

## Evaluation of Saffron extract and essential oil and salicylic acid treatment on germination and early growth stages of long fescue (*Festuca arundinacea* Scherb.) under sodium chloride stress

Iman Tasdighisany<sup>1</sup>, Iman Rohollahi<sup>2\*</sup>, Hossein Dehghan<sup>3</sup>

1- MSc. student, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture Science, Shahed University, Tehran, Iran. (imantasdighi03@gmail.com)

2- Corresponding Author, Assistant Professor, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture Science, Shahed University, Tehran, Iran. (i.rohollahi@shahed.ac.ir)

3- Assistant Professor in Phytochemistry, Medicinal Plants Research Center, Shahed University, Tehran, Iran. (h.dehghan@shahed.ac.ir)

Received Date: 15/05/2022

Accepted Date: 07/10/2022

### Abstract

**Introduction:** Every year, a large part of the petals of saffron flowers in Iran are unused. The dehydration of these petals can be used as a stimulant for germination and complement plant growth. In fact, the extract and essential oil of saffron flower petals contain certain amounts of Safranal, which has a chemical structure similar to beta-cycloidal (Corradi and Michelli, 1979). B-cycloidal is a valuable compound for improving product strength, especially in harsh environmental conditions (Dickinson et al., 2019). In this study, we evaluate the effects of the extract and essential oil of saffron flower petals on germination and early-stage growth of *Festuca arundinacea* Scherb under salt stress.

**Material and methods:** In the first experiment, pretreatment of salicylic acid on germination was evaluated in three levels (0, 0.1, and 0.5 mM). Saffron petal water, saffron flower essential oil, and saffron stigma aqueous extract (50 µL / mL) on Tall fescue seeds treated with three concentrations of sodium chloride (0, 3000, and 6000 mg /L) were conducted in a factorial test in a completely randomized design with three replications.

In the second experiment after Tall fescue seedlings establishment, irrigation was carried out regularly and fertilizer (20-20-20) with a concentration of 3% was used as a solution in the irrigation water. After 28 days and first mowing the salinity treatments (0, 3000, and 6000 mg/L) were started and continued for 4 weeks. Saffron petal juice treatments with three concentrations (control, 250, and 500 µL /100 mL) and saffron stigma essential oil (control, 40 and 125 µL /100 mL) interaction with Sodium chloride treatments (non-salt stress, 3000 and 6000 mg /L) were evaluated

**Results and discussion:** Salicylic acid (0.1 mM) improved germination percentage by 17.2% under salinity stress of 3000 mg /L. Stem length (67%) and root weight (60%) increased with a concentration of 50 µL /mL saffron petal juice under salinity stress compared to the control. The most suitable level of salicylic acid for improving the germination index under sodium chloride stress was pretreatment with a concentration of 0.1 mM. The interaction of 6000 mg/L salinity with saffron petal juice (SEES11) caused a significant (42%) increase in seedling length compared to the control (Figure 7). Beta-cyclocitral (safranal) in the roots of rice plants under salinity stress significantly stimulates root and stem growth and can be used in a valuable way to improve product yield, especially in harsh environmental conditions (Dickinson et al., 2019). Increasing the concentration of sodium chloride increased the amount of hydrogen peroxide and the activity of peroxidase and catalase enzymes. The use of saffron stigma essential oil treatment with a concentration of 40 µL/100 mL caused a significant decrease in the amount of hydrogen peroxide and a significant increase in the activity of catalase and peroxidase enzymes. Sodium chloride treatment increased the amount of hydrogen peroxide, catalase and peroxidase activities.

**Conclusions:** Petal water and the essential oil of saffron consumption significantly increased the amount of hydrogen peroxide and the activity of catalase and peroxidase enzymes. Using a longer time or higher concentrations of stigma essential oil and saffron petal juice may increase antioxidant enzyme activities, which helps establish the plant. Finally, it can improve the response of the plant to environmental stresses, especially sodium chloride stress.

**Keywords:** Petal juice, Root, Safranal, Sodium chloride.

## ارزیابی عصاره و اسانس زعفران و تیمار سالیسیلیک اسید بر جوانه زنی و مراحل ابتدایی رشد فستوکای بلند (*Festuca arundinacea* Scherb.) تحت تنش کلرید سدیم

ایمان تصدیقی ثانی<sup>۱</sup>، ایمان روح اللهی<sup>\*۲</sup>، حسین دهقان<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد  
(imantasdighi03@gmail.com)

۲- نویسنده مسئول، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه شاهد  
(i.rohollahi@shahed.ac.ir)

۳- استادیار مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد  
(h.dehghan@shahed.ac.ir)

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۲۵

### چکیده

هر ساله بخش زیادی از گلبرگ‌های گل‌های زعفران در ایران بلااستفاده رها می‌شوند، می‌توان از آب‌گیری این گلبرگ‌ها به عنوان محرک جوانه‌زنی و مکمل رشد گیاهان استفاده نمود. در واقع عصاره و اسانس گلبرگ‌های گل زعفران دارای مقادیری ساfranال<sup>۱</sup> است و تحقیقات نشان داده است که ساختار شیمیایی مشابهی با بتا-سایکلوستیرال<sup>۲</sup> دارد. بتا-سایکلوستیرال ترکیبی با ارزش برای بهبود قدرت گیاهان به ویژه در شرایط سخت محیطی می‌باشد. در آزمایش اول، پیش تیمار سالیسیلیک اسید در ۳ سطح (صفر، ۰/۱ mM و ۰/۵ mM) آب گلبرگ زعفران، اسانس کلاله زعفران و عصاره آبی کلاله زعفران هر یک با غلظت  $\mu\text{L/mL}$  ۵۰ و سه غلظت کلرید سدیم (صفر، ۳۰۰۰ mg/L و ۶۰۰۰ mg/L) در یک آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار بررسی شد. سالیسیلیک اسید ۰/۱ mM، درصد جوانه زنی را ۱۷/۲ درصد در شرایط تنش شوری ۳۰۰۰ mg/L بهبود بخشید. طول ساقچه‌چه (۶۷٪) و وزن ریشه‌چه (۶۰٪) با غلظت ۵۰ میکرو لیتر در میلی‌لیتر آب گلبرگ زعفران در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد افزایش یافت. مناسب‌ترین سطح سالیسیلیک اسید برای بهبود شاخص جوانه‌زنی تحت تنش کلرید سدیم پیش تیمار با غلظت ۰/۱ mM بود. در آزمایش دوم پس از استقرار گیاهچه‌ها تاثیر تیمارهای آب گلبرگ زعفران با سه غلظت شاهد، ۲۵۰  $\mu\text{L/100mL}$  و ۵۰۰  $\mu\text{L/100mL}$  و اسانس کلاله زعفران با سه غلظت صفر، ۴۰  $\mu\text{L/100mL}$  و ۱۲۵  $\mu\text{L/100mL}$  تحت تنش‌های شوری صفر، ۳۰۰۰ mg/L و ۶۰۰۰ mg/L روی گیاهچه‌های فستوکای بلند مورد ارزیابی قرار گرفت. افزایش غلظت کلرید سدیم باعث افزایش مقدار پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز شد. استفاده از تیمار اسانس کلاله زعفران با غلظت ۴۰  $\mu\text{L/100mL}$  باعث کاهش معنی‌دار میزان پراکسید هیدروژن و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز شد. استفاده از اسانس کلاله و آب گلبرگ زعفران در زمان یا غلظت بالاتر باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، بهبود استقرار و پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی مانند تنش کلرید سدیم خواهد شد.

