اثر اندازهٔ بنه و پلی‌آمین بر صفات رویشی و بیوشیمیایی زعفران

سمیه احسان‌فر[۱]، علی سروش‌زاده[۱*]، سید علی‌محمد مدرس ثانوی[۱]، مجید قربانی جاوید[۲]
[۱] گروه زراعت، دانشگاه تربیت مدرس، تهران
[۲] گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، دانشگاه تهران، تهران
*نویسنده مسئول: Soroosh@modares.ac.ir

چکیده

گران‌ترین ادویه در جهان، از گیاه زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. تهیه می‌شود. این گیاه از طریق بنه‌هایش تکثیر می‌شود و اندازهٔ بنه اهمیت زیادی در میزان عملکرد آن دارد. علاوه بر اندازهٔ بنه، تنظیم‌کننده‌های رشد هم نقش مهمی در دستیابی به عملکرد بهینه دارند و از جمله تنظیم کننده‌های مهم رشد، پلی‌آمین‌ها هستند. در این آزمایش، اثر اندازهٔ بنه و غلظت‌های مختلف پلی‌آمین‌ها (پوترسین و اسپرمیدین) بر درصد جوانه‌زنی، تعداد جوانهٔ جانبی، کلروفیل a، کلروفیل b و محتوای کربوهیدرات و نشاستهٔ بنه‌های تولید شده در انتهای فصل رشد مطالعه شد. اثر اندازهٔ بنه و غلظت‌های پلی‌آمین بر تمام صفات به‌غیراز میزان کربوهیدرات و نشاستهٔ بنه معنی‌دار بود. بزرگ‌ترین اندازه بنه بدون توجه به کاربرد پلی‌آمین، بالاترین درصد جوانه‌زنی را داشت و در دو اندازهٔ دیگر بنه، با افزایش غلظت پلی‌آمین‌ها، جوانه‌زنی افزایش یافت. بزرگ‌ترین اندازهٔ بنه، بالاترین محتوای کلروفیل a و b را داشت و با کاربرد هر دو نوع پلی‌آمین، میزان کلروفیل افزایش یافت و اثر پوترسین بر کلروفیل b بیش از اثر اسپرمیدین بود. به‌طورکلی با توجه به نتایج حاصل، اندازهٔ بزرگ‌تر بنه و کاربرد پلی‌آمین می‌تواند صفات فوق (به‌غیراز میزان نشاسته و کربوهیدرات) را بهبود بخشد.

کلمات کلیدی: **اسپرمیدین، پوترسین، جوانه جانبی، کربوهیدرات، کلروفیل.**

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی علفی و چندساله است. تکثیر این گیاه از طریق بنه (پیاز توپر) انجام می‌شود. اندازهٔ بنه، از عوامل مهمِ مؤثر بر صفات رویشی، زایشی و شیمیایی این گیاه است (Kumar *et al*., 2009). رشد بنه‌های دختری، با تأمین مواد ذخیره‌ای از ذخایر بنهٔ مادری و فتوسنتز برگ‌ها انجام می‌شود. نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که وزن بیشتر بنه می‌تواند تعداد، سطح و وزن برگ جوانه‌های جانبی، وزن جوانه‌های جانبی، وزن جوانه‌های اصلی و عملکرد بنه را افزایش دهد (Nasiri- Mahalati *et al*., 2007; Tavakoli *et al*., 2014). در مواردی با افزایش اندازهٔ بنه، عملکرد کلاله نیز افزایش یافت (Arslan *et al*., 2013). عامل دیگری که بر عملکرد و تولید گیاه اثرگذار است، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی است. یک گروه از تنظیم‌کننده‌های رشد، پلی‌آمین‌ها هستند. پلی آمین‌ها، پلی‌کاتیون‌های ارگانیک با وزن مولکولی کم هستند که دو یا چند گروه آمین در خود دارند. دی‌آمین پوترسین، تری‌آمین اسپرمیدین و تترا‌آمین اسپرمین، رایج‌ترین پلی‌آمین‌های موجود در گیاهان هستند (Galston and Sawhney, 1990a).

