



UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Programa de Doctorado en Tecnología de Invernaderos,
Ingeniería Industrial y Ambiental

***“Técnicas de cultivo sin suelo y fertirrigación
en el cultivo de azafrán”***

Doctoranda: Yasmina Chourak

Directores: Dr. Miguel Urrestarazu Gavilán
Dr. José Luis Guil Guerrero

Almería España, septiembre 2022





UNIVERSIDAD DE ALMERÍA

INTERNATIONAL SCHOOL OF DOCTORATE

DOCTORAL THESIS

Greenhouse Technology and Industrial and Environmental Engineering
Ph. D. Program

“Soilless culture techniques and fertigation in saffron cultivation”

Ph.D. Student: Yasmina Chourak

Directors: Dr. Miguel Urrestarazu Gavilán
Dr. José Luis Guil Guerrero

Almería Spain, september 2022



Reconocimientos

Los resultados de esta tesis doctoral han sido publicados en:

Chourak Y, Belarbi EH, Rivera EYM, Cunha-Chiamolera TPL, Fernández AAP, Guil-Guerrero JL, Urrestarazu M (2021). Fertigation temperature adjustment enhances the yield and quality of saffron grown in a soilless culture system. *HortScience* 56 (10): 1191–1194.

Chourak Y, Belarbi EH, Cunha-Chiamolera TPL, Guil-Guerrero JL, Carrasco G, Urrestarazu M Effect of electrical conductivity on the quality of saffron grown in soilless culture systems (2022). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. Under Review

Agradecimientos

Este trabajo no hubiera sido posible sin el apoyo incondicional de mi familia y profesores.

Quisiera primero agradecer a mis directores de tesis Dr. Miguel Urrestarazu Gavilán y Dr. Jose Luis Guillermo por el excelente trabajo de dirección, ayudas y sugerencias durante la realización del doctorado. Para mí ha sido un placer trabajar bajo su orientación y aprender día a día de sus experiencias y enseñanza, tanto en el campo académico como profesional, muchas gracias.

Asimismo, agradezco a todas las personas que participaron de alguna manera en la realización de los trabajos de investigación para poder terminar mi tesis.

Aprecio el haber conocido a mis compañeros de estudio, agradeciéndoles su valiosa amistad durante esta etapa de mi vida.

Finalmente, quiero agradecer a la universidad de Almería por darme esa oportunidad de formarme a nivel profesional.

Índice

Introducción	12
Objetivo.....	20
Capítulo 1. El ajuste de la temperatura de fertirrigación mejora el rendimiento y la calidad del azafrán cultivado en un sistema de cultivo sin suelo.	22
ABSTRACT	22
Introduction	22
Materials and Methods	22
Plant growth conditions	22
Fertigation treatments.....	22
Growth parametr.....	23
Saffron quality analysis.....	23
Experimental design and statistical analysis.....	23
Results and Discusion.....	23
Effect on growth parameters	23
Effect on chemical componenets	23
Effect on saffron quality.....	23
Conclusion.....	24
Literature Cited.....	24
Capítulo 2. El efecto de la conductividad eléctrica en la calidad del azafrán cultivado en un sistema de cultivo sin suelo.....	29
ABSTRACT.....	30
1. Introduction.....	30
2. Materials and Methods.....	31
2.1. Plant growth conditions and fertigation treatments.....	31
2.2. Yield and vegetative growth parameters	32
2.3. Saffron quality and analysis of metabolite content	32
2.4. Design and analysis of experiments.....	33

3. Results and discussion	33
3.1. Effect on fertigation parameters	33
3.2. Effect of growth and yield	33
3.3. Effect on chemical components	34
3.4. Effect on commercial saffron quality.....	34
4. Conclusion	35
References.....	36
Capítulo 3. Efectos de las técnicas de iluminación artificial en la producción de azafrán en sistemas de cultivo sin suelo.	49
ABSTRACT.....	49
1. Introducción	49
2. Materiales y métodos	51
2.1. Condiciones de cultivo y material vegetal	51
2.2. Ensayo con espectros de luz	51
2.3. Parámetros de crecimiento y cosecha	52
2.4. Análisis químico	52
2.5. Diseño estadístico y análisis	53
3. Resultados y discusión	53
3.1. Irradiación.....	53
3.2. Efectos en la producción	54
3.3. Efectos en la composición química	54
3.4. Efectos en la calidad del azafrán.	54
4. Conclusiones	55
5. Referencias.....	56
Conclusiones	65
Referencias.....	69

Resumen

El azafrán (*Crocus sativus* L.) es un cultivo ancestral desde la Edad de Bronce, asociado a la historia y a los valores socioculturales de la humanidad. Es una de las especias más caras utilizadas en la industria alimentaria, la cual ha sido utilizado durante siglos para tratar diversas enfermedades. Esta especia contiene varios compuestos bioactivos de gran interés en la alimentación y en la industria farmacéutica, como crocinas, picrocrocinas y safranal, a las que les atribuyen tales propiedades medicinales beneficiosas. En los últimos años, la demanda de azafrán se ha incrementado notablemente, y son pocos los avances tecnológicos para mejorar su producción y la calidad comercial, la cual viene determinada por las especificaciones recomendadas por *La Organización Internacional de Normalización* (ISO/TS 3632). El objetivo general de esta tesis doctoral fue mejorar la producción y la calidad del azafrán mediante técnicas sostenibles aplicadas a cultivo sin suelo. Para alcanzar este objetivo se realizaron tres series de experimentos.

Experimento 1. Se evaluó el efecto del enfriamiento de la solución nutritiva sobre la producción y las propiedades organolépticas y comerciales de azafrán en cultivo sin suelo. El experimento se llevó a cabo mediante un diseño de cuatro bloques y doce plantas por tratamiento. Los cormos se colocaron en una cámara de cultivo controlada situada en la Universidad de Almería, tras una incubación previa de 55 días a 25 °C. La solución nutritiva se enfrió entre 4 y 5° C, mientras que el tratamiento de control fue la fertirrigación suministrada a temperatura ambiente. Se midió el número de flores por cormo y el peso y la longitud de los estigmas. Las concentraciones de safranal, crocina y picrocrocina se analizaron espectrofotométricamente, según la Organización Internacional de Normalización [Norma ISO/TS 3632-2 (2011)]. Los resultados mostraron que el enfriamiento de la solución nutritiva aumentó la producción de flores, el contenido de fitoquímicos y las propiedades organolépticas.

Experimento 2. Se evaluó el efecto de las conductividades eléctricas (CE) de la solución nutritiva en la producción y la calidad comercial de azafrán obtenido en cultivo sin suelo. Las condiciones de cultivo y los parámetros medidos fueron similares a los del experimento 1. Los tratamientos se realizaron con un contenido estándar de macro y micronutrientes, y la CE fue ajustada a 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 y 3.5 dS m⁻¹. Los mejores resultados en la eficiencia y eficacia de fertirrigación, crecimiento vegetativo y producción comercial se obtuvieron con CE de 2.0 a 2.5 dS m⁻¹, mientras que las concentraciones de metabolitos y de categoría comercial se registraron entre las CE de 2.5 a 3.0 dS m⁻¹.

Experimento 3. Se evaluó el efecto de tres espectros de luz diferentes utilizando iluminarias tipo LED comerciales de 18 W, con una intensidad media de 5.95 lámparas·m⁻²; dos iluminarias con espectros específicos para horticultura (T1 y T2), y la T2 usada es recomendada para la inducción de la floración. El experimento se llevó a cabo con cormos de azafrán en una cámara de crecimiento vegetal controlada. Los cormos de azafrán se sometieron a diferentes tratamientos con un diseño de 4 bloques y quince plantas por tratamiento, todos usando una densidad de 5.95 lámparas m⁻². Se midieron los valores de la iluminancia (Lux)

y del flujo fotosintético de fotones (FFF, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de las lámparas LED utilizadas. Los parámetros evaluados fueron similares a los del experimento 1. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos en cuanto a la producción y biomasa. El tratamiento óptimo en cuanto a la producción de compuestos bioactivos relacionados con la calidad fue el de las lámparas de espectro equivalente a la luz solar (T1), si bien se obtuvo la misma categoría de calidad que la obtenida mediante el tratamiento control.

Abstract

Saffron (*Crocus sativus* L.) is an ancient crop since the Bronze Age, associated with the history and socio-cultural values of mankind. One of the most expensive spices used in the food industry, it has been used for centuries to treat diseases. It contains several chemical compounds of great interest in food and pharmaceuticals, such as crocin, picrocrocin and safranal, to which these beneficial medicinal properties are attributed. In recent years, the demand for saffron has increased and there have been few technological advances to improve its production and commercial quality, which is determined by the specifications recommended by the International Organisation for Standardisation (ISO/TS 3632). The overall objective is to improve the production and quality of saffron through sustainable techniques in soilless cultivation. In order to achieve this objective, three experiments were carried out.

Experiment 1. The effect of cooling the nutrient solution on the production, and organoleptic and commercial qualities of saffron grown in soilless culture was evaluated. The experiment was carried out using a four-block design with twelve plants per treatment. The corms were placed in a controlled culture chamber located at the University of Almería, after a previous incubation for 55 days at 25 °C. The nutrient solution was cooled to 4 to 5 °C whereas the control treatment was the fertigation supplied at ambient temperature. Corms were placed in a controlled cultivation chamber. The number of flowers per corms, and the weight and length of stigmas were measured. The amounts of safranal, crocins, and picrocrocins were analyzed spectrophotometrically according to the *International Organization for Standardization* [ISO/TS 3632-2 (2011) Normative]. The results showed that cooling of the nutritive solution increased flower production, the commercial bioactive compounds content, and the organoleptic properties.

Experiment 2. The effect of electrical conductivities (EC) of the nutrient solution on the production and commercial qualities of saffron in a soilless culture system was evaluated. The growing conditions and the parameters measured were similar to that obtained in the experiment 1. The treatments with standard macro- and micronutrient contents were EC supplied at 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 and 3.5 dS m⁻¹. The best results in fertigation uptake, vegetative growth and marketable production were obtained at EC 2.0 to 2.5 dS m⁻¹, while the best bioactive compounds concentrations and marketable category were recorded between EC 2.5 to 3.0 dS m⁻¹.

Experiment 3. The effects of three different light spectra were evaluated using 18 W commercial LED illuminants, with an average intensity of 5.95 lamps. m⁻² and using two illuminants with specific spectra for horticulture (T1 and T2), T2 being recommended for flowering induction. The experiment was carried out with saffron corms in a controlled plant growth chamber. The saffron corms were subjected to different treatments with a design of 4 blocks and fifteen plants per treatment, all at a density of 5.95 lamps m². Illuminance (Lux) and photosynthetic photon (FFF, µmol m⁻² s⁻¹) values of the LED lamps used were measured. The parameters evaluated were similar to those in experiment 1. No statistically significant differences were found between the different treatments for production and vegetative biomass. The best

treatment in terms of production of bioactive compounds content related to quality was the sunlight-equivalent spectrum lamps (T1), although it was obtained the same quality category as that of the control treatment.

I. INTRODUCCIÓN



Introducción

El azafrán (*Crocus sativus L.*) es un cultivo originario del Oriente (Zohary y Hopf 1994), perteneciente a la familia Iridaceae, y destaca por poseer estigmas rojos (Figura 1), que constituyen una de las especies más apreciada y cara del mundo (Gresta et al. 2008). La producción mundial total de azafrán ronda las 300 toneladas al año, y este cultivo está muy extendido en varios países del mundo (Figura 2), como Irán, Grecia, Marruecos, India, Italia y Francia (Lagram et al. 2017; Cardone et al. 2020; Mahdavi et al. 2021). Irán es el mayor productor del mundo, con más del 98% de la producción total (Farzam et al. 2004). En España la producción de esta especia se localiza en Castilla-La Mancha y en la provincia de Teruel (Aragón). La comunidad con mayor superficie cultivada es Castilla-La-Mancha, donde alcanza una superficie total de 134,66 hectáreas, y en la actualidad presenta un 18% más de superficie cultivada que la media de los últimos ocho años (DOP, 2021). Parte de esa producción se comercializa bajo la DOP “Azafrán de la mancha” (DOCE 2001).

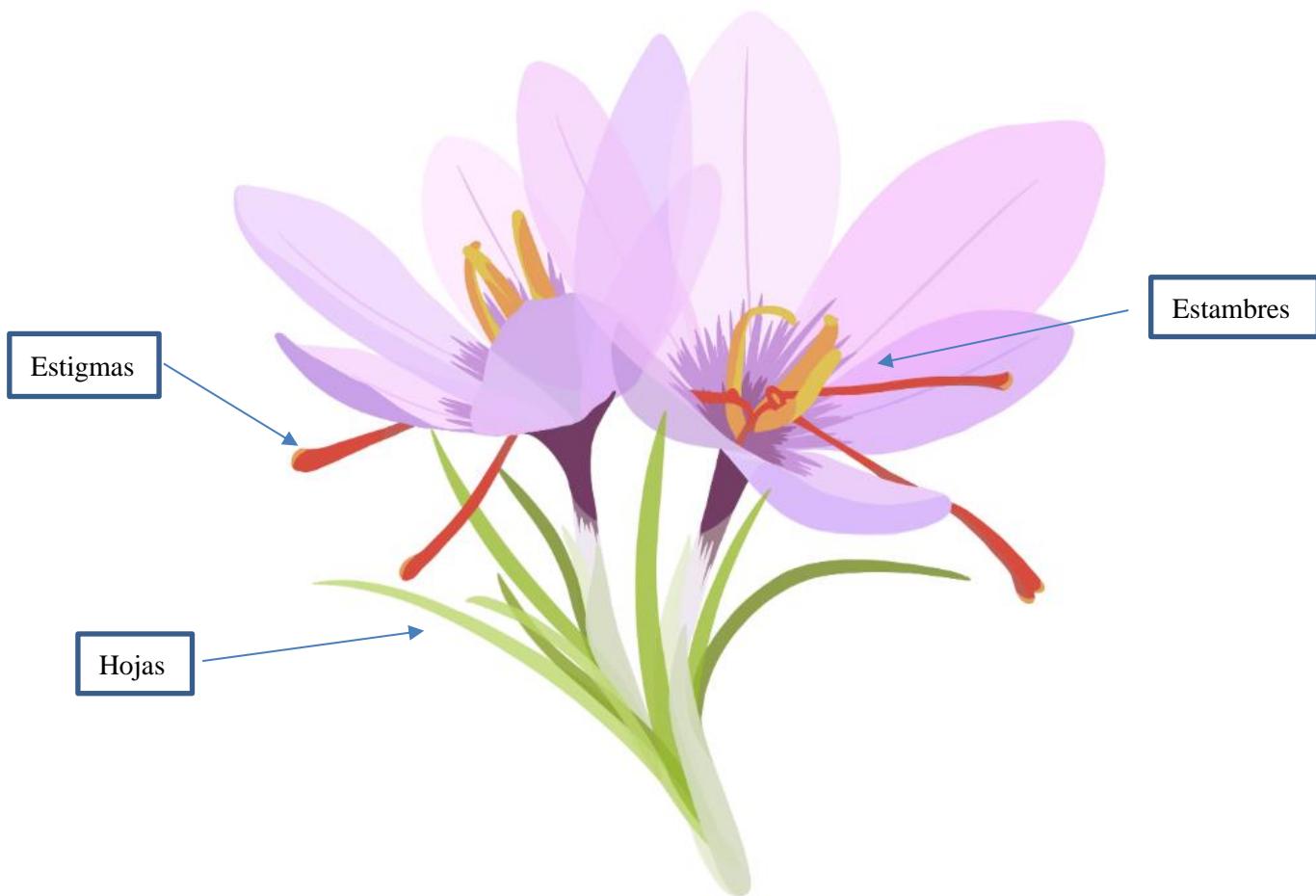


Figura 1. “*Crocus sativus L.*”. Planta de azafrán. Se muestran las estructuras más importantes de la flor.

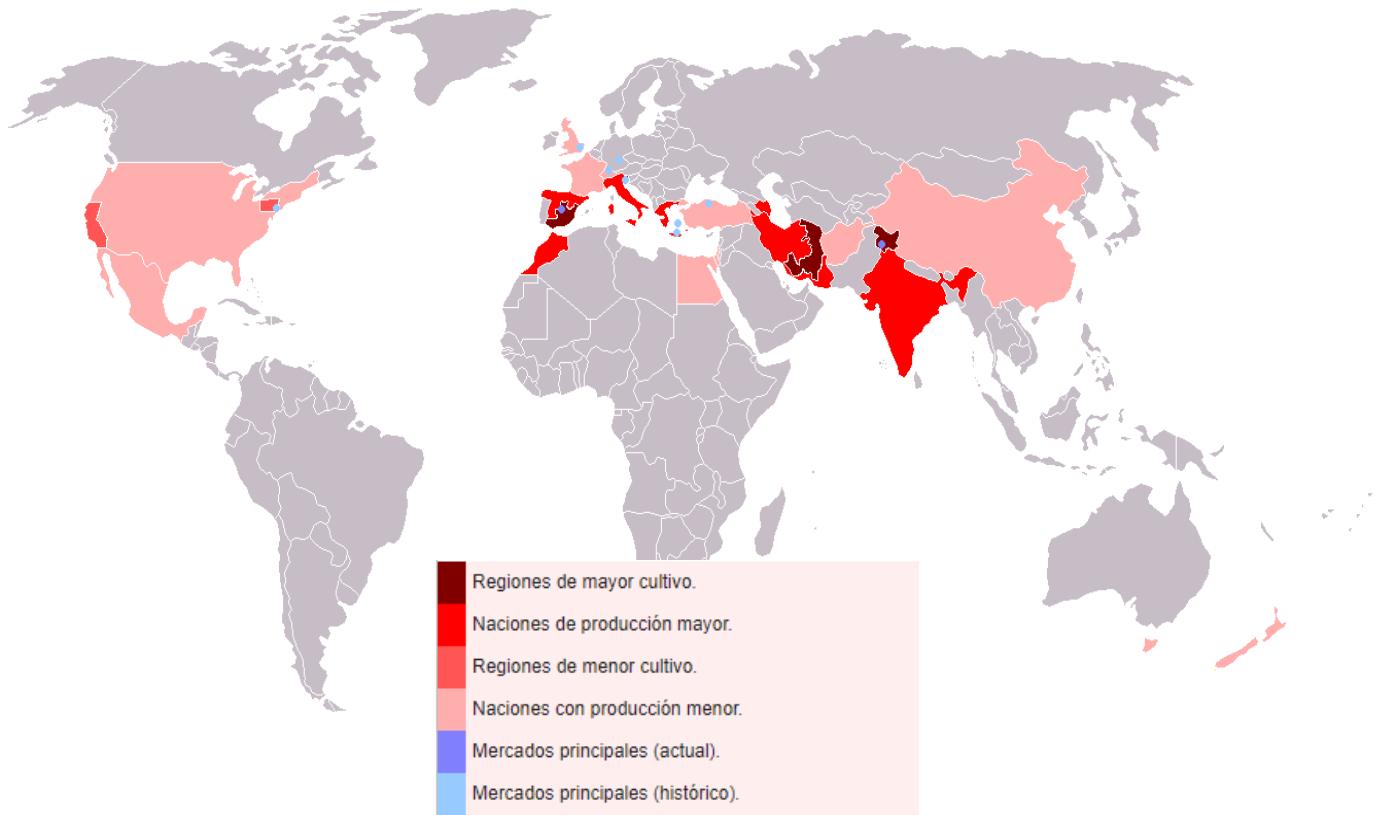


Figura 2. Naciones productoras de azafrán (mayores y menores) y mercados principales (actuales y pasados) (Obtenido de: https://es.wikipedia.org/wiki/Comercio_y_uso_del_azafr%C3%A1n).