**کلمات کلیدی:** آب گلبرگ، ریشه، ساfranال، کلرید سدیم.

## مقدمه

شوری محیط یک عامل اصلی در محدود شدن جوانه زنی، قدرت گیاه و عملکرد اکثر محصولات کشاورزی می باشد (Hasanuzzaman et al., 2012). تنش شوری به علت افزایش پتانسیل اسمزی و کاهش آب در دسترس گیاه باعث تاخیر در جوانه زنی و تاخیر در ظهور ریشه چه و ساقه چه در محیط های دارای کلرید سدیم می گردد (Wahome et al., 2001).

گیاه فستوکای بلند (*Festuca arundinacea* Scherb.) گیاهی علفی، پایا با ریشه های عمیق است. این گیاه متعلق به تیره باریک برگان (Poaceae) می باشد. نظر به اهمیت این جنس از نظر علوفه ای، چمنی و سازگاری خوبی که نسبت به تنش های مختلف محیطی دارد، همواره مورد توجه محققان بوده است (Khoshkholsima and Rohollahi, 2015).

اولین بار در سال ۱۸۳۸ از گیاه بید (*Salix alba*) اسید سالیسیلیک استخراج شد (Raskin, 1992). مطالعات مختلف در مورد عملکردهای بالقوه سالیسیلیک اسید روی جوانه زنی تحت تنش های مختلف انجام شده است، قابل ذکر است که سالیسیلیک اسید غلظت  $H_2O_2$  را در بذره های جوانه زده تحت شوری بالا، کاهش داده و با کاهش آسیب اسمزی باعث جوانه زنی می شود. این دیدگاه همچنین با نقش سالیسیلیک اسید در مقاومت گیاه به تنش های غیرزیستی مختلف با کاهش آسیب اکسیداتیو ناشی از گونه های اکسیژن آزاد مطابقت دارد (Loutfy et al., 2012). استفاده از غلظت  $0.05$  mM اسید سالیسیلیک باعث کاهش اثرات مخرب تنش اکسیداتیو در *Catharanthus roseus* شد (Misra et al., 2014). همچنین محلول پاشی با سالیسیلیک اسید باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ، عملکرد بیولوژیکی، پروتئین محلول، غلظت پرولین و رنگدانه های فتوسنتزی نهال های بادام زمینی شد (Kang et al., 2012). مطالعات مختلف نشان داده است که کاربرد برونزای سالیسیلیک اسید می تواند سمیت ناشی از تنش را

در گیاهان کاهش دهد (Jayakannan et al., 2015). اسیدسالیسیلیک، یک مولکول فنلی طبیعی ساده تنظیم کننده رشد است که نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی در گیاهان ایفا می کند. نقش سالیسیلیک اسید در کاهش اثرات تنش شوری در بسیاری از محصولات مانند جو گزارش شده است (ElTayeb et al., 2012). اسید سالیسیلیک می تواند فرایندهای فیزیولوژیکی در گیاهان را تنظیم و عوارض جانبی و نامطلوب تنش خشکی را بهبود بخشد (Yavas and Unay, 2016). طی ارزیابی تاثیر سالیسیلیک اسید ( $0$ ،  $1/5$ ،  $3$  و  $4/5$  mgr/L) روی جوانه زنی و رشد دانهال های گندم تحت تنش شوری ( $0$ ،  $50$ ،  $100$  و  $200$  mM)، درصد جوانه زنی به نحو معنی داری افزایش یافت (Bahrani and Pourreza, 2012). بتا-سایکلوسیترال یک ترکیب گیاهی و فعال است که به عنوان یک پیش ماده برای سنتز متابولیت های فعال دیگر تولید می شود (Malamy and Benfey, 1997; Moreno-Risueno et al., 2010). بتا-سایکلوسیترال باعث تحریک تقسیمات سلول پیش ساز در پرموردیای (Primordia) ریشه قبل از طویل شدن سلول می شود. نتایج نشان می دهد که بتا-سایکلوسیترال باعث افزایش تقسیمات سلول های تمایز نیافته در مریستم ریشه اولیه و جانبی می شود (Moreno-Risueno et al., 2010). تجزیه و تحلیل ژن ها در آرآیدوسیس نشان داد که بتا-سایکلو سیترال برای سیستم ایمنی و ایجاد مقاومت نسبت به تنش های اکسیداتیو مهم است (Ramel, 2012). تیمار بتا-سایکلوسیترال باعث افزایش قدرت گیاه در برنج در مواجه با خاک های شور می شود، بتا-سایکلوسیترال به نحو گسترده ای محرک رشد ریشه در گیاهان تک لپه و دولپه بوده و می تواند یک تنظیم کننده رشد ارزشمند برای افزایش قدرت محصول تحت تنش های محیطی باشد (Dickinson et al., 2019). تحقیقات نشان داده که سافرانال دارای ساختار شیمیایی مشابهی با ترکیب طبیعی بتا-سایکلوسیترال است (Corradi and Michelli, 1979).

سافرانال ( $C_{10}H_{14}O$ ) یک آلدئید مونوترپن است که در هنگام خشک کردن و ذخیره سازی در زعفران توسط هیدرولیز از پیکروکروسین ایجاد می‌شود (Iborra et al., 1992). هر ساله حجم زیادی از گلبرگ های زعفران بعد از جداسازی کلاله های گل دوریخته می شوند. با توجه به وجود سافرانال در بخش های مختلف زعفران و شباهت آن به بتا-سایکلوسیترال، انتظار می رود که عصاره گلبرگ و اسانس زعفران را بتوان به عنوان یک محرک رشد در جوانه زنی، ریشه زایی و رشد ابتدایی و استقرار گیاهان برای رفع اثر تنش های غیر زیستی مورد استفاده قرار داد. برای اولین بار تلاش نمودیم تا در طی دو آزمایش مستقل تاثیر عصاره و اسانس زعفران و سالیسیلیک اسید بر جوانه زنی بذر ها، ریشه زایی، رشد و استقرار گیاهچه های فستوکای بلند و پاسخ های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی آنها تحت شرایط شوری را مورد ارزیابی قرار دهیم.

## مواد و روش ها

### آزمایش اول - مرحله جوانه زنی

پژوهش حاضر به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط کنترل شده در اتاق کشت (فیتوترون) با قابلیت تنظیم دما در دمای  $(25 \pm 2)$  انجام شد. در آزمایش اول، پیش تیمار سالیسیلیک اسید در ۳ سطح (صفر، ۰/۱ mM و ۰/۵ mM) آب گلبرگ زعفران، اسانس کلاله زعفران و عصاره آبی کلاله زعفران هر یک با غلظت ۵۰  $\mu\text{L/mL}$  و سه غلظت کلرید سدیم (صفر، ۳۰۰۰ mg/L و ۶۰۰۰ mg/L) ارزیابی شد. بذر های فستوکای بلند *Festuca arundinacea* Scherb. پس از ضد عفونی به مدت ۵ دقیقه با هیپوکلرید سدیم و الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه با آب مقطر شستشو داده شده و پس از آن به مدت ۲۴ ساعت در محلول های سالیسیلیک اسید (شاهد، ۰/۱ mM و ۰/۵ mM) خیسانده شدند. پس از آن بذر های تیمار شده با سالیسیلیک اسید در ظروف پتری دیش دارای آگار یک درصد که با سطوح مختلف عصاره و

اسانس زعفران، سالیسیلیک اسید و کلرید سدیم مخلوط شده بود انتقال یافتند. برای ایجاد محیط کشت ابتدا از محلول کلرید سدیم با غلظت های ( صفر، ۳۰۰۰ mg/L و ۶۰۰۰ mg/L) و آگار یک درصد تهیه و سپس آب گلبرگ زعفران  $\text{SEES}_{11}$  ( Saffron extract and essential oil - ) و  $\text{SEES}_{12}$  (Abbreviation: SEES) اسانس کلاله زعفران و  $\text{SEES}_{13}$  عصاره آبی کلاله زعفران به میزان ۵۰  $\mu\text{L/mL}$  به هر ظرف اضافه شد. ظروف پتری دیش با پارافیلیم کاملاً بسته و به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در اتاقک رشد قرار گرفتند (Parmoon et al., 2014). پس از گذشت ۵ روز، شمارش تعداد بذر های جوانه زده در هر روز آغاز شد و به مدت ۲۰ روز ادامه داشت. شاخص های مورد بررسی مانند درصد جوانه زنی، طول و وزن تر و خشک ساقه چه و ریشه چه در هر پتری دیش اندازه گیری و یادداشت شد. درصد جوانه زنی از نسبت درصد تعداد بذور جوانه زده به تعداد کل بذور قرار داده شده در هر پتری دیش بدست آمد.