اهمیت پلی‌آمین‌ها، به دلیل نقش آن‌ها در فرایندهای متابولیک گیاهان ازجمله فتوسنتز، فعالیت آنزیم‌ها، تقسیم و تمایز سلولی، بیان ژن، تعدیل سیگنالینگ سلولی، ثبات غشا و تنظیم کانال‌های یونی است. آن‌ها همچنین به‌عنوان پیام‌رسان ثانوی در پیری برگ‌ها عمل می‌کنند (Kakkar *et al*., 2000). محققان، افزایش مقاومت RNA و پروتئین، به دنبال کاربرد پلی‌آمین‌ها را نشان داده‌اند (Altman *et al*., 1977). پلی‌آمین‌ها در فرایند گلدهیِ گیاه نیز نقش دارند و

مقدار آن‌ها در زمان انتقالِ گیاه از مرحلهٔ رویشی به زایشی، افزایش می‌یابد (Kakkar and Rai, 1993). آزمایش‌هایی که با استفاده از موتانت‌های دارای کمبود پلی‌آمین انجام شدند نشان دادند این کمبود، سبب بروز الگوی غیرطبیعی گلدهی شد (Galston *et al.*, 1997). تغییرات پلی‌آمین‌ها در زمان شروع گلدهی زعفران (Jirage *et al.*, 1994) و در تولید جنین‌زایی رویشی مطالعه شده است (Blazquez *et al.*, 2004). در پژوهشی مشاهده شد میزان گلدهیِ توت‌فرنگی، بر اثر محلول‌پاشی با اسپرمیدین و پوترسین، افزایش یافت (Movahed, *et al.*, 2012). این مطالعه، به‌منظور بررسی اثر اندازهٔ بنهٔ زعفران و همچنین اثر انواع و غلظت‌های مختلف پلی‌آمین بر صفات رویشی و بیوشیمیایی این گیاه انجام شد.