Desde hace décadas el azafrán ha sido usado como condimento y ha sido ampliamente usado en la industria alimentaria (García-Rodríguez et al. 2017; Chourak et al. 2021), gracias a su aroma y sabor, así como por su acción colorante, la cual se debe a la presencia de distintos compuestos como la crocina, picrocrocina y safranal (Fernandez, 2004; Gohari et al. 2013; Fallahi y Mahmoodi 2018).

Se distinguen tres etapas en el ciclo de vida del azafrán, i) *Dormancia*: es una etapa de especial importancia para la producción de azafrán, se inicia cuando se produce el marchitamiento y la caída de las hojas (Molina et al. 2004; Molina et al. 2005) y la finalización de la traslocación de inhibidores de brotación (Portela 1996). ii) *Vegetativa-reproductiva*: empieza a principios del verano y finaliza a mediados de la primavera. Al finalizar el verano emergen las raíces y pasado un mes, a mediados del otoño, surgen las hojas. Estas se mantienen en la planta hasta mediados de la primavera, cuando se elevan las temperaturas. Durante esta etapa se desarrolla la biomasa foliar, que es la responsable de la producción futura, y en primer lugar se forman los cormos y estos darán lugar más adelante a las flores (Poggi 2010). iii) *Floración*: empieza con el inicio del crecimiento de las estructuras florales en el ápice, que tiene lugar a mediados del verano y finaliza con la aparición de las

flores en el otoño (Benschop et al. 1993). La formación de flores requiere una incubación previa de los cormos (Molina et al. 2005), la cual puede realizarse tanto en condiciones naturales, en el suelo, como en condiciones controladas. Las temperaturas adecuadas para que se produzca la formación de flores se encuentran entre 23 y 27° C. Temperaturas superiores a 30° C o inferiores a 9° C generan una menor producción de flores, o el aborto de algunas de ellas (Molina et al., 2004; Molina et al. 2005). Cormos bajo condiciones térmicas constantes de 25° C generan el doble de flores por cormo que los incubados a 30° C (Poggi, 2010). Este resultado es más marcado si se tiene en cuenta el tiempo de incubación. El máximo número de flores se consigue, a ambas temperaturas, entre los 75 y 135 días, pero con una curva más extensa y valores máximos más sostenidos en los cormos incubados a 25° C.

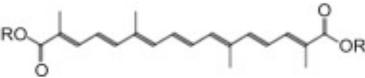
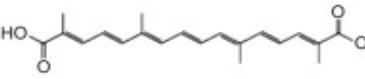
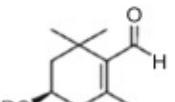
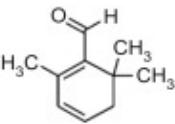
Tradicionalmente, el azafrán ha sido cultivado en suelo como un cultivo semiperenne, principalmente en países de clima suave y seco (Abdullaev 1993) con bajas producciones y grandes gastos en mano de obra. La recolección de la flor se lleva a cabo todos los días y tiene lugar a primeras horas de la mañana para evitar que la flor se marchite (García 1960), y para reunir un gramo de hebras de azafrán hay que cosechar entre 150 y 160 flores, lo que explica su denominación de “oro rojo” (FAO, 2013), y es la principal razón de su gran coste en el mercado (Hosseinpour Chermahini et al., 2010).

Esta planta bulbosa tiene una destacada relación con el ambiente, puesto que es una especie dependiente de diferentes factores como la temperatura, fotoperíodo y la intensidad de luz (Powers y Mc Sorley, 2001; Molina et al., 2005; Ahrazem et al., 2015). Por ello, es necesario conocer con detalle su ciclo biológico y todos los factores medioambientales que intervienen en el control de la floración (García et al. 2015). En este contexto, los sistemas de cultivo basados en condiciones controladas pueden constituir una alternativa al cultivo convencional del azafrán (Mollafilabi et al., 2013). Se han realizado muchos ensayos para escalaronar la producción de esta especie, como el almacenamiento de cormos en frío, incubación mediante su cultivo en invernadero e hidroponía (García et al., 2015). La combinación multivariable de los tres factores estudiados (estadio vegetativo de los cormos, tiempo de almacenamiento en cámaras con atmósfera controlada (ULO) y tiempo de incubación) ha conseguido alargar el tiempo de floración del azafrán desde octubre hasta mayo, aunque con un rendimiento aceptable hasta febrero. El factor limitante es el tiempo de almacenamiento en cámaras ULO. El azafrán conseguido a través de las condiciones de “forzado” ha obtenido un rendimiento aceptable, y la especie muestra una elevada concentración en ésteres de crocina, picrocrocina y safranal (García et al., 2015; Fallahi y Mahmoodi, 2018).

Los estigmas de azafrán, son fuentes valiosas de más de 160 ingredientes bioactivos, en los que las vitaminas, los pigmentos, los flavonoides, las antocianinas y las esencias aromáticas volátiles son de gran importancia (Shahi et al., 2016). En orden de abundancia, las crocinas, la crocetina, la picrocrocina y el safranal son los compuestos bioactivos más importantes contenidos en el azafrán, seguidos de licopeno, α -caroteno, β -caroteno, zeaxantina, kaempferol y querctetina (Melnyk et al. 2010). Las crocinas, picrocrocinas y el safranal se consideran los compuestos con mayor bioactividad (Tabla 1), y los que se han examinado con más

frecuencia en muchos estudios *in vitro* e *in vivo* (Samarghandian y Shabestari 2013).

Tabla 1. Principales compuestos bioactivos del azafrán (Garavand et al., 2017)

Bioactive compounds	Molecular structure	Molecular weight (g.mol ⁻¹)	Melting point (°C)
Crocin C ₄₄ H ₇₀ O ₂₈		976.96	186
Crocetin C ₂₀ H ₂₄ O ₄		328.41	285
Picrocrocin C ₁₆ H ₂₆ O ₇		330.37	156
Safranal C ₁₀ H ₁₄ O		150.21	<25

En la medicina tradicional de varios países el azafrán se ha utilizado para diversos fines, como analgésico, antiinflamatorio, antibacteriano y antidepresivo (Abdullaev, 1993; Ma et al., 2001; Javadi et al., 2013; Hosseinzadeh et al., 2013; Mollazadeh et al., 2015; Siddique et al., 2020; Musazadeh et al., 2022). Además, recientemente ha sido puesta de manifiesto su capacidad citotóxica, anticancerígena y antitumoral (Fernández Pérez y Escribano Martínez, 2000; Aung et al., 2007; Das et al., 2010; Bathaie et al., 2013). Tal actividad se lleva cabo mediante los efectos biológicos de sus componentes químicos principales (Fernández. 2004; Molina et al. 2005; Gohari et al., 2013; Hosseinzadeh et al., 2013). Sin embargo, los hallazgos actuales *in vitro* aún no han sido verificados mediante ensayos clínicos en humanos, por lo que es necesario realizar estudios clínicos para definir la eficacia del azafrán en el tratamiento y la prevención del cáncer. Sin embargo, la escasez y el gasto en la obtención de grandes cantidades de azafrán pueden suponer un impedimento para la quimioprevisión y el tratamiento del cáncer en humanos (Samarghandian y Borji, 2014).

Desde 1980, la Organización Internacional de Normalización proporciona un procedimiento estándar (ISO/TS 3632) para la clasificación de la calidad del azafrán. La calidad del azafrán se determina mediante la cuantificación espectrofotométrica de estos tres compuestos químicos en un extracto acuoso mediante un método de espectrometría UV-VIS, y se utiliza una longitud de onda de 440 nm (absorbancia a la longitud de onda máxima de las crocinas), otra a 330 nm (absorbancia a la longitud de onda máxima del safranal) y otra a 257 nm (absorbancia a la longitud de onda máxima de la picrocroicina). Estas absorbancias se utilizan como índices importantes para clasificar la categoría comercial del azafrán, y cuanto mayor sea la cantidad de estos compuestos mayor será la calidad del azafrán (Gohari et al., 2013).

De lo expuesto se deduce que, tanto la industria alimentaria como la industria química incrementarán su demanda, por lo que serán necesario introducir nuevas técnicas para aumentar la producción, mejorar la

calidad y la gestión del uso de agua, optimizar la fertiirrigación, gestionar adecuadamente el manejo de plagas y enfermedades, así como el control climático (Maggio, 2006; Pérez y Gracia, 2020).

II. OBJETIVOS



Hipótesis y objetivos

La *hipótesis* que ha guiado el desarrollo de esta tesis doctoral es que un adecuado sistema de fertiirrigación y control lumínico, asociados a un efectivo control temperatura, incrementará la calidad y la producción de azafrán.

El *objetivo general* fue aplicar distintas técnicas sostenibles en cultivo sin suelo para mejorar la producción y la calidad de azafrán.

Para alcanzar este *objetivo general*, se plantean los siguientes objetivos específicos:

Objetivo 1. Conocer el efecto sobre el rendimiento y los compuestos fitoquímicos de los principales componentes del azafrán mediante la modificación de la temperatura de la fertirrigación con tratamientos de bajo coste.

Objetivo 2. Determinar la acción de la conductividad eléctrica (CE) de la solución nutritiva sobre la calidad del azafrán obtenido en cultivo sin suelo.

Objetivo 3. Evaluar los efectos de diferentes espectros de lámparas LED sobre la producción de azafrán y la calidad del mismo para optimizar las técnicas de iluminación en la producción de azafrán cultivado sobre sustrato.

III. CAPITULO 1

El ajuste de la temperatura de fertirrigación mejora el rendimiento y la calidad del azafrán cultivado en un sistema de cultivo sin suelo.



Capítulo 1. El ajuste de la temperatura de fertirrigación mejora el rendimiento y la calidad del azafrán en un sistema de cultivo sin suelo.

Fertigation Temperature Adjustment Enhances the Yield and Quality of Saffron Grown in a Soilless Culture System.

Yasmina Chourak, El Hassan Belarbi, Evelynn Y. Martínez-Rivera, Tatiana Pagan Loeiro da Cunha-Chiamolera, Ana Araceli Pena-Fernández, Jose Luis Guil-Guerrero and Miguel Urrestarazu

University of Almería, CIAMBITAL [Research Centre for Intensive Mediterranean Agrosystems and Agrifood Biotechnology], Almería, 04120, Spain.

Bibliographical citations: Chourak Y, Belarbi EH, Rivera EYM, Cunha-Chiamolera TPL, Fernández AAP, Guil-Guerrero JL, Urrestarazu M (2021). Fertigation temperature adjustment enhances the yield and quality of saffron grown in a soilless culture system. HortScience 56 (10): 1191–1194.

Journal: HORTSCIENCE

Fertigation Temperature Adjustment Enhances the Yield and Quality of Saffron Grown in a Soilless Culture System

Yasmina Chourak, El Hassan Belarbi, Evelyn Y. Martínez-Rivera, Tatiana Pagan Loeiro da Cunha-Chiamolera, and Ana Araceli Peña-Fernández

University of Almería, CIAMBITAL [Research Centre for Intensive Mediterranean Agrosystems and Agrifood Biotechnology], Almería, 04120, Spain

José Luis Guil-Guerrero

University of Almería, CIAMBITAL [Research Centre for Intensive Mediterranean Agrosystems and Agrifood Biotechnology], Food Technology Division, Department of Agronomy, Almería, 04120, Spain

Miguel Urrestarazu

University of Almería, CIAMBITAL [Research Centre for Intensive Mediterranean Agrosystems and Agrifood Biotechnology], Almería, 04120, Spain

Additional index words. crocin, *Crocus sativus*, flowering, flower forcing, ISO 3632, picrocrocin, root temperature, safranal

Abstract. Saffron is one of the most appreciated, traditional, and expensive spices in the world. The objective of our study was to evaluate the effect of cooling the nutrient solution on the production, and organoleptic and commercial qualities of saffron grown in soilless culture. The nutrient solution was cooled to 4 to 5 °C whereas the control treatment was the fertigation supplied at ambient temperature. Corms were placed in a controlled cultivation chamber. The number of flowers per corms, and the weight and length of stigmas were measured. The amounts of safranal, crocin, and picrocrocin were analyzed spectrophotometrically according to the International Organization for Standardization [ISO/TS 3632-2 (2011) Normative]. Our results show that cooling of the nutritive solution increased flower production, the commercial phytochemical content, and organoleptic properties.

The cultivation of saffron (*Crocus sativus* L.) is one of the oldest in the world and has occurred in the region of the Orient, near the Mediterranean, since the Late Bronze Age (Zohary and Hopf, 1994). It is one of the most expensive spices used in the food industry (García-Rodríguez et al., 2017; Hosseinzadeh and Nassiri-Asl, 2012). It is also highly appreciated in many cuisines around the world, and saffron has acquired increasing interest given the health effects of its chemical components, especially from safranal, crocin, and picrocrocin (Molina et al., 2005). This species has potential medical applications, particularly those based on its antitumor and antichronic stress properties (Amin et al., 2016; Ghadrdost et al., 2011; Naeimi et al., 2019).

The quality of saffron is evaluated according to its bioactive compound content (Hadizadeh et al., 2007). The greater the amount of bioactive compounds, the greater the quality of saffron (Gohari et al., 2013). Since 1980, the International Organization for Standardization provides a standard procedure (ISO/TS 3632) for saffron quality classification:

The quality of saffron. Such quality is determined through the spectrophotometric quantification of picrocrocin, safranal and crocin by direct measuring of the absorbance of 1% standard aqueous solution of dried saffron at 257, 330 and 440 nm, respectively (International Organization for Standardization, 2003).

One of the factors that has proved to be important for the production of high-quality saffron is the environmental temperature at which plants are grown in terms of root and shoot growth, and flower formation (Ahrazem et al., 2015; Molina et al., 2005; Wang et al., 2021). In addition, it is well known that a markedly low temperature ($\approx 17^{\circ}\text{C}$) is the best for flower emergence or anthesis from

the corm (Molina et al., 2005). This knowledge allows growers to program saffron flowering and increase production in soilless cultivation systems under controlled conditions (Gohari et al., 2013; Wang et al., 2021).

Soilless cultivation systems have been developed through chamber temperature control (Molina et al., 2010; Valero et al., 2004). However, warming the air of the entire greenhouse requires more energy than increasing the root temperature by means of circulating hot water or air through buried tubes (Elwell et al., 1985; Wang et al., 2021). Moreover, warming of the nutrient solution is even cheaper and it is always applied daily as fertigation, given that it is a mandatory action to meet the water and nutrient requirements of the crop (Urrestarazu et al., 2008).

Studies of different species have shown that plant growth is greatly influenced by root temperature (Díaz-Pérez et al., 2007; Nxawe et al., 2009; Solfeld and Johnsen, 2006). For instance, Urrestarazu et al. (2008) reported that heating the nutrient solution in the 12- to 16 °C range was useful for increasing melon yield, and Yan et al. (2012) stated that an increase in root temperature improved nutrient uptake in cucumbers. However, little is known about the effects of increasing the nutrient solution temperature on saffron plants.

The main goal of this work was to determine the effects on yield and bioactive compound content of saffron by modifying the fertigation temperature to a develop low-cost method of obtaining high-quality saffron.

Materials and Methods

Plant growth conditions. The experiment was carried out in controlled growth chambers located at the University of Almería, Almería, Spain, between 2019 and 2020. The corms of *C. sativus* were obtained from Minaya (Albacete, Spain). This is a traditional saffron-producing area in Spain under the Regulatory Council Foundation of the Protected Designation of Origin La Mancha (DOP, 2021). Before planting, corms were incubated at 25 °C (Molina et al., 2004a) for 55 d. On 25 Aug. 2019, corms were transplanted into individual 500-mL containers. The substrate used was commercial coconut fiber, which has defined physicochemical characteristics that have been described by Pozo et al. (2014).

Fertigation treatments. Two nutrient solution temperatures were used: control, 10 to 15 °C; and cooled, 4 to 5 °C (Fig. 1). The plants were fertigated with a nutrient solution in line with the one described by Sonneveld and Straver (1994). The pH of the nutrient solutions was adjusted to 5.8 with dilute nitric acid. The nutrient solution was cooled using a refrigerator. Refrigerator, growth chamber, and substrate temperatures were controlled using an Onset Hobo Data Logger U23 Pro v2 (Onset Computer Corp., Bourne, MA). The temperatures were 5 °C inside the refrigerator, 16 °C in the culture chamber air, 16 to 17 °C in the substrate when applying the control

Received for publication 18 May 2021. Accepted for publication 18 May 2021.

Published online 23 September 2021.

M.U. is the corresponding author. E-mail: mgavilan@ual.es.