### آزمایش دوم - ارزیابی پس از استقرار در گلدان

برای انجام این کار ۷۲ عدد گلدان متوسط (قطر ۱۹ سانتی متر) با ماسه رودخانه ای کاملاً شسته شده پر شدند و پس از چندین بار آبیاری، ۱۵۰ عدد بذر فستوکای بلند در هر گلدان کاشته و در گلخانه با میانگین دمای ۲۵ درجه سلسیوس مستقر شدند. آبیاری به صورت مرتب انجام شد و پس از سبز شدن گیاهچه ها و جهت تغذیه و پیشگیری از کمبود مواد غذایی در طول دوره رشدی از کود شیمیایی کامل ۳٪ (سیترونا ۲۰-۲۰-۲۰) به صورت محلول در آب آبیاری استفاده گردید. پس از جوانه زنی کامل بذور و استقرار اولیه و یک بار سرزنی چمن ها پس از ۲۸ روز، تیمار دهی با سطح های شوری ( صفر، ۳۰۰۰ mg/L و ۶۰۰۰ mg/L) آغاز شد و به مدت ۴ هفته ادامه یافت. به لحاظ اهمیت حفظ سطوح شوری مورد نظر در بستر کاشت و دقت در انجام آزمایش بر اساس روش یار محمد کریمی و همکاران (۲۰۱۸) مقادیر ویژه EC سطوح

گلدان‌ها حفظ گردید. کسر آبشویی برای حفظ سطح شوری آب آبیاری با استفاده از فرمول زیر به کار گرفته شد (Karimi et al., 2018).

تیمارهای شوری اعمال شده در بستر کاشت با توجه به میزان EC کسر آبشویی (Leaching fraction) با افزودن آب یا غلظت نمک به میزان مورد نیاز در هر یک از

عمق آب استفاده شده در سطح / عمق زه آب در زیر ناحیه ریشه = کسر آبشویی

در هر تیمار مورد ارزیابی قرار گرفت. با هر بار آبیاری غلظت‌های شوری (صفر، ۳۰۰۰ mg/L و ۶۰۰۰ mg/L) به کار گرفته شد. بعد از یک ماه تیمار آب گلبرگ و اسانس کلالة زعفران در دو مرحله با استفاده از غلظت‌های زیر انجام شد.

بنابراین چون آب تبخیر می‌شود یا توسط گیاهان جذب می‌شود، بیشتر نمک موجود در بستر کشت در منطقه ریشه باقی خواهد ماند و سبب افزایش غلظت نمک بستر کشت می‌شود. مقدار این نمک در ناحیه ریشه را با مقدار آبشویی و تنظیم غلظت شوری تیمار ثابت نگاه داشته شد. برای اطمینان از این موضوع، شوری هر زاب گلدان‌ها

آب گلبرگ زعفران: صفر (SEES<sub>21</sub>)، ۲۵۰ μL/100mL (SEES<sub>22</sub>) و ۵۰۰ μL/100mL (SEES<sub>23</sub>)  
اسانس کلالة زعفران: صفر (SEES<sub>24</sub>)، ۴۰ μL/100mL (SEES<sub>25</sub>) و ۱۲۵ μL/100mL (SEES<sub>26</sub>)

#### ارزیابی فاکتورهای شیمیایی

گردید. محلول رویی به دست آمده به عنوان عصاره آنزیمی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: به یک میلی‌لیتر مخلوط، بافر فسفات پتاسیم یک مولار، پراکسید هیدروژن یک مولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره خام اضافه گردید. فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان تجزیه شدن H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از ضریب خاموشی  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$  ۳۹/۴<sup>۱</sup> محاسبه شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: به یک میلی‌لیتر مخلوط واکنش، بافر فسفات پتاسیم یک مولار، آسکوربات ۱۰ میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره خام اضافه گردید. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس میزان اکسید شدن آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر و خوانش دستگاه اسپکتوفتومتر (Analytic jena SPECORD 210, Germany) و با استفاده از ضریب خاموشی  $\text{Mm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  ۲۸<sup>۱</sup> محاسبه شد (Navarro et al., 2000).

سنجش پراکسید هیدروژن: ۰/۲ گرم از برگ گیاهی را در هاون حاوی محلول تری کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد کوبیده و عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم، ۱۰ میلی‌مولار با pH برابر ۷ و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه گردید و جذب در طول موج ۳۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (Nano drop, Thermo america group) خوانده شد. مقدار پراکسید هیدروژن در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید (Meloni et al., 2003).

استخراج عصاره پروتئینی: برای تهیه عصاره آنزیمی ابتدا ۰/۱ گرم برگ به همراه یک میلی‌لیتر بافر شامل فسفات پتاسیم ۱۰۰ mM با pH برابر ۷ و ۱ mM EDTA و پلی-نیل‌پیرولیدین یک درصد در هاون چینی سرد و بر روی یخ سابیده و همگن شدند. سپس عصاره‌های حاصل در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول رویی حاصل جمع آوری

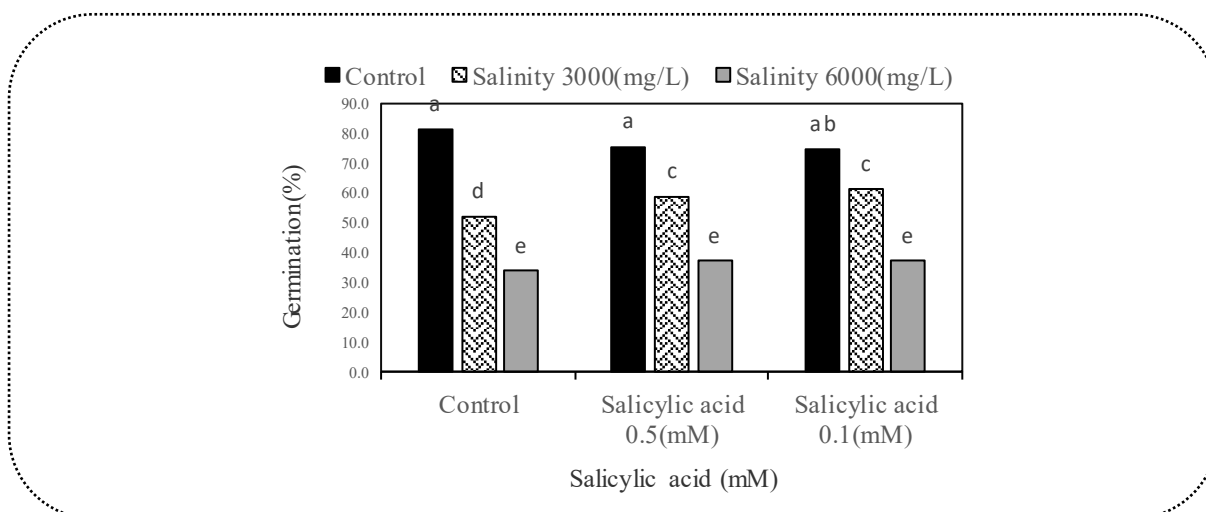
## آنالیز آماری

کلیه داده‌ها در یک آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 آنالیز شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شدند.