مواد و روش‌ها

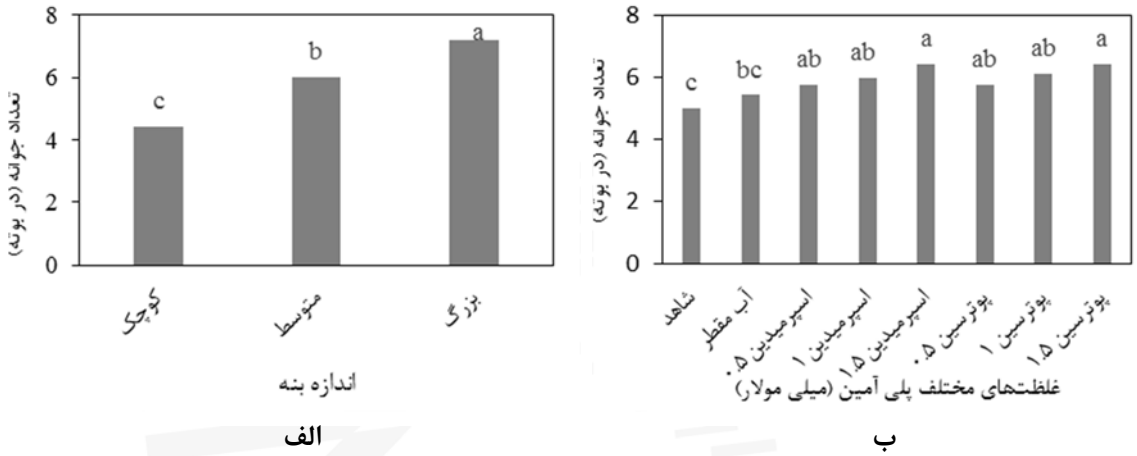
این تحقیق، در سال زراعی۱۳۹۴- ۱۳۹۳ در مزرعهٔ تحقیقاتی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. بنه‌ها در سه اندازهٔ کوچک، متوسط و بزرگ (۵-۳، ۷-۵ و ۹-۷گرم) دسته‌بندی و قبل از کشت به مدت ۲۴ ساعت در غلظت‌های مختلف پلی‌آمین خیسانده شدند. از دو نوع پلی‌آمین شامل اسپرمیدین و پوترسین، هر کدام با سه غلظت ۰/۵ ، ۱ و ۱/۵ میلی مولار استفاده شد. علاوه بر شاهد (بدون خیساندن) ، یک تیمار خیساندن بنه‌ها در آب مقطر هم در نظر گرفته شد تا مشخص شود تفاوت احتمالی که در نتایج مشاهده خواهند شد، به دلیل خود پلی‌آمین‌های موجود در محلول‌ها است یا آب موجود در محلول‌ها. کشت، در نیمهٔ اول مهر و به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. در اوایل بهمن، گیاهان با محلول‌های نامبرده، محلول‌پاشی شدند. شمارش جوانه‌های جانبی در نیمهٔ دوم بهمن و اندازه‌گیری محتوای کلروفیل a و کلروفیل b در بیستم اسفند انجام شد. برداشت بنه‌ها در اواخر خرداد صورت گرفت و مقدار کربوهیدرات و نشاستهٔ موجود در بنه‌های تولید شده، اندازه‌گیری شد. محتوای کلروفیل بر اساس روش آرنون (Arnon, 1949) و میزان کربوهیدرات و نشاستهٔ بنه‌ها بر اساس روش پیستوچی و همکاران (Pistocchi *et al.*, 1997) اندازه‌گیری شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SAS (SAS Institute, 1999) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اندازهٔ بنه، سطوح مختلف پلی‌آمین و اثرات متقابل آن‌ها قرار گرفت. بیشترین درصد جوانه‌زنی مربوط به اندازهٔ بزرگ بنه و تیمار پوترسین ۱/۵ میلی‌مولار بود (جدول ۱). افزایش پلی‌آمین‌های اسپرمیدین و اسپرمین در مرحلهٔ گلدهی زعفران (Jirage *et al.*, 1994) و همچنین افزایش پوترسین در جنین‌زایی رویشی گزارش شده است (Blazquez *et al.*, 2004). اثر مثبت کاربرد پلی‌آمین بر جوانه‌زنی سایر گیاهان از جمله کاج هم مشاهده شد به‌نحوی‌که نسبت بالای اسپرمیدین به پوترسین، بر جوانه‌زنی آن اثر مثبت داشت (Minocha *et al.*, 1999; Dias *et al.*, 2009). درحالی‌که در این آزمایش، اثر پوترسین بر جوانه‌زنی زعفران، در اکثر موارد بیش از اسپرمیدین بود، هرچند که این تفاوت معنی‌دار نبود.

علاوه بر درصد جوانه‌زنی، تعداد جوانه‌های جانبی نیز با افزایش اندازهٔ بنه و کاربرد پلی‌آمین افزایش یافت به‌نحوی‌که اثر سادهٔ اندازهٔ بنه و تیمار پلی‌آمین در سطح یک درصد معنی‌دار بود ولی اثرات متقابل آن‌ها معنی‌دار نشد. کاربرد بالاترین سطوح اسپرمیدین و پوترسین، بیشترین تعداد جوانه با میانگین ۶/۴۴ جوانه در بوته را تولید کرد و تیمار شاهد کمترین تعداد جوانه را داشت. آن‌گونه که در نتایج مشاهده می‌شود، علاوه بر پلی‌آمین‌ها، آب مقطر موجود در محلول‌ها هم بر تعداد جوانه اثر داشت (شکل ۱ الف). بزرگ‌ترین اندازهٔ بنه با میانگین ۷/۲۱ جوانه در بوته، بالاترین تعداد جوانه را داشت درحالی‌که کوچک‌ترین اندازهٔ بنه کمترین تعداد را با میانگین ۴/۴۲ جوانه در بوته به خود اختصاص داد (شکل ۱ ب). می‌توان گفت دلیل اثر مثبت اندازهٔ بزرگ‌تر بنه بر صفات رویشی، این است که بنه‌های بزرگ‌تر، از ذخایر بیشتری برخوردارند و در نتیجه مواد بیشتری را در اختیار جوانه‌های رویشی و زایشی قرار می‌دهند

(Nasiri- Mahalati *et al.*, 2007). مشایخی و لطیفی نیز به اثر مثبت وزن بیشتر بنه، بر افزایش تعداد گل زعفران اشاره کرده‌اند (Mashayekhi and Latifi, 1997).



