**Saffron Agronomy & Technology**
Homepage: http://saffron.torbath.ac.ir
Vol. 12, No. 4, Winter 2025, p. 436-470

# The Effect of Foliar Application of Potassium Nitrate and Forchlorfenuron on Carbohydrate Allocation and Some Physiological and Biochemical Traits of Saffron Plant

Nasim Rezvani[1], Majid Pouryousef[2]* and Afshin Tavakoli[3]

**Article type:**
Research Article
**Article history:**
Submitted: 2 October 2024
Revised: 15 November 2024
Accepted: 15 February 2025
Available Online: 15 February 2025

**How to cite this article:**
Rezvani, N., Pouryousef, M., and Tavakoli, A. 2025. The Effect of Foliar Application of Potassium Nitrate and Forchlorfenuron on Carbohydrate Allocation and Some Physiological and Biochemical Traits of Saffron Plant. Saffron Agronomy & Technology, 12(4), 436-470.
DOI: 10.22048/jsat.2025.481279.1544

**Abstract**

Saffron is one of the most popular and well-known spices and medicinal plant species in the world. Limited information is available regarding the nutritional properties and allocation of phytochemicals in this plant. The aim of this study is to evaluate the impact of different concentrations of forchlorfenuron and potassium nitrate in the accumulation of carbohydrates and starch metabolism on saffron stigmas and corms. This experiment was carried out as a factorial design based on a randomized complete block design at the research farm of Zanjan University. The first stage of foliar application was conducted in early February and the second stage in early March. In this study, traits such as soluble carbohydrates and starch content in stigmas and corms, the activity of the enzyme beta-amylase in stigmas and ADP-glucose pyrophosphorylase (AGP) enzyme in corms, stomatal conductance and resistance, photosynthetic rate, sub-stomatal $CO_2$ concentration, chlorophyll a, b and total chlorophyll, anthocyanins, and flavonoids were measured. Additionally, the percentage of nutritional elements in stigmas and corms, including nitrogen and potassium, was determined. Based on the results, the interactive effect of forchlorfenuron at 5 $mg.L^{-1}$ with potassium nitrate at 500 $mg.L^{-1}$ resulted in increased nitrogen and potassium in the corms, stomatal conductance, photosynthetic rate, sub-stomatal $CO_2$ concentration, chlorophyll a, total chlorophyll, flavonoids, and soluble carbohydrates in the stigmas. Transpiration rate and anthocyanin levels were not influenced by the treatments. Nearly all treatments, with the highest response observed with forchlorfenuron at 5 $mg.L^{-1}$ in combination with potassium nitrate at 1000 $mg.L^{-1}$, led to an increase in starch content in the corms. The activity of the enzyme ADP-glucose pyrophosphorylase in corms continuously increased with higher levels of CPPU and $KNO_3$, especially reaching 49.96 $\mu mol.min^{-1}.g^{-1}$ protein with a treatment of 5 mg CPPU and 500 mg $KNO_3$. This indicates an increase in starch storage in saffron stigmas under these treatments. This study reveals significant insights into the role of CPPU and potassium nitrate on growth, nutrient absorption, carbohydrate metabolism, and allocation of phytochemicals in saffron. Treatment with 5 $mg.L^{-1}$ CPPU and 500 $mg.kg^{-1}$ $KNO_3$

1- Ph.D. Student of Agronomy, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
2- Associate Prof., Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
3- Associate Prof., Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.
Corresponding author email: pouryousef@znu.ac.ir

© 2022, University of Torbat Heydarieh. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License (CC BY NC 4.0)
(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0).

significantly improved all physiological parameters examined. This treatment resulted in increased carbohydrate storage, improved nitrogen and potassium uptake in stigmas and corms, enhanced activity of the enzyme ADP-glucose pyrophosphorylase in corms, and considerable increases in the qualitative characteristics of saffron such as safranal, crocin, and picrocrocin. The results obtained can contribute to improving the weight and quality of saffron corms to increase flower production in field conditions.

**Keywords**: Corm weight, Daughter corm, Number of flowers, Nutritional elements, Safranal, Stigma.

نشریه زراعت و فناوری زعفران
جلد۱۲، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳ ص. ۴۷۰-۴۳۶
Homepage: http://saffron.torbath.ac.ir

مقاله پژوهشی

# اثر محلول پاشی نیترات پتاسیم و تنظیم کننده رشد فورکلرفنورن بر تخصیص کربوهیدرات ها و برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه زعفران

نسیم رضوانی[۱]، مجید پوریوسف[۲*] و افشین توکلی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۱ مهر ۱۴۰۳
تاریخ بازنگری: ۲۵ آبان ۱۴۰۳
تاریخ پذیرش: ۲۷ بهمن ۱۴۰۳

رضوانی، ن.، پوریوسف، م.، و توکلی، ا. ۱۴۰۳. اثر محلول پاشی نیترات پتاسیم و تنظیم کننده رشد فورکلرفنورن بر تخصیص کربوهیدرات‌ها و برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه زعفران. زراعت و فناوری زعفران، ۱۲(۴): ۴۷۰-۴۳۶.

## چکیده

زعفران به‌عنوان یکی از رایج‌ترین گونه‌های گیاهی ادویه‌ای و دارویی در دنیا شناخته شده است. هدف این مطالعه ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف فورکلرفنورن و نیترات‌پتاسیم بر تجمع کربوهیدرات‌ها و متابولیسم نشاسته در برگ و بنه‌های دختری زعفران می‌باشد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان انجام شد. مرحله اول محلول پاشی در اوایل اسفند ماه و مرحله دوم در اوایل فروردین ماه انجام شد. در این تحقیق صفاتی مانند میزان کربوهیدرات‌های محلول و نشاسته در برگ و بنه، میزان فعالیت آنزیم بتا آمیلاز برگ و آنزیم ADP -گلوکز پیروفسفوریلاز (AGP) در بنه‌های دختری، هدایت و مقاومت روزنه‌ای، سرعت فتوسنتز، غلظت $CO_2$ زیر روزنه‌ای، میزان کلروفیل a، b و کلروفیل کل، آنتوسیانین و فلاونوئیدها اندازه‌گیری شدند. به‌علاوه درصد عناصر غذایی برگ و بنه شامل نیتروژن و پتاسیم نیز تعیین گردید. با توجه به نتایج به‌دست آمده اثرمتقابل فورکلرفنورن ۵ میلی‌گرم‌درلیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر موجب افزایش نیتروژن و پتاسیم بنه، هدایت روزنه‌ای، سرعت فتوسنتز، غلظت $CO_2$ زیر روزنه ای، کلروفیل a، کلروفیل کل، فلاونوئیدها و کربوهیدرات‌های محلول برگ شد. سرعت تعرق و میزان آنتوسیانین‌ها تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفتند. تقریباً تمامی تیمارها و بیشتر از همه اثر متقابل فورکلرفنورن ۵ میلی‌گرم‌درلیتر در سطح نیترات پتاسیم ۱۰۰۰ میلی‌گرم‌درلیتر موجب افزایش میزان نشاسته بنه شدند. فعالیت آنزیم ADP -گلوکز پیروفسفریلاز بنه با افزایش سطوح CPPU و $KNO_3$ به‌طور پیوسته افزایش یافت، به‌ویژه در تیمار ۵ میلی‌گرم CPPU و ۵۰۰ میلی‌گرم $KNO_3$ که مقدار آن به ۴۹/۹۶ میکرومول بر دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین رسید. تیمار CPPU با ۵ میلی‌گرم در لیتر و $KNO_3$ با ۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به‌طور قابل توجهی باعث بهبود تمامی پارامترهای فیزیولوژیکی مورد بررسی شده است. این تیمار باعث افزایش ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها، بهبود جذب نیتروژن و پتاسیم در برگ و بنه، بهبود میزان فعالیت آنزیم ADP -گلوکز پیروفسفریلاز بنه شد. همچنین خصوصیات کیفی کلاله نیز مانند میزان سافرانال، کروسین و پیکروکروسین تحت تأثیر این تیمار افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان دادند. نتایج به دست آمده می‌تواند به بهبود وزن و کیفیت بنه زعفران برای افزایش گل‌آوری در شرایط مزرعه کمک کند.

**کلمات کلیدی:** بنه دختری، تخصیص کربوهیدرات‌ها، عناصر غذایی، فتوسنتز، محلول پاشی، نشاسته.

۱- دانشجوی دکتری زراعت-گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۲- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۳- دانشیار گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: pouryousef@znu.ac.ir)

DOI: 10.22048/jsat.2025.481279.1544

## مقدمه

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. به‌عنوان گران‌قیمت‌ترین محصول کشاورزی و دارویی و ادویه‌ای جهان جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات صنعتی و صادراتی ایران دارد. این گیاه از طریق دانه قابل تکثیر نیست و تنها راه تکثیر آن از طریق ساقه زیرزمینی به نام بنه می‌باشد. با توجه به نقش مهم این گیاه در صادرات غیرنفتی کشور و مناسب بودن شرایط آب و هوایی برخی نقاط ایران جهت کشت آن، ضرورت انجام پژوهش‌های علمی بر روی این گیاه ارزشمند مشخص می‌گردد. وزن بنه یکی از عوامل مهمی است که ظرفیت این گیاه را برای گل‌دهی تعیین می‌کند. بنه‌های با وزن بالاتر عملکرد بالاتری دارند و در سال اول تولید گل می‌کنند. از این‌رو تولید بنه‌های با وزن بالا از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Aitoubahou & Elotmani, 2022). میزان عملکرد زعفران در سال اول به‌شدت متأثر از اندازه و ذخائر بنه‌هایی است که بعنوان بذر کشت می شوند و این بنه‌ها با رشد و نمو خود در سال اول از زمان کشت تا پایان دوره رشد سبب بوجود آمدن بنه‌های دختری می‌شوند که به‌عنوان بذر گیاه در سال دوم محسوب خواهند شد و بنه‌های تولید شده جدید نیز به عملکرد سال‌های بعدی را متأثر می‌کنند (Kumar et al., 2019).

تاکنون به‌منظور کنترل یا طولانی کردن دوره‌ی گل‌دهی، مراحل چرخه‌ی زندگی زعفران که با القای گل و جوانه‌زنی مرتبط هستند، با استفاده از روش‌های آناتومیک، فیزیولوژیک و ترنس کریپتومیک مورد بررسی قرار گرفته‌اند. با این حال، با وجود نیاز به کنترل اندازه بنه‌های دختری و با توجه به تأثیر مثبت آن بر گل‌دهی و عملکرد زعفران، کمتر به فرآیند توسعه‌ی بنه‌ها توجه شده است. در این ارتباط نتایج تحقیقی حاکی از اثر مثبت اندازه بنه بر میزان گلدهی زعفران می‌باشد (Kumar et al., 2019). بررسی‌های دیگر نیز نشان دهنده وجود همبستگی مثبت بین وزن بنه زعفران با تولید بنه‌های دختری و عملکرد گل می‌باشند (Nasiri Mahallati et al., 2019). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که نرخ رشد بنه‌های دختری در بهمن ماه افزایش می‌یابد. بیوماس بنه‌های دختری در اواسط فروردین تا اوایل اردیبهشت به حداکثر مقدار خود می‌رسد و تا اوایل مرحله‌ی پژمردگی برگ ها حفظ می‌شود. از این‌رو کمک به افزایش فتوسنتز و همچنین افزایش انتقال و تخصیص اسیمیلات‌ها به بنه های دختری در زمان رشد بهینه آن ها نقش موثری در افزایش وزن بنه های دختری خواهد داشت. در این زمینه، ژئوفیت‌ها به میزان دسترسی کربوهیدرات‌ها و متابولیسم قندها و نحوه تخصیص آن‌ها واکنش نشان می‌دهند، که روابط پیچیده‌ی منبع–مخزن را همزمان با شروع تشکیل اندام‌های رویشی زیرزمینی و یا توقف رشد مرتبط می‌کنند، همان‌طور که این موضوع در *Allium cepa* L. و *Crocus vernus* L. نیز مستند شده است (Pallotti et al., 2024).

گزارش شده است که روابط منبع–مخزن و تخصیص زیست‌توده در زعفران می‌تواند تحت تأثیر بسیاری از عوامل محیطی و زراعی مانند دما، تاریخ کاشت، اندازه بنه، تراکم بنه، بارندگی و کوددهی قرار گیرد (Behdani et al., 2018). این موضوع مشابه یافته‌های (Gholami et al., 2017) است که گزارش کرده‌اند تخصیص زیست‌توده در زعفران رابطه نزدیکی با دسترسی مناسب به مواد مغذی دارد. هم‌چنین، رنوموراتا و همکاران (Renau-Morata et al., 2012) روابط منبع–مخزن در زعفران را مطالعه کرده و گزارش داده‌اند که وقتی ریشه‌ها و برگ‌ها به حداکثر اندازه خود می‌رسند، رشد بنه‌های جایگزین آغاز می‌شود و توسعه آنها عمدتاً وابسته به فتوسنتز است. تخصیص زیست‌توده در زعفران به عنوان یک گیاه بنه‌دار ساب هیسترانتوس (گیاهانی که گلدهی قبل از رشد رویشی اتفاق می افتد) (De Juan et al., 2009) با گیاهان زراعی معمولی متفاوت

است. این تفاوت عمدتاً به دلیل گل‌دهی زعفران قبل از رشد رویشی آن است که یک پدیده خاص است و تنها در چند گیاه دیده می‌شود (Behdani & Fallahi., 2018). تخصیص زیست‌توده در سایر محصولات نیز مورد بررسی قرار گرفته است.

نقش تنظیم‌کننده های رشد گیاه در بهبود عملکرد گیاه به‌خوبی شناخته شده است (Setia et al., 2015). با این‌حال، برای تولید گل باکیفیت و افزایش وزن بنه‌های دختری، نوع و غلظت مواد شیمیایی تنظیم‌کننده رشد و زمان استفاده از آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است (Towers DiCosmo, 1984). سیتوکینین باعث بهبود انتقال مواد فتوسنتزی در برگ‌ها و بنه‌های دختری شده و گل‌دهی را در زعفران افزایش می‌دهد. استفاده خارجی از سیتوکینین به روش اسپری برگی، محتوای کلروفیل و آنتوسیانین را افزایش داده و فتوسنتز را بهبود می‌بخشد که تأثیر مثبتی بر تجمع کربوهیدرات‌ها در مخزن دارد (Arteca, 2020) و کربوهیدرات ها نیز عملکرد گل را بهبود می‌بخشند (Verlinden & Garcia, 2004). درگزارشی آمده است سیتوکینین‌ها با افزایش فعالیت کربوکسیلازی آنزیم روبیسکو و از طریق کاهش مقاومت روزنه‌ها و افزایش ورود دی‌اکسیدکربن به درون برگ، سبب افزایش کارایی فتوسنتز می‌گردند و وزن تر و خشک گیاه و در نتیجه رشد را افزایش می‌دهند (Kim et al., 2016; Patil et al., 2016). در گزارش دیگری آمده است، استفاده از سیتوکینین در اوایل مرحله تشکیل مینی‌توبرهای سیب زمینی موجب افزایش ۲۵ تا ۵۰ درصدی سنتز نشاسته شد (Borzenkova & Borovkova, 2003). همچنین در گزارش دیگری استفاده از کلروکولین کلراید (به‌عنوان پیش‌ماده سنتز) سیتوکینین‌های طبیعی انتقال مواد فتوسنتزی به غده‌های سیب‌زمینی را افزایش داد Wang et al., 2016). سیتوکینین‌ها ممکن است کنترل بزرگ شدن و رشد غده ها را موجب شوند. افزایش سطح سیتوکینین منجر به افزایش تجمع نشاسته و تقسیم سلولی فعال در مناطق خاص مریستم و برگ‌ها می‌شود (Rosin et al., 2003).

در این تحقیق از فورکلرفنورن[1] به‌عنوان یک تنظیم‌کننده‌رشد گیاهی شبه‌سیتوکینین استفاده شده است. فعالیت بیولوژیکی آن ۱۰ برابر بیشتر از فعالیت سیتوکینین کینتین می باشد. این ماده از طریق بهبود و افزایش بیوسنتز کلروفیل، افزایش تقسیم سلولی و طویل شدن سلول‌ها موجب بزرگ‌تر شدن بنه‌ها و در نهایت موجب تأثیر مثبت بر عملکرد گیاه خواهد شد (She et al., 2014). همچنین این ترکیب در شکستن خواب جوانه‌های جانبی و آغاز جوانه زنی، به تأخیر انداختن مرحله پیری و افزایش دوام کلروپلاست در برگ‌ها مؤثر می‌باشد (Humphery, 2005). هم‌چنین سیتوکینین‌ها سبب تولید، تجمع و انتقال کربوهیدرات‌ها می‌شوند (Asthir et al., 1998).