This is an open access article distributed under the CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

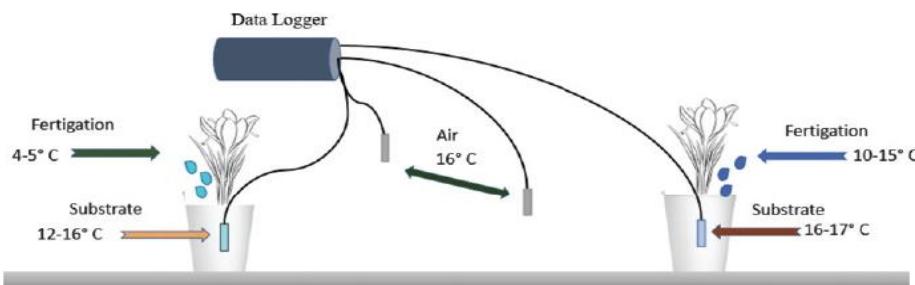


Fig. 1. Schematic experimental unit of saffron crop and point of sample temperature under soilless culture.

nutrient solution, and 15 to 16 °C in the substrate when the cooled nutrient solution was supplied. The photoperiod was 16/8 h (day/night) at 16 °C, and the relative humidity was 85%.

Fertigation management was carried out according to the methodology proposed by Urrestarazu et al. (2015). The application of new fertigation was effected when the water in the growing unit reached 10% of the easily available water (Cunha-Chiamolera et al., 2017; Rodriguez et al., 2014; Urrestarazu et al., 2017). Each treatment was applied four times, and the drainage from all pots for each treatment was collected. The pH, electrical conductivity, and nitrate and potassium content of the nutrient solution and the drainage were measured using a pH-meter (Crison MM40+; Hach LPV2500.98.0002, Bizkaia, Spain), a conductivity meter (EC-Meter Crison BASIC 30, Hach), and a LAQUATwin B-742 and B-731 (Horiba, Northampton, UK), respectively. The volume was measured using a test tube graduated to one-hundredth of a millimeter.

Growth parameters. After flowering, the number of flowers formed per corm was counted, the stigma length was measured before and after the drying process, and the dry and fresh stigma weights were measured with a resolution of 0.1 mg.

The vegetative growth of the plants (number of corms formed, and roots and leaves in the dry and fresh states) was measured after 90 d of flowering. At the end of the experiment, the corms formed per plant were classified according to diameter, and the fresh and dry weights of the leaves were also measured. Roots were rinsed in distilled water to remove substrate residue, weighed, and transferred to paper bags for drying. This was accomplished by placing the material in a convection oven (Heratherm; ThermoScientific, Waltham, MA) at 75 °C until a constant weight was achieved. This was measured using an OHAUS Adventurer Analytical Precision Analytical Balance (model AX 124/E; OHAUS, Parsippany, NJ), with a precision to four-tenths of a gram (Nájera and Urrestarazu, 2019; Urrestarazu et al., 2016).

Saffron quality analysis. The aqueous extracts of saffron were prepared according to ISO 3632 (International Organization of Standardization, 2011). The saffron filaments were crushed and sieved, and 50 mg of the

resulting powder was placed in a 100-mL volumetric flask, to which 90 mL distilled water was then added. The solution was stirred using a magnetic stir bar at 1000 rpm for 1 h while being kept away from light. The flask was filled to 100 mL and the solution was homogenized and filtered. After dilution (1:10, v/v), the samples of each treatment were measured in the 200- to 700-nm range using a quartz cell (path length, 1 cm). Absorbance readings at 257, 310, and 440 nm were related back to the 1% solution and were expressed as E 1% (257 nm) (maximum absorbance of picrocrocin), E 1% (330 nm) (maximum absorbance of safranal), and E 1% (440 nm) (maximum absorbance of crocine), according to ISO/TS 3632-2 (International Organization of Standardization, 2003). A blank system was prepared for each. The results were obtained by direct reading of the absorbance (*D*) as reported in the following equation:

$$E\ 1\% = (D \times 1000)/m(100 - M),$$

where *D* represents the specific absorbance, *m* is the weight of the sample, and *M* is the moisture of the sample.

Moisture was determined by weighing the sample in a watch glass that had been dried and tared previously. The tare containing the test portion was placed in an oven at 103 °C for 16 h, and was then cooled and weighed using an analytical balance. Moisture (*M*) was calculated according to the following equation:

$$M = (mi - mf) \times 100/mh,$$

where *mi* represents the weight of the tare containing the test sample (measured in grams), *mf* is the weight of the tare more the dry test sample (measured in grams), and *mh* is the test sample to determine the humidity.

To determine the concentrations of crocine, safranal, and picrocrocin, a standard curve was used according to Khoulati et al. (2019), and the absorbance was recorded using a Helios Gamma UV-Vis Spectrophotometer (Thermo Electron Corporation, Waltham, MA).

Experimental design and statistical analysis. The experiment was performed using a randomized complete block design, with four blocks (Petersen, 1994). The results were subjected to analysis of variance, and the comparison of means was made using Tukey's test (*P* ≤ 0.05) with statistical

package Statgraphics Centurion XVII (Statgraphics Technologies Inc., The Plains, VA).

Results and Discussion

Effect on growth parameters. Flower stigmas are the main commercial product of the saffron plant (Gresta et al., 2008). When the cooled nutrient solution was applied, an improvement of 20% and 24% was found in the number of flowers formed and the dry weight of the stigmas, respectively (Table 1). Flower formation mean per corm was 50% greater than that reported by Molina et al. (2004b) under similar crop conditions. No significant effects were recorded in the remaining vegetative growth parameters. It is well known that air temperature is one of the most important factors to induce saffron flowering (Gresta et al., 2009; Molina et al., 2004a; Wang et al., 2021). Molina et al. (2004a) reported that flower emergence required the transfer of the corms from the conditions of flower formation to a markedly lower air temperature (17 °C). By applying a colder environment, greater flower production was obtained (Gresta et al., 2009). These results were similar to those reported by Urrestarazu et al. (2008) and Yan et al. (2012), who obtained significant benefits in the productivity of horticultural crops under soilless culture by means of modifying the temperature of the nutrient solution and root environment. This is because the root-zone temperature is an important factor in plant growth and water and nutrient uptake (Bode Stoltzfus et al., 1998; Marschner et al., 1996; Mozafar et al., 1993). So, the cooling of the solution is a low-cost and environmentally friendly method of increasing saffron yield.

Effect on chemical components. Under soilless culture, the crocine, safranal, and picrocrocin contents we obtained were significantly greater than those reported by Caballero et al. (2007) (Table 2). After applying cooled fertigation, increases of 16% and 91% in safranal and crocine, respectively, were realized. However, no significant differences were found in the amount of picrocrocin. So, the fertigation temperature affects two of the main bioactive compounds of saffron.

Effect on saffron quality. Saffron quality depends on the concentration of its major metabolites according to ISO 3632/2 (International Organization of Standardization, 2011). Table 3 shows significant differences in the quality of saffron characteristics according to nutrient solution temperature as evaluated by absorption values. It is well known that the secondary metabolites (i.e., crocine, picrocrocin, and safranal) range greatly from country to country based on several factors, including climatic conditions, the harvest and drying processes, and storage (Carmona et al., 2005). The data we obtained were within the ranges reported by Carmona et al. (2005). Under cooled fertigation, absorption values for crocine, safranal, and picrocrocin increased by 16%, 52%, and 13%, respectively, thus leading to an increase

Table 1. Yield of saffron grown under soilless culture according to nutrient solution temperature.

Yield characteristic	Nutrient solution temperature	
	4 to 5 °C	10 to 15 °C
No. of flowers/corm	3.37 ± 0.45	2.61 ± 0.19**
Stigma (mg/flower)		
Fresh weight	42.60 ± 1.99	40.72 ± 1.89 NS
Dry weight	8.46 ± 0.96	7.02 ± 0.42*
Length of stigma (cm)		
Fresh	3.33 ± 0.07	3.02 ± 0.42 NS
Dry	2.31 ± 0.05	2.28 ± 0.02 NS
No. of corms/plant		
Diameter, >1.5 cm	22.00 ± 2.35	22.00 ± 3.46 NS
Diameter, <1.5 cm	23.80 ± 3.11	22.00 ± 2.45 NS
Leaves (g/corm)		
Fresh weight	81.13 ± 9.72	78.57 ± 11.18 NS
Dry weight	23.80 ± 0.70	23.72 ± 2.47 NS
Roots (g/corm)		
Fresh weight	12.38 ± 3.38	16.85 ± 3.96 NS
Dry weight	1.75 ± 0.39	2.32 ± 0.40 NS

NS, *, **Nonsignificant or significant at $P \leq 0.05$ or 0.01, respectively, using Tukey's test ($n = 4$).

Table 2. Pigment content of saffron according to the nutrient solution temperature (measured in milligrams per gram of stigmas).

Bioactive compound	Nutrient solution temperature	
	4 to 5 °C	10 to 15 °C
Crocin	117.90 ± 0.17	101.12 ± 0.17*
Safranal	3.09 ± 0.01	1.61 ± 0.31**
Picrocrocin	59.74 ± 0.01	59.25 ± 0.01 NS

NS, *, **Nonsignificant or significant at $P \leq 0.05$ or 0.01, respectively, using Tukey's test ($n = 4$).

Table 3. Quality characteristics of saffron according to International Organization for Standardization/TS 3632-2 (2011) Normative versus nutrient solution temperature.

Nutrient solution temperature ^a	Value	Category			
		I	II	III	IV
E 1% (440 nm) absorption value of crocin					
4 to 5 °C	163.80*		X		
10 to 15 °C	137.68 NS			X	
E 1% (330 nm) absorption value of safranal					
4 to 5 °C	35.71**	X			
10 to 15 °C	17.20 NS		X		
E 1% (257 nm) absorption value of picrocrocin					
4 to 5 °C	77.64*	X			
10 to 15 °C	67.69 NS		X		

^aE 1% (440 nm) is the maximum absorbance of crocin, E 1% (330 nm) is the maximum absorbance of safranal, and E 1% (257 nm) is the maximum absorbance of picrocrocin.

NS, *, **Nonsignificant or significant at $P \leq 0.05$ or 0.01, respectively, using Tukey's test ($n = 4$).

in one level in the commercial ranking for two of the main bioactive compounds of saffron.

The temperature of fertigation is a behavior of a eustressor according to the work by Vázquez-Hernández et al. (2019).

Conclusion

Fine-tuning the temperature of the nutritive solution increases flower production, and crocin and safranal content without affecting the growth parameters of saffron. Cooling the nutrient solution is an effective, low-cost, and environmentally friendly methodology for

increasing saffron production and commercial quality based on bioactive compounds and organoleptic components.

Literature Cited

- Ahrazem, O., A. Rubio-Moraga, S.G. Nebauer, R.V. Molina, and L. Gómez-Gómez. 2015. Saffron: Its phytochemistry, developmental processes, and biotechnological. *J. Agr. Food Chem.* 63(40):8751–8764, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03194>.
- Amin, A., A.A. Hamza, S. Daoud, K. Khazanehdari, A. Hrout, B. Baig, C.H. Amphun, T.H. Adrian, N. Zaki, and K.S. Ashtiani. 2016. Saffron based crocin prevents early lesions of liver cancer: In vivo, in vitro and network analyses. Recent
- Patents Anticancer Drug Discov. 11(1):121–133, doi: <https://doi.org/10.2174/157489281066151102110248>.
- Bode Stoltzfus, R.M., H.G. Taber, and A.S. Aiello. 1998. Effect of increasing root-zone temperature on growth and nutrient uptake by 'Gold Star' muskmelon. *J. Plant Nutr.* 21(2):321–328, doi: <https://doi.org/10.1080/01904169809365406>.
- Caballero, O.H., M.P. Pereda, and F.I. Abdullaev. 2007. HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food Chem.* 100(3):1126–1131, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.020>.
- Carmona, M., A. Zalacain, J.E. Pardo, E. Lopez, A. Alvarruiz, and G.L. Alonso. 2005. Influence of different drying and aging conditions on saffron constituents. *J. Agr. Food Chem.* 53(10):3974–3979, doi: <https://doi.org/10.1021/jf0404748>.
- Cunha-Chiamolera, T.P.L., M. Urrestarazu, A.B. Cecilio Filho, and I. Morales. 2017. Agronomic and economic feasibility of tomato and lettuce intercropping in a soilless system as a function of the electrical conductivity of the nutrient solution. *HortScience* 52(9):1195–1200, doi: <https://doi.org/10.21273/hortsci12170-17>.
- Díaz-Pérez, J.C., R. Gitaitis, and B. Mandal. 2007. Effects of plastic mulches on root zone temperature and on the manifestation of tomato spotted wilt symptoms and yield of tomato. *Scientia Hort.* 114(2):90–95, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2007.05.013>.
- DOP. 2021. Azafrán de La Mancha: Denominación de Origen. 21 Jan. 2021. <<https://doazafranlamancha.com/en/>>.
- Elwell, D.L., M.Y. Hamdy, W.L. Roller, A.E. Ahmed, H.N. Shapiro, J.J. Parker, and S.E. Johnson. 1985. Soil heating using subsurface pipes: A decade of research results at OSU/OARDC. *Ohio Agr. Res. Dev. Ctr.* 1175.
- García-Rodríguez, M.V., H. López-Córcoles, G.L. Alonso, C.S. Pappas, M.G. Polissiou, and P.A. Tarantilis. 2017. Comparative evaluation of an ISO 3632 method and an HPLC-DAD method for safranal quantity determination in saffron. *Food Chem.* 221:838–843, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.089>.
- Ghadrdost, B., A.A. Vafaei, A. Rashidy-Pour, R. Hajisoltani, A.R. Bandegi, F. Motamed, S. Haghghi, H.R. Sameni, and S. Pahlvan. 2011. Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 667(1–3):222–229, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.05.012>.
- Gohari, A.R., S. Sacidnia, and M.K. Mahmoodabadi. 2013. An overview on saffron, phytochemicals, and medicinal properties. *Pharmacogn. Rev.* 7(1):61–66, doi: <https://doi.org/10.4103/0973-7847.112850>.
- Gresta, F., G. Avola, G.M. Lombardo, L. Siracusa, and G. Ruberto. 2009. Analysis of flowering, stigmas yield and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by environmental conditions. *Scientia Hort.* 119(3):320–324, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2008.08.008>.
- Gresta, F., G.M. Lombardo, L. Siracusa, and G. Ruberto. 2008. Effect of mother corm dimension and sowing time on stigmas yield, daughter corms and qualitative aspects of saffron (*Crocus sativus* L.) in a Mediterranean environment. *J. Sci. Food Agr.* 88:1144–1150, doi: <https://doi.org/10.1002/jsfa.3177>.
- Hadizadeh, F., M. Mahdavi, S.A. Emami, Z. Kashayarmahesh, M. Hassanzadeh, J. Asili, A. Shariatioghadam, and R. Noorbakhsh. 2007. Evaluation of ISO method in saffron qualification.