الف ب

شکل ۱: اثرات ساده اندازه بنه (الف) و پلی‌آمین (ب) بر تعداد جوانه

اثر متقابل اندازه بنه × پلی‌آمین، بر درصد جوانه‌زنی و محتوای کلروفیل a و b در سطح یک درصد معنی‌دار بود. با افزایش اندازه بنه و غلظت پلی‌آمین، درصد جوانه‌زنی افزایش یافت؛ در دو اندازهٔ کوچک و متوسط بنه، با افزایش غلظت هر دو نوع پلی‌آمین، درصد جوانه‌زنی زیاد شد ولی در اندازهٔ بزرگ بنه افزایش غلظت پلی‌آمین اثری بر درصد جوانه‌زنی نداشت.

کمترین و بیشترین محتوای کلروفیل a به ترتیب مربوط به تیمار شاهد و اندازه کوچک بنه (با میانگین ۰/۶۸۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و تیمار اندازهٔ بزرگ بنه و غلظت ۱/۵ میلی مولار پوترسین (با میانگین ۰/۸۲۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود و به‌طورکلی با افزایش غلظت پلی‌آمین و اندازهٔ بنه، مقدار کلروفیل a افزایش یافت. همچنین در تمام اندازه‌های بنه، با افزایش غلظت هر دو نوع پلی‌آمین، میزان کلروفیل b افزایش یافت و اثر پوترسین بیشتر از اسپرمیدین بود (جدول ۱).

گزارش شده است که استعمال خارجی اسپرمیدین در برگ یولاف، مانع تخریب کلروفیل، رابیسکو و تیلاکوئیدها تحت تنش اسمزی شد. محققان دلیل اثر مثبت پلی‌آمین‌ها بر کلروفیل را اثر آن‌ها بر کاهش سرعت تخریب کلروفیل و افزایش سنتز DNA و تقسیم سلولی ذکر کرده‌اند (Bestford *et al.*, 1993). پلی‌آمین‌ها با تداخل در تولید آنزیم‌های دخیل در سنتز اتیلن، از پیری جلوگیری می‌کنند (Galston and Sawhney, 1990b). پلی‌آمین‌ها و اتیلن (یک بازدارندهٔ رشد که باعث پیری برگ‌ها می‌شود) در مسیر سنتز خود، یک پیش‌مادهٔ مشترک به نام s-آدنوزیل‌متیونین (SAM) دارند. اینکه گیاه از این پیش ماده برای تولید پلی‌آمین استفاده کند یا اتیلن، به موارد مختلف از جمله نوع بافت، مرحلهٔ نمو و شرایط رشد بستگی دارد. دیده شده است که با کاربرد پلی‌آمین‌ها در گیاهان، از بیوسنتز اتیلن جلوگیری می‌شود (Suttle, 1981).

پلی‌آمین‌ها از طریق فسفولیپیدها به غشاء سلولی متصل می‌شوند و الگوی تراوایی محلول‌ها در غشاء را تغییر می‌دهند (Galston and Sawhney, 1990b). به‌طورکلی، میزان پلی‌آمین‌ها در اندام‌های جوان بیشتر است و با افزایش سن گیاه، کاهش می‌یابد و باعث بروز علائم پیری می‌شود (Galston and Sawhney, 1990b). در پژوهش‌ها مشاهده شد که با کاربرد اسپرمیدین بر برگ‌های گیاه بابونه، مقدار قندهای کل در برگ‌ها افزایش یافت (Abd El-Wahed and Gamal El Din, 2004). در این مطالعه، هیچ‌کدام از اثرات ساده و متقابل، بر میزان کربوهیدرات و نشاستهٔ بنه معنی‌دار نبود. با توجه به نتایج به دست آمده، می‌توان گفت استفاده از بنهٔ بزرگ‌تر و پلی‌آمین‌های اسپرمیدین و پوترسین سبب بهبود جوانه‌زنی، تعداد جوانهٔ جانبی و محتوای کلروفیل می‌شود.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر ساده اندازه بنه و سطوح پلی آمین بر صفات اندازه‌گیری شده در زعفران

