نشریه پژوهش‌های زعفران (دو فصلنامه)
جلد نهم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۴۰۰
شماره صفحه: ۱۰-۱
http://dx.doi.org/10.22077/jsr.2018.933.1041

مقاله پژوهشی:

اثر غلظت‌های اسید جیبرلیک و وزن بنه مادری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان متابولیت‌های ثانویه زعفران (*Crocus sativus* L.)

معصومه شاکری[۱]، محمد حسین امینی فرد[۲*]، محمد علی بهدانی[۳]، سید جلال طباطبایی[۴]
۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد علوم باغبانی، گرایش فیزیولوژی گیاهان دارویی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، ایران.
۲- دانشیار گروه علوم باغبانی و مرکز پژوهشی گیاهان ویژه منطقه، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، ایران.
۳- استاد گروه پژوهشی زعفران، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند، ایران.
۴- استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد تهران، ایران.
*نویسنده مسئول: *Email: mh.aminifard@birjand.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۵/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۲۴

چکیده

به منظور بررسی تأثیر غلظت‌های هورمون پاشی با اسید جیبرلیک و وزن بنه مادری بر برخی صفات بیوشیمیایی و مواد مؤثره زعفران (*Crocus sativus* L.)،آزمایشی در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی بیرجند اجرا گردید. تیمارهای آزمایش شامل دو سطح اسید جیبرلیک (صفر و ۲۰ پی‌پی‌ام) و سه سطح وزن بنه (۴-۱/۰، ۸-۴/۱ و ۱۲-۸/۱ گرم) با سه تکرار بودند. صفات مورد بررسی شامل: میزان آنتوسیانین گلبرگ و کلاله، فعالیت آنتی اکسیدانی، فنول،کروسین، پیکروکروسین و سافرانال کلاله زعفران بودند.نتایج، بیانگراثر معنی‌دار تیمارهای مورد بررسی، بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلاله و گلبرگ و مواد مؤثره زعفران بود. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۳۹/۵ درصد) در تیمار مصرف اسید جیبرلیک بدست آمد، اما وزن بنه تأثیری بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نداشت. همچنین بیشترین میزان آنتوسیانین کلاله و گلبرگ (به ترتیب۱/۳۱ و ۰/۹۶۰ میلی‌گرم بر صد گرم وزن خشک) از تیمار بنه‌های با وزن ۱۲-۸/۱گرم و کمترین (به ترتیب ۱/۰۳۹ و ۰/۶۷۹ میلی‌گرم بر صد گرم وزن خشک) از بنه‌های با وزن ۴-۰/۱ گرم بدست آمد، هرچندتیمار اسید جیبرلیک تأثیری بر میزان آنتوسیانین گلبرگ نداشت. میزان فنول با مصرف اسید جیبرلیک افزایش داشت، به‌طوری‌که بیشترین میزان فنل (۰/۶۲۷میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک) از بنه‌های با وزن ۱۲-۸/۱گرم و کمترین آن از بنه‌های با وزن ۴-۰/۱حاصل شد. نتایج مواد مؤثره زعفران نیز نشان داد که بالاترین مقدار سافرانال (۳۲/۵۶ درصد) و پیکروسین (۵۸/۱۹ درصد) در تیمار مصرف اسید جیبرلیک مشاهده شد. همچنین اثر برهمکنش اسید جیبرلیک و وزن بنه بر میزان کروسین زعفران معنی‌دار گردید. بیشترین میزان کروسین (۱۵۲/۶درصد) از برهمکنش تیمار وزن بنه ۱۲-۸/۱ گرم و مصرف اسید جیبرلیک بدست آمد. نتایج این تحقیق بیانگر اثرات سودمند کاربرد اسید جیبرلیک و بنه‌های بزرگتر بر بهبود صفات بیوشیمیایی و مواد مؤثره زعفران بود.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، کلاله، کروسین، گلبرگ، فنل.

مقدمه

زعفران از نظر زراعی گیاهی است چندساله، با نام علمی *Crocus Sativus L.* که متعلق به خانواده زنبق می‌باشد. گلدهی این گیاه در پاییز بوده و در بهار و تابستان خشک شده و به خواب می‌رود (*Molina et al., 2004*). ارزش کیفی زعفران به خاطر وجود متابولیت‌های ثانویه آن شامل ترکیبات زردرنگ کروسین مسئول رنگ زعفران، مواد تلخ پیکروسین مسئول طعم و سافرانال مسئول عطر و بوی آن می‌باشد (*Naghdi Buddy et al., 2011*). در طب سنتی بر برخی از اثرات مفید زعفران اشاره شده است. زعفران به عنوان عامل سقط‌آور، شادی‌آور و مفرح، کاهنده تب، ضد درد، خلط‌آور، آرام‌بخش، هضم کننده و قابض معرفی شده است (*Hosseinzadeh & Nassiri-Asl, 2013*). در بوم‌نظام‌های زراعی شناخت عوامل افزایش دهنده کمیت و کیفیت محصول امری الزامی بوده که باید جهت دستیابی به عملکرد مطلوب مورد توجه قرار گیرد (*Hemati Kakhki et al., 2003*).