در میان تنظیم‌کننده های بیولوژیکی، CPPU در افزایش اندازه میوه کیوی و کیفیت آن در زمان برداشت بسیار مؤثر بوده است (Kim et al., 2016). شواهدی وجود دارد که CPPU با افزایش تنظیم‌کننده های رشد داخلی مانند سیتوکینین ها، جیبرلین‌ها و اکسین‌ها باعث توسعه میوه در کیوی می‌شود (Antognozzi et al., 2020b). همچنین به طور قابل توجهی تعداد سلول‌ها و لایه‌های سلولی را در ساقه لیلیوم افزایش داد. علاوه بر این، رشد و توسعه بنه‌ها نیز تسریع یافت (Watanabe et al., 1989). گزارش شده است که محلول‌پاشی با غلظت مناسب این ماده بر روی *Lycoris aurea* L. ویژگی‌هایی مانند وزن تازه و قطر بنه‌های آن را افزایش داده است (She et al., 2014). استفاده از سیتوکینین‌های خارجی در مراحل اولیه تشکیل غده در سیب‌زمینی باعث افزایش سنتز نشاسته بین ۲۵ تا ۵۰ در صد شدند (Borzenkova et al., 1998). در گزارش

۱- CPPU: N-(2-Chloro-4-pyridyl)-N'-phenyl urea)

دیگری، استفاده از CPPU با غلظت ۱ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، غلظت نشاسته را در پیازچه‌های *Lycoris aurea* L. افزایش داد. این نتایج نشان داد که غلظت مناسب CPPU که به صورت اسپری برگی اعمال می‌شود، می‌تواند به تجمع سریع‌تر نشاسته و بزرگ‌تر شدن پیازچه‌ها کمک کند. همچنین برخی واریته های گیاه کاساوا در مرحله نشا توسط CPPU مورد محلول پاشی قرار گرفتند. تمامی تیمارها موجب افزایش حجم و عملکرد غده و محتوای نشاسته آن شدند. عملکرد غده و محتوای نشاسته آن به ترتیب ۲۲/۱۰۵ و ۴۹/۳۶ در صد نسبت به شاهد افزایش یافت. نتیجه‌گیری شد که CPPU عملکرد و محتوای نشاسته غده ریشه را در انواع مختلف کاساوا بهبود بخشید و استفاده از آن می‌تواند برای افزایش تولید کاساوا توصیه شود (Yang & Cao, 2011).

از آنجایی‌که زعفران از طریق بنه تکثیر می‌یابد و به‌دلیل نبود سیستم ریشه‌ای وسیع در بنه‌ها و جذب ریشه‌ها از عمق کم خاک، لذا تولید بنه‌های دختری قوی از طریق تغذیه مناسب همواره مورد توجه بوده است و محلول‌پاشی عناصر غذایی یکی از روش‌های کمکی در تغذیه گیاهی این گیاه محسوب می شود (Behdani et al., 2018). نیترات پتاسیم به عنوان یک منبع تغذیه‌ای نقش مهمی در مرحله رشد تولیدمثلی گیاهان دارد. این ماده باعث تحریک گل‌دهی و افزایش عملکرد گیاهان گل‌دار می شود (Karagüzel et al., 2017). نیتروژن از مهمترین عناصر جهت افزایش عملکرد گل و بنه‌های زعفران به‌شمار می‌رود (Chaji et al., 2013). این عنصر در گیاه به‌عنوان عنصری متحرک شناخته شده و می‌تواند در طول دوره رشد گیاه و به‌ویژه در انتهای هر فصل، از اندام‌های رویشی به بخش زیرزمینی گیاه منتقل شود (Masclaux-Daubresse et al., 2010). این ترکیب به‌دلیل داشتن پتاسیم، یک ماده غذایی به شمار می‌رود. این عنصر پرمصرف در رشد و متابولیسم گیاهان تحت شرایط تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش ویژه و حیاتی دارد. همچنین پتاسیم در فعالیت آنزیم‌ها، سنتز پروتئین، فتوسنتز، حرکت روزنه‌ها، تعادل کاتیونی_آنیونی و مقاومت در برابر تنش‌های محیطی نقش ضروری دارد. نتایج یک تحقیق روی زعفران نشان داد که بالاترین کارایی فتوسیستم II (PSII) و نرخ جذب خالص دی‌اکسیدکربن ($CO_2$) با تیمار نیترات پتاسیم در مقایسه با سایر اشکال کود پتاسیم مانند کلرات پتاسیم، هیپوکلریت سدیم و تیواوره به‌دست آمد (Sritontip et al., 2015).

در پژوهشی روی زعفران گزارش شد که غوطه‌وری بنه‌ها در غلظت یک گرم در لیتر نیترات پتاسیم به ترتیب موجب افزایش ۱۹ و ۳۰ درصدی مقادیر قطر و وزن بنه‌های دختری شد و بیشترین میزان کلروفیل *a* و نسبت کلروفیل *a/b* در تیمار یک گرم بر لیتر نیترات پتاسیم به دست آمد. هم‌چنین این تیمار بهترین شرایط را از نظر محتوای کلروفیل، رشد رویشی و رشد بنه‌های دختری، طول و تعداد برگ زعفران فراهم آورد (Jabbari et al., 2017). در مطالعه‌ای بر روی سویا، نتیجه‌گیری شد که استفاده از نیترات پتاسیم در مرحله تشکیل غلاف باعث رشد بهتر ریشه و تخصیص بیشتر زیست‌توده به سمت غلاف‌ها شد (Bandyopadhyay et al., 2021).

در گیاه زعفران، تحقیقات بسیار اندک و محدودی در مورد تخصیص و توزیع کربوهیدرات‌ها در طول توسعه‌ی بنه‌های دختری انجام شده است. تغییرات در تجمع نشاسته در بنه‌های دختری، تغییرات در محتوای ساکارز و هگزوز در اندام های مختلف و نقش‌های احتمالی آن‌ها به عنوان سیگنال هم‌چنان ناشناخته‌اند. تنها تغییرات متابولیکی در قندها و اسیدهای آمینه در طول تو سعه‌ی جوانه‌های گل و جوانه‌زنی از اوایل مه تا اوایل اکتبر گزارش شده است (Pallotti et al., 2024). همچنین، هیچ گزارشی در مورد استفاده از CPPU بر نحوه تخصیص کربوهیدرات ها و تأثیر این ترکیب بر افزایش وزن بنه های دختری در گیاه زعفران منتشر نشده است.

از این‌رو هدف از این مطالعه بررسی تأثیر محلول پاشی غلظت‌های مختلف CPPU و نیترات پتاسیم بر روی افزایش فتوسنتز و در نتیجه افزایش تولید کربوهیدرات‌های محلول در برگ‌ها و افزایش تخصیص و تجمع نشاسته در بنه‌های دختری می‌باشد. از آن‌جا که پالوتی و همکاران (Pallotti et al., 2024) در تازه‌ترین تحقیق خود بر روی زعفران گزارش کردند که فعالیت آنزیم ADP –گلوکز پیروفسفوریلاز (AGP) در بنه و فعالیت آنزیم β–آمیلاز در برگ زعفران نقش مهمی در تخصیص نشاسته به بنه‌های دختری داشته است، از این‌رو ما در این تحقیق میزان فعالیت این آنزیم‌ها را در تخصیص اسیمیلات‌های فتوسنتزی به بنه زعفران را مورد بررسی قرار دادیم. فهم چگونگی تغییر متابولیسم بنه‌ها توسط CPPU دارای اهمیت کلی در بهبود درک جنبه‌های فیزیولوژیکی مربوط به اندازه بنه و عملکرد و کیفیت کلاله می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان طی سال‌های زراعی ۱۴۰۲–۱۴۰۱ و ۱۴۰۳–۱۴۰۲ و با موقعیت جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲۴ دقیقه طول شرقی و ۳۶ درجه و ۴۱ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۵۷۰ متر از سطح دریا و در زمینی به مساحت تقریبی ۳۰۰ متر مربع انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل دو عاملی و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. قبل از اجرای آزمایش، از عمق ۰–۳۰ سانتیمتری خاک نمونه برداری صورت گرفت و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک تعیین گردید (جدول ۱) .

**جدول ۱- ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه**

**Table 1- Physical and chemical properties of farm soil**

| رس Clay (٪) | سیلت Silt (٪) | شن Sand (٪) | بافت خاک Texture Soil (٪) | ماده آلی OC (٪) | پتاسیم $K_{ava}$ ($g.kg^{-1}$) | سدیم $Na_{ava}$ ($g.kg^{-1}$) | کلسیم $Ca_{ava}$ ($g.kg^{-1}$) | نیتروژن $N_{total}$ (٪) | هدایت الکتریکی EC $dS.m^{-1}$ | شاخص واکنش pH |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 37 | 38 | 25 | لوم رسی Clay loam | 0.94 | 0.12 | 0.13 | 0.12 | 0.07 | 1.492 | 7.42 |

با توجه به اهمیت تغذیه در زعفران با کود دامی و اثرات آن بر ساختمان خاک و گسترش ریشه و چند ساله بودن زعفران از کود دامی پوسیده به مقدار ۲۰ تن در هکتار استفاده شد. پس از آماده‌سازی زمین کرت‌هایی با ابعاد یک در دو متر ایجاد شدند. بنه‌های زعفران قبل از کشت، از نظر وزن غربال‌گری شدند تا بنه‌های مورد نیاز هر تکرار وزن تقریباً یکسان داشته باشند و از این طریق اثر وزن اولیه بنه‌ها حذف شود. به این صورت که بنه ها در گروه‌های ۷ تا ۹ گرم، ۱۰ تا ۱۲ گرم، ۵ تا ۶ گرم و ۳ تا ۴ گرم دسته‌بندی شدند و هر دسته در یک تکرار کاشت شدند و هر تکرار تحت اعمال تمامی تیمارها قرار گرفت. بنه‌ها در اوایل پاییز به صورت ردیفی و با تراکم ثابت ۱۰۰ بنه در مترمربع (فاصله روی ردیف و بین ردیف به ترتیب ۱۰ و ۲۰ سانتی‌متر) و عمق حدود ۱۵ سانتی‌متر کاشته شدند. آبیاری بوسیله سیستم قطره‌ای نواری نوبت اول اوایل مهر ماه، نوبت دوم اوایل آذر ماه، نوبت سوم اواخر فروردین واخرین نوبت اواخر اردیبهشت ماه صورت گرفت. با توجه به نیاز آبی زعفران و در نظر گرفتن میزان بارش ها حجم کل آبیاری در حدود ۶۰ مترمکعب در نظر گرفته شد. در این آزمایش از کاربرد علف‌کش اجتناب شد و علف‌های هرز در دو مرحله، پس از اتمام گل‌دهی و یک ماه پس از آن به صورت دستی وجین شدند.

فاکتور های مورد بررسی در این آزمایش شامل فورکلرفنورن در چهار سطح (۰، ۲،۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر) و

نیترات پتا سیم در چهار سطح ( ۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) مورد ا ستفاده قرار گرفتند. عملیات محلول‌پا شی در اوایل صبح و با سمپاش پ شتی و با ف شار ثابت انجام گردید. همچنین برای جذب بیشتر محلول‌ها در برگ از میکرومویان ا ستفاده شد. با توجه به نیاز غذایی زعفران در دوران رشد بنه‌های دختری و فراهم شدن شرایط جوی مناسب جهت محلول‌پا شی در منطقه، زمان اعمال تیمارها مرحله اول در اوایل اسفند ماه و مرحله دوم در اوایل فروردین ماه بود و برای اثر بهتر تیمارها در هر مرحله، عملیات محلول‌پاشی یک هفته بعد از اولین مرحله، تکرار شد. همچنین جهت جلوگیری از تداخل اثر دو تیمار، محلول‌پاشی نیترات پتاسیم و فورکلرفنورن با یک هفته فاصله انجام شد.

نمونه برداری از برگ ها تقریباً دوهفته بعد از پایان انجام آخرین تکرار محلول پا شی و تقریباً در اوا سط اردیبهشت انجام شد. اواخر اردیبهشت ماه و قبل از شروع خشک شدن برگ‌ها نیز نمونه‌برداری بنه ها از هر کرت به‌صورت ۵ بوته در کرت جهت ارزیابی برخی صفات انجام گردید. گل‌های زعفران از نیمه آبان تا نیمه آذر در اوایل صبح و با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای از کل سطح کرت‌ها برداشت شدند و جهت تعیین کیفیت کلاله به آزمایشگاه منتقل شدند.

**کربوهیدرات‌های محلول کل**

کربوهیدرات‌های محلول کل با استفاده از روش اسپکتروفتومتری بر اساس روش آنترون (Carroll et al., 1956) و با استفاده از گلوکز به عنوان استاندارد، به شرح زیر اندازه‌گیری شدند. هر بنه از هر تیمار به قطعات کوچک (تا حد امکان ریز) تبدیل و کاملاً مخلوط شد. نمونه‌های گیاهی (برگ یا بنه) در اتانول ۹۵ در صد و سپس در اتانول ۷۰ در صد ا ستخراج شدند. استخراج به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۴۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۱۵۰ میلی‌گرم معرف آنترون در ۱۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۷۲ درصد حل شد. سه میلی‌لیتر آنترون به ۱۰۰ میکرولیتر از مایع استخراج شده الکلی اضافه شد. مایع استخراج شده به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب قرار گرفت تا واکنش داده و رنگ ا ستخراج شود، پس از خنک شدن، جذب در ۶۲۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر خوا نده شد ( مدل LAMBDA 25/35/45 UV/Vis، آمریکا).

**تعیین محتوای نشاسته**

بافت‌های برگ و بنه با آب مقطر شسته شد، سپس خرد شده و بلافاصله در اتانول ۸۰ درصد جوشانده شدند. نمونه (۰/۲ گرم) با ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ در صد همگن شد و به مدت ۱ ساعت در حمام آب با دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ × g سانتریفیوژ شد و مایع رویی دور ریخته شد. پس از تکرار مراحل فوق، مواد ته نشین شده دوباره در ۱۰ میلی‌لیتر نیترات کلسیم ۸۰ درصد (وزنی/حجمی) معلق شد و به مدت ۱ ساعت در حمام آب جو شانده قرار گرفت. پس از فیلتراسیون، ۵ تا ۱۰ میلی‌لیتر از محلول نشاسته فیلتر شده به ۵۰۰ میلی‌لیتر رقیق شد و ۱۰ میلی‌لیتر معرف تازه آنترون اضافه شد. سپس آن‌ها توسط آب سرد شدند، هر یک به‌خوبی مخلوط و به مدت هفت ساعت و نیم در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد دما داده شدند. لوله‌ها سریعاً تا دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد سرد شدند. با استفاده از نور با طول موج‌های نزدیک به ۶۳۰۰ آنگستروم برای تعیین شدت رنگ، منحنی استاندارد با استفاده از ۰، ۵۰ و ۱۰۰ میکروگرم گلوکز حاوی همان مقدار اسید پرکلریک موجود در نشاسته، تهیه شد. با استفاده از کولوریمتر Klett-Summerson، گلوکز به‌دست آمده در عدد ۰/۹۰ ضرب شد تا به میزان دقیق مقدار نشاسته تبدیل شود (McCready et al., 1950).

**استخراج پروتئین و سنجش β-آمیلاز**

فعالیت β-آمیلاز همان‌طور که توسط مک کلری و کد

(McCleary & Codd, 1989) توصیف شده است، در حجمی از واکنش ۱۰۰ میکرولیتر شامل ۳۶ میلی‌مول بافر فسفات (pH 7.0)، ۲ واحد –گلوکوزیداز (Sigma)، ۰/۲۵ میکرومول p-nitrophenyl-maltopentaoside (PNPG5-Sigma) و ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده انجام شد. پس از انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در مدت زمان مناسب، واکنش‌ها توسط تریسما ۱ در صد متوقف شدند و p-nitrophenol آزاد شده در ۴۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت به صورت میکرومول p-nitrophenol تولید شده توسط گرم پروتئین کل در هر ثانیه بیان شد.

**سنجش میزان فعالیت آنزیم ADP -گلوکز پیروفسفوریلاز (AGPase)**

میزان ۰/۲ گرم بافت تازه بنه در بافر مناسب (مانند بافر Tris-HCl, pH 7.5-8.0) ترکیب و عصاره از طریق سانتریفیوژ جدا شد. این عصاره حاوی آنزیم AGPase است. بافر واکنش شامل بافر Tris-HCl (pH 7.5-8.0) ، MgCl2 (برای فعال‌سازی آنزیم)، ADP -گلوکز (سوبسترای AGPas) و پیروفسفات (PPi) بود. مقدار معینی از عصاره آنزیمی با ترکیب واکنش مخلوط شد. واکنش در دمای مناسب (۳۰–۳۷ درجه سلسیوس) و مدت زمان معین (معمولاً ۳۰ دقیقه) انجام شد. واکنش با اضافه کردن یک ماده متوقف‌کننده مانند اسیدکلریک متوقف شد. فعالیت AGPase با اندازه‌گیری تغییرات نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر مرتبط با NADH/NADPH که در واکنش‌های جانبی تولید می شود، اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت این آنزیم به صورت میلی گرم ADP -گلوکز در دقیقه در هر گرم وزن تازه محاسبه و اندازه‌گیری شد (Ballicora et al., 2003).