- Acta Hort. 739:405–420, doi: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2007.739.53>.
- Hosseinzadeh, H. and M. Nassiri-Asl. 2012. Avicenna's (Ibn Sina) the Canon of Medicine and saffron (*Crocus sativus*): A review. Phytother. Res. 27(4):475–483, doi: <https://doi.org/10.1002/ptr.4784>.
- International Organization for Standardization (ed). 2003. TS 3632-1/2: Technical specification: *Crocus sativus* L. saffron. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- International Organization for Standardization. 2011. ISO 3632-1: Saffron (*Crocus sativus* L.): Specifications. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Khoulati, A., S. Ouahhoud, S. Mamira, K. Alaoui, I. Lahmass, M. Choukri, E.Z. Kharmach, A. Aserhaou, and E. Saalaoui. 2019. Saffron extract stimulates growth, improves the antioxidant components of *Solanum lycopersicum* L., and has an antifungal effect. Ann. Agr. Sci. 64:138–150, doi: <https://doi.org/10.1016/j.aaos.2019.10.002>.
- Marschner, H., E.A. Kirkby, and I. Cakmak. 1996. Effect of mineral nutritional status on shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. J. Expt. Bot. 47:1255–1263, doi: https://doi.org/10.1093/jxb/47.Special_Issue.1255.
- Molina, R.V., A. García-Luis, V. Coll, C. Ferrer, M. Valero, Y. Navarro, and J.L. Guardiola. 2004a. Flower formation in the saffron crocus (*Crocus sativus* L.): The role of temperature. Acta Hort. 650:39–47, doi: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2004.650.2>.
- Molina, R.V., B. Renau-Morata, S.G. Nebauer, A. García-Luis, and J.L. Guardiola. 2010. Greenhouse saffron culture: Temperature effects on flower emergence and vegetative growth of the plants. Acta Hort. 850:91–94, doi: <https://doi.org/10.17660/actahortic.2010.850.12>.
- Molina, R.V., M. Valero, Y. Navarro, A. García-Luis, and J.L. Guardiola. 2004b. The effect of time of corm lifting and duration of incubation at inductive temperature on flowering in the saffron plant (*Crocus sativus* L.). Scientia Hort. 103(1):79–91, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2004.04.008>.
- Molina, R.V., M. Valero, Y. Navarro, J.L. Guardiola, and A. García-Luis. 2005. Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). Scientia Hort. 103:361–379, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2004.06.005>.
- Mozafar, A., P. Schreiber, and J.J. Oertli. 1993. Photoperiod and root-zone temperature: Interacting effects on growth and mineral nutrients of maize. Plant Soil 153(1):71–78, doi: <https://doi.org/10.1007/bf00010545>.
- Naeimi, M., M. Shafee, F. Kermanshahi, Z. Khorsandi, M. Khazaei, M. Ryzhikov, A. Avan, N. Gorji, and S. Hassanian. 2019. Saffron (*Crocus sativus*) in the treatment of gastrointestinal cancers: Current findings and potential mechanisms of action. J. Cell. Biochem. 120(10):16330–16339, doi: <https://doi.org/10.1002/jcb.29126>.
- Nájera, C. and M. Urrestarazu. 2019. Effect of the intensity and spectral quality of LED light on yield and nitrate accumulation in vegetables. HortScience 54:1745–1750, doi: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14263-19>.
- Nxawe, S., C.P. Laubscher, and P.A. Ndakidemi. 2009. Effect of regulated irrigation water temperature on hydroponics production of spinach (*Spinacia oleracea* L.). Afr. J. Agr. Res. 4(12):1442–1446.
- Petersen, G. 1994. Agricultural field experiments: Design and analysis, p. 426. In: Books in soils, plants, and the environment. CRC Press, London, UK.
- Pozo, J., J.E. Alvaro, I. Morales, J. Requena, T. La Malfa, P. Mazuela, and M. Urrestarazu. 2014. A new local sustainable inorganic material for soilless culture in Spain: Granulated volcanic rock. HortScience 49:1537–1541, doi: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI49.12.1537>.
- Rodríguez, D., J. Reca, J. Martínez, M.T. Lao, and M. Urrestarazu. 2014. Effect of controlling the leaching fraction on the fertigation and production of a tomato crop under soilless culture. Scientia Hort. 179:153–157, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2014.09.030>.
- Sølfield, I. and Ø. Johnsen. 2006. The influence of root-zone temperature on growth of *Betula pendula* Roth. Trees (Berl.) 20(3):320–328, doi: <https://doi.org/10.1007/s00468-005-0043-1>.
- Sonneveld, C. and N. Straver. 1994. Nutrient solutions for vegetables and flower grow in water substrates. 10th ed. Proefstation voor tuinbouw onder glas te Naaldwijk, Naaldwijk, The Netherlands.
- Urrestarazu, M., C. Nájera, and M.M. Gea. 2016. Effect of the spectral quality and intensity of light-emitting diodes on several horticultural crops. HortScience 51:268–271, doi: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.51.3.268>.
- Urrestarazu, M., I. Morales, T. La Malfa, R. Checa, A.F. Wamser, and J.E. Alvaro. 2015. Effects of fertigation duration on the pollution, water consumption, and productivity of soilless vegetable cultures. HortScience 50:819–825, doi: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.6.819>.
- Urrestarazu, M., M.C. Salas, D. Valera, A. Gómez, and P.C. Mazuela. 2008. Effects of heating nutrient solution on water and mineral uptake and early yield of two cucurbits under soilless culture. J. Plant Nutr. 31(3):527–538, doi: <https://doi.org/10.1080/01904160801895068>.
- Urrestarazu, M., V. Gallegos, and J.E. Álvaro. 2017. The Use of thermography images in the description of the humidification bulb in soilless culture. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 48(13):1595–1602, doi: <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1374399>.
- Valero, M., R.V. Molina, Y. Navarro, A. García, and J.L. Guardiola. 2004. El cultivo del azafrán con larga tradición, pero . . . ¿con futuro? Cuadernos de fitopatología. Rev. Tec. Fitop. Entom. 21(80):47–61.
- Vázquez-Hernández, M.C., I. Parola-Contreras, L.M. Montoya-Gómez, I. Torres-Pacheco, D. Schwarz, and R.G. Guevara-González. 2019. Eustressors: Chemical and physical stress factors used to enhance vegetables production. Scientia Hort. 250:223–229, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2019.02.053>.
- Wang, Z., X. Li, J. Xu, Z. Yang, and Y. Zhang. 2021. Effects of ambient temperature on flower initiation and flowering in saffron (*Crocus sativus* L.). Scientia Hort. 279:109859, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scientia.2020.109859>.
- Yan, Q., Z. Duan, J. Mao, X. Li, and F. Dong. 2012. Effects of root-zone temperature and N, P, and K supplies on nutrient uptake of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings in hydroponics. Soil Sci. Plant Nutr. 58(6):707–717, doi: <https://doi.org/10.1080/00380768.2012.733925>.
- Zohary, D. and M. Hopf. 1994. Domestication of plants in the Old World. 2nd ed. Clarendon Press, Oxford, UK.

IV. CAPITULO 2

El efecto de la conductividad eléctrica en la calidad del azafrán cultivado en un sistema de cultivo sin suelo.



Capítulo 2. Efecto de la conductividad eléctrica en la calidad del azafrán en un sistema de cultivo sin suelo

Effect of electrical conductivity on the quality of saffron grown in soilless culture systems

Yasmina Chourak^a, El Hassan Belarbi^a, Tatiana Pagan Loeiro da Cunha-Chiamolera^a, José Luis Guil-Guerrero^b, Gilda Carrasco^c, Miguel Urrestarazu^a

^aUniversity of Almería, CIAMBITAL [Research Centre for Intensive Mediterranean Agrosystems and Agrifood Biotechnology], Almería, 04120, Spain

^bUniversity of Almeria, CIAMBITAL [Research Centre for Intensive Mediterranean Agrosystems and Agrifood Biotechnology], Food Technology Division, Department of Agronomy, Almería, 04120, Spain

^cDepartamento de Horticultura, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. Chile

Sent: Yasmina Chourak, El Hassan Belarbia, Tatiana Pagan Loeiro da Cunha-Chiamolera, José Luis Guil-Guerrero, Gilda Carrasco, Miguel Urrestarazu (2022). Effect of electrical conductivity on the quality of saffron grown in soilless culture systems

Journal: JOURNAL OF SOIL SCIENCE AND PLANT NUTRITION

Effect of electrical conductivity on the quality of saffron grown in soilless culture systems

Yasmina Chourak^a, El Hassan Belarbi^a, Tatiana Pagan Loeiro da Cunha-Chiamolera^a, José Luis Guil-Guerrero^b Gilda Carrasco^c, Miguel Urrestarazu^{a,*}

^aUniversity of Almería, CIAMBITAL [Research Centre for Intensive Mediterranean Agrosystems and Agrifood Biotechnology], Almería, 04120, Spain

^b University of Almería, CIAMBITAL [Research Centre for Intensive Mediterranean Agrosystems and Agrifood Biotechnology], Food Technology Division, Department of Agronomy, Almería, 04120, Spain

^cDepartamento de Horticultura, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. Chile

*Corresponding author.

E-mail addresses: mgavilan@ual.es

ABSTRACT

Saffron is one of the most appreciated, traditional, and expensive spices in the world. The objective of our study was to evaluate the effect of electric conductivities (ECs) of nutrient solution on the production, and commercial qualities of saffron grown in soilless culture. Corms of saffron were placed in a controlled cultivation chamber in pot of 0.5 L refilled with standard coir as substrate. The treatments with standard macro- and Micronutrient content were the EC supplied at 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 and 3.5 dS m⁻¹. The parameter measured were: vegetative growth, number of flowers per corms, the weight and length of stigmas, the absorption of water, nitrate and potassium from fertigation, metabolite content and commercial categories. The amounts of safranal, crocin, and picrocrocin were analyzed spectrophotometrically according to the International Organization for Standardization [ISO/TS 3632-2 (2011) Normative]. The best results in fertigation uptake, vegetative growth and commercial production were obtained at ECs of 2.0 to 2.5 dS m⁻¹, while the best metabolite concentrations and commercial category were recorded between ECs of 2.5 to 3.0 dSm⁻¹.

Keywords: *Crocus sativus* L. Safranal. Crocin. ISO 3632. Saffron. Vegetative growth. Flowering.

1. Introduction

Saffron (*Crocus sativus* L.) most expensive species in the world and an ancient crop originating in the Orient (Zohary and Hopf, 1994). It is highly valued for its gastronomic use (García-Rodríguez et al., 2017; Chourak et al., 2021), in cosmetics, perfumes and textile dye industries (Gohari et al., 2013). In recent years, its medicinal effects have spread throughout the world and chemical analysis of saffron extract has revealed about 150 various compounds among them being crocin, crocetin, safranal, and picrocrocin which are the most

important bioactive constituents of saffron (Amin et al., 2016; Ghadrdoost et al., 2011; Molina et al., 2005; Bolhassani, 2018). The value of this quality of saffron spice will depends on its biologically active ingredients, the higher the concentration, and the commercial quality (Gohari et al., 2013; Chourak et al., 2021; Sarwat and Sumaiya, 2020). Caballero-Ortega (2007) collected saffron samples from around the world, finding great variability in the concentration of crocin, safranal and picrocrocin, safranal and crocin.

Much information is available on the use of saffron as a dye aroma and for medical purposes and other climatic conditions (Gresta et al., 2009), but there are few studies on saffron under different soilless cultures and temperature-controlled growth chambers (Valero et al., 2004; Molina et al., 2010; Chourak et al., 2021). On the other hand, it is well known that the electrical conductivity (EC) of the nutrient solution is one of the parameter more influence on the growth, yield and quality of different crops. Thus, it has been published how EC affects for example growth and quality of tomatoes (Moya et al., 2017), the content of gamma linolenic acid in borage seed oil (Urrestarazu et al., 2019), and/or growth and oil content in Parsley (Álvaro et al., 2016). However, little is known about the effect of EC of the nutrient solution on saffron yield and quality and its phytochemical contents. Therefore, the purpose of this study was to determine the effect of EC on the quality of saffron grown in soilless systems.

2. Materials and Methods

2.1. Plant growth conditions and fertigation treatments

The experiment was carried out into controlled growth chambers located in the University of Almería (Spain). Corms of *Crocus sativus* L. From Minaya (Abacete, Spain) a traditional saffron producing area in Spain under Regulatory Council Foundation of the Protected Designation of Origen La Mancha (DOP, 2021) were used. Before planting, corms were incubated at 25° C (Molina et al., 2004) for 55 days. On 30th august corms were transplants into individual 500 mL containers filled with coconut fiber substrate, whose the physicochemical characteristics were described by Pozo et al. (2014). The experiment ended March 15.

LED lamps L18 T8 AP67 (Valoya, Helsinki, Finland) at light intensities of 220 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ were used. The spectral specifications have been described by a previous study (Urrestarazu et al., 2016). Photoperiods were 16/8 h (day/night) at a temperature of 18° C to 16° C and 25° to 18° C (day/night) for the flowering period and the rest of the crop cycle, respectively. Relative humidity was of 85% to 80%.

The nutrient solution was based on a standard nutrient solution of Sonneveld and Straver (1994). The pH of the nutrient solutions was always maintained at 5.8 with the addition of nitric acid.

In the absence of more detailed information on the optimum Electric Conductivities (EC) in the nutrient solution of fertigation of saffron, the 2.0 EC treatment was considered the control treatment. The macro and micronutrients of the nutrient solution of each treatment applied are shown in Table 1. Fertigation management was carried out following previous methodology proposed by Urrestarazu (2015): the

application of new fertigation was effected when the water in the growing unit reached 10% of the easily available water (Rodríguez et al., 2014; Cunha-Chiamolera et al., 2017; Urrestarazu et al., 2017).

The pH, electrical conductivity (EC), nitrate and potassium content of the nutritive solution supplied and the drainage were measured using a pH-meter Crison MM40+ (Hach® LPV2500.98.0002, Bizkaya, Spain), a Conductivity meter EC-Meter Crison BASIC 30 (Hach® LPV2500.98.0002, Bizkaya, Spain), and a LAQUATwin B-742 and B-731 (Horiba®, Northampton, UK), respectively. The volume was measured using a test tube graduated to the one hundredth of a millimetre.

2.2. Yield and vegetative growth parameters

After flowering, it was counted the number of flowers formed per corm, stigma length was measured with a ruler before and after drying process, dry and fresh weight of stigma, were measured using a two-tenth precision scale analytical scale model Ohaus Adventurer AX, with a resolution of 0.1 mg.

The vegetative growth of the plants were measured at 90 days after last flowering. Corms formed per plant were classified according to diameter. Leaves weight was measured before and after drying. Roots were rinsed in distilled water, for removal of substrate residue than weighed and transferred to paper bags, and dried, after which dry weights were obtained. This was measured using an OHAUS Adventurer Analytical Precision Analytical Balance (model AX 124/E), with precision to four-tenths of a gram (Urrestarazu et al., 2016; Nájera and Urrestarazu, 2019).

2.3. Saffron quality and analysis of metabolite content

The saffron aqueous extracts were carried out following ISO 3632 (2011a) method. A total of 50 mg of filaments saffron, after crushing and sieving, was placed in a 100 ml volumetric flask, and 90 mL distilled water was added. The solution was stirred using a magnetic stir bar at 1000 rpm for 1 h while being kept away from light. The flask was filled to the 100 ml mark, and the solution was homogenized and filtered. After dilution (1:10, v/v), the samples of each treatment were measured in the range from 200 nm to 700 nm by using a quartz cell (1 cm path-length). Absorbance readings at 257 nm, 310 nm and 440 nm were related back to the 1 % solution and expressed as E^{1%} (257 nm) (maximum Abs of picrocrocin), E^{1%} (330 nm) (maximum Abs of safranal) and E^{1%} (440 nm) (maximum Abs of crocin), according to the ISO/TS 3632-1/2 (2003). A blank system was prepared for each. The results have been obtained by direct reading of the absorbance (D) as reported in the following:

$$E^{1\%} = (D \times 1000) / m (100 - M)$$

where D: specific Abs, m: the weight of the sample and M: moisture of the sample.

Moisture determined by weighing the sample in a tare, previously dried and tared. The tare containing the test portion is placed in the oven at 103° C for 16 h and then cooled and weighed using an analytical balance.

Moisture (M) results calculated according to the equation:

$$M = (mi - mf) \times 100 / mh.$$

Where mi: the weight of the tare more the test sample (g), mf: the weight of the tare more the dry test sample (g) and mh: test sample to determine the humidity.

For the determination of crocin, safranal and picrocrocin concentration a standard curve were determinate according to (Khoulati et al., 2019). The material used for analysis was thermo electron corporation Helios gamm UV-Vis scanning spectrophotometer.

2.4. Design and analysis of experiments

The experimental design was a randomized complete block system with 5 treatments and 4 replicate ($n = 4$) with twelve plants per experimental unit. Statistical analysis was performed using ANOVA and Tukey test and a quadratic equation fit and its R². In order to evaluate the presence of relationship between significant parameter of productive and metabolic content and other quality parameter of saffron, a Pearson correlation analysis was also performance plotting these values. The program Statgraphics Centurion, 2020 was used for analysis of data.

3. Results and discussion

3.1. Effect on fertigation parameters

EC of the nutrient had a significant effect on nitrate, potassium and water absorption (Figure 1). The bigger data were found between 2.0 and 2.5 dS m⁻¹. Values above 2.5 and below 2.0 EC resulted in decreased uptake of both nitrate and potassium anions and water volume. Between EC values from 3.0 to 3.5 dS m⁻¹, the absorption remained constant, which results in a low quadratic fit value. Similar effect of transport of Nitrate and Potassium and volume transported in the xylem sap content were reported by Gallegos-Cedillo et al. (2016) with tomato plant, where these values remained constant between 3.5 and 4.5 dS m⁻¹. Thus, the saffron plant, in relation to nutrient and water absorption, was shown to be a moderately tolerant crop to salinity.

3.2. Effect of growth and yield

The mean number of flowers per corm was similar to report by Chourak et al. (2021), who also grown saffron plants under soilless culture (Table 2). The EC of the nutrient solution significantly affected flower production. The highest proportion of flowers occurred between ECs of 2.0 and 2.5 dS m⁻¹, while ECs of 1.5 and 3.5 decreased production by 10 and 12%, respectively. The total yield of stigmas (Average number of flowers corm⁻¹ multiplied by the average dry weight of each stigma) was very significantly higher between this ranges of EC from 2.0 to 2.5 dS m⁻¹. Yarami and Sepaskhah (2015) published that saffron can be considered a saline-sensitive crop, however they found a decrease of production in traditional soil culture production above 3.5 dS m⁻¹.

Stigmas are the main commercial product of the saffron plant. The mean stigma weight was higher than those reported in traditional soil cultivation by McGimpsey et al. (1997) and Gresta et al. (2008, 2009), and similar to those published by Molina et al. (2010) and Chourak et al. (2021) by soilless culture, but it is well known that this probably is related to the diameter of corms used rather than to other environment conditions. EC values above 2.5 dS m⁻¹ reduced stigma production significantly.

In Spain and other countries the stigma length is considered an important commercial parameter for saffron market (Herrero, 2002; ISO, 2011b). The values were similar to reported by Chourak et al. (2021), and a significant decrease in stigmas length was recorded for ECs over 3 dS m⁻¹. After the first yield from the corms, in general, for the rest of the saffron growth parameters, the best results were obtained between the ECs of 2.0 and 2.5 dS m⁻¹.

3.3. Effect on chemical components

Crocin, safranal, and picrocrocin contents were significantly greater than those reported by Caballero-Ortega et al. (2007) from Spain other countries by traditional production, and similar to found by Chourak et al. (2021) under soilless culture (Table 3).

The ECs of the nutrient solution did not affect clearly to the safranal and picrocrocin content of saffron stigmas, while the highest concentration was recorded between the ECs of 2.5 and 3.0 dS m⁻¹. In soilless and conventional soils, it is well known that the concentration of certain phytochemicals is strongly influenced by the salinity level of the fertigation (E.g. Ben Taarit et al., 2010; Neffati et al., 2013; Álvaro et al., 2016). As a similar example in phytochemical levels Urrestarazu et al. (2019) found that the case of gamma linolenic content in borage plants, considered tolerant to salt stress, increased with ECs higher than 2.20 dS m⁻¹ up to 4.5.

3.4. Effect on commercial saffron quality

It was described as the absorption readings at 257 and 440 nm have been directly related to the amount of picrocrocin and crocetin esters in the stigmas, respectively (that is, bitterness and colouring power) (Gresta et al., 2009). The values found by soilless culture in this study were slightly higher than those reported for traditional soils from different localities reported by Gresta et al. (2009) and similar to Chourak et al. (2021) who were also working in soilless culture systems (Table 4).

The ECs of the nutrient solution did not show a clear effect at E1% (330 nm) absorption value of safranal. However, the absorption values at E1% (440 nm) and E1% (257 nm) (by crocin and picrocrocin, respectively) were significantly affected. While the highest absorption values (at 440 nm) were obtained with the lowest EC, the values between 2.5 and 3.0 dS m⁻¹ achieved the best results for absorption values at 257 nm, recording the threshold for its decreases to the value of 3.5 dS m⁻¹.