تحقیقات نشان داده است که هورمون‌های گیاهی بدلیل نقشی که در فعالیت‌های فیزیولوژیکی و فرآیندهای بیوشیمیایی گیاه دارند از جمله فاکتورهای مهم در رشد گیاه محسوب می‌شوند. در این میان، هورمون اسید جیبرلیک اثرات متنوع و متفاوتی بر رشد و نمو بسیاری از گیاهان دارد.

جیبرلین یکی از هورمون‌های رشد گیاهی است که استفاده از آن در غلظت‌های مناسب، رشد برگی بعضی گیاهان را افزایش می‌دهد (*Atri, 1996*). این هورمون بر کیفیت گل، زمان گلدهی و رشد پیاز گل‌های پیازی مؤثر است (*Chrungoo & Farooq, 1984*). جیبرلین از طریق مقابله با برخی پروتئین‌های بازدارنده تقسیم سلولی موجود در ریشه، موجب تسریع تقسیم سلولی و افزایش رشد ریشه در گیاهان می‌شود. (*Dolan & Davies.,2004*) طی مطالعه‌ای نشان داده شد، حتی مقدار ۵۰ پی‌پی‌ام نیز قادر به تحریک فعالیت بنه زعفران می‌گردد (*Farooq & Koul, 1983*). کاربرد اسید جیبرلیک و *EDTA* و فلز سنگین سرب در گیاه یونجه باعث افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدان شده است (*Li et al.,2002*). در آزمایشی دیگر مشاهده شد، چنانچه محلول جیبرلین و کینتین در جوانه بنه زعفران تزریق گردد، رشد بوته قوی‌تر، ریشه‌ها و برگ‌ها طویل‌تر و تعداد گل بیشتر می‌شود (*Koul & Farooq, 1984*).

وزن بنه نیزیکی دیگر از عوامل مهمی است که ظرفیت زعفران را برای گلدهی تعیین می‌کند. میزان عملکرد زعفران در سال اول به شدت متأثر از اندازه و ذخایر بنه‌هایی است که به عنوان بذر کشت می‌شوند و این بنه‌ها با رشد و نمو خود در سال اول از زمان کشت تا پایان دوره رشد سبب به وجود آمدن بنه‌های دختری می‌شوند که به عنوان بنه گیاه در سال دوم محسوب خواهند شد و بنه‌های تولید شده جدید نیز عملکرد سال‌های بعدی را متأثر می‌کنند (*Rakesh Kumar et al., 2009*). ثابت تیموری و همکاران (*SabetTeimouri et al., 2013*) افزایش وزن خشک ریشه و نیز وزن خشک بنه‌های زعفران را در نتیجه کاشت بنه‌های شش تا هشت گرم در مقایسه با بنه‌های دو تا چهار و همچنین چهار تا شش گرم گزارش کردند. این محققین اظهار داشتند که با افزایش اندازه بنه، جذب و ذخیره رطوبت و نیز میزان عناصر غذایی بنه بیشتر شده و در نتیجه زمینه لازم برای انتقال بیشتر مواد به سلول‌های برگ را فراهم می‌کند. با توجه به اهمیت ارزش غذایی و دارویی و همچنین جایگاه ارزنده زعفران در کشاورزی ایران، ضرورت دارد تا در خصوص بهبود روش‌های کاشت و داشت در این محصول ارزشمند تحقیقات جامعی صورت گیرد. بدین منظور تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر وزن بنه و هورمون جیبرلیک اسید بر برخی صفات بیوشیمیایی زعفران به مرحله اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با شش تیمار و سه تکرار در مزرعه آموزشی و تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال زراعی ۹۶-۱۳۹۵ انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل دو سطح جیبرلین (صفر (آب مقطر) و ۲۰ پی‌پی‌ام) و سه سطح وزن بنه (بنه‌های با وزن ۰/۱-۴، ۱-۴/۸ و ۱۲-۸/۱ گرم) تعیین شدند.

پس از عملیات آماده‌سازی زمین شامل شخم اولیه، دیسک و تسطیح زمین، کرت‌هایی به ابعاد ۱× ۲ متر ایجاد شد. فاصله بین کرت‌ها ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین بلوک‌ها دو متر (با احتساب جوی‌های آبیاری)، در نظر گرفته گردید. از آنجا که انتخاب بنه مرغوب جهت کاشت در ایجاد عملکرد بالا حائز اهمیت است، لذا بنه سالم و بدون زخم و خراشیدگی و عاری از هر نوع بیماری از اکوتیپ شهرستان قائن تهیه و پس از توزین کشت شدند. قبل از کشت جهت تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری مرکب شد (جدول ۱). بنه‌های زعفران در مهرماه ۱۳۹۵ با تراکم ۱۰۰ بنه در مترمربع (فاصله بین ردیف ۲۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر) آزمایشی در شیارهایی با عمق ۲۰ سانتی‌متر کاشته شدند. تیمار جیبرلیک اسید (به میزان ۲۰ پی‌پی‌ام) قبل از کاشت بصورت غوطه‌وری بنه‌ها و همچنین همراه با آبیاری اول با غلظت ۲۰ پی‌پی‌ام به میزان دو لیتر در مترمربع زمانی که کرت‌ها بصورت یکسان غرقاب شدند اعمال شد. آبیاری اول پس از کاشت و به صورت سنگین به نحوی که تمام کرت غرقاب شود انجام شد. بعد از آن نیز یک مرتبه سله‌شکنی خاک جهت ظهور گل‌ها صورت گرفت و آبیاری‌های بعدی طبق عرف منطقه و کنترل علف‌های هرز از طریق وجین دستی انجام شد. گل‌های زعفران در اولین ساعات صبح نیمه آبان‌ماه سال ۱۳۹۵، با در نظر گرفتن اثر حاشیه‌ای از کل سطح کرت‌ها برداشت شد و قسمت‌های مختلف گل در آون الکتریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. صفات مورد ارزیابی شامل آنتوسیانین گلبرگ و کلاله، فنول و آنتی‌اکسیدان، سافرانال، کروسین و پیکروسین کلاله بودند. به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش از نرم‌افزار *SAS 9.1* و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح احتمال پنج درصد با یکدیگر مقایسه شدند.