**اندازه‌گیری کیفیت کلاله (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال)**

اجزای اصلی زعفران شامل کروسین، پیکروکروسین و سافرانال بر اساس روش ISO (ISO3632-2:2010، روش‌های تست زعفران) با استفاده از اسپکتروفتومتر UV-vis تعیین شدند. نتایج برای این سه ترکیب با خواندن مستقیم جذب در سه طول موج (۲۵۷ نانومتر – پیکروکروسین، ۳۳۰ نانومتر – سافرانال، ۴۴۰ نانومتر – کروسین) به دست آمد. اعداد به دست آمده در معادله ۱ قرار گرفتند و مقادیر پیکروکروسین، سافرانال و کروسین به ترتیب محاسبه شدند. در این معادله، X مقدار ترکیب کیفی خاص، A جذب خوانده شده از اسپکتروفتومتر در طول موج مربوطه و M وزن خشک کلاله به میلی‌گرم است.

$$X = A/M \times 100 \quad (1)$$

**اندازه گیری فتوسنتز و تبادلات گازی**

به منظور اندازه‌گیری سرعت فتوسنتز در واحد سطح برگ (میکرومول $CO_2$ برمترمربع درثانیه)، هدایت روزنه‌ای (میلی مول بر متر مربع در ثانیه)، مقاومت روزنه‌ای (مترمربع درثانیه در مول)، سرعت تعرق (میلی مول بر متر مربع در ثانیه)، غلظت $CO_2$زیر روزنه‌ای (میکرومول بر مول) از دستگاه (IRGA Analyser Gas Red Infra) استفاده خواهد شد. تمام اندازه‌گیری ها در ساعت ۸ صبح و در یک روز آفتابی با آسمان صاف (بدون نیاز به منبع نوری دستگاه) انجام شد. برگ‌ها ۴۹ ثانیه در داخل محفظه شیشه‌ای دستگاه قرار گرفتند و اعداد ثبت شده قرائت شدند (Silver & Thompson, 2015).

**اندازه گیری کلروفیل a و b و کلروفیل کل**

برای اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل a و b و کلروفیل کل از روش آرنون (Arnon, 1967) استفاده شد. برای این منظور، ۰/۲ گرم از بافت تر برگ در ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ در صد ساییده، سپس حجم محلول با استون به ۲۰ میلی لیتر رسانیده شد. محلول به دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور

سانتریفیوژ گردید. سپس میزان کلروفیل a در طول موج ۶۶۳ نانومتر و کلروفیل b در طیف جذبی ۶۴۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (Germany 2000, UNICO) قرائت و اندازه‌گیری شد و سپس اعداد به دست آمده توسط فرمول‌های زیر محاسبه گردیدند.

$$Chl.a\ (mg.g\text{-}1) = [(12.7 \times Abs\ 663) - (2.6 \times Abs\ 645)] \times V/W \times 1000 \quad (۲)$$

$$Chl.b\ (mg.g\text{-}1) = [(22.9 \times Abs\ 645) - (4.68 \times Abs\ 663)] \times V/W \times 1000$$

$$Chl.total\ (mg.g\text{-}1) = [(8.02 \times Abs\ 663) + (20.2 \times Abs\ 645)] \times V/W \times 1000$$

**اندازه گیری محتوای فلاونوئید**

میزان کل فلاونوئید ها در این تحقیق به روش کلرید آلومینیوم با استفاده از کوئرستین به‌عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (Garrote et al., 2017). هر کدام از عصاره‌های متانولی گیاهی (۵ میلی‌لیتر از محلول $mg.ml^{-1}$ ۵) به صورت جداگانه با ۵ میلی‌لیتر متانول، ۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد متانولی، ۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شدند. سپس محلول‌ها را در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده و جذب واکنش در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

**اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین**

اندازه‌گیری محتوای آنتوسیانین با استفاده از روش اختلاف pHکه توسط ژانگ و همکاران (Zhang et al., 2008) ارائه شده است، انجام شد. نمونه‌های برگ زعفران توسط اتانول استخراج شده و سپس توسط دو بافر مختلف رقیق گردیدند. بافر اول: کلرید پتاسیم با غلظت ۰/۰۲۵ مولار و پی اچ ۱ و بافر دوم: استات سدیم با غلظت ۰/۴ مولار و پی اچ ۴/۵ بودند. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شدند و بر اساس فرمول‌های زیر، مقدار آنتوسیانین محاسبه گردید:

$$\text{میزان آنتوسیانین} = A \times MW \times DF \times 1000 / \varepsilon \times L \quad (۳)$$

$$A = (A520nm - A700nm)\ pH1.0 - (A520nm - A700nm)\ pH4.5$$

در این فرمول ε ضریب جذب مولی، MW وزن مولکولی آنتوسیانین غالب، DF فاکتور رقیق سازی و L ضخامت سل که معمولاً بر اساس واحد سانتیمتر است. A520 نانومتر و A700 نانومتر جذب نوری در طول موج‌های ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر هستند.

**غلظت نیتروژن و پتاسیم برگ و بنه**

برای تعیین غلظت نیتروژن نمونه‌ها از روش هضم به کمک اسید سولفوریک غلیظ و اندازه‌گیری نیتروژن عصاره با سیستم کجلدال استفاده شد (Page et al., 2000). جهت تعیین مقدار پتاسیم نیز از روش هضم تر نمونه با اسید نیتریک غلیظ و اسید پرکلریک غلیظ استفاده گردید (Gupta, 2000) و سپس میزان پتاسیم عصاره نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۶۰ نانومتر و دستگاه فلیم فتومتر اندازه گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج در صد استفاده شد و نمودارهای مربوطه توسط نرم افزار Excel ترسیم گردید.

## نتایج و بحث

به‌طورکلی، عملکرد گیاه به توانایی آن در جذب مواد معدنی، تثبیت کربن و تخصیص مواد فتوسنتزی در اندام‌های گیاه و همچنین تحمل آن به استرس‌های محیطی بستگی دارد. در هر گیاه، الگوی تخصیص زیست‌توده تعیین‌کننده سرمایه‌گذاری در

اندام‌های فتوسنتزی، تولیدمثلی و جذب مواد مغذی است. با توجه به این موضوع، تغییرات در تقسیم زیست‌توده می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر توانایی گیاه در استفاده از منابع داشته باشد. علاوه بر این، روش‌های پاسخ‌دهی گیاهان به تغییرات مواد مغذی به شدت بر توانایی آن‌ها برای رشد و رقابت تأثیر می‌گذارد (Zhang et al., 2015).

**بررسی اثرات تیمارها بر میزان نیتروژن و پتاسیم برگ و بنه**

مصرف سطوح مختلف CPPU بر میزان نیتروژن و پتاسیم هم در برگ و هم در بنه‌های دختری معنی‌دار ($p< 0.01$) بود (جدول ۳). استفاده از این ماده در سطح ۲/۵ نسبت به شاهد معنی‌دار نبود و مصرف این ماده در غلظت ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر، بیش از غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر میزان نیتروژن برگ را کاهش داد. همه سطوح CPPU میزان پتاسیم برگ را به‌طور معنی‌داری کاهش دادند. غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر آن به‌میزان ۳۶ درصد نیتروژن بنه را افزایش و بقیه سطوح آن را نسبت به شاهد کاهش دادند. همچنین این سطح از CPPU پتاسیم بنه را افزایش و بقیه سطوح موجب کاهش آن شدند.

استفاده از تمامی سطوح نیترات پتاسیم نیز بر نیتروژن و پتاسیم برگ و بنه در واحد سطح معنی‌دار ($p< 0.01$) بود (جدول ۳). غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر آن تأثیر چندانی نسبت به شاهد نداشت (شکل ۱ و ۲).

اثرمتقابل عوامل مورد استفاده نیز روی هر دو صفت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). بیشترین میزان نیتروژن و پتاسیم برگ در تیمار CPPU صفر و نیترات پتاسیم ۱۰۰۰ به‌دست آمد و کمترین میزان آن در تیمارهای اثرمتقابل CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد که در واقع در حدود ۳۲ درصد کاهش پیدا کردند. برعکس همین تیمارهایی که موجب کاهش میزان نیتروژن و پتاسیم در برگ‌ها شده بودند، باعث افزایش آن‌ها در بنه‌های دختری گردیدند که می‌تواند نشان‌دهنده تأثیر غلظت مناسب CPPU در میزان انتقال اسیمیلات‌ها به بنه و درنتیجه افزایش محتوی نیتروژن و پتاسیم آن باشد.

**جدول ۲- تجزیه‌ی واریانس میانگین مربعات بر کیفیت کلاله زعفران**

**Table 2- Analysis of variance of mean squares of stigma quality**

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی df | سافرانال Safranal | کروسین Crocin | پیکروکروسین Picrocrocin |
|---|---|---|---|---|
| تکرار Replication | 3 | $^{ns}$ 0.68 | $^{ns}$ 1.01 | 0.06 $^{ns}$ |
| فورکلرفنورن CPPU | 3 | $^{**}$ 55.61 | $^{**}$ 6.19 | 5.00$^{**}$ |
| نیترات پتاسیم $KNO_3$ | 3 | $^{**}$ 11.22 | $^{ns}$ 1.78 | 3.97$^{*}$ |
| نیترات پتاسیم × فورکلرفنورن $KNO_3$×CPPU | 9 | $^{**}$ 11.67 | $^{**}$ 5.71 | 3.10$^{*}$ |
| خطای آزمایشی Error | 45 | 8.66 | 3.47 | 6.76 |
| ضریب تغییرات C.V. (%) | - | 5.513 | 1.020 | 3.455 |

علامت‌های ns، ** و * به ترتیب به مفهوم عدم وجود و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد و پنج درصد می‌باشند. اعداد جدول میانگین مربعات می‌باشند.

ns, ** and * : non-significant, significant in 5% and 1%, respectively. Table numbers are the mean of squares.

**جدول ۳- تجزیه‌ی واریانس میانگین مربعات روی برخی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک زعفران**

Table 3- Analysis of variance of mean squares of treatments on physiological and biochemical traits of saffron

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی df | نیتروژن برگ Leaf nitrogen | نیتروژن بنه Corm nitrogen | پتاسیم برگ Leaf potassium | پتاسیم بنه Corm potassium | نشاسته برگ Leaf starch | کربوهیدرات محلول برگ Leaf soluble carbohydrates | نشاسته بنه Corm starch | کربوهیدرات محلول بنه Corm Soluble carbohydrates | آنزیم بتا آمیلاز برگ Leaf Beta-amylase enzyme | آنزیم گلوکز -ADP بنه پیروفسفوریلاز Corm ADP-glucose pyrophosphorylase |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تکرار Replication | 3 | 0.86 $^{ns}$ | 0.62 $^{ns}$ | 2.23 $^{ns}$ | 0.55 $^{ns}$ | 1.09 $^{ns}$ | 0.17 $^{ns}$ | 0.53 $^{ns}$ | 1.48 $^{ns}$ | 1.02 $^{ns}$ | 0.11 $^{ns}$ |
| فورکلرفنورن CPPU | 3 | 115.96 $^{**}$ | 171.59 $^{**}$ | 17.35 $^{**}$ | 169.12 $^{**}$ | 218.32 $^{**}$ | 62.49 $^{**}$ | 1662.28 $^{**}$ | 66.11 $^{**}$ | 178.83 $^{**}$ | $^{**}$141.82 $^{**}$ |
| نیترات پتاسیم $KNO_3$ | 3 | 8.14 $^{**}$ | 61.30 $^{**}$ | 11.58 $^{**}$ | 71.21 $^{**}$ | 62.69 $^{**}$ | 308.43 $^{**}$ | 808.37 $^{**}$ | 9.90 $^{**}$ | 151.21 $^{**}$ | 40.70 $^{**}$ |
| نیترات پتاسیم × فورکلرفنورن $KNO_3$×CPPU | 9 | 43.09 $^{**}$ | 30.66 $^{**}$ | 7.66 $^{**}$ | 31.50 $^{**}$ | 15/2 8 $^{**}$ | 17.23 $^{**}$ | 254.86 $^{**}$ | 10.28 $^{**}$ | 60.95 $^{**}$ | 18.95 $^{**}$ |
| خطای آزمایشی Error | 45 | 0.27 | 0.93 | 0.07 | 0.25 | 2.04 | 18.19 | 66.14 | 18.08 | 48.57 | 5.00 |
| ضریب تغییرات C.V. (%) | - | 4.18 | 6.14 | 5.04 | 6.38 | 6.05 | 3.03 | 1.33 | 6.39 | 6.73 | 4.82 |

علامت‌های ns، ** و * به ترتیب به مفهوم عدم وجود و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد و پنج درصد می‌باشند. اعداد جدول میانگین مربعات می‌باشند.

ns, ** and * : non-significant, significant in 5% and 1%, respectively. Table numbers are the mean of squares.

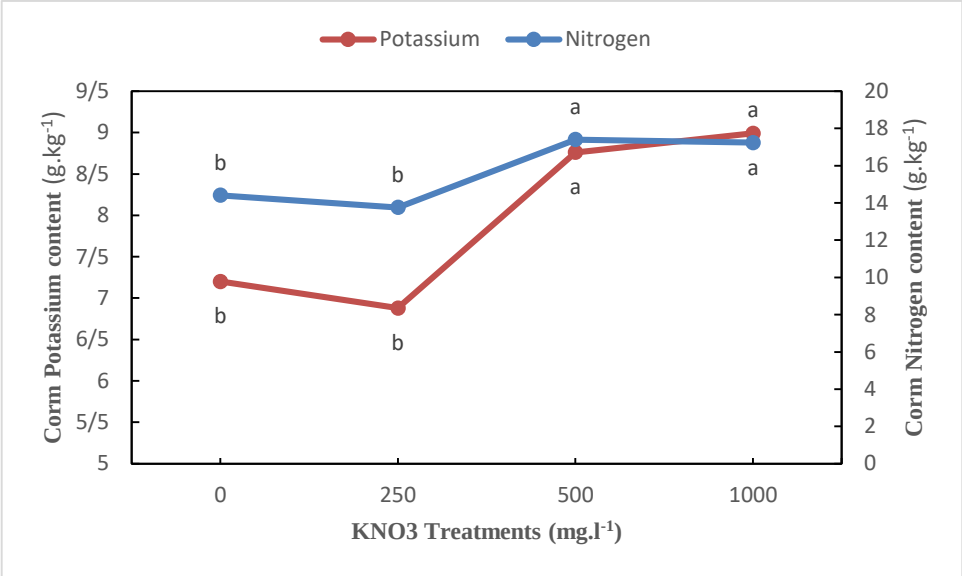
**ادامه جدول ۳- تجزیه‌ی واریانس میانگین مربعات روی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک زعفران**

Continued Table 3- Analysis of variance of mean squares of treatments on physiologicaland and biochemica traits of saffron

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی df | هدایت روزنه‌ای Stomatal conduction | سرعت فتوسنتز Photosynthesis rate | مقاومت روزنه‌ای Stomatal resistance | سرعت تعرق Perspiration Rate | غلظت $CO_2$ زیرروزنه‌ای Substomatal $CO_2$ concentration | کلروفیل $a$ Chlorophyll $a$ | کلروفیل $b$ Chlorophyll $b$ | کلروفیل کل Total chlorophyll | آنتوسیانین Anthocyanin | فلاونوئیدها Flavonoids |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تکرار Replication | 3 | 0.25 $^{ns}$ | 1.66 $^{ns}$ | 0.51 $^{ns}$ | 0.69 $^{ns}$ | 0.51 $^{ns}$ | 0.13 $^{ns}$ | 0.65 $^{ns}$ | 0.35 $^{ns}$ | 0.93 $^{ns}$ | 0.67 $^{ns}$ |
| فورکلرفنورن CPPU | 3 | 4.55 $^{**}$ | 144.8 $^{**}$ | 168.73 $^{**}$ | 106.6 $^{ns}$ | 168.73 $^{**}$ | 75.85 $^{**}$ | 359.36 $^{**}$ | 146.70 $^{**}$ | 614.38 $^{ns}$ | 128.61 $^{**}$ |
| نیترات پتاسیم $KNO_3$ | 3 | 0.08 $^{**}$ | 30.44 $^{**}$ | 49.91 $^{**}$ | 0.36 $^{ns}$ | 49.91 $^{**}$ | 35.70 $^{**}$ | 144.86 $^{**}$ | 50.24 $^{**}$ | 225.66 $^{ns}$ | 25.46 $^{**}$ |
| نیترات پتاسیم × فورکلرفنورن CPPU × $KNO_3$ | 9 | 2.87 $^{**}$ | 75.35 $^{**}$ | 90.74 $^{**}$ | 45.17 $^{ns}$ | 90.74 $^{**}$ | 23.35 $^{**}$ | 57.24 $^{**}$ | 30.58 $^{**}$ | 66.99 $^{ns}$ | 7.54 $^{**}$ |
| خطای آزمایشی Error | 45 | 0.72 | 0.00 | 0.20 | 55/2 8 | 229.41 | 2 5/2 | 3301.27 | 2228.59 | 711.95 | 802.47 |
| ضریب تغییرات C.V. (%) | - | 3.365 | 5.443 | 4.874 | 4.926 | 4.874 | 6.467 | 5.417 | 8.091 | 5.591 | 6.658 |

علامت‌های ns، ** و * به ترتیب به مفهوم عدم وجود و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد و پنج درصد می‌باشند. اعداد جدول میانگین مربعات می‌باشند.