## نتایج و بحث

### درصد جوانه زنی

عصاره و اسانس زعفران تاثیر معنی‌داری روی فاکتورهای جوانه‌زنی نداشتند. بیشترین درصد جوانه زنی در تیمار بدون شوری و کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمار شوری با غلظت ۶۰۰۰ mg/L کلرید سدیم مشاهده شد



شکل ۱- برهمکنش تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر درصد جوانه‌زنی  
Figure 1. Interaction of salinity stress and salicylic acid on germination percentage

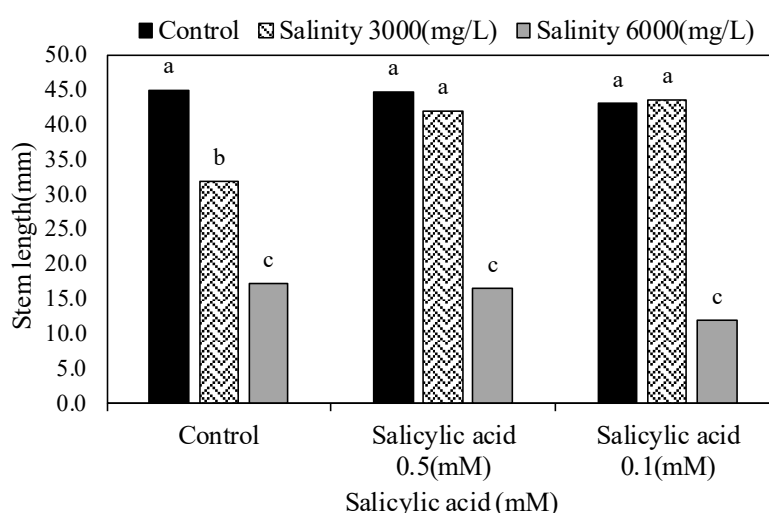
۳۰۰۰ به صورت معنی‌داری کاهش ارتفاع ساقچه را نسبت به شاهد تعدیل نموده ولی تفاوت معنی‌داری در طول ساقچه بین تیمارهای سالیسیلیک اسید مشاهده نشد (شکل ۲). تیمارهای سالیسیلیک اسید ۰/۱ mM و ۰/۵ mM به ترتیب ۲۳٪ و ۲۴٪ طول ساقچه را نسبت به شاهد در شوری ۳۰۰۰ mg/L افزایش دادند (شکل ۲). در برهمکنش تیمار شوری ۶۰۰۰ mg/L و آب گلبرگ زعفران (SEES<sub>II</sub>) تیمار شوری ۵۰ μL/mL طول ساقچه به طور معنی‌داری (۴۰٪)

### طول ساقچه

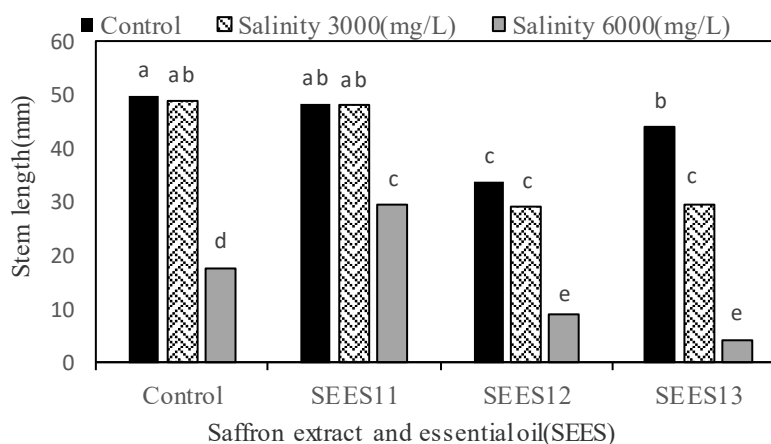
همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، با افزایش شوری ارتفاع ساقچه به صورت معنی‌داری کاهش یافته است، به طوری که کمترین طول ساقچه در تیمار شوری ۶۰۰۰ mg/L مشاهده شد. تیمارهای شوری ۳۰۰۰ و ۶۰۰۰ mg/L بدون سالیسیلیک اسید به ترتیب ۲۵٪ و ۵۸٪ درصد طول ساقچه را نسبت به شاهد کاهش دادند (شکل ۲). سالیسیلیک اسید در تنش شوری ۶۰۰۰ mg/L

شوری ۶۰۰۰ mg/L و آب گلبرگ زعفران (SEES<sub>11</sub>) ۵۰ µL/mL موجب افزایش معنی دار طول ساقه چه شد و سالیسیلیک اسید تاثیر معنی داری روی آن نشان نداد ولی بررسی منابع نشان داد که در گیاهان پیش تیمار شده با سالیسیلیک اسید کاهش شاخص های مورفولوژیک مانند طول ساقه چه و وزن ریشه چه تعدیل می شوند (Mahdavian, 2018).

نسبت به تیمار شوری ۶۰۰۰ mg/L در شاهد افزایش یافت (شکل ۳). عصاره آبی کلاله زعفران (SEES<sub>13</sub>) ۵۰ µL/100mL بدون تیمار شوری به طور معنی داری طول ساقه چه را نسبت به شاهد کاهش داد (شکل ۳)، این کاهش معنی دار می تواند ناشی از غلظت بالای عصاره آبی کلاله زعفران (SEES<sub>13</sub>) باشد. کمترین طول ساقه چه در برهمکنش شوری ۶۰۰۰ mg/L و تیمار عصاره آبی کلاله زعفران (SEES<sub>13</sub>) مشاهده شد (شکل ۳). برهمکنش تیمار



شکل ۲- برهمکنش تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر طول ساقه چه  
Figure 2. Interaction of salinity stress and salicylic acid on stem length



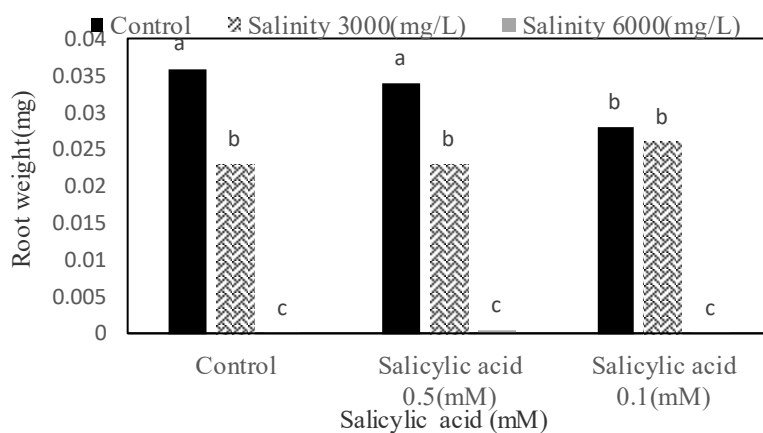
شکل ۳- برهمکنش تنش شوری و آب گلبرگ زعفران SEES<sub>11</sub>، اسانس کلاله زعفران SEES<sub>12</sub> و عصاره آبی کلاله زعفران - SEES<sub>13</sub> بر طول ساقه چه

Figure 3. Interaction of salinity stress and SEES<sub>11</sub>-SEES<sub>12</sub>-SEES<sub>13</sub> on stem length

## وزن ریشه‌چه

در برهمکنش سالیسیلیک اسید ۰/۵ mM و تنش شوری ۳۰۰۰ mg/L و ۶۰۰۰ mg/L روی وزن ریشه‌چه تفاوت معنی داری نسبت به شاهد مشاهده نشد (شکل ۴). این در حالی است که تیمار شوری به طور معنی داری وزن ریشه‌چه را کاهش داد. همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده است، بر همکنش تیمار سالیسیلیک اسید ۰/۱ mM و عدم شوری وزن ریشه‌چه را به طور معنی داری (۱۸٪) نسبت به برهمکنش سالیسیلیک اسید ۰/۵ mM و عدم شوری و برهمکنش عدم تیمار سالیسیلیک اسید و عدم شوری کاهش داد. سالیسیلیک اسید ۱/۵ mgr/L بیشترین افزایش را در طول هیپوکوتیل و ریشه باعث شد. اگرچه پرایمینگ با سالیسیلیک اسید نتوانست طول ریشه و وزن خشک ریشه را در تمام سطوح شوری بهبود بخشد، با این حال دانه‌های تیمار شده با سالیسیلیک اسید طول هیپوکوتیل بالاتری را در تمام سطوح شوری نسبت به دانه‌های تیمار نشده تولید کردند (Bahrani and Pourreza, 2012).