جدول ۱. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک (۰-۳۰ سانتی‌متر)

Table 1. Physical and chemical properties of soil (depth)

بافت Texture	مواد آلی Organic matter *(%)*	شاخص واکنش pH	کلسیم Ca *Meq/Lit*	کلر Cl *Meq/Lit*	پتاسیم قابل دسترس K *Meq/Lit*	سدیم Na *Meq/Lit*	فسفر قابل دسترس (پی‌پی‌ام) P *ppm*	نیتروژن کل N_{total} *(%)*
لومی *Loamy*	*0.68*	*7.76*	*38*	*30*	*42.35*	*98*	*60*	*0.06*

اندازه‌گیری آنتوسیانین گلبرگ و کلاله

اندازه‌گیری آنتوسیانین به روش *pH* افتراقی انجام گرفت **(*Wrosotad, 1976*).** برای این منظور، از دو بافر شامل پتاسیم کلرید و کلریدریک اسید با *pH*=۱ و سدیم استات و کلریدریک اسید با *pH*=۴/۵ استفاده شد. نمونه‌ها با بافر به حجم رسانده شدند و سپس در دو طول موج ۵۲۰ و ۷۰۰ نانومتر میزان جذب برای هر دو بافر قرائت شد. میزان آنتوسیانین‌ها طبق رابطه (۱) محاسبه شدند.

$$A = (A_{max} - A_{700nm})\ PH_1 - (A_{max} - A_{700nm})\ pH_{4.5}$$

$$mg/L = A \times MW \times DF \times 1000/\varepsilon \times d \quad (۱) \text{آنتوسیانین کل}$$

A: جذب، A_{510}: جذب در ۵۱۰ نانومتر، A_{700}: جذب در۷۰۰ نانومتر، MW: وزن مولکولی پلارگونیدین ۳- گیلیکوزاید: ۴۳۳/۳۹ گرم بر مول، DF: درجه رقت:۱۰ و ε: ۱۵۶۰۰، d: ۱ می‌باشد.

اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدانتی

تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش اندازه‌گیری کاهش ظرفیت رادیکالی با کمک ۲،۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (*DPPH*) انجام گردید (*Turkmen et al., 2005*). برای این منظور، دو میلی‌لیتر از محلول اتانولی ۰/۱۵ میلی‌مولار *DPPH* به لوله آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر عصاره کلاله زعفران اضافه شد. سپس مخلوط بدست آمده به مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه ورتکس مخلوط شد، بعد از آن محلول به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق تثبیت

گردید. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر مدل (*UNICO,2000, Germany*) خوانده شد.

(۲) درصد آنتی اکسیدانت $= 1 - \frac{\text{جذب نمونه}}{\text{جذب شاهد}}$

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی

محتوای فنول کل با استفاده از روش گالیک اسید و معرف فولین سیکالتو محاسبه شد (*Chuah et al., 2008*). به این منظور، ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره کلاله زعفران به لوله آزمایش منتقل شده و بعد از پنج دقیقه ۰/۵ میلی‌لیتر فولین سیکالتو به آن اضافه و سپس دو میلی‌لیتر بیکربنات سدیم (۲۰۰ گرم در لیتر) به آن افزوده شد. سپس محلول به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق گذاشته و ۱۰ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه به آن اضافه شد و در طول موج ۷۲۵ نانومتر میزان جذب نمونه با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید (رابطه ۳).

(۳) فنول$=0.0029x+0.076$

X=عدد قرائت شده در طول موج ۵۰۱

اندازه‌گیری پیکروسین، سافرانال و کروسین

جهت اندازه‌گیری مواد مؤثره شامل کروسین، سافرانال و پیکروسین، روش استاندارد ملی ایران (*INS, 2006*) مورد استفاده قرار گرفت. براساس این روش، پنج میلی‌گرم نمونه کلاله پودر شده با استفاده از آب مقطر به حجم ۱۰ سی‌سی رسانیده شد، سپس این ترکیب به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی با کمک دور متوسط همزن مغناطیسی حل شد و میزان جذب در طیف‌های ۲۵۷ (پیکروسین)، ۳۳۰ (سافرانال) و ۴۴۰ (کروسین) نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شدند. عدد به دست آمده در رابطه (۴) قرار گرفته و مقادیر صفات ذکر شده محاسبه گردید.