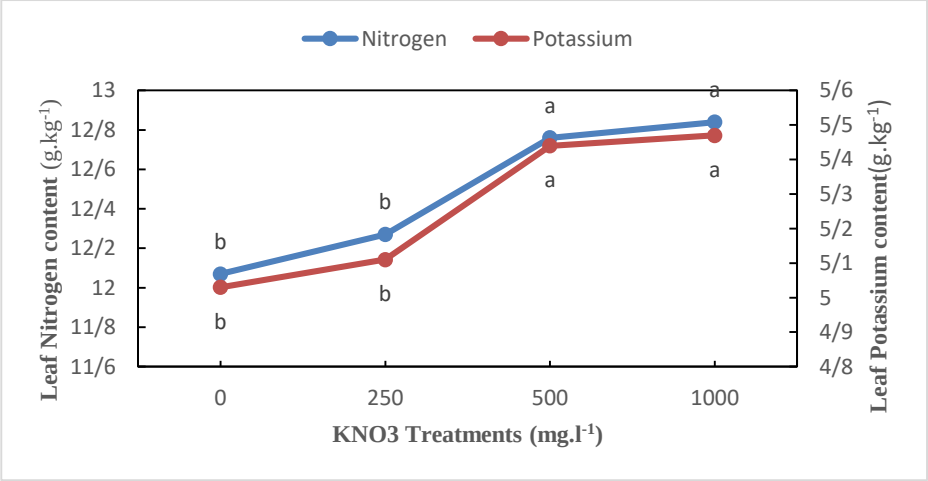
ns, ** and * : non-significant, significant in 5% and 1%, respectively. Table numbers are the mean of squares.




**شکل ۱- مقایسه میانگین اثر اصلی نیترات پتاسیم ($KNO_3$) بر محتوی نیتروژن و پتاسیم بنه‌های دختری**

**Figure 1- Mean comparisons of the main effect of $KNO_3$ ($mg.l^{-1}$) on Nitrogen and potassium content of the doughter corms ($g.kg^{-1}$).**

LSD 0.05 corms nitrogen = 0.964, LSD 0.05 corms potassium = 0.508.




**شکل ۲- مقایسه میانگین اثر اصلی نیترات پتاسیم ($KNO_3$) بر محتوی نیتروژن و پتاسیم برگ‌ها**

**Figure 2- Mean comparisons of the main effect of $KNO_3$ ($mg.l^{-1}$) on Nitrogen and Potassium content of the leaves ($g.kg^{-1}$).**

LSD 0.05 leaves nitrogen = 0.23, LSD 0.05 leaves potassium = 0.265.

نکته جالب این‌که اثر این دو تیمار بواسطه غلظت مناسب CPPU از اثر تیمار بدون ا ستفاده از CPPU که موجب افزایش نیتروژن برگ شده بود، در بنه‌ها بی شتر بود. سایر سطوح تأثیر چندانی نسبت به شاهد نداشتند (جدول ۴). حتی سطح CPPU ۵ بدون استفاده از نیترات پتاسیم نیز موجب افزایش ۲۸ درصدی این صفات نسبت به شاهد شد، که نشان از انتقال موثر کربوهیدرات‌های موجود در برگ به بنه بدون افزودن تیمار کودی است. از این‌رو نیتروژن که از مهم‌ترین عناصر جهت افزایش عملکرد گل و بنه‌های زعفران به شمار می‌رود، در گیاه به‌عنوان عنصری متحرک شناخته شده و می‌تواند در طول دوره رشد گیاه و به‌ویژه در انتهای هر فصل، از اندام‌های رویشی به بخش زیرزمینی گیاه منتقل شود (Chaji et al., 2020).

می دانیم نیترات پتا سیم به‌عنوان منبع نیتروژن و پتا سیم در کشـــاورزی مورد اســـتفاده قرار می‌گیرد. این ترکیب دارای ۱۳ درصـد نیتروژن و ۴۶ درصـد پتاسـیم اسـت که نقش مهمی در تغذیه گیاهان دارد و موجب افزایش غلظت نیتروژن و پتا سیم در بافت‌های گیاه می شود. نیتروژن یکی از عنا صر ا صلی مورد نیاز گیاهان برای رشد و فتوسنتز است و نیترات پتاسیم نیتروژن را به شکل نیتراته تأمین می‌کند که گیاه به‌راحتی آن را جذب می‌کند. نیتروژن باعث بهبود رشـد برگ‌ها و تولید کلروفیل می‌شـود که برای فتو سنتز ضروری ا ست. پتا سیم همچنین به انتقال آب و مواد مغذی درون گیاه و تنظیم فرآیندهای آنزیمی کمک می‌کند (Raddatz et al., 2020). در گزار شی به‌منظور برر سی عکس العمل زعفران به مقدار و زمان مصرف دو نوع کود پتاسه (نیترات پتا سیم و کلرید پتا سیم) تحقیق صورت گرفت. نتایج ن شان داد که اثر مقدار پتا سیم بر عملکرد زعفران در سطح ۵ در صد معنی دار بود و بیشـترین عملکرد از تیمار مصـرف ۲۵ کیلوگرم نیترات پتاسـیم در هکتار بدسـت آمد. اثر منبع کود پتاسـیم بر عملکرد زعفران نیز در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود مصرف پتاسیم از منبع نیترات پتاسـیم باعث افزایش معنی دار عملکرد نسـبت به تیمار استفاده از منبع کلرید پتاسیم شد (Zabihi et al., 2013). سعید اکرم و همکاران (Saeed Akram et al., 2009) بیان کردند کاربرد نیترات پتا سیم میزان ر شد گیاه آفتابگردان را افزایش داد که این افزایش را مربوط به افزایش ظرفیت فتوسنتزی دانستند.

**بررسی اثرات تیمارها بر فتوسنتز**

از اوایل فروردین ماه کاهش در تأمین فوتواســیمیلات‌ها از طریق برگ‌ها آغاز می شـود، اما برگ‌ها هنوز به‌طور عمده سـبز ه ستند تا زمانی که ر شد بنه دختری متوقف شود. با علم به این مو ضوع ا ستفاده از تیمارهایی با غلظت منا سب در این دوران که فتوســـنتز به‌طور طبیعی میل به کاهش دارد، می‌تواند به افزایش کارایی و طول دوره فتوســـنتز کمک کند که این موضـــوع خود موجبات افزایش مدت زمان تولید اســـیمیلات‌ها و افزایش طول دوره پر شدن بنه‌های دختری را فراهم می‌کند.

پتاسـیم یکی از عناصـر اصـلی اسـت که در تنظیم اسـمزی سلول‌های محافظ روزنه نقش دارد. وقتی پتاسیم وارد سلول‌های محافظ می‌شـود، فشـار تورژسـانس سـلول‌ها افزایش می‌یابد و باعث باز شدن روزنه‌ها می شود. باز شدن روزنه‌ها به گیاه اجازه می‌دهد تا دی‌اکسیدکربن را برای فتوسنتز جذب کرده و همزمان بخار آب از طریق تعرق دفع کند. در صـــورت کمبود پتاســـیم، روزنه‌ها به خوبی باز نمی‌شـــوند و این امر منجر به کاهش تبادل گاز و کاهش کارایی فتوسنتز می‌شود. به‌طور کلی، نیترات پتاسیم با تقویت عملکرد اسـمزی سـلول‌های محافظ و بهبود شـرایط فتو سنتز، هدایت روزنه‌ای را بهینه سازی می‌کند و به گیاه کمک می‌کند تا آب و گازها را به نحو مؤثری مدیریت کند. این عنصـر هم‌چنین در فعال‌سـازی آنزیم‌های مختلف مرتبط با فتوسـنتز و انتقال محصولات فتوسنتزی به سایر قسمت‌های گیاه نقش دارد.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد هر یک از اثرات ساده استفاده از CPPU و نیترات پتاســـیم و اثر متقابل آن‌ها بر پارامترهای فتوســـنتزی از جمله هدایت روزنه‌ای، مقاومت روزنه‌ای، ســـرعت فتوسنتز و غلظت $CO_2$ زیر روزنه‌ای معنی‌دار ($p< 0.01$) بود، اما بر سرعت تعرق معنی‌دار نبودند (جدول ۳). ا ستفاده از CPPU با غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر تأثیری در میزان هدایت روزنه‌ای، مقاومت روزنه‌ای، ســـرعت فتوســـنتز و غلظت $CO_2$ زیر روزنه‌ای نداشـــت، اما ســـطوح ۵ و۱۰ میلی‌گرم در لیتر آن موجب افزایش صفات مذکور شد با توجه به رابطه معکوس بین هدایت روزنه‌ای و مقاومت روزنه‌ای ســـطوح ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر CPPU موجب کاهش مقاومت روزنه‌ای و افزایش هدایت روزنه‌ای شـــد که همین امر منجر منجر به افزایش غلظت $CO_2$ زیر روزنه‌ای و در نتیجه افزایش نســـبی ســـرعت فتوســـنتز برگ‌ها گردید. اثر محرک CPPU در ســـطوح ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر را می توان با ویژگی های فیزیولوژیکی اصلی سیتوکینین‌ها، که باعث تقسیم

سلولی و افزایش طول سلولی، افزایش وزن خشک و وزن تر اندام‌های هوایی و جوانه‌ها توضیح داد (Yakimova et al., 2021).

در رابطه با اثرات ساده استفاده از سطوح نیترات پتاسیم، نتایج حاکی از آن است که استفاده از سطوح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر این ماده نیز اثراتی مشابه CPPU داشتند و همانطور که مورد انتظار بود موجب افزایش صفات مورد نظر شدند.

اثر متقابل عوامل مورد استفاده بر هدایت روزنه‌ای نشان داد سطوح CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و بعد از آن در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات پتاسیم موجب افزایش هدایت روزنه‌ای شدند و بقیه سطوح تأثیر قابل توجهی نشان ندادند (جدول ۴). همبستگی مثبت بین هدایت روزنه‌ای و افزایش سرعت فتوسنتز گزارش شده است (Gashaw et al., 2019).

تیمار اثرمتقابل CPPU ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر همراه با سطوح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بعد از تیمارهای CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش سرعت فتوسنتز شدند. همچنین همه تیمارها بویژه اثرمتقابل CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مقاومت روزنه‌ای روزنه‌ها را کاهش دادند. در غلظت $CO_2$ زیر روزنه‌ای نیز ابتدا سطوح CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و بعد از آن در سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات پتاسیم موجب افزایش این صفت شدند (جدول ۴).

همانطور که می دانیم با تحلیل رفتن بنه های مادری، ریشه‌های بنه نقشی در جذب مواد غذایی ندارند و درشت‌تر شدن بنه دختری پس از این، مربوط به انتقال محتویات بنه مادر به بنه دختری و همچنین میزان فتوسنتز برگ‌ها می‌باشد. از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت استفاده از نیترات پتاسیم به عنوان ماده‌غذایی در غلظت مناسب موجب افزایش فتوسنتز می‌شود. هم‌چنین علاوه بر تأثیر فورکلرفنورون بر افزایش غلظت کلروفیل، مطالعات اخیر نشان داده‌اند که این محرک می‌تواند بهبود عملکرد فتوسنتز و رشد گیاهان را نیز تسهیل کند. به‌عنوان مثال، پژوهش‌های انجام شده روی گندم نشان داد که استفاده از فورکلرفنورون نه تنها موجب افزایش میزان کلروفیل شد بلکه باعث بهبود جذب نور و کارایی فتوسنتزی در شرایط تنش محیطی گردید. رمضان و همکاران (Ramazan et al., 2018) گزارش کردند که محلول ۳ درصد نیترات پتاسیم موجب بهبود جذب آب، افزایش تولید کلروفیل، و بهبود تبادل گازها در گیاه می‌شود که همگی به بهینه‌سازی فرآیند فتوسنتز کمک می‌کنند.

در گزارشی تبادل روزنه‌ای و نرخ تعرق در گیاهان پیش تیمار شده با CPPU بدون تغییر ماند (Gashaw et al., 2019). در بادمجان با استفاده از BA (یکی از اعضای سیتوکینین ها) ۱۰ میکرومولار تحت شرایط تنش شوری نرخ فتوسنتز خالص، سرعت تعرق و هدایت روزنه‌ای افزایش یافت (Wu et al., 2012). مطالعات قبلی تأثیر مثبت سیتوکینین بر رنگدانه‌های فتوسنتزی را گزارش کرده‌اند (Alsokari, 2017; Ogweno et al., 2010; Wu et al., 2012). به‌عنوان مثال، فتوسنتز خالص برگ‌های گوجه‌فرنگی پس از تیمار با CPPU در غلظت‌های ۱۰-۰/۱ میلی‌گرم و در شرایط مهار نوری، افزایش یافت (Ogweno et al., 2021). علاوه‌بر این، نشان داده شده است که نیترات پتاسیم باعث افزایش فعالیت ریبولوز بیس‌فسفات کربوکسیلاز (RuBisCO) نیز می شود که ممکن است ظرفیت فتوسنتزی را از این طریق بهبود بخشد (Tezuka et al., 1989).

جدول ٤- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل CPPU و $KNO_3$ بر صفات فیزیولوژیک زعفران

**Table 4- Mean comparisons for interaction effect of CPU × $KNO_3$ on physiological traits of saffron**

| سطوح CPPU CPPU level ($mg.l^{-1}$) | سطوح $KNO_3$ $KNO_3$ level ($mg.g^{-1}$) | نیتروژن برگ Leaf nitrogen ($g.kg^{-1}$) | نیتروژن بنه Corm nitrogen ($g.kg^{-1}$) | پتاسیم برگ Leaf potassium ($g.kg^{-1}$) | پتاسیم بنه Corm Potassium ($g.kg^{-1}$) | نشاسته برگ Leaf starch ($mg.g^{-1}$) | کربوهیدرات محلول برگ Leaf soluble carbohydrates ($mg.g^{-1}$) | نشاسته بنه Corm starch ($mg.g^{-1}$) | کربوهیدرات محلول بنه Corm soluble carbohydrates ($mg.g^{-1}$) | آنزیم بتا آمیلاز برگ Leaf beta-amylase enzym ($\mu g.g^{-1}$ protein.$min^{-1}$) | آنزیم گلوکز -ADP بنه پیروفسفوریلاز Corm ADP-glucose pyrophosphorylase ($\mu mol$ substrate.$min^{-1}$.$mg^{-1}$ protein) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 12.07 | 13.40 | 5.02 | 6.70 | 20.50 | 122.75 | 526.25 | 67.50 | 85.25 | 39.73 |
| | 250 | 12.02 | 13.43 | 5.00 | 6.71 | 22.25 | 126.25 | 527.50 | 67.00 | 89.75 | 40.57 |
| | 500 | 15.00 | 16.26 | 6.25 | 8.38 | 29.75 | 160.50 | 673.50 | 86.00 | 120.50 | 49.30 |
| | 1000 | 15.38 | 16.46 | 6.41 | 8.98 | 29.25 | 164.00 | 678.75 | 87.00 | 128.00 | 49.96 |
| 5/2 | 0 | 11.91 | 12.99 | 4.96 | 6.49 | 23.75 | 122.00 | 529.75 | 65.00 | 84.50 | 40.49 |
| | 250 | 12.25 | 13.34 | 5.10 | 6.67 | 23.75 | 124.00 | 533.75 | 69.50 | 83.25 | 41.80 |
| | 500 | 14.52 | 13.41 | 5.05 | 6.70 | 35/2 0 | 158.00 | 536.50 | 72.00 | 119.75 | 40.76 |
| | 1000 | 14.79 | 13.56 | 5.16 | 6.78 | 31.25 | 163.50 | 542.75 | 74.00 | 123.25 | 41.49 |
| 5 | 0 | 12.15 | 17.25 | 5.06 | 8.62 | 12.75 | 130.25 | 680.25 | 57.00 | 87.00 | 55.57 |
| | 250 | 12.22 | 13.87 | 5.09 | 6.93 | 18.00 | 133.75 | 555.00 | 67.50 | 83.25 | 42.69 |
| | 500 | 8.70 | 25.79 | 5.12 | 12.89 | 15.50 | 168.00 | 821.75 | 53.50 | 180.00 | 63.21 |
| | 1000 | 8.99 | 24.44 | 5.24 | 12.97 | 17.25 | 173.00 | 847.75 | 55.25 | 174.25 | 62.71 |
| 10 | 0 | 12.15 | 13.98 | 5.06 | 6.99 | 24.00 | 123.00 | 559.50 | 58.50 | 83.00 | 43.28 |
| | 250 | 12.61 | 14.38 | 5.25 | 7.19 | 25.00 | 124.00 | 565.50 | 60.75 | 84.00 | 42.99 |
| | 500 | 12.80 | 14.13 | 5.33 | 7.06 | 26.25 | 133.00 | 575.25 | 61.00 | 80.00 | 43.49 |
| | 1000 | 12.20 | 14.48 | 5.08 | 7.24 | 25.75 | 135.00 | 583.25 | 65/2 0 | 48.75 | 43.11 |
| LSD 0.05 | | 0.523 | 0.964 | 0.265 | 0.508 | 1.428 | 4.265 | 8.133 | 4.252 | 6.969 | 2.236 |

ادامه جدول ٤- مقایسه میانگین های اثر متقابل CPPU و $KNO_3$ بر صفات فیزیولوژیک زعفران