همانطور که در شکل ۵ نشان داده شده است، بیشترین وزن ریشه‌چه در تیمار بدون شوری و محیط دارای آب گلبرگ زعفران (SEES<sub>II</sub>) و کمترین وزن ریشه‌چه در تیمار تنش شوری ۶۰۰۰ mg/L شاهد شد (شکل ۵). برهمکنش آب گلبرگ زعفران (SESS<sub>II</sub>) و سطح شوری ۳۰۰۰ mg/L و عدم شوری به ترتیب سبب افزایش معنی‌دار ۳۸٪ و ۵۶٪ وزن ریشه‌چه نسبت به شاهد شد (شکل ۵). سافرانال در هنگام خشک کردن و ذخیره سازی زعفران توسط هیدرولیز پیکروکرو سین ایجاد می‌شود (Iborra et al., 1992)، تحقیقات نشان داده که سافرانال دارای ساختار شیمیایی مشابهی با ترکیب طبیعی بتا-سایکلوستیرال است (Corradi and Michelli, 1979). بتا-سایکلوستیرال عامل تحریک تقسیمات سلول پیش ساز در پریموردیای ریشه قبل از طویل شدن سلول (Moreno-Risueno et al., 2010) و محرک گسترده رشد ریشه در گیاهان تک لپه و دولپه برای افزایش قدرت محصول تحت تنش‌های محیطی می‌باشد (Dickinson et al., 2019).



شکل ۴ - برهمکنش تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر وزن ریشه‌چه

Figure 4. Interaction of salinity stress and salicylic acid on root weight

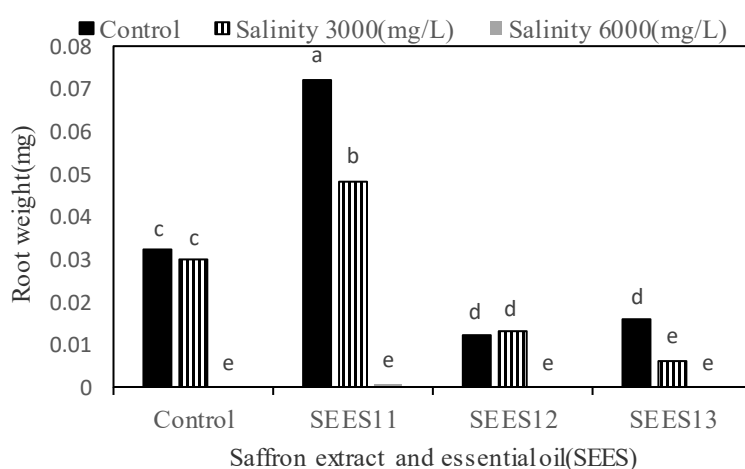
## طول گیاهچه

همانطور که در شکل ۶ نشان داده شده است، در برهمکنش تنش شوری و سالیسیلیک اسید بیشترین طول گیاهچه در تیمارهای فاقد تنش شوری و کمترین طول

گیاهچه در تیمار شوری ۶۰۰۰ mg/L مشاهده شد. در تیمار شوری ۳۰۰۰ mg/L، تیمارهای سالیسیلیک اسید ۰/۵ mM و ۰/۱ mM به طور معنی داری به ترتیب ۲۵٪ و ۳۱٪ طول گیاهچه را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۶). اما در

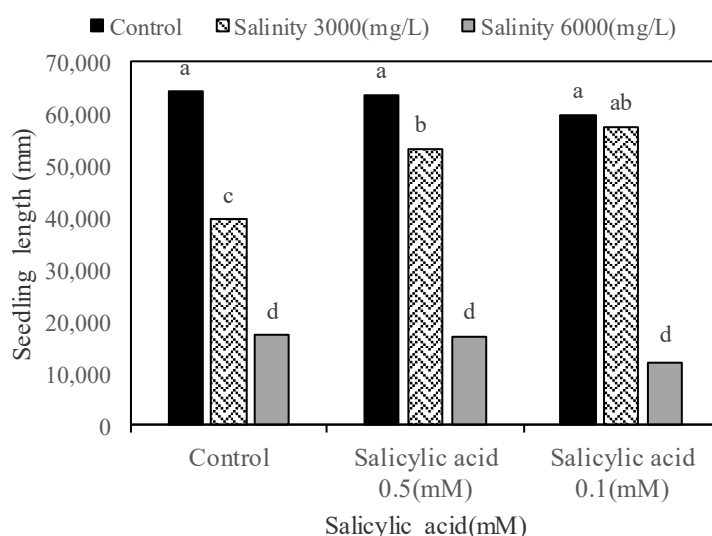
۶۰۰۰ با آب گلبرگ زعفران (SEES<sub>11</sub>) موجب افزایش معنی دار (۴۲٪) طول گیاهچه نسبت به شاهد شد (شکل ۷). بتا-سایکلو سیترال (سافرانال) در ریشه گیاه برنج تحت تنش شوری به طور معنی داری رشد ریشه و ساقه را تحریک و به نحو ارزشمندی برای بهبود قدرت محصول، به ویژه در شرایط محیطی سخت قابل استفاده می باشد (Dickinson et al., 2019).

تیمار بدون شوری، غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید تاثیر معنی داری بر طول گیاهچه نداشتند (شکل ۶). همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده است، بیشترین طول گیاهچه به طور معنی داری در تیمار بدون شوری و محیط بدون عصاره و اسانس زعفران و کمترین طول گیاهچه در سطح شوری ۶۰۰۰ mg/L و محیط دارای اسانس کلاله زعفران (SEES<sub>12</sub>) و عصاره آبی کلاله زعفران (SEES<sub>13</sub>) مشاهده شد. برهمکنش شوری mg/L



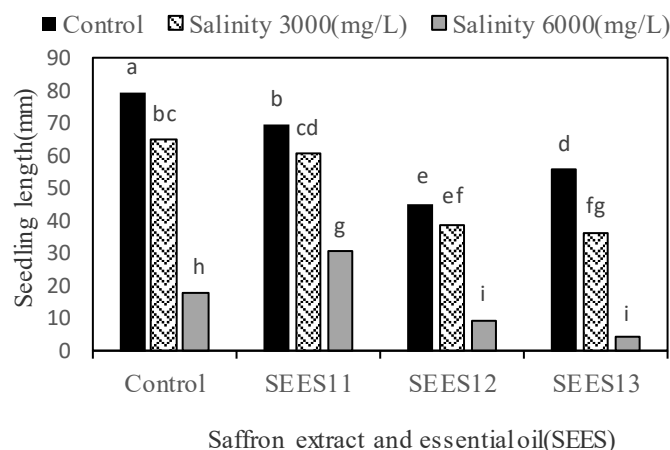
شکل ۵ - برهمکنش تنش شوری و آب گلبرگ زعفران SEES<sub>11</sub>، اسانس کلاله زعفران SEES<sub>12</sub> و عصاره آبی کلاله زعفران - SEES<sub>13</sub> بر وزن ریشه چه