Finally, the correlation analysis showed clear relationship within yield and EC treatments (Table 5); however, no correlations were found between EC levels and phytochemical composition or measured commercial quality. This could be due to a quadratic curve fit described for crocin and the slight effect that ECs had on safranal and picrocrocin. There was a positive correlation between number of flowers and weight of stigma, opposite result was reported by Gresta et al. (2009), who found more influence between flower number and higher stigma weight.

As summary Figure 2 show the results fitted to a model based on Sonneveld and Voogt (2009), which in turn is a rescaling of classic model of Maas and Hoffman (1997). Except for vegetative growth ($R^2=0.378$), a significant correlation to a quadratic equation of order three was found for the rest of the parameters (from $R^2=0.967$ to $R^2=0.998$). While for vegetative growth, absorption of fertigation, and yield the optimum was in the EC range of 2.0 to 2.5 dS m⁻¹, for metabolite content it was between 2.5 and 3.0 dS m⁻¹. For a sub-optimum level (of 1.5 dS m⁻¹), a decrease of 45, 16, 14 and 5% was recorded for fertigation uptake, yield, vegetative growth and metabolite content, respectively.

While for higher levels of EC (4 dS m⁻¹) they were even greater. Comparing the parameters of growth, production and fertigation absorption, the latter were the most affected. While the metabolite content showed the lowest percentage variation with the variation of the EC levels of the nutrient solution. These results were similar to Urrestarazu et al. (2019) in relation to the content of gamma-linolenic acid, where found a different optimum level by vegetative and reproductive growth (flower) and content in seed of this metabolite content.

4. Conclusion

Results showed clear relationships within quantitative and qualitative saffron yield versus of the different ECs of the nutrient solutions.

Quality categories of saffron by soilless culture according to the ISO normative were slightly higher than traditional culture in soil.

While the best saffron production results were obtained with intermediate ECs (from 2.0 to 2.5 dS m⁻¹), the highest metabolite concentrations measured and commercial category were between 2.5 and 3.0, and an increase of more than 3.0 dS m⁻¹ led to a loss of quantity and quality of saffron yield.

References

- Álvaro, J.E., Lao, M.T., Urrestarazu, M., Baghour, M., Abdelmajid, M., 2016. Effect of nutrient solution salinity and ionic concentration on parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) essential oil yield and content. *J. Plant. Nutr.* 39 (8), 1057–1062. <https://doi.org/10.1080/01904167.2015.1061552>
- Amin, A., Hamza, A.A., Daoud, S., Khazanehdari, K., Hroud, A., Baig, B., Amphun, C.H., Adrian, T.H., Zaki, N., Ashtiani, K.S., 2016. Saffron based crocin prevents early lesions of liver cancer: In vivo, in vitro and network analyses. *Recent Pat. Anticancer Drug Discov.* 11 (1), 121–133. <https://doi.org/10.2174/157489281066615110> 2110248.
- Ben Taarit, M., Msaada, K., Hosni, K., Marzouk, B., 2010. Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves under NaCl stress. *Food Chem.* 119, 951–956. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.055>
- Bolhassani, A., 2018. Bioactive Components of Saffron and Their Pharmacological Properties Chapter 10 - , Editor(s): Atta-ur-Rahman, Studies in Natural Products Chemistry, Elsevier, 58, 289-311, <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64056-7.00010-6>
- Caballero-Ortega, H., Pereda, M.P., Abdullaev, F.I., 2007. HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food Chem.* 100 (3), 1126–1131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.020>.
- Chourak, Y., Belarbi, E.H., Rivera, E.Y.M., Cunha-Chiamolera, T.P.L., Fernández, A.A.P., 2021. Fertigation temperature adjustment enhances the yield and quality of saffron grown in a soilless culture system. *HortScience* 56 (10), 1191–1194. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI16005-21>
- Cunha-Chiamolera, T.P.L., Urrestarazu, M., Cecílio Filho, A.B., Morales, I., 2017. Agronomic and economic feasibility of tomato and lettuce intercropping in a soilless system as a function of the electrical conductivity of the nutrient solution. *HortScience* 52 (9), 1195–1200. <https://doi.org/10.21273/hortsci12170-17>.
- DOP. 2021. Azafrán de La Mancha. Denominación de Origen. Available from: <https://doazafrandelamancha.com/en/>.
- Gallegos-Cedillo, V.M., Urrestarazu, M., Alvaro, J.E., 2016. Influence of salinity on transport of nitrates and potassium by means of the xylem sap content between roots and shoots in young tomato plants. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 16 (4), 991-998. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162016005000072>.
- García-Rodríguez, M.V., López-Córcoles, H., Alonso, G.L., Pappas, C.S., Polissiou, M.G., Tarantilis, P.A., 2017. Comparative evaluation of an ISO 3632 method and an HPLC-DAD method for safranal quantity determination in saffron. *Food Chem.* 221, 838–843. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.089>.
- Ghadrdoost, B., Vafaei, A.A., Rashidy-Pour, A., Hajisoltani, R., Bandegi, A.R., Motamed, F., Haghghi, S., Sameni, H.R., Pahlvan, S., 2011. Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin

- against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats. Eur. J. Pharmacol. 667 (1–3), 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.05.012>.
- Gohari, A.R., Saeidnia, S., Mahmoodabadi, M.K., 2013. An overview on saffron, phytochemicals, and medicinal properties. Pharmacogn. Rev. 7 (1), 61–66. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.112850>.
- Gresta, F., Avola, G., Lombardo, G.M., Siracusa, L., Ruberto, G., 2009. Analysis of flowering, stigmas yield and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by environmental conditions. Scientia Hort. 119 (3), 320–324. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.08.008>.
- Gresta, F., Lombardo, G.M., Siracusa, L., Ruberto, G., 2008. Effect of mother corm dimension and sowing time on stigmas yield, daughter corms and qualitative aspects of saffron (*Crocus sativus* L.) in a Mediterranean environment. J. Sci. Food Agr. 88, 1144–1150. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3177>.
- Herrero, G. 2002 Estudio sobre el Azafrán. Nº de Proyecto: A.202.57. Escuela Universitaria Politécnica Industrial. Agrícola- Informática – Arquitectura. . ECTURA. Universidad de Zaragoza, Spain. Pp. 120. Available from: <https://azajiazafranderuel.com/uploads/abm0darf23otxjnps2nf.pdf>.
- ISO 3632-1, 2011a. Saffron (*Crocus sativus* L.): Specifications (2003 Revised 2011). International Standards Organization, Switzerland: Geneva. Available from: <https://committee.iso.org/standard/44523.html>.
- ISO 3632-1:2011b establishes specifications for dried saffron obtained from the pistils of *Crocus sativus* L. flowers. Available from: <https://www.iso.org/standard/44523.html>.
- ISO/TS 3632-1/2 (Ed.), 2003. Technical Specification. *Crocus sativus* L. Saffron. Ed, ISO, Geneva, Switzerland.
- Khoulati, A., Ouahhoud, S., Mamira, S., Alaoui, K., Lahmass, I., Choukri, M., Kharmach, E.Z., Aserhaou, A., Saalaoui, E., 2019. Saffron extract stimulates growth, improves the antioxidant components of *Solanum lycopersicum* L., and has an antifungal effect. Ann. Agric. Sci. 64, 138–150. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2019.10.002>
- Maas, E.V., Hoffman, G.J., 1977. Crop salt tolerance-current assessment. J. Irrig. Drain. Eng. 103, 115-134.
- McGimpsey, J.A., Douglas, M.H., Wallace, A.R., 1997. Evaluation of saffron (*Crocus sativus* L.) production in New Zealand. N. Z. J. Crop Horticulture Sci. 25, 159–168. <https://doi.org/10.1080/01140671.1997.9514002>
- Molina, R.V., García-Luis, A., Coll, V., Ferrer, C., Valero, M., Navarro, Y., Guardiola, J. L., 2004. Flower formation in the saffron crocus (*Crocus sativus* L). The role of temperature. Acta Hortic. 650 (650), 39–47. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.650.2>
- Molina, R.V., Renau-Morata, B., Nebauer, S.G., García-Luis, A., Guardiola, J.L., 2010. Greenhouse saffron culture- temperature effects on flower emergence and vegetative growth of the plants. Acta Hortic. 850, 91-94. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.850.12>

- Molina, R.V., Valero, M., Navarro, Y., Guardiola, J.L., García-Luis, A., 2005. Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). *Sci. Hortic.* 103, 361–379. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2004.06.005>
- Moya, C., Oyanedel, E., Verdugo, G., Flores, M.F., Urrestarazu, M., Álvaro, J.E., 2017. Increased electrical conductivity in nutrient solution management enhances dietary and organoleptic qualities in soilless culture tomato. *HortScience* 52 (6), 868–872. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI12026-17>
- Nájera, C., Urrestarazu, M., 2019. Effect of the intensity and spectral quality of LED light on yield and nitrate accumulation in vegetables. *HortScience* 54, 1745–1750. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14263-19>
- Neffati, M., Marzouk B., 2011. Salinity Impact on Growth, Essential Oil Content and Composition of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) Stems and Leaves. *Journal of Essential Oil Research.* <http://www.tandfonline.com/loi/tjeo20>
- Pozo, J., Alvaro, J.E., Morales, I., Requena, J., La Malfa, T., Mazuela, P., Urrestarazu, M., 2014. A new local sustainable inorganic material for soilless culture in Spain: granulated volcanic rock. *HortScience* 49, 1537–1541. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.49.12.1537>
- Rodríguez, D., Reca, J., Martínez, J., Lao, M.T., Urrestarazu, M., 2014. Effect of controlling the leaching fraction on the fertigation and production of a tomato crop under soilless culture. *Sci. Hortic.* 179, 153–157. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.030>
- Sarwat, M., Sumaiya, S., 2020. Saffron: The Age-Old Panacea in a New Light. Editor(s): Academic Press, <https://doi.org/10.1016/C2018-0-03979-1>
- Sonneveld, C., Straver, N., 1994. Nutrient solutions for vegetables and flower grow in water substrates. 10th ed. Proefstation voor tuinbouw onder glas te Naaldwijk. Naaldwijk, The Netherlands. 8, 45.
- Sonneveld, C., Voogt, W., 2009. Plant nutrition of greenhouse crops. Springer Dordrecht, Heidelberg, London, New York.
- Urrestarazu, M., Gallegos, V., Álvaro, J.E., 2017. The Use of thermography images in the description of the humidification bulb in soilless culture. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 48 (13), 1595–1602. <https://doi.org/10.1080/00103624.2017.1374399>.
- Urrestarazu, M., Gallegos-Cedillo, V.M., Ferrón-Carrillo, F., Guil-Guerrero, F., 2019. Effects of the electrical conductivity of a soilless culture system on gamma linolenic acid levels in borage seed oil. *PLoS One* 14 (2), e0207106. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207106>
- Urrestarazu, M., Morales, I., La Malfa, T., Checa, R., Wamser, A.F., Alvaro, J.E., 2015. Effects of fertigation duration on the pollution, water consumption, and productivity of soilless vegetable cultures. *HortScience* 50 (6), 819–825. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.6.819>

Urrestarazu, M., Nájera, C., Gea, M.M., 2016. Effect of the spectral quality and intensity of light-emitting diodes on several horticultural crops. HortScience 51, 268–271.
<https://doi.org/10.21273/HORTSCI.51.3.268>

Valero, M., Molina, R.V., Navarro, Y., García, A., Guardiola, J.L., 2004. El cultivo del azafrán con larga tradición, pero... ¿con futuro? Cuadernos de fitopatología: Rev. Tec. Fitop. Entom. 21 (80), 47-61.

Yarami, N., Sepaskhah, A.R., 2015. Saffron response to irrigation water salinity, cow manure and planting method. Agric. Water Manag. 150, 57-66. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2014.12.004>

Zohary, D., Hopf, M., 1994. Domestication of plants in the Old World. 2nd ed. Clarendon Press, Oxford, UK.

Table 1

Nutrient solution compositions for different salinities expressed as Electric Conductivities (EC).

EC dS m ⁻¹	pH	Macronutrient (mM)						Micronutrient (μM)					
		NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ²⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Fe	Mn	Cu	Zn	B	
1.5	5.80	7.69	1.12	1.31	3.55	3.75	1.13	15	10	0.75	5	30	0.5
2.0	5.80	10.25	1.50	1.75	4.75	5.00	1.51	15	10	0.75	5	30	0.5
2.5	5.80	12.81	1.88	2.19	5.95	6.25	1.89	15	10	0.75	5	30	0.5
3.0	5.80	15.37	2.26	2.63	7.14	7.50	2.27	15	10	0.75	5	30	0.5
3.5	5.80	17.97	2.64	3.07	8.34	9.00	2.65	15	10	0.75	5	30	0.5

*Based on Sonneveld and Straver (1994).

Table 2

Growth and yield of saffron in soilless culture systems as a function of the electrical conductivity (EC, dS m⁻¹) of the nutrient solution.

	EC				
	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5
Number of flower corm ⁻¹	2.64 b	2.92 a	2.70 ab	2.57 c	2.56 c
Stigma (mg flower ⁻¹)					
Fresh wt	43.00 a	44.34 a	42.84 ab	40.00 b	40.52 b
Dry wt	7.15 a	7.25 a	7.15 a	6.90 b	6.95 b
Length of stigma (cm)					
Fresh	3.16 a	3.28 a	3.16 a	3.27 a	3.34 a
Dry	2.02 a	2.15 a	2.24 a	2.15 a	2.11 a
Number of Corms plant ⁻¹					
> 1.5 cm Diameter	9.33 a	9.83 a	9.17 a	9.33 a	8.17 b
< 1.5 cm Diameter	8.50 b	10.32 a	6.30 c	6.33 c	7.22 c
Total	17.83 b	20.15 a	15.47 b	15.66 b	15.38 b
Leaves (g corm ⁻¹)					
Fresh wt	19.37 b	28.21 a	28.53 a	28.80 b	22.94 b
Dry wt	7.64 b	9.11 a	8.79 b	8.70 b	8.27 b
Root (g corm ⁻¹)					
Fresh wt	1.67 c	2.88 a	3.06 a	2.80 ab	2.61 b
Dry wt	0.18 c	0.34 a	0.32 a	0.26 b	0.28 b

Different letter indicates significant differences at P ≤ 0.05 according to Tukey test. n = 4.

Table 3Pigment content of saffron according to nutrient solution (EC, dS m⁻¹).

mg g ⁻¹ Stigma		Safranal			Picrocrocin		
	Crocin		Safranal		Picrocrocin		
1.5	138.18	± 2.63 b	2.63	± 0.12 a	60.90	± 0.13 a	
2.0	131.60	± 2.86 bc	2.86	± 0.07 a	59.78	± 0.16 a	
2.5	146.32	± 2.53 a	2.53	± 0.08 a	60.18	± 0.12 a	
3.0	146.63	± 2.86 a	2.86	± 0.09 a	60.54	± 0.09 a	
3.5	125.16	± 2.39 c	2.39	± 0.08 a	59.82	± 0.09 a	

Different letter indicates significant differences at P ≤ 0.05 according to Tukey test. n = 4.

Table 4

Quality characteristics of saffron according to ISO/TS 3632-2 (2011) Normative versus nutrient solution EC (dS m^{-1}).

			Category			
			I	II	III	IV
E1% (440 nm) absorption value of crocin						
1.5	189.13	±	4.80 b		X	
2.0	177.95	±	4.66 b		X	
2.5	199.48	±	7.68 a	X		
3.0	199.49	±	9.19 a	X		
3.5	172.73	±	16.60 ab		X	
E1% (330 nm) absorption value of safranal						
1.5	29.84	±	0.28 a	X		
2.0	32.12	±	0.28 a	X		
2.5	28.59	±	0.88 a	X		
3.0	32.49	±	0.34 a	X		
3.5	27.02	±	0.22 a	X		
E1% (257 nm) absorption value of picrocrocin						
1.5	95.52	±	1.14 a	X		
2.0	76.51	±	2.14 b	X		
2.5	83.93	±	1.22 b	X		
3.0	89.45	±	2.26 ab	X		
3.5	78.65	±	2.47 b	X		

Different letter indicates significant differences at $P \leq 0.05$ according to Tukey test. $n = 4$.

Table 5

Pearson correlation matrix of production, commercial parameters and chemical analysis.

	Flower Num	Fresh wt stigma	Dry wt stigma	Total Yield	Crocin	Safranal	Picrocrocin	Metabolite total	Crocin abs	Safranal abs	Picrocrocin abs
EC	-0.550	-0.807**	-0.807**	-0.714*	-0.186	-0.368	-0.462	-0.210	-0.146	-0.359	-0.421
Flower Num		0.877**	0.877**	0.846**	-0.144	0.470	-0.429	-0.150	-0.231	0.419	-0.482
Fresh wt stigma			0.999***	0.796**	-0.085	0.221	-0.128	-0.083	-0.145	0.179	-0.169
Dry wt stigmas				0.669*	-0.068	0.179	-0.125	-0.068	-0.126	0.138	-0.163
Total Yield					-0.305	0.565	-0.133	-0.288	-0.384	0.527	-0.187
Crocin						0.365	0.590	0.999***	0.995***	0.397	0.572
Safranal							0.176	0.381	0.285	0.998***	0.112
Picrocrocin								0.621**	0.620**	0.225	0.998***
Metabolite total									0.994***	0.414	0.602*
Crocin abs value										0.320	0.609*
Safranal abs value											0.163

*, ** and *** indicate significance for 0.05, 0.01 and 0.001, respectively.