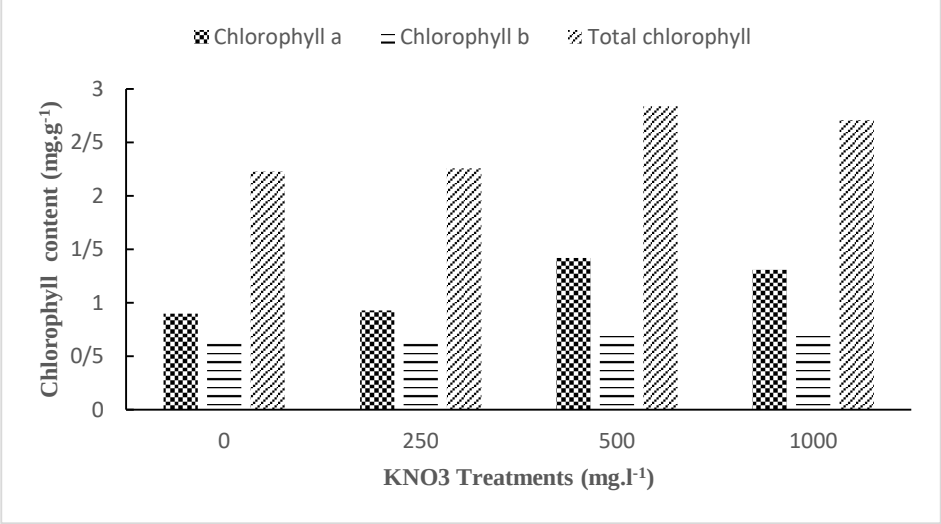
**Continued Table 4 - Mean comparisons for interaction effect of CPU × $KNO_3$ on physiological traits of saffron**

| سطوح CPPU CPPU level (mg.l-1) | سطوح $KNO_3$ $KNO_3$ level (mg.l-1) | هدایت روزنه‌ای Stomatal conduction (mmol.m-2.s-1) | سرعت فتوسنتز Photosynthesis rate (µmol CO2.m-2.s-1) | مقاومت روزنه‌ای Stomatal resistance (m2.s-1.mol-1) | سرعت تعرق Respiration Rate (mmol.m-2.s-1) | غلظت $CO_2$ زیر روزنه‌ای Substomatal $CO_2$ concentration (mmol.mol-1) | کلروفیل a Chlorophyll a (mg.g-1) | کلروفیل b Chlorophyll b (mg.g-1) | کلروفیل کل Total chlorophyll (mg.g-1) | آنتوسیانین Anthocyanin (mg.g-1) | فلاونوئیدها Flavonoids (µg.g-1 quercetin) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 0.22 | 4.17 | 3.35 | 1.35 | 225.68 | 0.92 | 0.62 | 2.24 | 20.31 | 20.50 |
| | 250 | 0.23 | 4.17 | 3.31 | 1.36 | 233.17 | 0.91 | 0.63 | 2.25 | 21.02 | 22.25 |
| | 500 | 0.28 | 5.29 | 2.65 | 1.35 | 287.36 | 1.39 | 0.77 | 2.86 | 21.31 | 29.75 |
| | 1000 | 0.29 | 5.24 | 2.64 | 1.36 | 295.45 | 1.38 | 0.75 | 2.83 | 19.93 | 29.25 |
| 5/2 | 0 | 0.22 | 4.17 | 3.34 | 1.36 | 230.34 | 0.89 | 0.62 | 2.22 | 20.11 | 23.75 |
| | 250 | 0.22 | 4.18 | 3.33 | 1.35 | 228.50 | 0.83 | 0.62 | 2.16 | 19.81 | 23.75 |
| | 500 | 0.29 | 5.69 | 2.71 | 1.35 | 295.73 | 1.50 | 0.74 | 2.95 | 20.36 | 35/2 0 |
| | 1000 | 0.28 | 5.69 | 2.68 | 1.35 | 287.90 | 1.29 | 0.75 | 2.74 | 20.36 | 31.25 |
| 5 | 0 | 0.22 | 4.18 | 3.34 | 1.36 | 223.48 | 0.98 | 0.63 | 2.31 | 21.06 | 12.75 |
| | 250 | 0.22 | 4.20 | 3.34 | 1.36 | 229.20 | 1.06 | 0.63 | 2.39 | 20.96 | 18.00 |
| | 500 | 0.39 | 7.59 | 2.21 | 1.36 | 404.71 | 1.86 | 0.74 | 3.31 | 21.06 | 15.50 |
| | 1000 | 0.37 | 7.43 | 2.09 | 1.35 | 375.15 | 1.74 | 0.74 | 3.19 | 22.16 | 17.25 |
| 10 | 0 | 0.27 | 4.61 | 2.65 | 1.35 | 282.03 | 0.82 | 0.61 | 2.13 | 20.53 | 24.00 |
| | 250 | 0.27 | 4.76 | 2.86 | 1.36 | 281.47 | 0.93 | 0.61 | 2.24 | 20.50 | 25.00 |
| | 500 | 0.30 | 4.97 | 2.75 | 1.35 | 310.70 | 0.95 | 0.60 | 2.26 | 21.25 | 26.25 |
| | 1000 | 0.31 | 4.85 | 2.74 | 1.36 | 317.91 | 0.83 | 0.56 | 2.09 | 21.05 | 25.75 |
| LSD 0.05 | | 0.008 | 0.125 | 0.056 | 0.006 | 11.723 | 0.106 | 0.011 | 0.108 | 0.059 | 0.295 |

**بررسی اثرات تیمارها بر رنگدانه‌های فتوسنتزی**

نتایج تجزیه واریانس نشان داد هریک از اثرات ساده کاربرد CPPU و نیترات پتاسیم و اثر متقابل آن‌ها بر میزان کلروفیل $a$ ،$b$ و کلروفیل کل و فلاونوئیدهای زعفران معنی‌دار ($p< 0.01$) بود. اما هیچ کدام از اثرات اصلی و متقابل آن‌ها بر آنتوسیانین‌ها معنی‌دار نبودند (جدول ۳). استفاده از نیترات پتاسیم ابتدا در سطح ۵ و سپس در سطح ۱۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش میزان کلروفیل $a$، $b$ و کلروفیل کل شد ولی اثر آن بر فلاونوئیدها در این دو سطح یکسان بود و هر دو به یک میزان نسبت به شاهد، موجب افزایش این صفات شدند ( شکل ۳ و جدول ۴). غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر CPPU موجب کاهش کلروفیل $a$، $b$ و کلروفیل کل شد و غلظت ۵ آن موجب افزایش کلروفیل $a$ و فلاونوئیدها شد ولی روی کلروفیل $b$ بی‌تأثیر بود. فورکلرفنورن یک شبه سیتوکینین بسیار فعال است که بیوسنتز کلروفیل، تقسیم سلولی و رشد سلولی را افزایش می‌دهد در گزارشی آمده است میزان فلاونوئیدها و پتاسیم در غلظت ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم از فورکلرفنورن بالاتر از تیمار کنترل بود (Hossain et al., 2023).

در میان اثرات متقابل، تیمارهای سطوح CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش کلروفیل a و کلروفیل کل و تیمار CPPU صفر و نیترات پتاسیم ۵۰۰ موجب افزایش کلروفیل $b$ گردیدند (جدول ۴).




**شکل ۳- مقایسه میانگین اثر اصلی نیترات پتاسیم ($KNO_3$) بر محتوی کلروفیل *a*، *b* و کلروفیل کل برگ**

**Figure 3- Mean comparisons of the main effect of $KNO_3$ (mg.l$^{-1}$) on the content of chlorophyll *a*, *b*, and total chlorophyll in the leaves (mg.g$^{-1}$).**

LSD 0.05 Chlorophyll *a* = 0.106, LSD 0.05 Chlorophyll *b* = 0.011 and LSD 0.05 Total Chlorophyll = 0.108.

رنگدانه‌های فتوسنتزی کمپلکس‌های مهم جمع‌آوری نور هستند که انرژی نورانی را برداشت و به مواد شیمیایی به صورت ATP و NADPH در واکنش نوری فتوسنتزی تبدیل می کنند. بنابراین، پایداری رنگدانه‌های فتوسنتزی، جذب $CO_2$ و بسته شدن روزنه در گیاهان تحت تنش شوری توسط CPPU در تحقیقات مورد توجه قرار گرفته است. فورکلرفنورن و نیترات

پتاسیم باعث افزایش قابل توجه محتوای کلروفیل شدند که مستقیماً منجر به افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول در برگ‌ها شد.

گزارش شده است که CPPU در رقم حساس به شوری برنج هندی موجب شد تا رنگدانه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل *a*، کلروفیل *b*، کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای کل حفظ شوند که در نتیجه منجر به نرخ خالص فتوسنتزی بالاتر در شرایط تنش می شود. نقش محرک فورکلرفنورون در افزایش غلظت کلروفیل پیشتر توسط وو و همکاران (Wu et al., 2012) روی گندم و کیوی و توسط کشیوکوما و همکاران (Kishikawa et al., 2018) روی سیب‌زمینی گزارش شده است. در گزارشی بالاترین مقادیر غلظت کلروفیل در CPPU ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم مشاهده شد (Mafeh & Hegazi, 2010). اثر CPPU بر غلظت کلروفیل توسط فلچر و آرنولد (Flacher & Arnold, 2016) بر روی خیار، چرنیادف و ماناکوا (Chernyad'ev & Manakova, 2018) بر روی گیاهان گندم؛ آنتوگنزی و همکاران (Antognozzi et al., 2010) در کیوی و کیشیکاوا و همکاران (Kishikawa et al., 2014) در سیب زمینی مورد تایید قرار گرفت. همچنین در جایی دیگر آمده است که محتوای کلروفیل در میوه‌های تیمار شده با CPPU در کیوی (Antognozzi et al., 2020b) و سیب‌زمینی (Amal et al., 2010) بیشتر بود. در گزارشی دیگر، بیشترین وزن و اندازه میوه سیب و محتوای کلروفیل با فورکلرفنورن ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم به دست آمد. همچنین موثرترین غلظت فورکلرفنورن برای زودرسی میوه نیز ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم بود (Hossain et al., 2023). بالاترین میزان غلظت کلروفیل در گیاهان سیب‌زمینی تیمار شده با فورکلرفنورون با غلظت ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم و در ۶۰ و ۸۰ روز پس از کاشت طی دو فصل زراعی مشاهده شد (Mafeh & Hegazi, 2010). تحقیقی به‌منظور بررسی اثر ترکیبات سیتوکینینی مانند بنزیل آمینو پورین (BAP)، ۲-کلرو-۴-پیریدیل-N-فنیل اوره (CPPU) و نیترات پتاسیم بر خربزه (*Cucumis melo* L.) انجام شد. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل *a*، *b* و کل کلروفیل در غلظت ۵ میلی گرم بر کیلوگرم CPPU ثبت شده است (Chaurasiya et al., 2016). همچنین گزارش شده است که کینتین (۰/۱ میلی‌مولار) که از خانواده سیتوکینین‌هاست، به‌عنوان تثبیت‌کننده رنگدانه‌های کلروفیل *a*، کلروفیل *b* و کل کلروفیل در یک واریته از چای تحت تنش شوری عمل کرده است (Alsokari, 2017).

در گیاهان تیمار شده با فورکلرفنورن، ممکن است افزایش محتوای آبسیزیک اسید و سیتوکینین برگ‌ها، مسئول افزایش میزان کلروفیل باشد (Wang & Xiao, 2009). از طرفی افزایش محتوای کلروفیل و ساکاروز در برگ‌ها به همراه تأخیر در پیری برگ می‌تواند موجب بهبود انتقال فتواسیمیلات به بنه‌ها شود.

در گزارشی با مصرف ۵۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن بیشترین مقدار کلروفیل *b* در زعفران حاصل شد و کمترین میزان آن نیز در تیمار شاهد به‌دست آمد. با افزایش مقدار کود نیتروژن بر مقدار کلروفیل *b* افزوده شد. نتایج نشان داد کلروفیل به مواد مغذی مانند نیتروژن وابسته است و افزایش نیتروژن اثر معنی‌داری بر مقدار کلروفیل *b* برگ دارد (Heidari et al., 2014). پنولاس و همکاران (Penuelas et al., 1994) نیز نشان داده‌اند که محدودیت نیتروژن محرک کاهش محتوای کلروفیل می‌باشد.

### بررسی اثرات تیمارها بر نشاسته وکربوهیدرات‌های محلول برگ

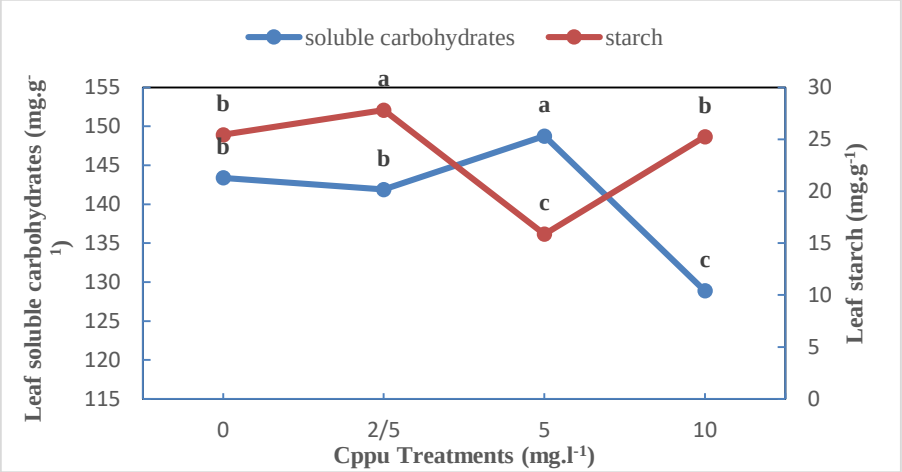
نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثرات ساده کاربرد CPPU و نیترات‌پتاسیم و اثر متقابل آن‌ها بر نشاسته وکربوهیدرات‌های محلول برگ معنی‌دار ($p< 0.01$) بود (جدول ۳). سطح ۵

میلی‌گرم در لیتر CPPU موجب افزایش کربوهیدرات‌های محلول برگ شد ولی همین سطح موجب کاهش ۳۸ در صدی نشاسته برگ نسبت به شاهد شد. سطح ۱۰ آن موجب کاهش کربوهیدرات‌های محلول برگ شد ولی روی نشاسته تأثیری نداشت (شکل ۴). نیترات پتاسیم ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش کربوهیدرات‌های محلول و هر دو سطح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر آن موجب افزایش نشاسته برگ شد. در رابطه با اثرمتقابل این دو عامل نیز نتایج مشابه بود و تیمارهای سطوح CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر موجب افزایش ۴۰ درصدی کربوهیدرات‌های محلول برگ و کاهش ۲۸ درصدی نشاسته برگ شدند. بیشترین نشاسته برگ در تیمار CPPU ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر و سطح نیترات پتاسیم۵۰۰ و کم‌ترین آن در تیمارهای سطوح CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد (جدول ۴). این امر نشان می‌دهد غلظت بالاتر فورکلرفنورن ۵ میلی‌گرم در لیتر نسبت به ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر نقش بیشتری در انتقال نشاسته برگ به بنه‌ها داشته است. در واقع در این بررسی تیمار CPPU الگوی کلی انباشت کربوهیدرات را تغییر نداد، اما باعث افزایش مقدار کل کربوهیدرات‌های محلول شد، که نشان داد رشد بیشتر بوته‌های تیمار شده با مقدار بیشتر قندهای محلول همراه است.

مطاله ای روی زعفران نشان داد در برگ‌ها، سطح کل قندهای محلول تا اواسط اردیبهشت نسبتاً ثابت باقی می‌ماند، اما کمی قبل از خشک شدن کامل برگ‌ها، کاهش قابل توجهی در محتوای قندهای محلول آن رخ می‌دهد. با این حال، محتوای نشاسته برگ از آذر تا اردیبهشت به طور مداوم کاهش یافت. با این حال، لازم به ذکر است که در اواسط فروردین، زمانی که بنه‌های دختری به حداکثر وزن خشک خود رسیدند، افزایش جزئی در سطح نشاسته مشاهده شد که دلیل آن کاهش مقطعی تقاضی بنه ها بود. با تجزیه و تحلیل مقادیر مطلق محتوای قندهای محلول و نشاسته در اندام‌های مختلف و تقسیم آن‌ها در طول زمان، مشاهده شد که قبل از اوایل بهمن، بیشترین نشاسته در بنه مادری وجود داشت، اما در اواخر بهمن بیش از ۹۰ در صد از کل نشاسته در بنه دختری مشاهده شد. محتوای نشاسته برگ‌ها در بهترین حالت ۸ درصد از کل محتوای نشاسته را نشان داد. بالاترین نسبت از کل قندهای محلول برگ‌ها بین اوایل بهمن و اواسط فروردین یافت شد. از این نقطه به بعد، بیش از ۵۰ در صد و تا ۸۲ در صد از کل قندها در بنه دختری یافت شد (Pallotti et al., 2024). هم‌چنین، آن‌ها دریافتند که غلظت بالای سیتوکینین باعث افزایش میزان قندهای محلول و کاهنده در برگ می‌شود.