Figure 5. Interaction of salinity stress and SEES<sub>11</sub>-SEES<sub>12</sub>-SEES<sub>13</sub> on root weight



شکل ۶ - برهمکنش تنش شوری و سالیسیلیک اسید بر طول گیاهچه

Figure 6. Interaction of salinity stress and salicylic acid on seedling length



شکل ۷- برهمکنش تنش شوری و آب گلبرگ زعفران SEES<sub>11</sub>، اسانس کلاله زعفران SEES<sub>12</sub> و عصاره آبی کلاله زعفران SEES<sub>13</sub> بر طول گیاهچه

Figure 7. Interaction of salinity stress and SEES<sub>11</sub>-SEES<sub>12</sub>-SEES<sub>13</sub> on seedling length

سوپر اکسید و به دنبال آن تنش اکسیداتیو در گیاه می شود (Azevedo Neto, 2006). افزایش معنی‌دار پراکسید هیدروژن در تنش شوری ۶۰۰۰ mg/L نشان دهنده حد آستانه آغاز پاسخ فستوکای بلند به تنش شوری می‌باشد. در میان گونه‌های فعال اکسیژن، پراکسید هیدروژن به دلیل نیمه عمر بالا، باعث فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی، از جمله افزایش سطح آنتی‌اکسیدان کل و بهبود رشد گیاه در شرایط خشکسالی می‌شود (Rohollahi et al., 2018).

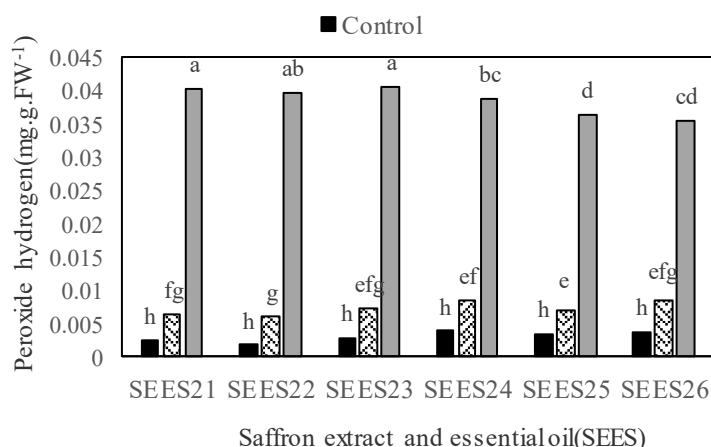
#### فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز

همانطور که در شکل ۹ نشان داده شده است، فعالیت آنزیم کاتالاز در برهمکنش شوری ۶۰۰۰ mg/L و غلظت ۴۰ μL/100mL (SEES<sub>25</sub>) و ۱۲۵ μL/100mL (SEES<sub>26</sub>) اسانس کلاله زعفران به صورت معنی‌داری به ترتیب ۳۹٪ و ۳۰٪ نسبت به شاهد افزایش یافت. کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار بدون تنش شوری مشاهده شد (شکل ۹). بر همکنش شوری ۶۰۰۰ mg/L و آب گلبرگ زعفران با غلظت ۵۰۰ μL/100mL (SEES<sub>23</sub>) به صورت معنی‌داری فعالیت آنزیم کاتالاز را ۱۸٪ نسبت به شاهد افزایش داد (شکل ۹).

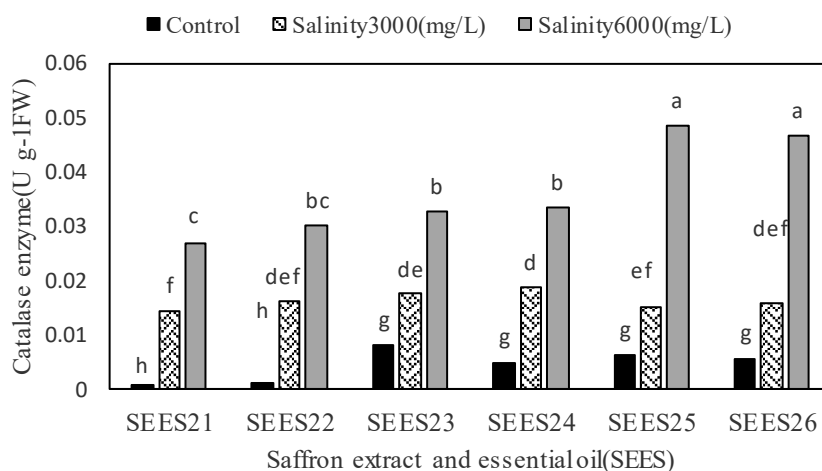
#### نتایج حاصل از اثرات شوری و عصاره و اسانس زعفران بر پارامترهای شیمیایی

##### پراکسید هیدروژن

مطابق نتایج ارائه شده در شکل ۸، بیشترین میزان پراکسید هیدروژن در برهمکنش تیمار شوری ۶۰۰۰ mg/L و آب گلبرگ زعفران: صفر (SEES<sub>21</sub>)، ۶۰۰۰ μL/100mL و ۲۵۰ (SEES<sub>22</sub>) و ۵۰۰ μL/100mL (SEES<sub>23</sub>) و کمترین میزان پراکسید هیدروژن در تیمار بدون شوری مشاهده شد (شکل ۸). همچنین برهمکنش تیمارهای صفر (SEES<sub>24</sub>)، ۴۰ μL/100mL (SEES<sub>25</sub>) و ۱۲۵ μL/100mL (SEES<sub>26</sub>) اسانس کلاله زعفران با شوری ۶۰۰۰ mg/L به‌طور معنی‌دار غلظت پراکسید هیدروژن بالاتری نسبت به برهمکنش اسانس کلاله زعفران و سایر سطوح شوری نشان دادند (شکل ۸). با این وجود برهمکنش غلظت ۴۰ μL/100mL (SEES<sub>25</sub>) اسانس کلاله زعفران با شوری ۶۰۰۰ mg/L به‌طور معنی‌داری منجر به کاهش غلظت پراکسید هیدروژن نسبت به شاهد شد (شکل ۸). افزایش معنی‌دار غلظت پراکسید هیدروژن سیگنالی برای امادگی گیاه در جهت ایجاد مقاومت به تنش شوری خواهد بود. شوری باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن و



شکل ۸ - برهمکنش تنش شوری و آب گلبرگ SEES<sub>21-23</sub> و اسانس کلاله زعفران SEES<sub>24-26</sub> بر میزان پراکسید هیدروژن  
Figure 8. Interaction of salinity stress and SEES<sub>21-26</sub> on hydrogen peroxide