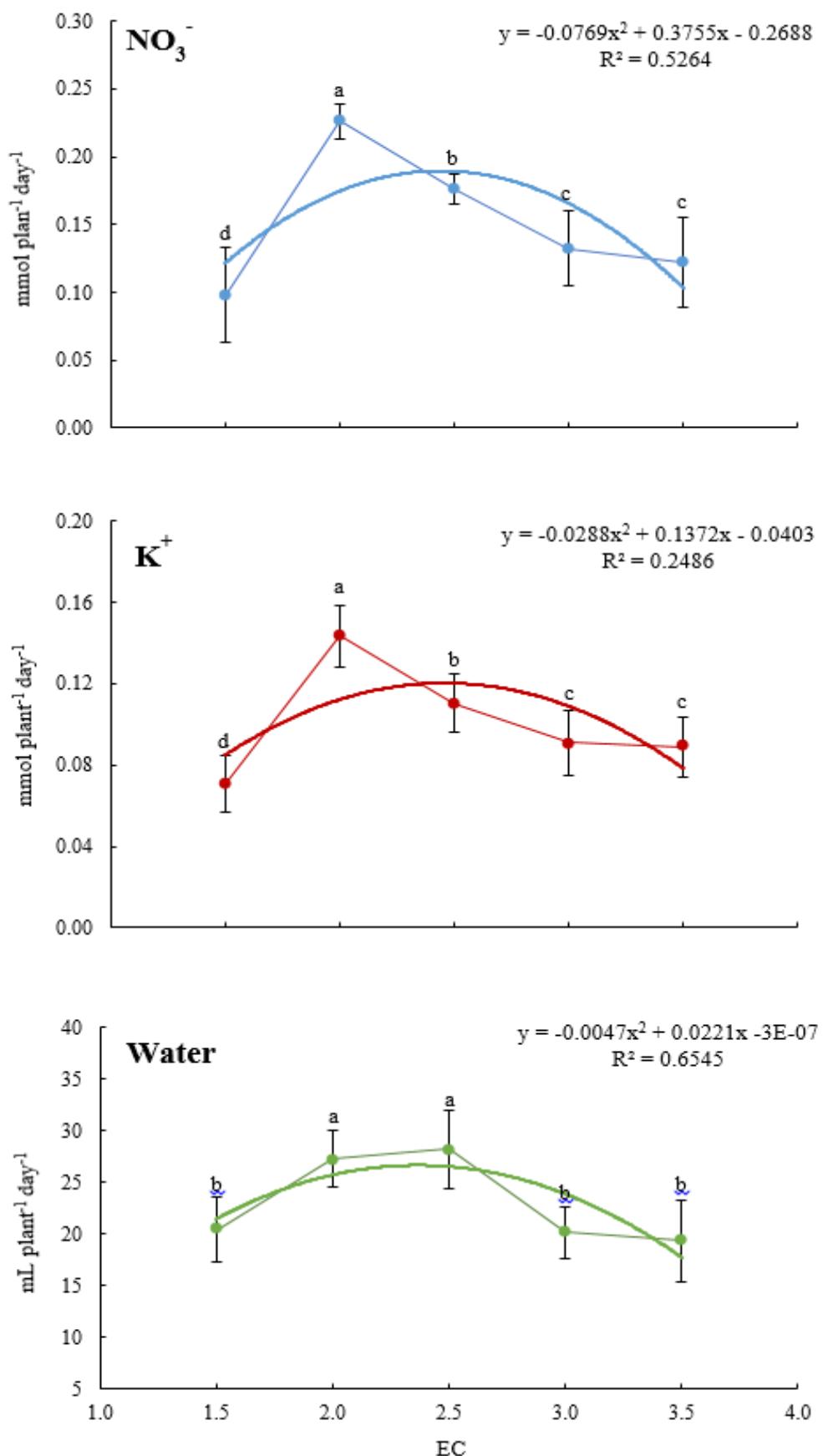


Fig. 1. Nitrate, potassium and water absorption of saffron plant versus electric conductivity (EC) of nutrient solution (dS m^{-1}).

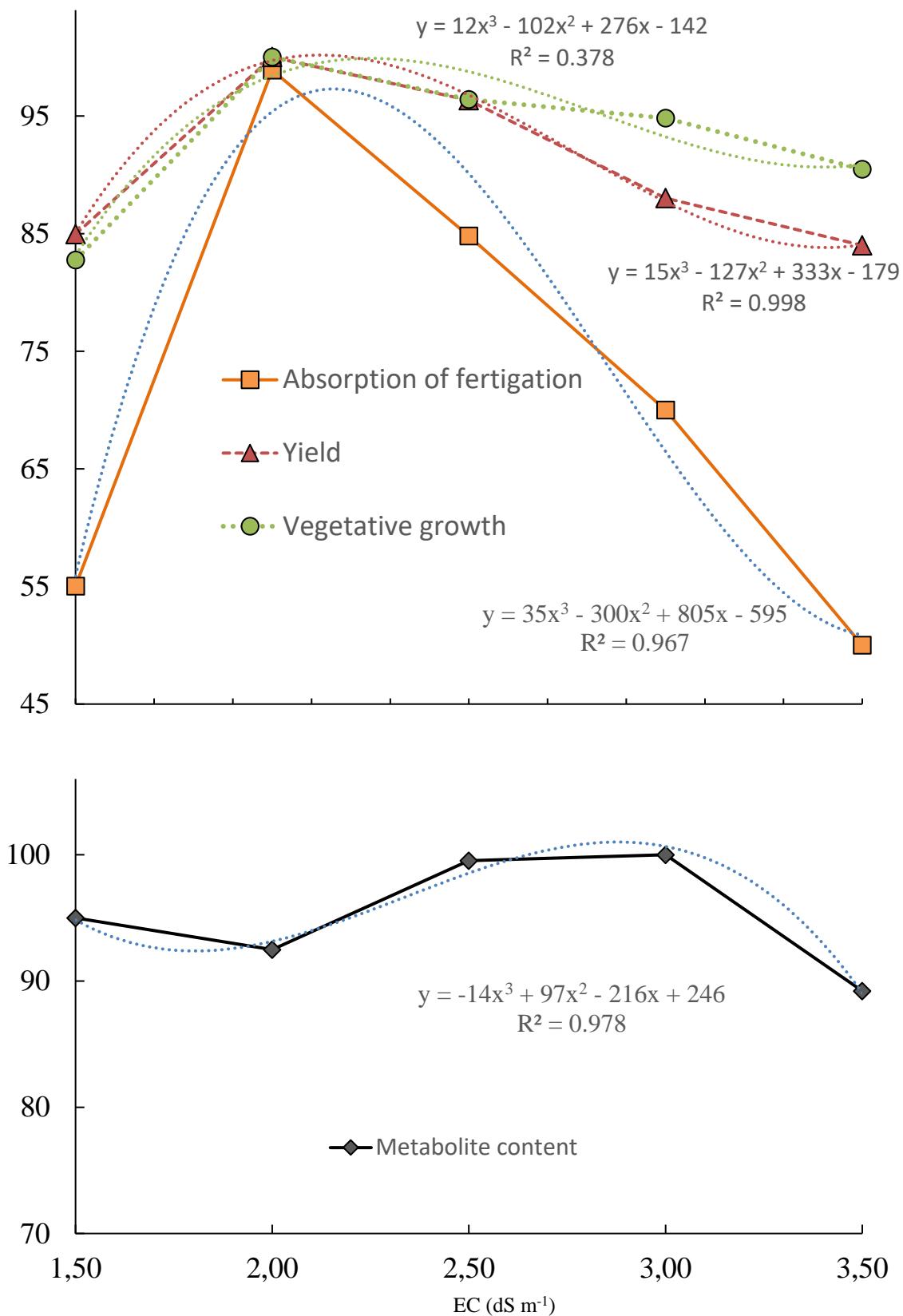


Fig. 2. Fertigation, yield and metabolite content parameters expressed by perceptual values of saffron versus Electric Conductivity (EC).

V. CAPITULO 3

Efectos de las técnicas de iluminación artificial en la producción de azafrán en sistemas de cultivo sin suelo



Capítulo 3. Efectos de las técnicas de iluminación artificial en la producción de azafrán en sistemas de cultivo sin suelo

Yasmina Chourak¹ y Miguel Urrestarazu¹

¹ Departamento de Agronomía, Universidad de Almería, Almería, España.

ABSTRACT

Las lámparas de diodos emisores de luz (LEDs) constituyen uno de los más importantes avances en la iluminación artificial en horticultura de las últimas décadas. El objetivo de este estudio fue comparar diversos parámetros en el cultivo de azafrán en sustrato bajo tres lámparas LED comerciales de 18 W, se evaluó el efecto de dos iluminarias con espectros específico para horticultura (T1 y T2), la T2 es recomendada para la inducción a flor. El experimento se llevó a cabo con cormos de azafrán. En una cámara de crecimiento vegetal controlada se dispusieron los cormos de azafrán sometiéndose a diferentes tratamientos, todos a una densidad de 5.95 lámparas m⁻². Se midieron los valores de la iluminancia (Lux) y del flujo fotosintético de fotones (FFF, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) de las lámparas LED utilizadas. Se evaluaron el rendimiento obtenido, como número de flores, peso fresco y seco de estigmas, la biomasa del cultivo como peso fresco y seco de las hojas, raíces y número de cormos producidos y la calidad del azafrán, como contenido de crocina, safranal y picrocrocina. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos para la producción y biomasa. El mejor tratamiento en cuanto a la producción de los compuestos químicos relacionados con la calidad fue el de las lámparas de espectro equivalente a la luz solar (T1), si bien obtuvo la misma categoría en calidad que el tratamiento control.

Keywords: Diodos Emisores de Luz, *Crocus sativus*, ISO 3632, crocina, picrocrocina, safranal.

1. Introducción

El azafrán (*Crocus sativus* L.) es una planta de floración otoñal perteneciente a la familia Iridaceae, reconocida mundialmente por sus estigmas rojos, que constituyen una de las especies más apreciada y cara del mundo (Gresta et al. 2008). Desde la antigüedad se ha usado como condimento en cocinas de todo el mundo, utilizándose ampliamente en la industria alimentaria (Hosseinzadeh y Nassiri-Asl 2012; García-Rodríguez et al. 2017). También se le ha dado un amplio uso en medicina tradicional, suscitando un creciente interés por los efectos biológicos de sus componentes químicos principales como la crocina, el safranal y la picrocrocina (Molina et al. 2005) gracias a sus posibles aplicaciones médicas, en particular las basadas en sus propiedades citotóxicas, anticancerígenas, antitumorales y contra el estrés crónico (Ghadrdoost et al. 2011; Bolhassani et al. 2014; Amin et al. 2016; Naeimi et al. 2019). Las cantidades de estos compuestos principales se utilizan

para expresar la calidad del azafrán (Hadizadeh et al. 2007). Cuanto mayor sea la cantidad de estos compuestos, mayor será la calidad del azafrán (Gohari et al. 2013).

El azafrán ha sido tradicionalmente cultivado en suelo como un cultivo semiperenne, con grandes gastos en mano de obra y bajas producciones. Para incrementar la producción y calidad del azafrán y reducir el gasto en mano de obra se requieren grandes cambios en el método de cultivo, introduciendo nuevas técnicas de producción como el cultivo sin suelo, mejoras en la gestión del uso del agua, nutrientes y manejo de plagas y enfermedades o el control climático (Maggio, 2006; Pérez y Gracia, 2020). Los avances en las nuevas técnicas de producción muestran que el azafrán puede constituirse en una interesante alternativa productiva para pequeñas empresas de base tecnológica (Poggi, 2009).

Dentro de las nuevas técnicas efectivas centramos este estudio en las relacionadas con luces LEDs. Los sistemas de iluminación LED tienen beneficios muy variados, estando entre ellos su espectro, larga vida útil, longitud de onda específica, baja temperatura en su superficie y alta eficiencia energética. Por ello, las luces LED se constituyen como un modo de iluminación artificial energéticamente eficiente y beneficiosa para las plantas (Urrestarazu et al. 2016; Bures et al. 2018).

Uno de los factores ambientales que más afecta al crecimiento de las plantas es la intensidad de la luz. Un ejemplo es que, normalmente, las situaciones de alta intensidad lumínica son reportadas como un factor que causa foto inhibición (Long et al. 1994; Fukuda et al. 2008) Por otro lado, niveles de luz bajos son asociados a un incremento del área foliar específica y a la altura de la planta (Steinger et al. 2003; Fan et al. 2013).

El Flujo de Fotones Fotosintéticos (FFF) indica la cantidad de luz en el espectro de RFA (Radiación Fotosintéticamente Activa). Este valor varía en función del espectro de luz usado. En luz azul y roja, el valor de absorción es del 90%, mientras que en luz verde varía entre el 70-80% (Terashima et al. 2009). Las luces azules y rojas y su varianza en FFF han sido estudiados por varios autores (Li et al. 2013; Nelson y Bugbee, 2014). Se ha visto que determinados espectros promueven la formación de sustancias químicas que mejoran la calidad y propiedades organolépticas de los vegetales durante su crecimiento y en postcosecha (Urrestarazu et al. 2016; Nájera et al. 2018; Ferrón-Carrillo et al. 2021)

La iluminancia es un valor que se utiliza en horticultura a menudo para poder determinar la suficiencia de la intensidad de la luz, con el fin de conseguir la más idónea para el cultivo de especies vegetales (Fan et al. 2013; Li et al. 2013).

El propósito de este estudio es evaluar los efectos de diferentes espectros de lámparas LED sobre la producción de azafrán y la calidad del mismo para optimizar el manejo de las técnicas de iluminación en la producción de azafrán en sustrato.

2. Materiales y métodos

2.1. Condiciones de cultivo y material vegetal

El experimento se llevó a cabo en una cámara de crecimiento vegetal controlada con iluminación artificial, en el Laboratorio de Control Climático y Cultivo sin Suelo de la Universidad de Almería (Almería, España), durante los meses de agosto a octubre de 2019. Las condiciones climáticas establecidas para el cultivo fueron de 15°C de temperatura, 85% de humedad relativa y un ciclo luz-oscuridad de 16/8 horas. Desde ese momento hasta la finalización del experimento, en febrero de 2020, las plantas permanecieron en un invernadero.

El material vegetal fue *Crocus sativus* L. procedente de Minaya (Albacete, España), una región productora tradicional en España bajo la Denominación de Origen Protegida Azafrán de La Mancha (EC Reg. 464/2001). Previamente a su plantación los cormos fueron incubados a 25°C (Molina et al. 2004; Molina et al. 2005) durante 55 días. Los cormos fueron dispuestos individualmente en macetas de 180 mL de volumen y 7 y 4.5 cm de diámetro superior e inferior, respectivamente, llenado previamente con fibra de coco húmeda. Las características físicas del sustrato han sido descritas previamente por Morales y Urrestarazu (2014). Las macetas fueron dispuestas en bandejas para su traslado a la cámara de crecimiento y dispuestas en vertical con las distintas luces que compusieron los tratamientos. En total se plantaron 180 cormos, cuatro repeticiones de tres tratamientos distintos con 15 macetas por repetición. Los riegos se efectuaron cuando se alcanzaba un consumo del 10% del agua fácilmente disponible, regándose hasta obtener un drenaje de un 20% (Rodríguez et al. 2014; Urrestarazu et al. 2015). La solución nutritiva usada fue la recomendada por Sonneveld y Straver (1994), con pH y conductividad eléctrica (CE) ajustados a 5.8 y 2.0, respectivamente. A los 15 días de la recolección de la última flor las bandejas fueron trasladadas a un invernadero donde pasaron 90 días hasta completar el resto de su ciclo vegetativo.

2.2. Ensayo con espectros de luz

Los cormos de azafrán se desarrollaron bajo tres tratamientos de luz con distinta composición espectral a una densidad de 5.95 lámparas por m². Como control se utilizaron lámparas blancas de LED de uso no agronómico, constituyendo el T0 (Roblan® LED T8 18W, Toledo, España). Para los dos tratamientos restantes se usaron lámparas de uso específico en agronomía, siendo el T1 (Valoya® L18 NS1 18W, Helsinki, Finlandia), de espectro similar a la luz solar y con una distribución espectral de un 5% rojo lejano, 35% rojo, 39% verde, 20% azul y 1% de ultravioleta. Está recomendado para todas las etapas de crecimiento. Para el T2 se usaron lámparas (Valoya® L18 AP67 Milky, Helsinki, Finlandia) que tienen un 17% de rojo lejano, 53% de rojo, 16% de verde y 14% de color azul. Se recomienda especialmente para el crecimiento vegetativo y la floración. Todas las lámparas eran de un consumo de 18W. Los espectros de luz usados fueron medidos con un medidor UPRtek MK350S LED Meter (UPRtek®, Taiwán), y se muestran en la Figura 1. Los valores de iluminancia

(Lux) y del flujo fotosintético de fotones (FFF, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fue medido con sensores LP471-PHOT y LP471-PAR de Delta OHM® (Padua, Italia) y se muestran en la Tabla 1. Se muestraron para cada medida de luz 4 puntos repartidos por la superficie de cultivo. Para la relación R:FR (rojo/rojolejano) se consideró la dada por los fabricantes de las lámparas.

2.3. Parámetros de crecimiento y cosecha

Para determinar el momento de la cosecha de flores seguimos el criterio propuesto por Kajikawa et al. (2019), Figura 2. Se contabilizó el número de flores por cormo, se midió el peso de los estigmas usando una balanza de precisión, en fresco y una vez secos tras pasar 24 horas a 45° C en un horno de convección (Thermo Scientific Heratherm, Alemania).

El crecimiento vegetativo de las plantas (número de bulbos formados, peso seco y fresco de raíces y hojas) se midió 90 días después de la floración. Al final del experimento, los cormos formados por planta se clasificaron según el diámetro. Se midió el peso fresco y seco de las hojas. Las raíces se enjuagaron en agua destilada, para eliminar los restos del sustrato y se pesaron, después de transferirlas a bolsas de papel, para secarlas en un horno de convección (Thermo Scientific Heratherm, Alemania) a 85° C hasta que se obtuvo un peso constante y luego fue medido con una balanza analítica de precisión OHAUS Adventurer modelo AX 124/E, con una precisión de dos décimas de gramo (Urrestarazu et al., 2016, Nájera y Urrestarazu, 2019).

2.4. Análisis químico

Los extractos acuosos de azafrán se prepararon según la norma ISO 3632 (2011). Se colocaron un total de 50 mg de filamentos de azafrán, después de triturar y tamizar, en un matraz aforado de 100 ml, y se agregaron 90 ml de agua destilada. La solución se agitó usando una barra de agitación magnética a 1000 rpm durante 1 h mientras se mantenía alejada de la luz. El matraz se llenó hasta la marca de 100 ml y la solución se homogeneizó y filtró. Después de la dilución (1:10, v/v), las muestras de cada tratamiento se midieron en el rango de 200 nm a 700 nm usando una celda de cuarzo (1 cm de longitud), Figura 3. Las lecturas de absorbancia a 257 nm, 310 nm y 440 nm, se relacionaron con la solución al 1% y se expresaron como E1% (257 nm) (Abs máximo de picrocrocina), E1% (330 nm) (Abs máximo de safranal) y E1% (440 nm) (Abs máximo de crocina), según ISO / TS 3632-2. Se preparó una muestra en blanco para cada uno. Los resultados se han obtenido mediante la lectura directa de la absorbancia (D) según la fórmula:

$$\text{E1\%} = (\text{D} \times 1000) / \text{m} (100 - \text{M}) \quad (1)$$

dónde D: Absorbancia específica, m: el peso de la muestra y M: la humedad de la muestra.