اندازه بنه	سطوح مختلف پلی آمین	جوانه‌زنی (درصد)		کلروفیل a mg g^{-1}		کلروفیل b mg g^{-1}	
کوچک							
	شاهد (بدون خیساندن)	۷۶/۰۰	b	۰/۶۸۶	b	۰/۰۹۸	e
	آب مقطر	۷۸/۶۷	b	۰/۶۹۸	ab	۰/۱۰۹	e
	اسپرمیدین ۰/۵ (mM)	۸۹/۳۳	a	۰/۷۲۰	a	۰/۱۳۸	d
	اسپرمیدین ۱ (mM)	۸۷/۳۳	a	۰/۷۱۳	a	۰/۱۸۸	c
	اسپرمیدین ۱/۵ (mM)	۸۸/۰۰	a	۰/۷۱۵	a	۰/۱۸۸	c
	پوترسین ۰/۵ (mM)	۸۸/۰۰	a	۰/۷۱۵	a	۰/۲۶۱	b
	پوترسین ۱ (mM)	۹۰/۰۰	a	۰/۷۱۷	a	۰/۲۸۵	a
	پوترسین ۱/۵ (mM)	۹۰/۰۰	a	۰/۷۱۵	a	۰/۲۸۸	a
متوسط							
	شاهد (بدون خیساندن)	۹۴/۶۷	b	۰/۷۰۰	c	۰/۱۱۰	d
	آب مقطر	۹۵/۳۳	b	۰/۷۰۵	c	۰/۱۰۷	d
	اسپرمیدین ۰/۵ (mM)	۹۹/۳۳	a	۰/۸۰۶	a	۰/۱۰۵	d
	اسپرمیدین ۱ (mM)	۸۶/۶۷	a	۰/۷۷۰	b	۰/۱۹۳	c
	اسپرمیدین ۱/۵ (mM)	۹۷/۳۳	ab	۰/۸۰۵	a	۰/۱۹۱	c
	پوترسین ۰/۵ (mM)	۹۹/۳۳	a	۰/۷۸۷	ab	۰/۲۴۶	b
	پوترسین ۱ (mM)	۹۶/۰۰	ab	۰/۸۱۰	a	۰/۲۶۳	a
	پوترسین ۱/۵ (mM)	۹۸/۶۷	a	۰/۸۱۶	a	۰/۲۶۸	a
بزرگ							
	شاهد (بدون خیساندن)	۹۹/۳۳	a	۰/۷۰۸	c	۰/۱۲۲	d
	آب مقطر	۹۸/۶۷	a	۰/۷۰۱	c	۰/۱۲۹	d
	اسپرمیدین ۰/۵ (mM)	۹۹/۳۳	a	۰/۷۵۵	b	۰/۲۱۷	bc
	اسپرمیدین ۱ (mM)	۹۹/۳۳	a	۰/۸۲۲	a	۰/۲۰۷	c
	اسپرمیدین ۱/۵ (mM)	۹۸/۶۷	a	۰/۸۰۶	a	۰/۲۲۹	b
	پوترسین ۰/۵ (mM)	۹۹/۳۳	a	۰/۷۹۴	ab	۰/۲۷۶	a
	پوترسین ۱ (mM)	۹۹/۳۳	a	۰/۷۶۸	b	۰/۲۹۰	a
	پوترسین ۱/۵ (mM)	۱۰۰/۰۰	a	۰/۸۲۳	a	۰/۲۸۴	a

در هر ستون، حروف مشترک نشان دهندهٔ عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر اساس آزمون LSD است

منابع

Abd El-Wahed, M.S.A. and Gamal El Din, K.M. 2004. Stimulation effect of Spermidine and Stigmasterol on growth, flowering, biochemical constituents and essential oil of chamomile plant (*Chamomile recutita* L. Rausch). Blug Journal of Plant Physiology; 30: 48-60.

Altman, A., Kaur-Sawhney, R. and Galston, A. W. 1977. Stabilization of Oat Leaf Protoplasts through Polyamine-mediated Inhibition of Senescence. Plant Physiology; 60: 570-574.

Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol; 24:1-15.