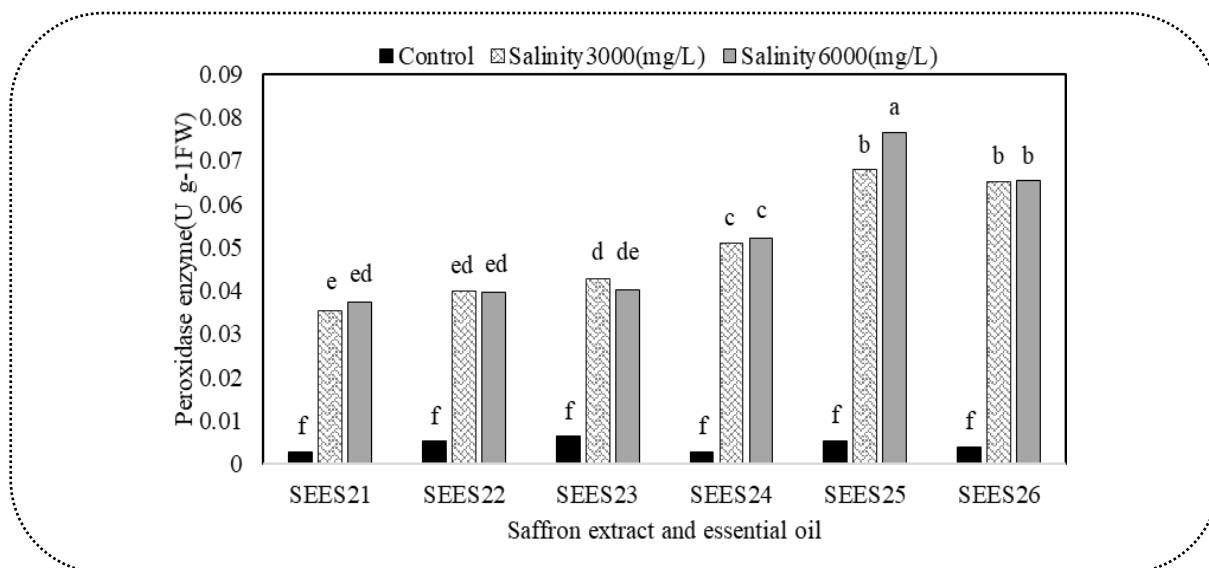
شکل ۹ - برهمکنش تنش شوری و آب گلبرگ زعفران SEES<sub>21-23</sub> و اسانس کلاله زعفران SEES<sub>24-26</sub> بر فعالیت آنزیم کاتالاز  
Figure 9. Interaction of salinity stress and SEES<sub>21-26</sub> on catalase activity

داری به ترتیب ۳۱٪ و ۲۰٪ نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۱۰). همچنین فعالیت آنزیم پراکسیداز در برهمکنش شوری ۳۰۰۰ mg/L و ۴۰  $\mu\text{L}/100\text{mL}$  (SEES<sub>25</sub>) و ۱۲۵  $\mu\text{L}/100\text{mL}$  (SEES<sub>26</sub>) اسانس کلاله زعفران به صورت معنی داری به ترتیب ۲۴٪ و ۲۱٪ نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۱۰). برهمکنش شوری ۶۰۰۰ mg/L و ۳۰۰۰ mg/L با آب گلبرگ زعفران به صورت معنی داری فعالیت آنزیم پراکسیداز را نسبت به تیمار شاهد

همانطور که در شکل ۱۰ نشان داده شده است، بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به صورت معنی داری در برهمکنش تیمار شوری ۶۰۰۰ mg/L و غلظت ۴۰  $\mu\text{L}/100\text{mL}$  اسانس کلاله زعفران (SEES<sub>25</sub>) و کمترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار شاهد مشاهده شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز در برهمکنش شوری ۴۰  $\mu\text{L}/100\text{mL}$  و غلظت ۴۰  $\mu\text{L}/100\text{mL}$  (SEES<sub>25</sub>) و ۱۲۵  $\mu\text{L}/100\text{mL}$  (SEES<sub>26</sub>) اسانس کلاله زعفران به صورت معنی

(et al., 2003). همانطور که در نتایج تحقیق حاضر نشان داده شد غلظت بالای پراکسید هیدروژن به طور مستقیم باعث تحریک آنزیم کاتالاز و پراکسیداز می شود (Polidoros and Scandalios, 2002).

افزایش داد، اگر چه تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف آب گلبرگ زعفران مشاهده نشد (شکل ۱۰). تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ کلزا و کاهش اثرات مخرب تنش شوری شد Meloni



شکل ۱۰ - برهمکنش تنش شوری و آب گلبرگ زعفران SEES<sub>21-23</sub> و اسانس کلاله زعفران SEES<sub>24-26</sub> بر فعالیت آنزیم پراکسیداز  
Figure 10. Interaction of salinity stress and SEES on peroxidase activity

مشابه‌ای با ترکیب طبیعی بتا-سایکلوستیرال دارد و گلبرگ-های زعفران و کلاله زعفران دارای مقادیری از سافرانال هستند که می‌توان از عصاره و اسانس گلبرگ و کلاله زعفران به عنوان محرک جوانه‌زنی و مکمل رشد ریشه استفاده نمود. نتایج آزمایش اول نشان داد که کاربرد آب گلبرگ زعفران موجب افزایش معنی‌دار ویژگی‌های مورفولوژیکی مانند طول گیاهچه (۷۰٪)، وزن ریشه‌چه (۶۰٪) و طول ساقه‌چه (۶۷٪) شد. طی آزمایش دوم، افزایش شوری تاثیر معنی‌داری در افزایش غلظت پراکسید هیدروژن و افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز داشت. غلظت پراکسید هیدروژن در برهمکنش تنش شوری ۶۰۰۰ mg/L و آب گلبرگ زعفران و اسانس کلاله زعفران به نحو معنی‌داری افزایش یافت. حتی در غلظت صفر آب گلبرگ زعفران و اسانس کلاله زعفران غلظت پراکسید هیدروژن به نحو معنی‌داری نسبت به سایر

## نتیجه‌گیری کلی

از نتایج حاصل از این تحقیق می‌توان دریافت که علی‌رغم تاثیر معنی‌دار تنش شوری در کاهش ویژگی‌های مورفولوژیک مانند طول، وزن تر، وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی، کاربرد سالیسیلیک اسید در بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی تاثیر معنی‌داری داشته است. اسیدسالیسیلیک، یک مولکول فنلی طبیعی ساده تنظیم‌کننده رشد، نقش مهمی در فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان ایفا می‌کند. هر دو غلظت سالیسیلیک اسید ۰/۱ mM و ۰/۵ mM اثر مشابه و معنی‌داری در بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی در شرایط تنش کلرید سدیم داشتند. بنابراین می‌توان غلظت سالیسیلیک اسید ۰/۱ mM را به منظور بهبود ویژگی‌های جوانه‌زنی و شاخص‌های مورفولوژیک پیشنهاد نمود.

تحقیقات نشان داده است که سافرانال ساختار شیمیایی

پاسخ گیاه مانند ارتفاع گیاهچه و طول ریشه و سایر صفات پس از استقرار شود. تعیین روش مناسب عصاره و اسانس گیری از ضایعات گلبرگ های زعفران و تحقیق در جهت مشخص نمودن مدت زمان استفاده و غلظت های مناسب می تواند نتایج بهتری در آینده فراهم نماید.

### منابع

Azevedo Neto, D., Prisco, J., Eneas, J., De Abreu, C. and E. Gomes. 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. Environmental and experimental botany, 56, 87-94.

Bahrani, B. and J. Pourreza. 2012. Gibberlic Acid and Salicylic acid effects on seed germination and seedlings growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) Under salt stress condition. World applied sciences journal. 18 (5): 633-641

Corradi, C. and G. Michelli. 1979. Spectrophotometric determination of the coloring, American and odorous power of saffron. Bollettino chimico farmaceutico. 118: 553-562.

Dickinson, A. J., Lehner K., Mid J., Jiad K.P., Mijara M., Dinnyec J., Al-Babilid S., and P. N. Benfeya. 2019.  $\beta$ -Cyclocitral is a conserved root growth regulator. Proceedings of the national academy of sciences. 116 (21): 10563-10567.

ElTayeb, M.A. 2012. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation. 45: 215-224.

Godefroot, M.; Sandra, P. and M. Verzele. 1981. New method for quantitative essential oil analysis. Journal of Chromatography A. 203: 325-335.

Harris, D., Pathan, A.K., Gothkar, P., Joshi, A., Chivasa, W. and P. Nyamudeza. 2001. On-farm seed priming: Using participatory methods to revive and refine a key technology. Agriculture system. 69: 151-164.

