S., Kalantari, S., Movi, S., Tendero, C.L., Alonso, G.L. and Moratalla-Lopez, N. 2019. The effects of geographical origin and virus infection on the Saffron (*Crocus sativus* L.) quality. Food Chemistry, 295: 387-394.
33. Rahimi, H., Shokrpour, M., Tabrizi Raeini, L. and Esfandiari, E. 2017. A study on the effects of environmental factors on vegetative characteristics and corm yield of Saffron (*Crocus sativus*). Iranian Journal of Horticultural Science, 48: 45-52.
34. Shahid, M., Niazi, N.K., Khalid, S., Murtaza, B., Bibi, I. and Rashid, M.I. 2018. A critical review of selenium biogeochemical behavior in soil-plant system with an inference to human health. Environmental Pollution, 234: 915-934.
35. Shahverdi, M.A., Omidi, H. and Damalas, C.A. 2020. Foliar fertilization with micronutrients improves *Stevia rebaudiana* tolerance to salinity stress by improving root characteristics. Brazilian Journal of Botany, 43: 55-65.

36. Shahverdi, M.A., Omidi, H. and Tabatabaei, S.J. 2018. Plant growth and steviol glycosides as affected by foliar application of selenium, boron, and iron under NaCl stress in *Stevia rebaudiana* Bertoni. Industrial Crops and Products, 125: 408-415.
37. Shahzadi, I., Iqbal, M., Rasheed, R., Ashraf, M.A., Perveen, S. and Hussain, M. 2017. Foliar application of selenium increases fertility and grain yield in bread wheat under contrasting water availability regimes. Acta Physiologiae Plantarum, 39: 173.
38. Sunohara, Y. and Matsumoto, H. 2004. Oxidative injury induced by the herbicide quinclorac on *Echinochloa oryzicola* vasing and the involvement of antioxidative ability in its highly selective action in grass species. Plant Science, 167(3): 597-606.
39. Williams, W.T. and Lambert, J.M. 1959. Multivariate methods in plant ecology: I. Association-analysis in plant communities. The Journal of Ecology, 1: 83-101.
40. Xu, Z., Jiang, Y. and Zhou, G. 2015. Response and adaptation of photosynthesis, respiration, and antioxidant systems to elevated CO_2 with environmental stress in plants. Frontiers in Plant Science, 6: 701.
41. Zargoosh, Z., Ghavam, M., Bacchetta, G. and Tavili, A. 2019. Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss. Scientific Reports, 9: 1-15.

Evaluation of some growth and physiological traits changes and heavy metals accumulation in *Crocus sativus* L. under different climates cultivation

Farokhi, H.[1], Asgharzadeh A.[2*], Kazemi Samadi, M.[3]
[1]PhD student, Department of Horticulture, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Horticulture, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Chemistry, Bojnourd Branch, Islamic Azad University, Bojnourd, Iran

Received: 11-9-2021 ; Accepted: 16-1-2022

Abstract

Saffron (*Crocus sativus* L.) the most valuable agricultural and pharmaceutical product in the world, has a special place among Iran's industrial and export products. The aim of this study was to study the changes in quantitative, qualitative, physiological traits, and heavy metals accumulation in cultivated saffron samples in three important saffron producing provinces, North Khorasan (Shirvan city), Razavi Khorasan (Torbat-Heydariyeh city), and South Khorasan (Ghaen city), based on a randomized complete block design with three replications in 2019-2020 crop year. In this study, quantitative traits (flower and stigma yield), qualitative traits (safranal, picrocrocin, and crocin content extracted by aqueous method and measured by spectrophotometry), physiological characteristics (anthocyanin, flavonoid, total phenol, and antioxidant activity extracted by alcohol and measured by spectrophotometry) and the selenium, lead, and nickel metals accumulation (by acid extraction and atomic absorption measurements) were investigated. Also, the effect of climatic parameters on quantitative and qualitative yield was investigated. The results showed that the samples cultivated in these provinces had significant differences in terms of quantitative, qualitative, physiological, and metal accumulation characteristics. North and Razavi Khorasan provinces with the highest flowers and stigmas yield, as well as safranal and crocin content, had the highest quantity and quality. In addition, the highest anthocyanins, flavonoids, and total phenol content, antioxidant activity, and lead content was obtained in North Khorasan province. The two climatic parameters of relative humidity content and average annual rainfall had a high correlation with quantitative and qualitative yield and are the most influential environmental factors on the quantity and quality of saffron. In general, North and Razavi Khorasan provinces had a significant advantage in terms of quantitative and qualitative yield of saffron compared to South Khorasan provinces.

Keywords: Antioxidant activity, Climatic parameters, *Crocus sativus* L., Relative humidity content, Safranal.

*Corresponding author; asgharzadehahmad95@yahoo.com