La humedad se determina pesando la muestra en una balanza, previamente secada y tarada. La tara que

contiene la porción de prueba se coloca en el horno a 103° C durante 16 horas y luego se enfriá y se pesa usando una balanza analítica.

Los resultados de humedad (M) son calculados según la ecuación:

$$M = (mi - mf) \times 100 / mh. \quad (2)$$

dónde mi: el peso de la tara más la muestra de prueba (g), mf: el peso de la tara más lamuestra de prueba seca (g) y mh: muestra de prueba para determinar la humedad.

Para la determinación de la concentración de crocina, safranal y pirocrocina seutilizaron las curvas patrón propuestas por Kholati et al. (2019).

Para la medida de la absorbancia se usó un espectrofotómetro UV-Vis Helios TMGamma, (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts).

2.5. Diseño estadístico y análisis

El ensayo fue realizado bajo un diseño de bloques al azar, donde los tratamientos fueron los espectros. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento, con 15 cormos de azafrán encada repetición, totalizando 60 cormos por tratamiento. Los datos fueron sometidos a un análisis de la varianza, ANOVA, con un nivel de significancia del 5%, 1% y 0.1% y posteriormente sus medias fueron comparadas mediante un test de Tukey. Para el análisis se utilizó el programa estadístico Statgraphics Centurion® 18.1.13 (Warrenton, VA) y Microsoftoffice Excel 2010.

3. Resultados y discusión

3.1. Irradiación

Los valores de iluminancia (Lux) y del flujo fotosintético de fotones FFF, “ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ” obtenidos se muestran en la Tabla 1. Con respecto al tratamiento testigo, T0, observamos en el T1 un incremento del 15% y del 16% en la iluminancia y en el flujo fotosintético de fotonesrespectivamente, mientras el T2 muestra un descenso del 45 % y 31% respectivamente. Observamos una baja eficiencia en emisión del espectro RFA en la lámpara T2 con respecto alas otras lámparas. Nelson y Bugbee (2014), encontraron un amplio rango en la eficiencia del FFF en distintos LEDs medidas en $\mu\text{mol J}^{-1}$, así mismo, demostraron que pequeñas variaciones en la eficiencia del FFF en distintos LEDs individuales llevaban asociadas grandes diferencias en la eficiencia luminosa (lux), haciendo recomendable descartar esta medida la hora de seleccionar las lámparas a usar. Similares resultados han sido observados para las lámparas usadas en el T2 cuando se comparan con respecto a lámparas usadas para iluminación general, T0 (Nájera et al. 2018; Urrestarazu et al. 2016).

3.2. Efectos en la producción

Los rendimientos obtenidos de cosecha de flores y estigmas se muestran en la Tabla 2. No se encuentran diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos, estando este resultado de acuerdo con el mostrado previamente por Kajikawa et al. (2018).

El efecto de los distintos espectros sobre el crecimiento de la planta y sobre la producción de cormos hijos se muestran en la Tabla 3. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos. Resultados similares han sido descritos por Gracia et al. (2010) y Kajikawa et al. (2018).

3.3. Efectos en la composición química

La Tabla 4 muestra el contenido de crocina, safranal y picrocrocina obtenido para cada tratamiento. Se observa un aumento del contenido de crocina del 20% para el T1 y de una disminución del 17% para el T2 con respecto al T0. Kajikawa et al. (2018), encontró que espectros con una relación R/FR (rojo/rojo lejano) más baja obtenían mayores valores de este compuesto cuando eran cultivados bajo una misma intensidad luminosa. En nuestro caso, centrándonos en la composiciónpectral de cada lámpara, sería de esperar que el T2 obtuviera valores mayores que el T0 y T1. El hecho de que no aparezca ese incremento esperado en nuestro estudio puede deberse a que la intensidad de la luz en el T2 sea inferiora las intensidades de los otros tratamientos ya que hay estudios previos (Fan et al. 2013) que prueban que entre valores FFF de 50-150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ la eficiencia energética aumenta y por encima de estos valores esta eficiencia comienza a disminuir.

Para el safranal se obtienen incrementos del 10% y 23% para los tratamientos T1 y T2 respectivamente con respecto al T0. Intervalos de variación menores se encuentran para la concentración de picrocrocina dándose un incremento del 0.4% para el T1 y un descenso del 2% para el T2 con respecto a T0.

Tanto para el safranal como para la picrocrocina no se han descrito los efectos de la aplicación de distintos espectros previamente.

3.4. Efectos en la calidad del azafrán.

La calidad se determina mediante la cuantificación espectrofotométrica de crocina, safranal y picrocrocina mediante la medición directa de la absorbancia de una solución acuosa estándar al 1% de azafrán seco a 440, 330 y 257 nm, respectivamente (ISO / TS 3632 2003). En la Tabla 5 se muestran las absorbancias obtenidas y las categorías de calidad según dicha norma. Se observa que el T2 siempre aparece en una categoría un orden inferior que el resto de los tratamientos, excepto para el safranal. Esto es debido a que la norma asigna categorías superiores a valores cada vez mayores de crocina y picrocrocina mientras que el rango exigido para el safranal es el mismo para todas las categorías.

4. Conclusiones

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos estudiados en la producción ni el crecimiento vegetativo.

El tratamiento con la lámpara Valoya® L18 NS1 fue el que mejores resultados dio en cuanto a composición química del azafrán, pero la calidad obtenida según la Norma ISO/TS 3632-2 fue la misma que para el tratamiento con la lámpara Roblan® LED T8.

Por lo tanto, si nuestro objetivo no es específicamente la producción de crocina o picrocrocina, no se recomienda el uso de lámparas Valoya® L18 NS1 ya que similares producciones y calidad se obtienen con las lámparas de uso general Roblan® LED T8 con un coste de luminarias inferior.

5. Referencias

- Amin A, Hamza S, Daoud K, Khazanehdari A, Hrout B, Baig C, Amphun H, Adrian TH, Zaki NK, Ashtiani S (2016). Saffron-based crocin prevents early lesions of liver cancer: in vivo, in vitro and network analyses. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery* 11 (1):121-133.
- Bolhassani A, Khavari A, Bathaie Zahra S (2014). Saffron and natural carotenoids: biochemical activities and anti-tumor effects. *Biochim. Biophys. Acta.* 1845 (1):20-30.
- Bures S, Urrestarazu M, Kotiranta S (2018). Iluminación artificial en agricultura. Artículo técnico.
- Fan XX, Xu ZG, Liu XY, Tang CM, Wang LW, Han X (2013). Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. *Sci. Hortic.* 153:50–55.
- Ferrón-Carrillo F, Guil-Guerrero JL, González-Fernández MJ, Svetlana L, Filippo B, Tatiana Pagan LC, Urrestarazu M (2021). LED enhances plant performance and both carotenoids and nitrates profiles in lettuce. *Plant Foods Hum Nutr.* 76:210-218.
- Fukuda N, Fujita M, Ohta Y, Sase S, Nishimura S, Ezura H (2008). Directional blue light irradiation triggers epidermal cell elongation of abaxial side resulting in inhibition of leaf epinasty in geranium under red light condition. *Sci. Hortic.*
- García-Rodríguez M, López-Córcoles H, Alonso L, Pappas S, Polissiou M, Tarantilis P (2017). Comparative evaluation of an ISO 3632 method and an HPLC-DAD method for safranal quantity determination in saffron. *Food Chem.* 221:838–843.
- Ghadrdoost B, Vafaei A, Rashidy-Pour A, Hajisoltani R, Bandegi A, Motamedi F, Haghghi S, Sameni HR, Pahlvan S (2011). Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 667 (1-3):222–229.
- Gohar, AR, Saeidnia S, Mahmoodabadi MK (2013). An overview on saffron, phytochemicals, and medicinal properties. *Pharmacogn. Rev.* 7 (1):61.
- Gresta F, Lombardo GM, Siracusa L, Ruperto G (2008). Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 28:95-112.
- Gracia LM, Castro M, Altisent J, Martin P, Martín-Gil J (2010). Idoneidad de la iluminación con LED y OLED de estado sólido para el cultivo de azafrán (*Crocus sativus* L.) en invernaderos. IX Congreso Latinoamericano y del Caribe de Ingeniería Agrícola.
- Hadizadeh F, Mahdavi M, Emami SA, Khashayarmanesh Z, Hassanzadeh M, Asili J, Seifi M, Nassirli H, Shariatimoghadam A, Noorbakhsh R (2007). Evaluation of ISO method in saffron qualification. *Acta Hortic.* 739:405.
- Hosseinzadeh H y Nassiri-Asl M (2012). Avicenna's (Ibn Sina) the Canon of Medicine and saffron (*Crocus sativus*): a review. *Phytother Res.* 27 (4):475–483.

- ISO (Ed.), (2003). TS 3632–1/2. Technical Specification. *Crocus sativus* L. Saffron. Ed, International Standards Organization, Geneva, Switzerland.
- ISO (Ed.), (2011). 3632-1. Saffron (*Crocus sativus* L.): Specifications (2003 Revised 2011). International Standards Organization, Geneva, Switzerland.
- Kajikawa N, Uno Y, Kuroki S, Miyagaw, S, Yamashita Y, Hamaguchi Y, Ueda , Kobayashi M, Kaji K, Itoh H. (2018). Effect of Far-red Light on Saffron (*Crocus sativus* L.) Growth and Crocin Yields. Environ. Control Biol. 56:51-57.
- Khoulati A, ouahhoud S, Mamira S, Alaoui K, Lahmass I, Choukri M, Kharmach EZ, Aserhaou A, Saalaoui E (2019). Saffron extract stimulates growth, improves the antioxidant components of *Solanum lycopersicum* L., and has an antifungal effect. Ann. Agric. Sci. 64:138–150.
- Li H, Tang C, Xu Z (2013). The effects of different light qualities on rapeseed (*Brassica napus* L.) plantlet growth and morphogenesis in vitro. Sci. Hortic. 150: 117–124.
- Long SP, Humphries S, Falkowski P.G (1994). Photoinhibition of Photosynthesis in Nature. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 45:633–662.
- Maggio A, Raimondi G, Martino A, De Pascale S (2006). Soilles cultivation of saffron in Mediterranean enviroment. Acta Hortic. 718:515-522.
- Molina R, Valero M, García A, Guardiola, JL (2004). The effect of time of corm lifting and duration of incubation at inductive temperature on flowering in the saffron plant (*Crocus sativus* L.) Scientia Horticulturae 103:79-91.
- Molina R, Valero M, Guardiola JL, García-Luis A (2005). Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). Scientia Horticulturae. 103:361-379.
- Morales I y Urrestarazu M (2014). Effect of a passive mixing device on the electrical conductivity and pH values of a nutrient solution. J. Irrig. Drain. Eng. 140:1-4.
- Naeimi M, Shafiee M, Kermanshahi F, Khorasanchi Z, Khazaei M, Ryzhikov M, Avan A, Gorji N, Hassanian S (2019). Saffron (*Crocus sativus*) in the treatment of gastrointestinal cancers: Current findings and potential mechanisms of action. Journal of cellular biochemistry 120 (10):16330-16339.
- Najera C, Guil-Gerrero JL, Jarquín L, Álvaro JU, Urrestarazu M (2018). LED-enhanced dietary and organoleptic qualities in postharvest tomato fruit. Postharvest Biol. Technol. 145:151-156.
- Nelson J, Bugbee B (2014). Economic analysis of greenhouse lighting: Light emitting diodes vs. High intensity discharge fixtures. PloS one. 9.
- Poggi LM (2009). Problemáticas y nuevas perspectivas tecnológicas para la producción de azafrán. Hortic. Argen. 28(65):39-62.
- Pérez-Vidal C, Gracia L (2020). Computer based production of Saffron (*Crocus sativus* L.): From mechanical design to electronic control. Comput. Electron. Agric., 169.
- Rodríguez D, Reca J, Martínez J, Lao M T, Urrestarazu M (2014). Effect of controlling the leaching fraction

- on the fertigation and production of a tomato crop under soilless culture. *Sci. Hortic.* 179:153– 157.
- Sonneveld C, and Straver N (1994). Nutrient solutions for vegetables and flowers grown in water or substrates. 10th ed. Naaldwijk, the Netherlands.
- Steinger T, Roy BA, Stanton ML (2003). Evolution in stressful environments II: adaptive value and costs of plasticity in response to low light in *Sinapis arvensis*. *J. Evol. Biol.* 16:313–323.
- Terashima I, Fujita T, Inoue T, Chow W, Oguchi R (2009). Green Light Drives Leaf Photosynthesis More Efficiently than Red Light in Strong White Light: Revisiting the Enigmatic Question of Why Leaves are Green. *Plant Cell Physiol.* 50:684–697.
- Urrestarazu M, Nájera C, Gea M (2016). Effect of the spectral quality and intensity of light-emitting diodes on several horticultural crops. *HortScience*. 53:268–271.
- Urrestarazu M, Morales I, La Malfa T, Checa R, Wamser AF, Alvaro JE (2015). Effects of fertigation duration on the pollution, water consumption, and productivity of soilless vegetable cultures. *HortScience* 50 (6):819–825.

TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Valores de iluminancia (Lux), del flujo fotosintético de fotones FFF, “ $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ” y de la relación rojo/rojo lejano (R:FR) de las lámparas LED utilizadas como fuentes de espectros luminosos para el desarrollo de plantas de azafrán, a una densidad de 5.95 lámparas•m⁻².

Tratamientos	Iluminancia	FFF	R:FR
T0	4086 ± 374 b	95.0 ± 10.5 b	2.10
T1	4685 ± 291 a	109.9 ± 5.9 a	3.3
T2	2231 ± 106 c	66.0 ± 3.8 c	10.4

Letras diferentes indican diferencias significativas según un test de Tukey a $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$, $P \leq 0.001$.

T0 = Roblan® LED T8 18W. T1 = Valoya® L18 NS1 18W. T2 = Valoya® L18 AP67 Milky. n = 4.

Tabla 2. Cosecha de azafrán en sustrato según los distintos tipos de espectros de luz.

	T0	T1	T2
Número de flores cromo⁻¹	2.47 ± 0.66 a	2.43 ± 0.76 a	2.67 ± 0.36 a
Estigma (mg cromo⁻¹)			
Peso fresco	34.98 ± 9.16 a	29.70 ± 1.77 a	29.77 ± 0.40 a
Peso seco	6.34 ± 0.85 a	6.05 ± 0.37 a	6.10 ± 0.17 a

Letras diferentes indican diferencias significativas según un test de Tukey a $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$, $P \leq 0.001$.

T0 = Roblan® LED T8 18W. T1 = Valoya® L18 NS1 18W. T2 = Valoya® L18 AP67 Milky. n = 4.

Tabla 3. Efectos de los distintos espectros de luz sobre parámetros de crecimiento en azafrán.

	T0	T1	T2
Número cormos planta⁻¹			
Diámetro > 1.5 cm	6.56 ± 0.32 a	5.62 ± 0.66 a	6.56 ± 0.32 a
Diámetro < 1.5 cm	6.31 ± 1.13 a	6.56 ± 2.00 a	6.50 ± 1.87 a
Hojas (g cormos⁻¹)			
Peso fresco	34.98 ± 9.16 a	29.70 ± 1.77 a	29.77 ± 0.40 a
Peso seco	6.34 ± 0.85 a	6.05 ± 0.37 a	6.10 ± 0.17 a
Humedad (%)	49.86 ± 10.74 a	43.21 ± 4.67 a	49.62 ± 4.46 a
Raíces (g cormos⁻¹)			
Peso fresco	4.90 ± 2.84 a	2.34 ± 0.70 a	5.32 ± 2.82 a
Peso seco	0.55 ± 0.21 b	0.32 ± 0.09 c	0.83 ± 0.28 a
Humedad (%)	87.73 ± 3.07 a	86.51 ± 0.45 a	82.90 ± 5.71 a

Letras diferentes indican diferencias significativas según un test de Tukey a $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$, $P \leq 0.001$.

T0 = Roblan® LED T8 18W. T1 = Valoya® L18 NS1 18W. T2 = Valoya® L18 AP67 Milky. n = 4.

Tabla 4. Contenido de crocina, safranal y picrocrocina (mg/g de estigmas).

	T0		T1		T2
Crocina	117.84	± 1.10	b	140.95	± 0.17
Safranal	2.61	± 0.03	c	2.87	± 0.01
Picrocrocina	59.96	± 0.01	b	60.21	± 0.01

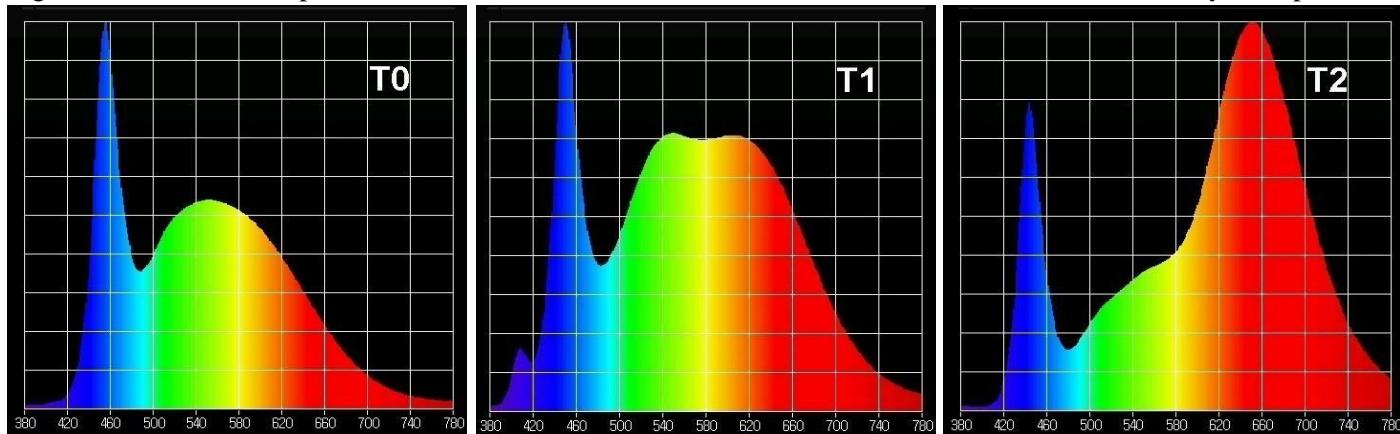
Letras diferentes indican diferencias significativas según un test de Tukey a $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$, $P \leq 0.001$. T0 = Roblan® LED T8 18W. T1 = Valoya® L18 NS1 18W. T2 = Valoya® L18 AP67 Milky. n=4.