Hasanuzzaman, M., Hossain, M.A., Teixeira da Silva, J.A., and M. Fujita. 2011. Plant responses and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defense is a key factor. Crop stress and its management: perspectives and strategies. Springer, Berlin, pp. 261-316.

سطوح تنش شوری افزایش یافت. تنها برهمکنش غلظت  $40 \mu\text{L}/100\text{mL}$  (SEES<sub>25</sub>) اسانس کلاله زعفران با شوری  $6000 \text{ mg/L}$  موجب کاهش معنی دار غلظت پراکسید هیدروژن نسبت به شاهد شد. همزمان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در برهمکنش تنش شوری  $6000 \text{ mg/L}$  و آب گلبرگ زعفران و اسانس کلاله زعفران به صورت معنی داری افزایش نشان داد. بالاترین افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در برهمکنش شوری  $6000 \text{ mg/L}$  و غلظت های  $40 \mu\text{L}/100\text{mL}$  (SEES<sub>25</sub>) و  $125 \mu\text{L}/100\text{mL}$  (SEES<sub>26</sub>) اسانس کلاله زعفران مشاهده شد و بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به برهمکنش غلظت  $40 \mu\text{L}/100\text{mL}$  (SEES<sub>25</sub>) اسانس کلاله زعفران با شوری  $6000 \text{ mg/L}$  بود. به نظر می رسد افزایش غلظت پراکسید هیدروژن تا غلظت  $0.364 \text{ mg.g.FW}^{-1}$  در برهمکنش غلظت  $40 \mu\text{L}/100\text{mL}$  (SEES<sub>25</sub>) اسانس کلاله زعفران با شوری  $6000 \text{ mg/L}$  بیشترین تاثیر را در افزایش معنی دار فعالیت آنزیم پراکسیداز داشته است. پراکسید هیدروژن به دلیل نیمه عمر بالا به عنوان عامل اصلی انتقال سیگنال تنش و فعال شدن مکانیسم های دفاعی گیاه عمل می کند. گیاهان قادرند با تولید انواع ترکیبات آنزیمی مانند کاتالاز، پراکسیداز و غیر آنزیمی مانند آسکوربات و آلفا توکوفرول رادیکال های آزاد اکسیژن را حذف نمایند. در نهایت افزایش بیش از حد گونه های فعال اکسیژن و پراکسید هیدروژن موجب ایجاد تنش اکسیداتیو و آسیب به گیاه خواهد شد. در واقع افزایش پراکسید هیدروژن با وجود آب گلبرگ زعفران و اسانس کلاله زعفران باعث افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی می گردد. نتایج نشان می دهد کاربرد آب گلبرگ زعفران و اسانس کلاله زعفران در مدت زمان طولانی تر می تواند کمکی برای پاسخ به تنش های محیطی به خصوص تنش کلرید سدیم باشند. با توجه به تاثیر گذاری آب گلبرگ زعفران می توان نتیجه گرفت که استفاده طولانی تر و یا غلظت بالاتر آن ممکن است سبب بهبود

- and cell differentiation in lateral roots of *Arabidopsis thaliana*. *Development (Cambridge)*. 124 (1):33–44.
- Meloni, D. A., M. A. Oliva, Martinez, C. A. and J. Cambraia. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. 15 (2): 12-21.
- Misra, N., Misra, R., Mariam, A., Yusuf k, and L. Yusuf. 2014. Salicylic acid alters antioxidant and phenolics metabolism in *Catharanthus roseus* grown under salinity stress. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(5), 118–25.
- Moreno-Risueno MA, Norman, J.M.V., Moreno, A., Zhang, J., Ahnert, S.E. and P.N. Benfey. 2010. Oscillating gene expression determines competence for periodic *Arabidopsis* root branching. *Science (Washington)*. 329 (5997):1306–1311.
- Navarro, J. M.; Martinez, V. and V. Carvajal. 2000. Amonium, bicarbonate and calcium effects on tomato Plants grown under saline conditions. *Plant Science*. 157: 89-96.
- Parmoon, Gh., Ebadi, A., Jahanbakhsh Godahkahriz, S. and M. Davari. 2014. Effect of seed priming by salicylic acid on the physiological and biochemical traits of aging milk thistle (*Silybum marianum*) seeds. *Journal of crop production*. 7: 223-234.
- Polidoros, A.N., and J.G. Scandalios. 2002 Role of hydrogen peroxide and different classes of antioxidants in the regulation of catalase and glutathione S-transferase gene expression in maize (*Zea mays* L.). *Physiologia plantarum*. 106 (1): 112-120.
- Ramel, F. et al. 2012. Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants. *Proc. National Academy of Sciences USA*. 109:5535–5540.
- Raskin, I. 1992. Role of Salicylic acid in plants. Annual review of plant physiology and plant molecular biology. 43: 439-463.
- Rohollahi, I., Khoshkholghsima, N.A., Nagano, H., Hoshino, Y. and T. Yamada, 2018. Respiratory burst oxidase-D expression and biochemical responses in *Festuca arundinacea* under drought stress. *Crop science*. 58:435–442.
- Iborra, J. L. Castellar, M. R. Canovas, M. and A. Manjon. 1992. TLC Preparative purification of picrocrocin, HTCC and crocin from saffron. *Journal of Food Science* 57(3): 714-716.
- Jayakannan, M., J. Bose, O. Babourina, S. Shabala, A. Massart, C. Poschenrieder and Z. Rengel. 2015. 'NPR1-dependent salicylic acid signaling pathway is pivotal for enhanced salt and oxidative stress tolerance in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*. 66:1865-75.
- Joulain, D. 1986. Study of the fragrance given off by certain springtime flowers. *Progress in essential oil research*. Walter de Gruyter & Co., Berlin.
- Kang, G., Li, G., Zheng, B., Han, Q., Wang, C., Zhu, Y. and T. Guo. 2012. Proteomic analysis on salicylic acid-induced salt tolerance in common wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Biochim et Biophys Acta*, 1824(12), 1324–33.
- Karimi, I. Y. M., Kurup, S. S., Abdul Mohsen Ali Salem, M., Jaleel Cheruth, A., Thayale Purayil, F., Subramaniam, S. and M. Pessarakli. 2018. Evaluation of Bermuda and Paspalum grass types for urban landscapes under saline water irrigation, *Journal of Plant Nutrition*. 41: 888-902.
- Khoshkholghsima, N.A. and I. Rohollahi. 2015. Evaluating biochemical response of some selected perennial grasses under drought stress in Iran. *Horticulture, environment, and biotechnology*. 56: 383-390.
- Lee, S., Kim, S. G., Park, C. P. M. 2010. Salicylic acid promotes seed germination under high salinity by modulating antioxidant activity in *Arabidopsis*. *New phytologist foundation*, 188 (2): 626-637.
- Loutfy, N., El-Tayeb, M.A., Hassanen, A.M., Moustafa, M.F., Sakuma, Y. and M. Inouhe. 2012. Changes in the water status and osmotic solute contents in response to drought and salicylic acid treatments in four different cultivars of wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of plant research*. 125(1), 173–84.
- Mahdavian, K., 2018. Effect of different concentrations of salicylic acid on salinity tolerance of barley seedling (*Hordeum vulgare* L.). *Crop physiology journal* 9(36): 121-136. [in Persian with English Abstract]
- Malamy J.E. and P.N. Benfey. 1997. Organization

Yavas, I. and A. Unay. 2016. Effects of zinc and salicylic acid on wheat under drought stress. The Journal of Animal and Plant Sciences. 26 (4): 1012-1018.

Wahome, P.K., Jesch H.H., and I. Grittner. 2001. Mechanisms of salt stress tolerance in two rose rootstocks: *Rosa chinensis* 'Major' and *R. rubiginosa*. Scientia Horticulture. 87: 207-216.