هم‌چنین در گزارش دیگری کاربرد برگی فورکلرفنورن به همراه محلول پاشی کودی به طور معنی‌داری موجب افزایش تولید و عملکرد میوه در گیاه ماکادمیا شد. کربوهیدرات برگ و ساقه و قندهای محلول برگ گیاه ماکادمیا پس از مصرف فورکلرفنورن به مدت ۶۵ روز، ابتدا روند کاهشی و سپس روند افزایشی را نشان دادند. اگرچه میزان آن طی روند افزایشی از میزان قندهای محلول کل در تیمار شاهد کمتر بود، این امر نشان‌دهنده تسریع در استفاده و صادر کردن کربوهیدرات‌ها از برگ و در نتیجه کاهش میزان قندهای برگ می‌باشد. میزان قندهای محلول کل در ساقه گیاه ماکادمیا ۲۱ روز پس از مصرف فورکلرفنورن افزایش یافت، ولی در کل تغییر چندانی در روند میزان قندهای محلول ساقه ایجاد نشد. نشاسته ساقه ۷ روز پس از تیمار فورکلرفنورن نسبت به شاهد کاهش یافت، ولی روند افزایشی آن در ۳۵ و ۶۵ روز پس از تیمار مشاهده شد. این نتایج نشان می‌دهد اسپری برگی فورکلرفنورن سبب افزایش تجمع کربوهیدرات در ساقه می شود (Zeng et al., 2016). در تحقیق دیگری بر زعفران گزارش کردند که استفاده از ۶-بنزیل‌آمینوپورین به‌عنوان سیتوکینین محتوای کربوهیدرات

محلول کل در بنه‌ها را افزایش داد (Ghorbani et al., 2022).




**شکل ٤- مقایسه میانگین اثر اصلی فورکلرفنورن (CPPU) بر محتوی نشاسته و کربوهیدرات‌های محلول برگ‌ها**

**Figure 4- Mean comparisons of the main effect of CPPU (mg.l$^{-1}$) on starch and soluble carbohydrates content of leaves (mg.g$^{-1}$).**

LSD 0.05 leaves soluble carbohydrates = 4.265, LSD 0.05 leaves starch= 1.428

**بررسی اثرات تیمارها بر نشاسته و کربوهیدرات‌های محلول بنه**

نتایج ارائه شده بیانگر تأثیر معنی‌دار اثر ساده CPPU و نیترات پتاسیم و اثرمتقابل آن‌ها در سطح احتمال یک در صد بر محتوی نشاسته و کربوهیدرات‌های محلول بنه بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد کلیه سطوح فورکلرفنورن موجب کاهش معنی‌دار کربوهیدرات‌های محلول بنه شد ( شکل ۵). ممکن است این موضوع به‌دلیل تقاضای زیاد تجمع نشاسته در اواخر دوران رشد بنه دختری و در نتیجه مصرف غالب محتوی کربوهیدرات‌های محلول منتقل شده به بنه با شد. همان‌طور که در زعفران رابطه غیرمستقیم بین کربوهیدرات‌های محلول بنه دختری و میزان نشاسته مورد بررسی قرار گرفته است (Pallotti et al., 2024). از طرفی تمامی سطوح نیترات پتاسیم به‌ویژه غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، موجب افزایش کربوهیدرات‌های محلول و هم‌چنین نشاسته در بنه شدند.

مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد کمترین میزان کربوهیدرات های محلول بنه در تیمارهای سطوح CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطوح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین آن در تیمارهای عدم مصرف فورکلرفنورن با نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ به‌دست آمد.

اما اثرات متقابل عوامل مورد بررسی بر میزان نشاسته بنه‌های دختری در این تحقیق بسیار حائز اهمیت هستند و نشان دهنده تأثیر آن ها بر وزن نهایی بنه های دختری قبل از خواب تابستانه بنه‌ها می‌باشد و میزان قدرت گل‌آوری، تعداد گل در هر بوته و وزن و کیفیت کلاله زعفران را تا حدود زیادی تعیین می‌کند. نتایج مقایسه میانگین عوامل نشان داد اکثر تیمارها موجب افزایش نشاسته بنه شدند. بیشترین میزان نشاسته مربوط به تیمارهای سطوح CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود و تیمارهایی که دارای فورکلرفنورن با غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر بودند، تأثیر اندکی بر افزایش نشاسته داشتند (جدول ۳). شاید به‌دلیل غلظت نسبتاً بالا کارایی مناسبی در حد غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر نداشته‌اند.

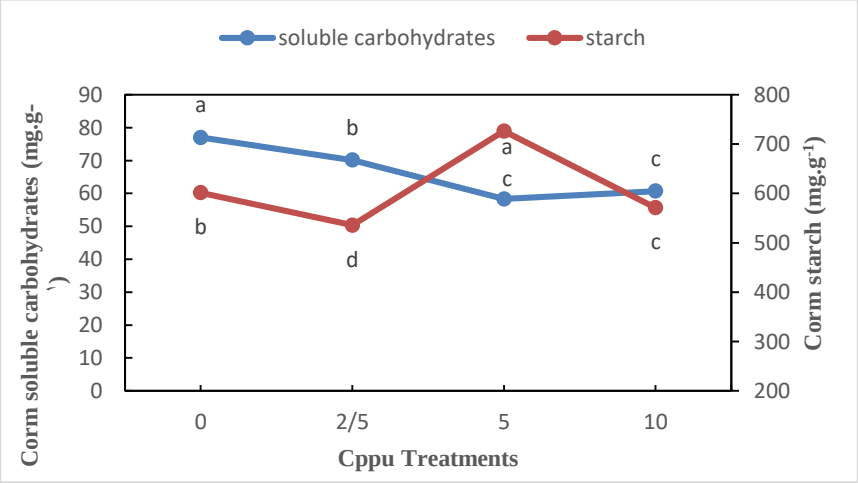
در تحقیقی به وضوح نشان داده شد که CPPU در تیمارهای ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور قابل توجهی غلظت کل کربوهیدرات‌های محلول را در بافت غده سیب‌زمینی در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش دادند (Mafeh & Hegazi, 2010).

پار تا زاراتی و همکاران (Parthasarathy et al., 2002) نیز دریافتند که غلظت بالای سیتوکینین ها باعث کاهش میزان فنل کل و افزایش همزمان قندهای محلول و قندهای کاهنده شد.

مطالعات زیادی در رابطه با افزایش محتوای قندهای محلول پس از تیمار با CPPU در درختان میوه گزارش شده است. به عنوان مثال، محتوای فروکتوز و ساکارز در آب میوه هندوانه با محلول پاشی فورکلرفنورن ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم در زمان گرده‌افشانی افزایش یا فت (Hayata & Niimi, 1995). هم‌چنین، در خربزه، میزان ساکارز با استفاده از ۲۰ میلی‌گرم در لیتر CPPU به اوج خود رسید (Kano, 2005). به‌طور مشابه، میزان گلوکز، فروکتوز و محتوای جامد محلول در آب میوه کیوی با فورکلرفنورن ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دو هفته پس از گل‌دهی کامل بالاتر از شاهد (بدون CPPU) بود (Antognozzi et al., 2020a).

آزمایشی به‌منظور ارزیابی تأثیر فورکلرفنورن بر تجمع و متابولیسم کربوهیدرات و عملکرد میوه کیوی پس از برداشت انجام شد. نتایج نشان داد در طول دوره تجمع نشاسته، میوه‌های تیمار شده محتوای نشاسته بالاتر و فعالیت ADP گلوکز-پیروفسفوریلاز بالاتری را نشان دادند و تجمع نشاسته در میوه‌های تیمار شده زودتر از میوه‌های شاهد شروع شد (Antognozi et al., 2020). در گزارشی، استفاده از CPPU با غلظت ۱ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر، غلظت‌های نشاسته را در پیازچه‌های *Lycoris aurea* L. افزایش داد. این نتایج نشان داد که غلظت مناسب CPPU که به صورت اسپری برگی اعمال می‌شود، می‌تواند به تجمع سریع‌تر نشاسته و بزرگ‌تر شدن پیازچه‌ها کمک کند (She et al., 2014).

در پژوهش دیگری اثرات پرایمینگ تنظیم‌کننده‌های رشدی بر بنه‌های زعفران قبل از کاشت با استفاده از ۶-بنزیل‌آمینوپورین به عنوان سیتوکینین و اسید جیبرلیک بر کمیت و کیفیت زعفران مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش نشان داد که کربوهیدرات‌های محلول کل بنه ممکن است نقش مهمی در کیفیت زعفران در طول دوره گل‌دهی داشته باشند زیرا غلظت‌های بالاتری از ترکیبات کروسین، پیکروکروسین و سافرانال در کلاله و محتوای آنتوسیانین در گلبرگ‌ها تحت کاربرد ۶-بنزیل‌آمینوپورین و اسید جیبرلیک مشاهده شد. در نهایت، این پژوهش نشان داد که افزایش عملکرد و کیفیت گل‌های زعفران با افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها در بنه که ناشی از کاربرد سیتوکینین است، مرتبط است (Ghorbani et al., 2022).




**شکل ۵- مقایسه میانگین اثر اصلی فورکلرفنورن (CPPU) بر محتوی نشاسته و کربوهیدرات‌های محلول بنه‌های دختری**

**Figure 5- Mean comparisons of the main effect of CPPU (mg.l$^{-1}$) on starch and soluble carbohydrates content of daughter corms (mg.g$^{-1}$).** LSD 0.05 corm soluble carbohydrates = 4.252, LSD 0.05 corm starch= 8.133.

**بررسی اثرات تیمارها بر آنزیم بتا آمیلاز برگ**

هر دو آنزیم آمیلاز و نشاسته فسفوریلاز در تجزیه نشاسته در طول رشد بنه های زعفران نقش دارند. تاکنون تحقیقات بسیار اندکی در رابطه با این آنزیم‌ها در زعفران انجام شده است که فقط در مرحله گل‌دهی و در مرحله برداشت و خواب بنه بوده است. در تحقیق ما برای اولین بار این آنزیم‌ها در ارتباط با میزان نشاسته و کربوهیدرات‌های محلول بنه‌های دختری مورد بررسی قرار گرفتند. همان‌طور که در جدول تجزیه واریانس مشاهده می شود، اثر ساده عوامل مورد استفاده و اثرمتقابل بین آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم بتا آمیلاز برگ در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، تنها CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش میزان فعالیت آن در برگ شد و سطح ۱۰ میلی‌گرم در لیتر موجب کاهش آن شد و سطح ۲/۵ نیز تأثیر معنی‌داری بر آن نداشت. اثر اصلی نیترات پتاسیم نیز نشان داد سطوح ۱۰۰۰ و به‌ویژه ۵۰۰ موجب افزایش این صفت شدند.

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نیز نشان داد بیشترین میزان فعالیت در تیمارهای سطوح CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. به‌طوری که موجب افزایش دو برابری آن شد. سایر تیمارها بجز تیمارهای نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ در سطوح فورکلرفنورن صفر و ۲۵۰ تأثیری بر این صفت نداشتند (جدول ۴).

درمطالعه‌ای دیگر در مقایسه با گروه کنترل P0 (میانگین ۴۸,۰۲ میکروگرم بر گرم پروتئین در دقیقه)، فعالیت بتا-آمیلاز در پیازچه‌های سوسن عنکبوتی در تیمارهای با میانگین ۱۹۰/۸۷ و ۱۴۴/۱۵ میکروگرم بر گرم پروتئین در دقیقه، به‌ترتیب به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.05$) افزایش یافت. بالاترین فعالیت بتا-آمیلاز در پیازچه‌های تیمار P3 مشاهده شد که ۳/۹۸ برابر بیشتر از شاهد بود (She et al., 2014).

در تحقیقی بر روی تأثیر فورکلرفنورن روی رشد، عملکرد و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز زعفران، اسپری برگی ۵۵ و ۷۵ روز بعد از کاشت انجام شد. در این تحقیق، افزایش کربوهیدرات‌های محلول کل و افزایش در فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در زمان برداشت و دو هفته پس از آن در هر دو فصل زراعی گزارش شد (Nafah Amal & Hegazi Amira, 2010). این نتایج با نتایج هاگمن و هاپلا (Häggman & Haapala, 2008) که اشاره بر این داشت که ۶-بنزیل آمینوپورین به عنوان یک سیتوکینین موجب افزایش قابل توجهی در فعالیت آمیلاز شد که این امر با غلظت نسبتا بالای نشاسته در کلروپلاست‌ها و کاهش فعالیت آمیلاز در گیاهان ضعیف رشد همراه بود، منطبق بود.

**بررسی اثرات تیمارها بر آنزیم ADP- گلوکز پیروفسفوریلاز بنه**

تجمع نشاسته به میزان در دسترس بودن کربوهیدرات‌ها برای ذخیره و کنترل آنزیم‌های درگیر در بیوسنتز آن بستگی دارد. آنزیمی که سنتز نشاسته را در بیشتر سیستم‌های گیاهی کنترل می‌کند، آنزیم ADP-گلوکز پیروفسفوریلاز (AGP) است. فعالیت و تنظیم AGP به عنوان نقطه کلیدی تنظیمی در سنتز نشاسته در نظر گرفته می‌شود. این آنزیم سنتز نشاسته را با کاتالیز کردن تشکیل آدنوزین دی‌فسفات گلوکز (پیش‌ساز نشاسته) کنترل می‌کند. از این‌رو تیمار با CPPU باعث شروع تجمع سریع نشاسته و افزایش حداکثر نرخ تجمع نشاسته می‌شود. این موضوع نشان می‌دهد که در وحله اول پس از تیمار با CPPU، در دسترس بودن کربوهیدرات‌ها برای ذخیره شدن به صورت نشاسته افزایش می‌یابد و در وحله دوم فعالیت AGP در میوه‌های تحت تیمار نسبت به نمونه کنترل سریع‌تر و بیشتر افزایش پیدا می‌کند (Moscatello et al., 1995).

نتایج نشان داد اثر ساده CPPU و نیترات پتاسیم و اثرمتقابل

آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر میزان فعالیت آنزیم ADP-گلوکز پیروفسفوریلاز (AGP) بنه معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش میزان فعالیت این آنزیم در بنه شد و بقیه سطوح آن را کاهش دادند. این امر به‌دلیل غلظت مناسب CPPU برای سنتز و فعالیت این آنزیم کلیدی می‌باشد. نیترات پتاسیم نیز در سطوح ۵۰۰ و ۱۰۰۰ همین تأثیر را بر فعالیت آنزیم نشان داد. اثرمتقابل در تیمارهای سطوح CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش ۵۸ درصدی فعالیت آن نسبت به شاهد شدند. پس از آن تیمار CPPU ۵ میلی‌گرم در لیتر در سطح نیترات پتاسیم صفر میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش ۳۷ درصدی آن شد. اکثر سطوح دیگر یا بی‌تأثیر بودند و یا به‌دلیل غلظت نامناسب موجب کاهش فعالیت آن شدند.

در بیشتر سیستم‌های گیاهی، سنتز نشاسته توسط تغییرات در فعالیت آنزیم ADP-گلوکز پیروفسفوریلاز (AGP) و حتی به‌طور موثرتر، با مدلاسیون آلوستریک، ۳-فسفوگلیسرات (۳-PGA) به‌عنوان فعال‌کننده و فسفات معدنی (Pi) به‌عنوان بازدارنده تنظیم می‌شود محتوای نشاسته بالاتر در میوه های تیمار شده (محتوای نشاسته در میوه‌های شاهد ثابت ماند) نشان‌دهنده تغییر زودتر متابولیسم کربوهیدرات به سمت تجمع نشاسته در میوه های تیمار شده نسبت به میوه‌های شاهد است. این شواهد با فعالیت بالاتر AGP اندازه‌گیری شده در میوه‌های تیمار شده مطابقت دارد (Preiss, 2020). باتیستلی و همکاران (Battistelli et al., 2010) نشان دادند که در طول رشد کیوی، فعالیت AGP می‌تواند چندین بار قبل از شروع تجمع سریع نشاسته افزایش یابد. در جای دیگری محققان نشان دادند مطابق با نرخ بالاتر تجمع نشاسته، فعالیت AGP در میوه‌های تحت تیمار با CPPU نسبت به میوه‌های شاهد، بالاتر و با نرخ بیشتری افزایش یافت. علاوه‌بر این، فعالیت AGPase در پیازچه های گیاه لیلیوم تیمار شده با CPPU به طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود (She et al., 2014).

در گزارشی اثر غلظت‌های مختلف فورکلرفنورن از طریق محلول‌پاشی بر برگ‌های سبز گیاه *Lycoris aurea* L. (سوسن عنکبوتی) بررسی شد. خصوصیاتی از جمله غلظت کربوهیدرات‌ها، فعالیت آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم نشاسته، تنظیم کننده‌های رشد بنه‌ها در مرحله خواب مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بین وزن بنه‌ها و غلظت نشاسته همبستگی مثبت وجود داشت و غلظت‌های ۱ میلی‌گرم در لیتر و ۲ میلی‌گرم در لیتر CPPU نسبت به شاهد موجب افزایش معنی‌دار وزن بنه‌ها شد و سنتز نشاسته در آن‌ها افزایش پیدا کرد (She et al., 2014).