$$X=A/M\times100 \quad (۴)$$

X = مقدار ترکیب کیفی مشخص (کروسین، سافرانال و پیکروسین) با واحد درصد

A = میزان جذب خوانده شده در طول موج مربوطه

M = وزن خشک کلاله با واحد میلی‌گرم

جذب در طیف‌های ۲۵۷ (پیکروسین)، ۳۳۰ (سافرانال) و ۴۴۰ (کروسین) نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت شدند. عدد به دست آمده در رابطه (۴) قرار گرفته و مقادیر صفات ذکر شده محاسبه گردید.

$$X=A/M\times100 \quad (۴)$$

X = مقدار ترکیب کیفی مشخص با واحد درصد

A = میزان جذب خوانده شده در طول موج مربوطه

M = وزن خشک کلاله با واحد میلی‌گرم

نتایج و بحث

آنتوسیانین گلبرگ

اثر ساده وزن بنه بر میزان آنتوسیانین گلبرگ زعفران معنی‌دار بود، اما اثر جیبرلیک اسید و برهمکنش این دو عامل، بر میزان آنتوسیانین تأثیر معنی‌داری نداشتند (جدول۲). با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها مشخص شد، که بالاترین میزان این شاخص به میزان ۰/۹۶۱میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک از تیمار بنه‌های با وزن ۱۲-۸/۱ گرم به دست آمد که با تیمار بنه‌های ۸-۴/۱ گرم تفاوت آماری نداشت و کمترین آن (۰/۶۷۹ میلی‌گرم در صد گرم وزن خشک) از بنه‌های با وزن ۴-۰/۱ گرم حاصل شد (جدول۳). در بنه‌های بزرگ‌تر تقسیم سلولی و به‌دنبال آن رشد برگ‌ها نسبت به بنه‌های کوچکتر زودتر اتفاق می‌افتد (*Molina et al., 2005*). رشد زودتر برگ‌ها امکان استفاده بیشتر از شرایط محیطی و افزایش میزان مواد فتوسنتزی ساخته شده را به دنبال دارد و در نهایت موجب افزایش متابولیت‌های ساخته شده در گیاه می‌گردد. همچنین طی مطالعه‌ای روی ریحان مشخص گردید محتوای آنتوسیانین در تیمار اسید جیبرلیک با ۱/۱۸ و جاسمونیک اسید با ۱/۰۴ واحد نسبت به شاهد افزایش یافت و در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (*Abd Khani & Seluky, 2016*).

آنتوسیانین کلاله

همانطور که در جدول تجزیه واریانس ملاحظه می‌شود، اثر ساده وزن بنه و جیبرلیک اسید بر میزان آنتوسیانین کلاله معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل این دو عامل معنی‌دار نشد (جدول۲). بر اساس نتایج آزمایش، افزایش اندازه بنه‌های مادری زعفران نقش مؤثری در افزایش معنی‌دار صفت ذکر شده داشت. به‌طوری‌که بیشترین آن در تیمار بنه‌های با وزن ۱۲-۸/۱ گرم مشاهده شد که با تیمار بنه‌های ۸-۴/۱ گرم تفاوت

معنی‌داری نداشت و کمترین میزان آنتوسیانین کلاله در تیمار بنه‌های با وزن ۴-۰/۱ گرم مشاهده شد (جدول۳). این افزایش احتمالاً به دلیل اندوخته غذایی بیشتر، رشد سریع‌تر ریشه‌ها، رشد و استقرار زودتر بنه در خاک می‌باشد که سبب بهبود رشد و جذب بهتر مواد غذایی و در نهایت افزایش مواد تولیدی گیاه می‌گردد. همچنین بیشترین مقدار آنتوسیانین کلاله در تیمار مصرف جیبرلیک اسید با ۲۱/۷ درصد افزایش نسبت به عدم مصرف جیبرلیک اسید مشاهده شد (جدول۴). طی تحقیقی گزارش شده است در گیاه زنبق بالاترین میزان آنتوسیانین گلبرگ‌ها در تیمار اسید جیبرلیک ۶۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین آن در شاهد مشاهده شده است*(Hassanpour-Asil et al.,2013)*. توسعه پیگمان‌های سلول و سنتز آنتوسیانین با بالا رفتن میزان کربوهیدرات‌ها نسبت مستقیم داشته و هر عاملی که بتواند روی افزایش، جذب یا ساخته شدن قندها مؤثر باشد باعث افزایش میزان آنتوسیانین کل می‌شود. اسید جیبرلیک، موجب تحریک آنزیم آلفاآمیلاز و دیگر آنزیم‌های هیدرولیزی می‌گردد، که خود عامل هیدرولیز کننده برای منبع ذخیره‌ای می‌باشد. در نتیجه در افزایش مواد هیدروکربنی گیاه مؤثر بوده و میزان آنتوسیانین را افزایش می‌دهد (*Vitrac et al., 2000*).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلاله

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، که تأثیر جیبرلیک اسید بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلاله معنی‌دار بود. اما اثر ساده وزن بنه و اثر متقابل این دو عامل تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلاله نداشتند (جدول۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد، بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلاله با ۱/۹ درصد افزایش از تیمار ۲۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک اسید حاصل شد (جدول۴). طی مطالعه‌ای بر روی فلفل دلمه‌ای مشخص شد میوه‌های تیمار شده با اسید جیبرلیک ظرفیت آنتی اکسیدانی بیشتری در مقایسه با میوه‌های شاهد داشتند (*Mohammadi et al., 2015*). فاکتورهای متعددی کمیت و کیفیت مواد مؤثر گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند. می‌توان عنوان کرد که تنظیم‌کننده‌های رشد در متابولیسم اولیه گیاهان نقش کلیدی و اساسی داشته و رشد و نمو گیاهان و به ویژه مواد مؤثره گیاهان دارویی می‌تواند به تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی وابسته باشد. از بین این تنظیم‌کننده‌ها اسید جیبرلیک به دلیل اثر شناخته شده آن بر رشد و نمو گیاه می‌تواند در افزایش محتوا و عملکرد ماده مؤثره گیاهان دارویی نقش اساسی داشته و باعث افزایش بیوسنتز فرآورده‌های مسیرهای متابولیسمی ثانویه گردد (*Hajisamadi asl et al., 2011*).

فنل

نتایج تحقیق نشان داد که اثر ساده وزن بنه و جیبرلیک اسید بر میزان فنول معنی‌دار گردید. اما برهمکنش این دو عامل بر میزان فنول معنی‌دار نشد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن است که حداکثر میزان فنل از تیمار بنه‌های با وزن ۱۲-۸/۱ گرم حاصل شد که با تیمار بنه‌های ۸-۴/۱ گرم تفاوت معنی‌دار نداشت و حداقل آن در تیمار بنه‌های۴-۰/۱گرم مشاهده شد (جدول ۳). در رابطه با عامل جیبرلیک اسید، تیمار ۲۰ پی‌پی‌ام جیبرلیک اسید بیشترین میزان فنول را ایجاد کرد و عدم مصرف جیبرلیک اسید سبب کاهش ۰/۶ درصدی میزان فنول شد (جدول۴). در تحقیقی روی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر گیاه ریحان (*Ocimum basilicumL.*) مشخص شد که محتوای فنل کل و فلاونوئید تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت و تیمارهای اسید جیبرلیک و سالیسیلیک اسید نسبت به شاهد میزان فنل کل و فلاونوئید بیشتری حاصل شد *(Abd Khani & Seluky,2016)*. جیبرلیک اسید یک هورمون گیاهی است که تجزیه ترکیبات ذخیره‌ای گیاه توسط آن تسهیل می‌شود (*Hajisamadi asl et al., 2011*). به گونه‌ای که اسید جیبرلیک موجب تحریک آنزیم آلفا آمیلاز و دیگر آنزیم‌های هیدرولیزکننده می‌گردد، که خود عامل تجزیه کننده برای منبع ذخیره‌ای می‌باشند (*Hajisamadi asl et al., 2011*). در نتیجه در افزایش مواد کربوهیدراتی گیاه مؤثر است و سبب افزایش ترکیبات فنولی می‌گردند. همچنین بنه‌های بزرگتر به دلیل دارا بودن ذخایر غذایی بیشتر و سرعت سبز شدن بالای آن‌ها سبب استفاده بهتر از منابع در طول رشد شده و باعث بهبود صفات بیوشیمیایی گیاه می‌گردد.

جدول۲. نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر وزن بنه و اسید جیبرلیک بر صفات کیفی گیاه زعفران

Table 2. Analysis of variance for the effectsof corms weight and Gibberellic acidon qualitycriteria of saffron

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	آنتی- اکسیدانت Antioxidant	فنول Phenol	آنتوسیانین گلبرگ Antocyanin content of petal	آنتوسیانین کلاله Antocyanin content of stigma	سافرانال Safranal	کروسین Crocin	پیکروسین Picrocin
بلوک *Block*	*2*	*0.9599^{ns}*	*0.000038^{ns}*	*0.02625^{ns}*	*0.06666^{ns}*	*0.495^{ns}*	*24.855^{ns}*	*1.0375^{ns}*
وزن بنه مادری (*C*) *Mother corm weight (C)*	*2*	*4.1175^{ns}*	*0.00020**	*0.39286***	*0.34987**	*270.97555***	*8384.58685***	*10.9232^{ns}*
جیبرلین (*G*) *Gibberellic acid (G)*	*1*	*7.88142**	*0.00026**	*0.04494^{ns}*	*0.10541***	*242.35851***	*2249.11574***	*31.5562**
C×G	*2*	*0.4460^{ns}*	*0.00015^{ns}*	*0.045203^{ns}*	*0.075758^{ns}*	*5.7651^{ns}*	*2235.0601***	*11.28168^{ns}*
خطا *Error*		*1.4680*	*0.000056*	*0.04293*	*0.0938*	*13.52*	*287.915*	*6.6970*
ضریب تغییرات *CV (%)*		*3.094*	*1.199*	*24.50*	*26.15*	*12.07*	*13.00*	*4.50*

*، ** و*ns*: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم معنی‌دار

, and ns: are significant at 5 and 1% probability levels and non-significant, respectively*

جدول ۳. مقایسه میانگین اثرساده وزن بنه مادری بر صفات کیفی زعفران

Table 3. Compare main for the effects of mother corm weight onquality characters of saffron