Tabla 5. Calidad del azafrán por categorías de acuerdo a la Norma ISO/TS 3632-2 para los distintos tratamientos.

	Absorbancia	Categoría:	I	II	III
E^{1%} (440 nm)					
T0	164.41 ± 1.45	b		X	
T1	182.09 ± 0.21	a		X	
T2	139.09 ± 0.13	c			X
E^{1%} (330 nm)					
T0	29.98 ± 0.34	c		X	
T1	31.01 ± 0.12	b		X	
T2	37.29 ± 0.13	a		X	
E^{1%} (257 nm)					
T0	81.54 ± 0.13	a		X	
T1	79.89 ± 0.21	b		X	
T2	60.01 ± 0.13	c			X

Letras diferentes indican diferencias significativas según un test de Tukey a $P \leq 0.05$, $P \leq 0.01$, $P \leq 0.001$. T0 = Roblan® LED T8 18W. T1 = Valoya® L18 NS1 18W. T2 = Valoya® L18 AP67 Milky. E^{1%} (440nm). E^{1%} (330nm). E^{1%} (257nm) = Absorbancia específica a 440 nm, 330 nm y 257 nm con la solución al 1%.

Figura 1. Distribución espectral de los diferentes tratamientos de luz, desde 380 hasta 780 nm. T0, T1 y T2 representan



a Roblan L18 LED T8 G13 18W, Valoya L18 spectrum NS1 y Valoya L18 spectrum AP67 Milky respectivamente.

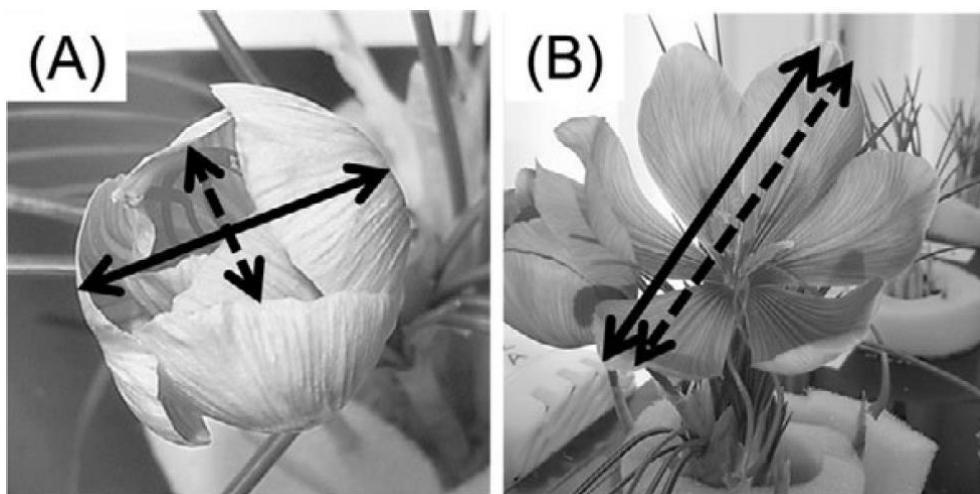


Figura 2. Criterio para determinar el momento de la cosecha de flores y estigmas. La flecha sólida y la flecha discontinua representan el diámetro de la flor y el intervalo máximo entre los bordes de los pétalos que se enfrentan entre sí, respectivamente. Se determinó que las flores estaban en plena floración y cuando ambas flechas tenían la misma longitud. A: floración parcial; B: plena floración. (Adaptado de Kajikawa *et al.*, 2018).

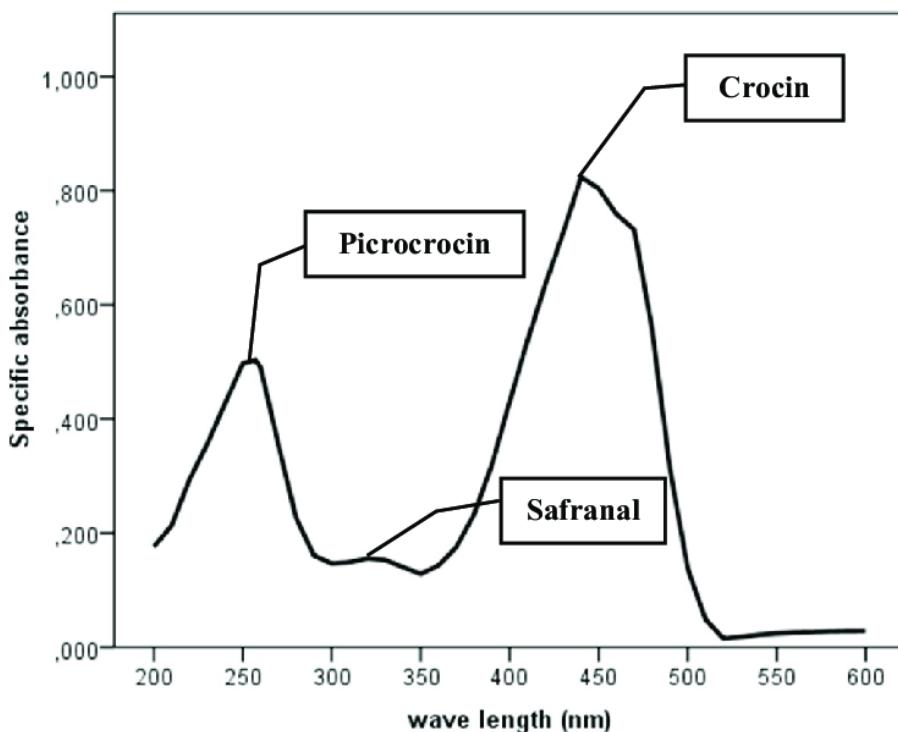


Figura 3. Curva de absorbancia específica de una muestra de azafrán. (longitud de onda en nanómetros). (Kholati *et al.*, 2019).

VI. CONCLUSIONES



Conclusiones

Generales

Las técnicas de fertirrigación controlada conducen a una significativa mejora en la productividad, contenido de compuestos fitoquímicos y calidad organoléptica del azafrán. Además, La luminotecnia constituye una herramienta eficaz para la mejora del cultivo de azafrán y su fitoquímica .

Por capítulos

Capítulo 1. El ajuste de la temperatura de la solución nutritiva aumenta la producción de flores y el contenido de crocina y safranal, sin afectar los parámetros de crecimiento vegetativo de las plantas de azafrán. El enfriamiento de la solución nutritiva es una metodología eficaz, de bajo coste y respetuosa con el medio ambiente para incrementar la producción y calidad comercial de azafrán, así como de sus compuestos bioactivos y características organolépticas.

Capítulo 2. Los resultados mostraron relaciones estadísticamente significativas entre el rendimiento cuantitativo y cualitativo del azafrán en función de las diferentes CE de las soluciones nutritivas. Las categorías de calidad de azafrán para cultivo sin suelo, según las normas ISO, fueron ligeramente superiores a las del cultivo tradicional en suelo. Mientras que los mejores resultados de producción de azafrán se obtuvieron con CE intermedias (de 2.0 hasta 2.5 dS m⁻¹), las concentraciones más altas de metabolitos medidos y la categoría comercial estuvieron entre 2.5 y 3.0 dS m⁻¹, y un aumento por encima de 3.0 dS m⁻¹ condujo a una pérdida de cantidad y calidad de productividad.

Capítulo 3. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los distintos tratamientos estudiados en cuanto a la producción y al crecimiento vegetativo de las plantas. El tratamiento con la lámpara Valoya® L18 NS1 fue el que mejores resultados proporcionó en cuanto a composición bioquímica del azafrán, sin embargo, la calidad obtenida según la Norma ISO/TS 3632-2 fue similar a la obtenida mediante el tratamiento con la lámpara Roblan® LED T8. Por lo tanto, si el objetivo del cultivo no es específicamente la producción de crocina o picrocrocina, no se recomienda el uso de lámparas Valoya® L18 NS1. Esto se debe a que se obtienen producciones similares y calidades mediante las lámparas de uso general Roblan® LED T8,

Técnicas de cultivo sin suelo y fertirrigación en el cultivo de azafrán las cuales presentan un coste de luminarias inferior.

VII. REFERENCIAS

Referencias

- Abdullaev FI (1993). Biological effects of saffron. *Biofactors*. 4: 83–86.
- Ahrazem O, Rubio-Moraga A, Nebauer SG, Molina RV, Gómez-Gómez L (2015). Saffron: its phytochemistry, developmental processes, and biotechnological. *Agric Food Chem*. 63(40): 8751-64.
- Aung HH, Wang CZ, Ni M, Fishbein A, Mehendale SR, Xie JT, Shoyama CY, Yuan CS (2007). Crocin from *Crocus sativus* possesses significant anti-proliferation effects on human colorectal cancer cells. *Exp Oncol*. 29(3): 175-80.
- Javadi B, Sahebkar A, Emami SA (2013). A survey on saffron in major Islamic traditional medicine books. *Iran. J. Basic Med. Sci.* 16(1): 1-11.
- Bathaie SZ, Hoshyar R, Miri H, Sadeghizadeh M (2013). Anticancer effects of crocetin in both human adenocarcinoma gastric cancer cells and rat model of gastric cancer. *Biochem Cell Biol*. 91(6): 397-403.
- Benschop M, Crocus A, De Hertog M. Le Nard (Eds.) (1993). The physiology of Flower Bulbs. Ámsterdam: Elsevier. 9: 257-283.
- Cardone L, Castronovo D, Perniola M, Cicco N, Candido V (2020). Saffron (*Crocus sativus* L.), the king of spices: An overview. *Sci. Hortic.* 272: 109560.
- Chourak Y, Belarbi EH, Rivera EYM, Cunha-Chiamolera TPL, Fernández AAP (2021). Fertigation temperature adjustment enhances the yield and quality of saffron grown in a soilless culture system. *HortScience* 56(10): 1191–1194.
- Da I, Das S, Saha T (2010). Saffron suppresses oxidative stress in DMBA-induced skin carcinoma: A histopathological study. *Acta Histochem*. 112: 317-27.
- DOCE. (2001). Reglamento (CE) N 464/2001 Comisión de 07/03/2001. Plublicado en el Diario Oficial de la Comunidad Europea del 08/03/2001, L66, página 29.
- DOP. (2021). Obtenido de Denominación de Origen Protegida Azafrán de La Mancha.: <https://doazafrandelamancha.com/es/noticias/item/la-dop-azafran-de-la-mancha-cierra-la-campana-2021-con-una-cosecha-que-asciende-a-34686-kilogramos.html>.
- FAO. (2013). Obtenido de Organización de Naciones Unidas para Agricultura y la Alimentación: <http://www.fao.org/worldfoods situation/es/>.
- Fallahi HR, Mahmoodi S (2018). Impact of water availability and fertilization management on saffron (*Crocus sativus* L.) biomass allocation. *J. Hortic. Postharvest Res.* 1(2): 131-146.
- Farzam K, Fathi H, Hemmassian A, Mirzaeeian H, Shhoshtarian H, Danshvar M (2004). “The Case Study of The Islamic Republic of Iran”. Workshop on Geographic Indicators for Agricultural and Food. Products in the Near East and North Africa Region. Agropolis International, Montpellier (France).

Fernández Pérez A, Escribano Martínez J (2000). Biotecnología del azafrán. Ediciones de la Universidad de Castilla-La Mancha, Cuenca. Spain.

Fernández JA (2004). Biology, biotechnology and biomedicine of saffron. Recent Res. Devel. Plant sci. 2: 127-159.

García E (1960). El azafrán, cultivo y preparación. Madrid. NO 4-60.

García MV, Díaz G, López H (2015). Influencia de diferentes condiciones de cultivo forzado de *Crocus sativus* L. en la calidad del azafrán, Tesis Doctoral. Universidad de Albacete. 118.

García-Rodríguez MV, López-Córcoles H, Alonso GL, Pappas CS, Polissiou MG, Tarantilis PA (2017). Comparative evaluation of an ISO 3632 method and an HPLC-DAD method for safranal quantity determination in saffron. Food Chem. 15(221): 838-843.

Garavand F, Madadlou A, Moini S (2017). Determination of phenolic profile and antioxidant activity of pistachio hull using high-performance liquid chromatography-diode array detectore-electro-spray ionization-mass spectrometry as affected by ultrasound and microwave. Int. J. Food Prop. 20(1): 19-29.

Gohari AR, Saeidnia S, Mahmoodabadi MK (2013). An overview on saffron, phytochemicals, and medicinal properties. Pharmacogn. J. 7(13): 61–66.

Gresta, F, Lombardo GM, Siracusa L, Ruperto G (2008). Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems. A review. Agron. Sustain. Dev. 28: 95-112c.

Mollazadeh H, Emami SA, Hosseinzadeh H (2015). Razi's Al-Hawi and saffron (*Crocus sativus*): a review 18(12): 1153–1166.

Hosseinpour Chermahini S, Adibah AB, Roji Sarmidi M, Taghizadeh E, Salehnezhad S (2010). Impact of saffron as an anti-cancer and anti-tumor herb. Afr J Pharm Pharmacol. 4: 834–40.

Hosseinzadeh H, Nassiri-Asl M (2013). Avicenna's (Ibn Sina) the Canon of Medicine and saffron (*Crocus sativus*): a review. Phytother Res. 27(4):475–83.

ISO (Ed.), 2003. TS 3632–1/2. Technical Specification. *Crocus sativus* L. Saffron. Ed, ISO, Geneva, Switzerland.

Lagram Ben El Caid KM, Atyane LH, Salaka L, El Boullani R, El Mousadik A, Serghini MA (2017). In vitro shoots and micro-corms formation through indirect organogenesis of Moroccan saffron (*Crocus sativus* L.). Acta Hortic. 97-108.

Ma XQ, Zhu DY, Li SP, Dong TT, Tsim KW (2001). Authentic identification of stigma croci (stigma of *Crocus sativus*) from its adulterants by molecular genetics analysis. Planta Med. 67(2): 183-6.

Maggio A, Raimondi G, Martino A, Pascale S (2006). Soilless cultivation of saffron in Mediterranean environment. Acta Hortic. 718(718): 515-521.

Melnyk JP, Wang S, Marcone MF (2010). Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. Int. Food Res. J. 43(8): 1981-1989.

- Mahdavi V, Bahbahani AK, Golmohammadi G, Tajdar B, Eslami Z, Khaneghah AM (2021). Simultaneous determination of multiple pesticide residues in Iranian saffron: a probabilistic health risk assessment. *J. Food Compos. Anal.* 31: 103915.
- Molina RV, Valero M, Navarro Y, García-Luis A, Guardiola JL (2004). The effect of time of corm lifting and duration of incubation at inductive temperature on flowering in the saffron plant (*Crocus sativus* L.). *Scientia Hort.* 103: 79-91.
- Molina R, Valero M, Guardiola JL, García-Luis A (2005). Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). *Scientia Hort.* 103: 361-379.
- Mollafailabi A, Koocheki A, Moghaddam PR, Mahallati MN (2017). Effects of bed type, corm weight and lifting time on quantitative and qualitative criteria of saffron (*Crocus sativus* L.). *J. Agroecol.* 9: 607–617.
- Musazadeh V, Zarezadeh M, Faghfouri AH, Keramati M, Ghoreishi Z, Farnam A (2022). Saffron, as an adjunct therapy, contributes to relieve depression symptoms: An umbrella meta-analysis. *Pharmacol Res.* 175: 105963.
- Perez-Vidal C, Gracia L (2020). Computer based production of Saffron (*Crocus sativus* L.): From mechanical design to electronic control. *Comput. Electron. Agric.* 169(3): 105198.
- Poggi LM. and Portela JA. 2010. Effect of corm size and the incubation on flowering period and saffron thread production (*Crocus sativus* L.). *Hortic. Argent.* 29(69): 26-32.
- Portela JA (1996). El ambiente como regulador del desarrollo de las plantas. Su efecto sobre ajo (*Allium sativum* L.). *Adv Hortic Sci.* 1(1): 19-40.
- Powers LE, Mc Sorley R (2001). Principios Ecológicos en Agricultura. Paraninfo. Thomson.
- Shahi T, Assadpour E, Jafari SM (2016). Main chemical compounds and pharmacological activities of stigmas and tepals of ‘red gold’; saffron. *Trends Food Sci Technol.* 58: 69-78
- Samarghandian S, Borji A (2014). Anticarcinogenic effect of saffron (*Crocus sativus* L.) and its ingredients. *Pharmacogn. Res.* 6(2): 99–107.
- Samarghandian S, Shabestari MM (2013). DNA fragmentation and apoptosis induced by safranal in human prostate cancer cell line. *Indian J. Urol.* 29: 177–83.
- Siddique HR, Fatma H, Khan MA (2020). Medicinal Properties of Saffron with Special Reference to Cancer. A Review of Preclinical Studies. *Saffron.* 233–244.
- Valle García-Rodríguez M, López-Córcoles H, Alonso GL, Pappas ChS, Polissiou MG, Tarantilis PA (2017). Comparative evaluation of an ISO 3632 method and an HPLC-DAD method for safranal quantity determination in saffron. *Food Chem.* 221: 838-843.
- Zohary D, Hopf M (1994). Domestication of plants in the Old World. 2nd ed. Clarendon Press.