**بررسی اثرات تیمارها بر صفات کیفی گل**

ارزش کیفی زعفران به علت وجود متابولیت‌های ثانویه اصلی و مشتقات آن می‌باشد. ترکیبات زردرنگ کروسین مسئول رنگ زعفران، مواد تلخ پیکروکروسین مسئول طعم و سافرانال مسئول عطر و بوی آن می‌باشد (Omidi et al., 2009). نتایج استفاده از CPPU و نیترات پتاسیم بر عوامل مؤثر بر کیفیت کلاله زعفران به این صورت بود که اثرات ساده و متقابل عوامل مورد استفاده بر کروسین در سطح احتمال یک در صد معنی‌دار بود. اثر CPPU بر پیکروکروسین در سطح احتمال یک در صد و اثر نیترات پتاسیم و همچنین اثر متقابل آن ها در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود. اثر ساده CPPU و اثرمتقابل آن با نیترات پتاسیم بر کروسین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی اثر ساده نیترات پتاسیم معنی‌دار نبود (جدول ۲). میزان سافرانال، کروسین و پیکروسین در تیمار اثرمتقابل CPPU ۵ و نیترات پتاسیم ۱۰۰۰ نسبت به بقیه تیمارها افزایش بیشتری نشان داد. میزان سافرانال در تیمار CPPU ۲/۵ و نیترات پتاسیم ۵۰۰ کاهش پیدا کرد (جدول ۵). در گزارشی اثر محلول‌پاشی پتاسیم،

میزان کروسین و پیکروکروسین از سطح شاهد به سطح ۱۰ در هزار، به ترتیب به میزان ۱۸ و ۱۳ درصد و سافرانال از سطح شاهد به سطح ۵ در هزار و ۱۰ در هزار، به میزان ۳۰ و ۴۸ درصد افزایش معنی‌داری دا شت. (Tabatabaeian et al., 2020). در مطالعه دیگری تیمارهای کودی موجب افزایش میزان پیکروکروسین گردید (Omidi et al., 2009). در بررسی محلول‌پاشی پتاسیم، روی و آهن در زعفران طی دو سال زراعی، مقایسه میانگین‌ها نشان داد پتاسیم نسبت به عنصر غذایی آهن ۶۶ درصد عملکرد بهتری را نشان داد و با افزایش غلظت کود های مورد استفاده پیکروکروسین نیز افزایش یا فت (Akbarian et al., 2020). مطالعات انجام شده روی نقش تغذیه ای پتاسیم (در محصولات ادویه‌ای) نشان داده است پتا سیم بعد از نیتروژن مهم‌ترین عنصر غذایی برای ر شد و نمو می‌باشد (Naghdibadi, 2011).

## نتیجه‌گیری

تأثیر فورکلرفنورن روی غلظت کربوهیدرات‌ها در تحقیقات متعددی مورد توجه قرار گرفته است. زونژنیا (Zongenia, 2007) گزارش کرد که سیتوکینین‌ها موجب تحریک رشد، افزایش عملکرد منابع فعال برگ‌ها به دلیل تحریک توسعه برگ‌ها، افزایش میزان فتوسنتز، تغییر در تعادل بین فرم‌های تبادلی و ذخیره‌ای فتواسیمیلات‌ها، افزایش ساکاروز و فعال کردن برنامه های ژنتیکی و عملکرد اندام های منبع و مخزن می‌باشد.

تاکنون تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر تخصیص ذخایر کربوهیدرات در اجزای مختلف گیاه زعفران و عوامل داخلی تجمع کربوهیدرات در بنه‌ها مورد بررسی قرار نگرفته است. آزمایش ما تأیید کرد که برهم کنش همزمان تنظیم‌کننده رشد گیاهی فورکلرفنورن و کود نیترات پتاسیم می‌تواند موجب تحریک افزایش تخصیص کربوهیدرات‌ها و نشاسته در بنه‌های دختری به‌ویژه طی دوره رشد نمایی آن‌ها شد و محتوای آن‌ها را نه‌تنها در برگ ها بلکه در بنه های دختری نیز افزایش دهد. استفاده از نیترات پتاسیم با افزایش میزان فتوسنتز و سنتز پروتئین (Grossmann, 1990) و سایر پارامترهای ذکر شده، موجب رشد کافی برگ‌ها در بازه زمانی که رشد برگ زعفران پس از به حداکثر رسیدن، رو به کاهش می گذارد (Pallotti et al., 2024) موجب شروع تجمع فتواسیمیلات‌ها در برگ‌ها شد. این اسیمیلات‌ها به سمت بنه ها بازگشته و به نشاسته تبدیل شدند. بنابراین، دوره فتوسنتز افزایش یافت و از این راه موجب تسهیل افزایش نشاسته در بنه‌ها شد.

همچنین فورکلرفنورن و نیترات پتاسیم باعث افزایش قابل توجه محتوای کلروفیل شدند که مستقیماً منجر به افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها در برگ‌ها شد. برای گیاهان تیمار شده با فورکلرفنورن، ممکن است افزایش سیتوکینین در برگ‌ها مسئول افزایش میزان کلروفیل باشد (Wang & Xiao, 2009). علاوه‌بر این، نشان داده شده است که نیترات پتاسیم باعث افزایش فعالیت ریبولوز بیس‌فسفات کربوکسیلاز (RuBisCO) نیز می‌شود که ممکن است ظرفیت فتوسنتزی را از این طریق بهبود بخشد (Tezuka et al., 2012). همان‌طور که می‌دانیم افزایش محتوای کلروفیل و ساکاروز در برگ‌ها، به همراه تأخیر در پیری برگ، می‌تواند موجب بهبود انتقال فتواسیمیلات به بنه‌ها شود (Abdul Jaleel et al., 2007).

از سوی دیگر، تیمار با فورکلرفنورن بیان یا فعالیت آنزیم مرتبط با سنتز نشاسته از جمله AGP را تغییر و افزایش داد. در گزارشات دیگر تأثیر فورکلرفنورن بر برخی آنزیم‌ها آمده است. به‌عنوان مثال، فعالیت ساکارز سینتاز (در شکستن ساکارز نقش دارد) بالاتر به همراه محتوای ساکارز بیشتر در غده های سیب‌زمینی تیمار شده با فورکلرفنورن در مرحله پر شدن فعال غده‌ها تشخیص داده شد. این افزایش فعالیت ساکارز سینتاز می‌تواند فراوانی دی‌فسفات یوریدین (UDP)–گلوکز را برای

تبدیل به گلوکز-۱-فسفات فراهم کند، که به نوبه خود می‌تواند وارد آمیلوپلاست شود و منجر به تولید نشاسته بیشتر شود (Sharma et al., 1998). علاوه‌بر این، افزایش قدرت منبع در بنه‌های تیمار شده می‌تواند موجب تبدیل بیشتر فیتواسیمیلات‌ها به نشاسته گردد. بنابراین، محتوای ساکارز و نشاسته در بنه‌های تیمار شده با فورکلرفنورن به‌طور قابل‌توجهی بیشتر از میزان آن‌ها در گیاهان شاهد بود.

اگرچه ممکن است با تیمار این دوماده میزان ژِیبرلین کاهش و میزان آبسیزیک اسید افزایش یافته باشد و موجب تجمع کربوهیدرات در بنه‌ها شود، اما نتیجه‌گیری در مورد نقش تعادل هورمون‌های داخلی در تجمع کربوهیدرات ممکن است در این زمان به دلیل دانش محدود ما در مورد عملکرد های بیوشیمیایی آنزیم‌های مرتبط با کربوهیدرات و رابطه آن‌ها با هورمون‌های داخلی در بنه‌ها زودهنگام باشد.

رنومو ناتا و همکارانش (Renau-Morata et al., 2012) نشان دادند که تغییرات وزن سایر اندام‌ها، روابط منبع-مخزن را در طول رشد رویشی در زعفران منعکس می‌کند. زمانی که رشد بنه دختریی آشکار شده بود، ۵۰ درصد از ذخایر بنه مادری کاهش یافته بود، ریشه‌ها به حداکثر توسعه خود رسیده بودند و برگ‌ها شروع به رشد کرده بودند، اما رشد اصلی بنه‌های دختری بعداً در اوایل اسفند رخ داد و در اواسط فروردین، زمانی که بنه دختری به حداکثر رشد خود می‌رسد، ذخایر بنه مادری تقریباً به طور کامل تخلیه شد و ریشه‌هایی که از آن توسعه یافته بودند، نشان‌دهنده افزایش نرخ کاهش وزن خشک از این زمان به بعد بودند، همان‌طور که برگ‌ها نیز همین وضعیت را دارا بودند. رشد بنه‌های دختری قبل از پژمردگی کامل برگ‌ها متوقف شد که نشان‌دهنده‌ی محدودیت ظرفیت مخزن در طول توسعه‌ی آن‌هاست. در واقع با افزایش محدودیت مخزن، بازدارندگی بازخورد فتوسنتز همراه با القای پژمردگی برگ‌ها اتفاق می‌افتد.

از طرفی در مطالعات آمده است که کاهش در بیوماس ریشه در اواسط فروردین که رشد سلول‌های بنه دختری پایان می‌یابد، بیشتر مشهود است. این موضوع نشان می‌دهد که توقف رشد ممکن است ابتدا به کاهش در تأمین آب از طریق ریشه‌ها مرتبط باشد. در واقع کاهش سیستم ریشه‌ای می‌تواند جریان سیتوکینین‌ها به برگ را کاهش دهد. بنابراین، افزایش جزئی در محتوای قند و نشاسته در فروردین و اردیبهشت و قبل از آن، کاهش در تأمین سیتوکینین‌ها از ریشه‌ها، می‌تواند پیری برگ را تحریک کند. قابل توجه است که در طی مرحله پیری برگ، هیچ تجمع قابل توجهی از نشاسته در کلروپلاست‌ها وجود ندارد که منجر به تجزیه کلروپلاست‌های برگ ناشی از نشاسته شود (Stander et al., 2017). با وجود این اطلاعات و علم به این موضوع که کاهش در تأمین فوتواسیمیلات‌ها از طریق برگ‌ها ممکن است از اوایل فروردین آغاز شود، اما برگ‌ها هنوز به‌طور عمده سبز هستند تا زمانی که رشد بنه دختری متوقف می شود (Renau-Morata et al., 2012)، از این‌رو در این زمان بحرانی کمک به پایداری فتوسنتز برگ ها می‌تواند نقش مهمی در افزایش بازه زمانی پر شدن بنه‌های دختری و افزایش تقاضای مخزن باشد که در تحقیق ما این مهم تا حدود زیادی امکان‌پذیر شد.

در پایان، این مطالعه بینش‌های قابل توجهی را درباره نقش CPPU و نیترات پتاسیم بر روی رشد، جذب مواد مغذی، متابولیسم کربوهیدرات‌ها و تخصیص فتواسیمیلات‌ها در زعفران را آشکار می سازد. یافته‌های ما اهمیت بنیادی نیتروژن و پتاسیم را در تقویت رشد برگ ها، تولید کلروفیل و فرآیند های فیزیولوژیکی تقویت می‌کند و نقش اساسی این مواد مغذی را در تولید بنه های دختری با وزن بهینه‌تر برجسته می‌کند. تنظیم‌کننده‌های رشد مانند CPPU به طور چشمگیری بر هدایت روزنه‌ها، کارآیی فتوسنتز و فعالیت متابولیکی تأثیر می‌گذارند که منجر به بهبود قابل توجه در تخصیص کربوهیدرات و تجمع نشاسته به خصوص در بنه‌ها می‌شود.

نتایج نشان می‌دهند که چگونه غلظت‌های بهینه این تیمارها می‌تواند منجر به بهبودهای قابل توجه در رشد گیاه، تولید متابولیت‌های ثانویه و به‌طور کلی کیفیت وکمیت محصول می شود. این تیمار ها نه‌تنها سرعت فتوسنتز و محتوای کربوهیدرات‌ها را بهبود می‌بخشند، بلکه فعالیت آنزیمی که برای سنتز نشاسته ضروری است را نیز تنظیم می‌کنند. با برقراری ارتباط میان مدیریت مواد غذایی و تنظیم‌کننده‌های رشد، این مطالعه نشان می‌دهد که تأثیرات مهمی برای بهبود روش‌های کشاورزی که به بهینه‌سازی کشت زعفران و محصولات زیرزمینی دیگر می‌پردازند، وجود دارد. این پژوهش می‌تواند در نهایت به بهبود عملکرد و کیفیت کمک کند.

## منابع


Abdul Jaleel, C., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Sankari, S., & Panneerselvam, R. (2007). Paclobutrazol enhances photosynthesis and ajmalicine production in *Catharanthus roseus*. *Process Biochemistry*, *42* (11), 1566–1570. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.08.006.

Aitoubahou, A., & Elotmani, M. (2022). Saffron Cultivation in Morocco. Harwood Academic Publications, Amesterdam, Poland.

Akbarian, M. M., Heidari Sharifabad, H., Noormohammadi, G., & Darvish Kojouri, F. (2020). The effect of potassium, zinc and iron foliar application on the production of saffron (*Crocus sativa* L.). *Annals of Biological Research*, *3* (12), 5651-5658. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/10.22077/jsr.2023.6083.1206.

Alsokari, S. S. (2017). Synergistic effect of kinetin and spermine on some physiological aspects of seawater-stressed *Vigna sinensis* plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *18*, 37–44. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2010.07.002.

Antognozzi, E., Battistelli, A., Famiani, F., Moscatello, S., Stanica, F & Tombesi, A. (2020a). Influence of CPPU on carbohydrate accumulation and metabolism in fruits of Actinidia deliciosa. *Science Horticulture*, *65*, 37-47. https://doi.org/10.1016/0304-4238(95)00852-7.

Antognozzi, E., Famiani, F., Proietti, P., Ferranti, F., & Frenguelli, G. (2020b). Effect of CPPU (cytokinin) treatments on fruit anatomical structure and quality in Actinidia deliciosa. *Acta Horticulturae*, *444*, 459–465. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2020.444.67.

Antognozzi, E., Trainotti, L., & Dall'Aglio, E. (2010). The effect of CPPU on kiwi plants. *Horticultural Science*, *22* (1), 45-52. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1993.329.29.

Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*, *23*, 112–121.

Arteca, R. N. (2020). Plant Growth Sustances Principles and Application. Translated by: Fathi, G., & smaielpour, B. Publications University of Mashhad. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2451-6.

Asthir, B., Kaur, A., & Basra, A. S. (1998). Do phytohormones influence the uptake and metabolism of sucrose in spikelets of wheat? *Phyton - Annales Rei Botanicae*, *38*, 293–299. https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.2011.02.018.

Ballicora, M. A., Iglesias, A. A., & Preiss, J. (2003). ADP-Glucose pyrophosphorylase: A regulatory enzyme for plant starch synthesis. *Photosynthesis Research*, *79* (1), 1-24. https://doi.org/10.1023/A:102584550.

Bandyopadhyay, K. K., Pradhan, S., Singh, R.,

Aggarwal, P., Sutradhar, A. K., & Joshi, D. K. (2021). Effect of irrigation levels and nitrogen sources on growth, yield, and input use efficiency of soybean in a sandy loam soil of a semi-arid environment. *Journal of Agricultural Physics*, *13* (3), 153–159. https://doi.org/10.5958/2349-4433.2021.00029.3.

Battistelli, J. P., Pedroso, M. C., Schultz, T., Jolan, B., & Amoril, J. (2010). The effect of different concentrations on the induction of apoptosis. *Journal of Plant Physiology*, *12* (3), 245-252. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.03.010.

Behdani, M. A., Zamani, Gh., Fallahi, H. R., Sayyari Zohan, M. H., & Samadzadeh, A. (2018). Evaluation of replacement corms growth criteria of saffron in response to different organic and conventional production systems. *Journal of Saffron Agriculture & Technology*, 5 (2), 133-147. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/10.22048/jsat.2016.40887.

Borzenkova, R. A., & Pozdeeva, A. A. (1998). Effect of phytohormones on starch synthesizing capacity in growing potato tubers. *Russian Journal of Plant Physiology*, *45*, 472–480. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2451-6.

Borzenkova, R. A., & Borovkova, P. (2003). Developmental patterns of phytohormone content in the cortex and pith of potato tubers as related to their growth and starch content. *Russian Journal of Plant Physiology*, *50* (1), 119-124. https://doi.org/10.1023/A:1021957022595.

Carroll, N. V., Longley, R. W., & Roe, J. H. (1956). The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry*, *220*, 583–593. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)65284-6.

Chaji, N., Khorassani, R., Astaraei, A. R., & Lakzian, A. (2013). Effect of phosphorous and nitrogen on vegetative growth and production of daughter corms of saffron. *Journal of Saffron Research*, *1*, 1–12. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/10.22077/jsr.2013.352.

Chaji, N., Khorassani, R., Astaraei, A. R., & Lakzian, A. (2020). Effect of phosphorous and nitrogen on vegetative growth and production of daughter corms of saffron. *Journal of Saffron Research*, *1*, 1–12. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/10.22077/jsr.2013.352.

Chaurasiya, J., Verma, R. B., Ahmad, M., Adarsh, A., Kumar, R., & Pratap, T. (2016). Influence of plant growth regulators on growth, sex expression, yield and quality of Muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Journal of Plant Development Sciences*, *22* (S), 39–43. https://doi.org/10.33545/2618060X.2024.v7.i1d.218.

De Juan, A., Moya, A., Lopez, S., Botella, O., Lopez, H., & Munoz, R. (2003). Influence of the corm size and the density of plantation in the yield and the quality of the production of corms of *Crocus sativus* L. *International Technology Education Association*, *99*, 169-180. https://doi.org/10.15835/nbha52213556.