وزن بنه مادری Mother corm weight (*g*)	فنول Phenol (*mg.100 g DW $^{-1}$*)	آنتی اکسیدانت Antioxidant (*%*)	آنتوسیانین کلاله Antocyanin content of stigma (*mg.100 g DW^{-1}*)	آنتوسیانین گلبرگ Antocyanin content of petal (*mg.100 g DW^{-1}*)	سافرانال Safranal (*%*)	کروسین Crocin (*%*)	پیکروسین Picrocin (*%*)
0.1-4	*6.22^{b*}*	*39.68^{a}*	*1.039^{b}*	*0.679^{b}*	*26.02^{b}*	*108.33^{c}*	*56.90^{a}*
4.1-8	*6.25a^{b}*	*38.75^{b}*	*1.157^{ab}*	*0.895^{a}*	*32.03^{a}*	*131.79^{b}*	*57.07^{a}*
8.1-12	*6.28^{a}*	*39.03a^{b}*	*1.317^{a}*	*0.961^{a}*	*33.27^{a}*	*151.44^{a}*	*58.32^{a}*

*در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون دانکن اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

**At the column, means with the same letter arenot different significantly at 5% probability level based on Duncan's test.*

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر اصلی اسید جیبرلیک بر صفات کیفی زعفران

Table 4. Compare main effects of acid gibberellicon characters quality saffron

تیمار Treatment اسید جیبرلیک Gibberellic acid (*ppm*)	فنول Phenol (*mg.100 g DW $^{-1}$*)	آنتی اکسیدانت Antioxidant (*%*)	آنتوسیانین گلبرگ Antocyanin (*mg.100 g DW $^{-1}$*)	آنتوسیانین کلاله Anthocyanin (*mg.100 g DW $^{-1}$*)	سافرانال کلاله Safranal of stigma (*%*)	کروسین کلاله Crocinof stigma (*%*)	پیکروکروسین کلاله Picrocin of stigma (*%*)
شاهد *Control*	*6.23^{b*}*	*38.77^{b}*	*0.816^{a}*	*1.028^{b}*	*28.32^{b}*	*124.05^{b}*	*56.66^{b}*
20	*6.27^{a}*	*39.53^{a}*	*0.874^{a}*	*1.314^{a}*	*32.56^{a}*	*136.96^{a}*	*58.19^{a}*

*در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون دانکن اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

**At the column, means with the same letter are not different significantly at 5% probability level based on Duncan's test.*

کروسین، سافرانال و پیکروسین

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر وزن بنه و جیبرلیک اسید و نیز اثر متقابل آن‌ها بر میزان کروسین معنی‌دار بود (جدول۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که تیمار بنه‌های با وزن ۱۲-۸/۱ گرم به همراه مصرف جیبرلیک اسید میزان معنی‌داری افزایش داد، که با تیمارهای بنه‌های با وزن ۱۲-۸/۱ گرم همراه با عدم مصرف جیبرلیک اسید و بنه‌های با وزن ۸-۴/۱ گرم به همراه جیبرلیک اسید تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۴). میزان سافرانال نیز تحت تأثیر تیمار وزن بنه و جیبرلیک اسید قرار گرفت، ولی اثر متقابل این دو عامل نتوانست تأثیر معنی‌داری بر میزان سافرانال ایجاد کند (جدول ۲).

طبق نتایج مقایسه میانگین اثر ساده وزن بنه با افزایش وزن بنه میزان سافرانال افزایش یافت به‌طوری‌که بیشترین میزان سافرانال (۳۲/۲۷ درصد) از تیمار بنه‌های با وزن ۱۲-۸/۱ گرم به‌دست آمد که با تیمار بنه‌های ۸-۴/۱ گرم تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول۳).

جدول۵. مقایسه میانگین اثر متقابل وزن بنه و جیبرلیک اسید بر صفات کیفی زعفران

Table 5. Comparison of the interactions of mother corm weight and gibberellic acidon characters quality saffron

تیمار Treatment		کروسین کلاله Crocin of stigma(%)
وزن بنه مادری *Mother corm weight (g)*	جیبرلیک اسید *Gibberellic acid (ppm)*	
0.1-4	شاهد	*109.44*[b*]
4.1-8	*Control*	*112.51*[b]
8.1-12		*150.22*[a]
0.1-4	*20*	*107.22*[b]
4.1-8		*151.01*[a]
8.1-12		*152.66*[a]

*در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک بر اساس آزمون دانکن اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

**At the column, means with the same letter are not different significantly at 5% probability level based on Duncan's test.*