DiCosmo, F., & Towers, G. H. N. (1984). Stress and secondary metabolism in cultured plant cells. In Timmermann, B. N., Steelink, C., & Loewus, F. A. (Eds.), Phytochemical Adaptations to Stress: Recent Advances in Phytochemistry (Vol. 18, pp. 97–175). Plenum Press, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-1206-2_5.

El-Shraiy, A. M., & Hegazi, A. M. (2010). Influence of JA and CPPU on growth, yield and α-amylase activity in potato plant *(Solanum tuberosum* L.). *Australian Journal of Basic & Applied Sciences*, *4* (2), 160–170. https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.2011.02.018.

Flacher, B., & Arnold, H. (2016). The effect of CPPU on chlorophyll concentration in cucumber. *Journal of Plant Physiology*, *135* (2), 187-194. https://doi.org/10.1111/j.1399-

3054.1990.tb05254.x.

Garrote, M. A., Robador, M. D., & Perez-Rodriguez, J. L. (2017). Analytical investigation of Mudéjar polychrome on the carpentry in the Casa de Pilatos palace in Seville using non-destructive XRF and complementary techniques. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular & Biomolecular Spectroscopy*, 173, 279–291. https://doi.org/10.1016/j.saa.2016.09.027.

Gashaw, A., Theerawitaya, C., Samphumphuang, T., Cha-um, S., & Supaibulwatana, K. (2019). CPPU elevates photosynthetic abilities, growth performances and yield traits in salt-stressed rice (*Oryza sativa* L. spp. indica) via free proline and sugar accumulation. *Pesticide Biochemistry & Physiology*, *108*, 27–33. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.11.003.

Gholami, M., Kafi, M., & Khazaei, H. R. (2017). Study the relations of sink and source in saffron by means of correlation coefficients under different irrigation and fertilization levels. *Saffron Agronomy & Technology*, *5* (3), 195–210. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/10.22048/jsat.2017.51480.1156.

Ghorbani Javid, M., Hosseini Fard, M., Alahdadi, I., & Soltani, E. (2022). Hormonal priming with BAP and GA3 induces improving yield and quality of saffron flower through promotion of carbohydrate accumulation in corm. *Journal of Plant Growth Regulation, 41*. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/10.1007/s00344-020-10286-y.

Grossmann, K. (1990). Plant growth retardants as tools in physiological research. *Physiologia Plantarum*, *78* (4), 640–648. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1990.tb05254.x.

Gupta, P. K. (2000). Soil, Plant, Water and Fertilizer Analysis. Agrobios, New Delhi.

Häggman, J., & Haapala, H. (2008). The effect of 6-Benzylaminopurine on the starch metabolism of Stellaria media. *Physiologia Plantarum*, *24* (3), 548–551. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01015.x.

Hayata, Y., & Niimi, Y. (1995). Synthetic cytokinin-1-(2-chloro-4-pyridyl)-3-phenylurea (CPPU) promotes fruit set and induces parthenocarpy in watermelon. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *120*, 997–1000. https://doi.org/10.21273/JASHS.120.6.997.

Heidari, Z., Basharti, H., & Maleki Farahani, S. (2014). The effect of using some chemical and biological fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of cultivated saffron. *Saffron Agricultural & Technology*, *2* (3), 177–189. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/10.22067/saff.v2i3.25880.

Hossain, A. B. M. S., Alsaif, A. M., Rudayni, H. A., Al-Hashimi, A., Aleissa, M. S., & Taha, R. M. (2023). Carbohydrate, flavonoid, anthocyanin, total phenol, chlorophyll and mineral (K+) content development of wax apple fruit as affected by CPPU and NAA using swabbing technology. *Revista Brasileira de Fruticultura*, *45* (5), e-798. https://doi.org/10.6084/m9.figshare.23702115.v1.

Humphery, T. (2005). Evaluation of the New Active Forchlorfenuron in the Product Sitofex 10 EC Plant Growth Regulator. Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority. Australia. pp, 1-30.

Jabbari, M., Khayyat, M., Fallahi, H. R., & Samadzadeh, A. (2018). Influence of saffron corm soaking in salicylic acid and potassium nitrate on vegetative and reproductive growth and its chlorophyll fluorescence indices. *Journal of Saffron Agriculture & Technology*, *5* (1), 21-35. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/10.22048/jsat.2017.38893.

Kano, Y. (2005). Comparison of the effects of 4-CPA and CPPU treatment on melon cell size and sugar accumulation. *Environmental Control in Biology*, *43* (2), 147–154. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.02.001.

Karagüzel, O., Altan, S., Doran, I., & Söğüt, Z. (2017). The effects of GA3 and additional KNO3 fertilization on flowering and quality characteristics of *Gladiolus grandifloras* 'Eurovision'. In Anac, D., & Martin-PrÉvel, P. (Eds.), Improved Crop Quality by Nutrient Management (Vol. 86, pp. 589–598). Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-585-37449-9_59.

Kim, J. G., Takami, Y., Mizugami, T., Beppu, K., Fukuda, T., & Kataoka, I. (2016). CPPU application on size and quality of hardy kiwifruit. *Scientia Horticulturae*, *110*, 219–222. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.07.001.

Kishikawa, M., Takahashi, H., & Suzuki, Y. (2014). The effect of CPPU on potato plants. *Agricultural & Crop Research*, *15* (4), 567-575. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1371/4/042009.

Kumar, R., Virendra S., Kiran, D., Sharma S., & Ahuja, P. S. (2019). State of art of saffron (*Crocus sativus* L.) agronomy: A comprehensive review. *Food Reviews International*, *25* (1), 44-85. https://doi.org/10.1080/87559120802458503.

Masclaux-Daubresse, C., Daniel-Vedele, F., Dechorgnat, J., Chardon, F., Gaufichon, L., & Suzuki, A. (2010). Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants: challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of Botany*, *105*, 1141–1157. https://doi.org/10.1093/aob/mcq028.

McCleary, B. V., & Codd, R. (1989). Measurement of beta-amylase in cereal flours and commercial enzyme preparations. *Journal of Cereal Science*, *9*, 17–33. https://doi.org/10.1016/S0733-5210(89)80018-9.

McCready, R. M., Guggolz, J., Silviera, V., & Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylase in vegetables. *Analytical Chemistry*, *22*, 1156–1158. https://doi.org/10.1021/ac60045a016.

Moscatello, S., Famiani, F., Spaccino, L., Giannella, R., Antognozzi, E., & Battistelli, A. (1995). Regulation of starch synthesis in kiwifruit: The effect of CPPU. *Giornale Botanico Italiano*, *129* (4), 961–962. https://doi.org/10.1080/11263509509440881.

Nafah Amal, A. S., & Hegazi Amira, E. (2010). The effect of forchlorfenuron on growth, yield, and alpha-amylase enzyme activity of saffron (*Crocus sativus* L.) corms, 55 and 75 days after planting. *Journal of Applied Sciences Research*, *6* (10), 1438-1444. https://doi.org/10.22126/ATIC.2023.8410.1072.

Naghdibadi, H., Omidi, H., Golzad, A., Torabi, H., Fotoukian, M. (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. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/20.1001.1.2717204.2011.10.40.7.4.

Nasiri Mahallati, M., Koocheki, A. S., & Boroumand Rezazadeh, Z. (2019). Investigation of the effect of weight and storage period of coriander on the allocation of photosynthetic materials in saffron. *Iranian Journal of Crop Research*, *5* (1), 155-166. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/10.22126/ATIC.2023.8410.1072.

Ogweno, O., Hu, W. H., Song, X. S., Shi, K., Mao, W. H., Zhou, Y. H., & Yu, J. Q. (2021). Photoinhibition-induced reduction in photosynthesis is alleviated by abscisic acid, cytokinin, and brassinosteroid in detached tomato leaves. *Plant Growth Regulation*, *60*, 175–182. https://doi.org/10.1007/s10725-009-9439-z.

Omidi, F., Naghdi Badi, H., Golzad, A., Torabi, H., & Footoukian, M.H. (2009). The effect of chemical and bio-fertilizer source of nitrogen on qualitative and quantitative yield of saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Medicinal Plants*, *2* (30), 98-109. (In Persian with English

Abstract). https://doi.org/20.1001.1.2717204.2009.8.30.11.4.

Page, A. L., Miller, R. H. & Keeney, D. O. (1982). Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison. https://doi.org/10.4236/oalib.1100971.

Pallotti, C., Renau-Morata, B., Cardone, L., Nebauer, S. G., Albiñana Palacios, M., Rivas-Sendra, A., Seguí-Simarro, J. M., & Molina, R. V. (2024). The understanding of saffron corm development: Insights into histological and metabolic aspects. *Plants*, *13* (8), 1125. https://doi.org/10.3390/plants13081125.

Parthasarathy, V. A., Barua, A., Nagaraju, V., & Utpala Parthasarathy. (2002). Effect of cytokinins on morphological, physiological and biochemical characteristics of shoots of citrus in vitro. *Fruits*, *57*, 153–160. https://doi.org/10.1051/fruits:2002026.

Patil, H. G., Ravindran, C., Jayachandran, K. S., & Jaganath, S. (2006). Influence of CPPU, TDZ, and GA3 on the postharvest quality of grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars 'Anab-e-Shahi' and 'Dilkush'. *Acta Horticulturae*, *727*, 489–494. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2006.727.60.

Penuelas, J., Gamon, J. A., Freeden, A., Merino, J., & Field, C. (1994). Reflectance indices associated with physiological changes in N and water-limited sunflower leaves. *Remote Sensing of Environment*, *46*, 100–118. https://doi.org/10.1016/0034-4257(94)90136-8.

Preiss, J. (2020). Biosynthesis of starch and its regulation. In P. K. Stumpf & E. E. Conn (Eds.), The Biochemistry of Plants: A Comprehensive Treatise. Academic Press. *14*, 181–254. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-450514-6.50006-3.

Raddatz, N., Deeken, R., Ache, P., Hedrich, R., & Wilmsen, T. (2020). Coordinated transport of nitrate, potassium, and sodium. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 247. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00247.

Ramazan, A., Hafiz, I.A., Ahmad, T., & Abbasi, N.A. (2018). Effect of priming with potassium nitrate and dehusking on seed germination of gladiolus (*Gladiolus alatus* L.). *Pakistan Journal of Botany*, *42* (1), 247-258. https://doi.org/10.22126/ATIC.2023.8410.1072.

Renau-Morata, B., Nebauer, S. G., García-Carpintero, V., Cañizares, J., Minguet, E. G., de los Mozos, M., & Molina, R. V. (2021). Flower induction and development in saffron: Timing and hormone signalling pathways. *Industrial Crops & Products*, *164*, 113370. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113370.

Renau-Morata, B., Nebauer, S. G., Sánchez, M., & Molina, R. V. (2012). Effect of corm size, water stress and cultivation conditions on photosynthesis and biomass partitioning during the vegetative growth of saffron (*Crocus sativus* L.). *Industrial Crops & Products*, *39*, 40–46. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.01.015.

Rosin, F. M., Hart, J. K., van Onckelen, H., & Hannapel, D. J. (2003). Suppression of a vegetative MADS box gene of potato activates axillary meristem development. *Plant Physiology*, *131* (5), 1613–1622. https://doi.org/10.1104/pp.103.026828.

Saeed Akram, M., Ashraf, M., & Aisha Akram, N. (2009). Effectiveness of potassium sulfate in mitigating salt-induced adverse effects on different physio-biochemical attributes in sunflower (*Helianthus annus* L.). *Journal of Flora*, *204*, 471-483. https://doi.org/10.1016/j.flora.2008.05.008.

Setia, N., Sangeetha, R., Setia, R. C., & Malik, C. P. (2015). Alterations in growth and yield response to foliar application of naphthyl acetic acid (NAA). *Indian Journal of Plant Physiology*, *36* (1), 47–52. https://doi.org/10.1007/s40502-015-0035-0.

Sharma, N., Kaur, N., & Gupta, A. K. (1998). Effect

of chlorocholine chloride sprays on the carbohydrate composition and activities of sucrose metabolizing enzymes in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Growth Regulation, 26* (2), 97–103. https://doi.org/10.1023/A:1006087729077.

She, L. F., Xia, Y. P., Chang, L. Xiao, Y. M., Ren, Z. M. & Zhang, L. (2014). Biochemical and physiological responses of bulblets of *Lycoris aurea* to exogenously applied N-(2-chloro-4-pyridyl)-N1-phenylurea. *The Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, *89* (5), 549-556. doi.org/10.1080/14620316.2014.11703179.

Silver, S. F., & Thompson, D. M. (2015). Measurement of photosynthesis and gas exchange in plants: Methods and applications. *Photosynthesis Research*, *125* (1), 1–14. https://doi.org/10.1007/s11120-015-0123-x.

Sritontip, C., Khaosumain, Y., Changjaraja, S., & Poruksa, R. (2015). Effect of potassium chlorate, potassium nitrate, sodium hypochlorite, and thiourea on off-season flowering and photosynthesis of 'Do' longan. *Acta Horticulturae*, *665*, 291–296. https://doi.org/10.17660/actahortic.2005.665.35.

Stander, O. P. J., Barry, G. H., & Cronjé, P. J. R. (2017). Fruit-load-induced starch accumulation causes leaf chlorosis in "off" 'Nadorcott' mandarin trees. *Scientia Horticulturae*, *222*, 62–68. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.05.017.

Tabatabaeian, J., Hassanian Badi, S., Kadkhodaee, A. (2020). Effect of micronutrient foliar application on quantitative and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.). *Saffron Agronomy & Technology*, *8* (2), 147-163. (In Persian with English Abstract). https://doi.org/10.22048/jsat.2019.179188.1342.

Tezuka, T., Takahara, C., & Yamamoto, Y. (2012). Aspects regarding the action of CCC in hollyhock plants. *Journal of Experimental Botany*, *40* (6), 689–692. https://doi.org/10.1093/jxb/40.6.689.

Verlinden, S., & Garcia, J. J. (2004). Sucrose loading decreases ethylene responsiveness in carnation (*Dianthus caryophyllus* cv. White Sim) petals. *Postharvest Biology & Technology*, *31* (3), 305–312. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.09.010.

Wang, H. Q., & Xiao, L. T. (2009). Effects of chlorocholine chloride on phytohormones and photosynthetic characteristics in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Journal of Plant Growth Regulation, 28* (1), 21–27. https://doi.org/10.1007/s00344-008-9069-0.

Wang, H. Q., Li, H. S., Liu, F. L., & Xiao, L. T. (2009). Chlorocholine chloride application effects on photosynthetic capacity and photo-assimilate partitioning in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Scientia Horticulturae*, *119*, 113–116. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.07.019.

Wang, Q. M. (2016). Effect of CPPU on growth and endogenous phytohormonne contents of balsam pear (*Momordica charantia* L.) fruit. *Journal of Agriculture & Life Sciences*, *5*, 513–517. https://doi.org/10.3390/ijms18122555.

Watanabe, H. (1989). The use of growth regulators applied to stem cuttings of lilies. *Bulletin of the Nara Agricultural Experiment Station*, *20*, 67–71.

Wu, W., Zhang, L., Li, J., & Wang, H. (2012). A report on wheat and kiwi. *Journal of Agriculture & Food Chemistry*, *60* (20), 5087-5094. doi.org/10.1094/CCHEM-03-12-0042-R.

Wu, X., Zhu, Z., Li, X., & Zha, D. (2012). Effects of cytokinin on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters and antioxidative system in seedlings of eggplant (*Solanum melongena* L.) under salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, *34*, 2105–2114. https://doi.org/10.1007/s11738-012-1010-2.

Yakimova, E. T., Kapchina-Toteva, V. M., Groshkoff, I., & Ivanova, G. (2021). Effect of BA and CPPU on protease and α-amylase activity of in vitro cultured explants of *Rosa hybrida* L. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, *26* (1–2), 39–47. https://doi.org/10.22620/bjpp.2021.26.1-2.039.

Yang, Y. G., Zhang, H. S., Li, Y. L. & Yu, J. H. (2011). Endogenous hormone content in relation to thickening of carrot fleshy root during summer season in plateau region. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, *19*, 342–346. https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.2011.02.018 .

Zabihi, H. R., Rezaeiyan, S., & Nouri Hosseini, S. M. (2013). Investigation of the effect of different levels and sources of potassium on the yield of saffron plant. First Regional Conference on Medicinal Plants of Northern Iran, Gorgan, Agricultural Research Center & Natural Resources of Golestan.

Zeng, H., Yang, W., Lu, C., Lin, W., Zou, M., Zhang, H., & et al. (2016). Effect of CPPU on carbohydrate and endogenous hormone levels in young Macadamia fruit. *PLos One*, *11* (7), e0158705. https://doi.org/10.1371/journal.pone.015870.

Zhang, S., Wang, L., Ma, F., Bloomfield, K. J., Yang, J., & Atkin, O. K. (2015). Is resource allocation and grain yield of rice altered by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi? *Journal of Plant Ecology*, *8* (4), 436–448. https://doi.org/10.1093/jpe/rtu017.

Zhang, Y., Vriesekoop, F., Yuan, Q., & Liang, H. (2008). Effects of naringin on the growth of four intestinal bacteria in vitro. *Journal of Applied Microbiology*, *105* (5), 1573-1580. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03882.x.

Zongeni. T, (2007). The role of cytokinins in plant growth and development. *Journal of Plant Physiology*, *124* (3), 345-358. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.02.001.