همچنین با مصرف جیبرلیک اسید میزان سافرانال به میزان ۱۳ درصد افزایش یافت (جدول۴). میزان پیکروسین تنها تحت تأثیر جیبرلیک اسید قرار گرفت به‌طوری‌که مصرف جیبرلیک اسید سبب افزایش ۲/۶درصدی آن شد، و اثر ساده وزن بنه و برهمکنش این دو عامل نتوانست تأثیر معنی‌داری در میزان پیکروسین ایجاد کند (جدول‌های ۲ و۳). طی مطالعه‌ای مشخص گردید که افشانه کردن جیبرلیک اسید میزان اسانس گیاه اسطوخودوس *Lavandula (angustifolia)* را تحت تأثیر قرار داد، به‌طوری‌که با افزایش غلظت، میزان اسانس افزایش یافت (*Hajisamadi asl et al., 2011*). مطالعه خیری (*Khairee, 2006*) نشان داد جیبرلین و بنزیل آدنین میزان اسانس گل مریم را کاهش دادند، که با نتایج ما تناقض داشت. با توجه به اینکه اسید جیبرلیک به عنوان یک ترکیب ترپنوئیدی ارتباط تنگاتنگ و مستقیمی با متابولیسم اولیه و ثانویه به ویژه مسیر بیوسنتزی اسانس‌ها و ترکیبات معطر دارد همین امر می‌تواند دلیل افزایش صفات بیوشیمیایی زعفران در این آزمایش باشد. به نظر می‌رسد بنه‌های درشت به دلیل داشتن اندوخته غذاییبیشتر سبب بهبود رشد می‌گردد که با تأثیر جیبرلیک اسید در جذب بهتر عناصر غذایی باعث افزایش تولید هیدرات کربن گشته که با تجزیه آن‌ها به ترکیبات ثانویه گلیکوزیدی (کروسین و پیکروسین)، میزان آن‌ها در زعفران افزایش یافت.

نتیجه‌گیری

ترکیبات ثانویه گیاهان دارویی برای اهداف غذایی و دارویی دارای اهمیت‌اند. لذا هر عاملی که بتواند تولید این ترکیبات را افزایش دهد باارزش خواهد بود. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که اندازه بنه‌های مادری که به عنوان عامل تکثیر، کشت می‌شوند بر بیشتر

صفات مورد مطالعه اثر دارند. گیاهان حاصل از کاشت بنه‌های بزرگ‌تر در مقایسه با گیاهان حاصله از بنه‌های مادری کوچک‌تر میزان مواد مؤثره بیشتری تولید کردند. علت این رخداد می‌تواند اندوخته بیشتر مواد غذایی درون بنه‌های درشت‌تر باشد. با توجه به نتایج آزمایش و همچنین برخی بررسی‌ها که نشان داده‌اند بین وزن بنه و عملکرد زعفران همبستگی مثبت وجود دارد، همچنین کاربرد هورمون اسید جیبرلیک اثرات قابل توجهی روی صفات بیوشیمیایی زعفران داشت. از این‌رو پیشنهاد می‌گردد جهت کشت زعفران از بنه‌های با وزن متوسط به بالا و محلول‌پاشی با جیرلیک اسید استفاده شود.

منابع

Abd Khani, S., and Seluky, M., 2016. Changes in phenolic, anthocyanin and antioxidant enzymes in different stages of growth of basil (Ocimum basilicum L.) under the influence of growth regulators. J. Medic. Plant. 2(15), 164-175. [in Persian with English Summary].

Atri, M., 1996. Plants organogenesis and morphogenesis. Jahad Daneshghahi Urmia Press, Iran. Pp. 496. [in Persian].

Chrungoo, N.K., and Farooq, S., 1984. Influence of gibberellic acid and naphthalene acetic acid on the yield of saffron and on growth in saffron crocus (Crocus sativus L.). Indian J. plant Physiol. 27(2), 201-205.

Chuah, A.M., Lee, Y.C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L.J., and Matoba, T., 2008. Effect of cooking on the antioxidant properties of colored peppers. Food Chem. 111, 20-28.

Dolan, L., and Davies, J., 2004. Cell expansion in roots. Curr. Opin. Plant Biol. 7(1), 33-39.

Farooq, S., and Koul, K., 1983. Changes in gibberellins-like activity in corms of saffron plant (Crocus sativus L.) during dormancy and sprouting. Biochem. Physiol. Pflanz. 178, 685-689.

Hajisamadiasl., B., Hassanpouraghdam, M. B., and Khalighi., A., 2011. Effects of Gibberellic Acid (GA_3) Foliar Application on Growth Characteristics and Essential Oil of Lavender (Lavandula officinalis Chaix.). J. Agri Sci. Sustain Prod. 2(21), 261-265. [in Persian with English Summary].

Hassanpour-Asil, M., Mortazavi, S.H., Hatamzadeh, A., and Ghaseminejad, M., 2013. Effects of gibberellic acid and calcium in reducing the growth of lily (Iris hollandica var. Blue Magic) in greenhouses and increase the shelf life of cut flowers. Sci Tech. Greenhouse Cul. 3(9), 63-70. [in Persian with English Summary].

Hemati Kakhki, A., and Hosseini, M., 2003. A review on 15 years on Research on Saffron in Khorasan. Institute of Research and Development of Technology. Ferdowsi University of Mashhad Publications, Iran. p.114. [in Persian].

Hosseinzadeh, H., and Nassiri-Asl, M., 2013. Avicenna's (Ibn Sina) the canon of medicine and saffron (Crocus sativus): a review. Photother Res.27, 475-483.

INS (Iran National Standard). 2006. Research Institute of Standard and Iran. Saffron Bull, No. 259. [in Persian].

Kheiry, A., 2006. Effects of GA_3 and 6-BA on the quality and essence of tuberose. M.Sc. Thesis, University of Tehran, Department of Horticultural Sciences, Karaj, Iran. [in Persian with English Summary].

Koul, K.K., and Farooq, S., 1984. Growth and differentiation in the shoot apical meristem of saffron plant. J. Indian Bot. Soc. 63, 153-169.

Li, Z.H., Gemma, H., and Iwahori, S., 2002. Stimulation of 'Fuji' apple skin color by ethephon and phosphorus–calcium mixed compounds in relation to flavonoid synthesis. Sci. Hortic. 94, 193-199.

Lopez, M., Videa, J.P., Mchel, H.C., Martinez, A., Gardea, M.D., 2007. Lead toxicity in alfalfa plants exposedto phytohormones and ethylen ediamin etetraacetic acid monitored by peroxidase, catalase, and amylase activities. Environ. Toxicol. Chem. 26, 2712-2723.

Mohammadi, M., Sidi, M., Khademi, A., and Bazgir, M., 2015. Improve the qualitative and quantitative qualities of sweet peppers by gibberellic acid and calcium chloride treatments in climatic conditions of Malayer region. To Agri Crop. (3), 660-649. [in Persian with English Summary].

Molina, R.V., Garcia-Luis, A., Cool, V., Ferrer, C., Valero, M., Navarro, Y.,

and Guardiola, J. L., 2005. Flower formation in the saffron Crocus(Crocus sativusL.). Therole of temperature. Acta Hydrobiol. Sin. 650, 39-47.

Naghdi Buddy, H., Omidi, H., Golzad, A., Torabi,H., and Fotoukiyan, M., 2011. Changes ofcrocin, picrocrocin and safranal and agronomiccharacteristics of saffron (Crocus sativus L.) the impact of biological and chemicalphosphate fertilizers. J. Med. Plant. 4(40), 58-68. [in Persian with English Summary].

Rakesh Kumar, V.S., Kiran Devi, Madhu Sharma, M.K.S., and Ahuja, P.S., 2009. State of Art of Saffron (Crocus sativus L.) Agronomy: A comprehensive review. Food Rev. Int. 25(1),44-85.

Sabet Teimouri, M., Kafi, M., Avarseji, Z., and Orooji, K., 2013. Effect of drought stress, corm size and corm tunic on morphoecophysiological characteristics of saffron (Crocus sativus L.) in greenhouse conditions. J. Agroecol. 2, 323–334. [in Persian with English Summary].

Vitrac X., Larronde F., Krisa, S., Decendit, A., Deffieux, G., and Mérillon, J.M., 2000. Sugar sensing and Ca^{2+}–calmodulin requirement in Vitis vinifera cells producing anthocyanins. phytochem.53, 659-665.

Wrosotad, R.E., 1976. Color and pigment analysis in fruit products. Oregon State University Publications Limited, Cornwalis.

Journal of Saffron Research (semi-annual)

Vol.9, No.1, Spring & Summer, 2021

p. 1-10

http://dx.doi.org/10.22077/jsr.2018.933.1041

University of Birjand

Original Article:

Effects of Different Gibberellic Acid Levels and Corm Weight on Antioxidant Activity and Secondary Metabolites of Saffron (*Crocus sativus* L.)

Masume Shakeri[1], Mohammed Hossein Aminifard[2*], Mohammed Ali Behdani[3] , Seyed Jalal Tabatabaei[4]

1. M.Sc. Graduate Students Medicinal plant physiology, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.

2. Associate Professor of Horticulture Science Department andSpecial Plants Regional Research Center, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran.

3. Professor of Saffron Research Group, University of Birjand, Iran.

4. Professor of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran.

** Corresponding author Email:mh.aminifard@birjand.ac.ir*

Received 15 August 2017; Accepted 13 February 2018

Abstract

The effects of applications of gibberellic acid hormone (GA) and mother weight corm on antioxidant activities and components of saffron were evaluated under field conditions. Treatments were two levels of gibberellic acid (0 and 20 ppm) and three mother corm weights (0.1- 4, 4.1- 8 and 8.1- 12 g). The experiment was designed as factorial arrangement based on a randomized complete block design with three replications at the Research station of Faculty of Agriculture University of Birjand during growing season of 2016-2017.Traits including antioxidant activity, anthocyanins, phenols, crocin, picrocrocin and safranal contents of saffron. The results indicated that the treatments had significant effects on antioxidant activity of stigma and petals. The highest antioxidant activity (39.5%) was found in gibberellic acid, but corm weight had no effect on this trait. Also, the highest anthocyanins (such as stigma and petal) were recorded from corm weight 8.1-12 g (with 1.31 and 0.96 mg.100 g^{-1} dry weight) and the lowestwas obtained from corm weight 0.1-4 g (with 1.039 and 0.679 mg.100 g^{-1} dry weight, respectively). Although, gibberellic acid treatment had no effect on the anthocyanins content of petal. Total phenol increased with the application of gibberellic acid, the highest phenol (0.627 mg.100 g^{-1} dry weight) was obtained from corm weight 8.1-12 g and the lowest was obtained from corms weight 0.1-4 g. The highest levels of safranal (32.56 %) and picrocrin (58.19%) were observed from gibberellic acid treatment. Also, the interaction between gibberellic acid and corm weight was significant on crocin content. The highest crocin (152.6%) was obtained from mother corm weight of 8.1-12 g and gibberellic acid. Generally, gibberellic acid and high corm weightimproved the biochemical traits and effective substancesof saffron.

Keywords: Anthocyanins, Crocin, Petal, Phenol, Stigma.