Arslan, N., Ipek, A., Rahimi, A., Ipek, G. 2013. The effects of placement position and corm size of saffron (*Crocus sativus* L.) on stigma and corm yields in Ankara conditions. *Journal of Herbal Drugs*; 4: 1-6.

Besford, R.T., Richardson, C. M., Campos, J. L. and Tiburcio. A.F. 1993. Effect of polyamines on stabilization of molecular complexes in thylakoid membranes of osmotically stressed oat leaves. Planta; 189:201-206.

Blazquez, S., Piqueras, A., Serna, M. D., Casas, J. L. and Fernandez J.A., 2004. Somatic embryogenesis in saffron: Optimization through temporary immersion and polyamine metabolism. Acta Hortic; 650: 269-276.

Dias, L.L.C., Santa-Catarina, C., Silveira, V., Pieruzzi, F.P. and Floh, E.I.S. 2009. Polyamines, amino acids, IAA and ABA contents during *Ocotea catharinensis* seed germination. Seed Science and Technology; 37: 42 -51.

Galston, A. W. and Sawhney, R. K. 1990a. Polyamines in plant physiology. Plant Physiology; 94: 406-410.

Galston, A. W. and Sawhney, R. K. 1990b. Polyamines and plant cells. What's New? Plant Physiol; 11:5–8.

Galston, A.W., Kaur-Shawney, R., Altabella, T. and Tiburcio, A.F. 1997. Plant polyamines in reproductive activity and response to abiotic stress. Bot. Acta; 110:197-207.

Jirage D. B., Ravishankar, G. A., Suvarnalatha, G., Venkataraman, L. V. 1994. Profile of polyamines during sprouting and growth of saffron (*Crocus sativus* L.) corms. Journal of Plant Regulation; 13(2): 69-72.

Kakkar, R. K. and Rai, V. K. 1993. Plant polyamines in flowering and fruit ripening. Phytochem; 33:1281-1288.

Kakkar, R.K., Nagar, P.K., Ahuja, P.S. and Rai, V.K. 2000. Polyamines and plant morphogenesis. Plant Biology; 43:1-11.

Kumar, R., Singh, V., Devi, K., Sharma, M., Singh, M. K. and Ahuja, P. S. 2009. State of Art of Saffron (*Crocus sativus* L.). Agronomy: A Comprehensive Review', Food Reviews International; 25: 44 -85.

Mashayekhi, K. and Latifi, N. 1997. Investigating the effect of saffron corms on its flowering, Iranian journal of agricultural science; 28: 97 – 105.

Minocha, R., Dale, R.S., Cathie, R., Steele, K.D. and Minocha, S.C. 1999. Polyamine levels during the development of zygotic and somatic embryos of *Pinus radiate,* Physiologia Plantarum; 105: 155 – 164.

Movahed, N., Eshghi, S., Tafazoli, E. and Jamali, B. 2012. Effects of polyamines on vegetative characteristics, growth, flowering and yield of strawberry ("Paros" and "Selva"). Acta Hort. (ISHS); 926:287-293.

Nassiri Mahallati, M., Koocheki, A., Boroumand Rezazadeh, Z., Tabrizi, L. 2007. Effects of corm size and storage period on allocation of assimilates in different parts of saffron plant (*Crocus sativus* L.). Iranian journal of field crop research; 5: 155-166.

Pistocchi, R., Guerrini, F., Balboni, V. and Boni, L. 1997. Copper toxicity and carbohydrate production in the microalgae *Cylindrotheca fusiformis* and *Gymnodinium* sp. Eur. J. Phycol.; 32: 125–132.

SAS Institute. 1999. SAS/Stat User's Guide, Version 9.1. SAS Institute, Cary, NC.

Suttle, J.C. 1981. Effect of polyamines on ethylene production. Phytochem; 20:1477-1485.

Tavakkoli , A., Sorooshzadeh, A., Ghorbani-Javid, M. 2014. Effect of buds removing and corm size on growth characteristics and yield of saffron (*Crocus sativus* L.). Saffron Agronomy and Technology; 2: 68-84.

Effect of Corm Size and Polyamines on Vegetative and Biochemical Characteristics of Saffron

Somayeh Ehsanfar[1], Ali Sorooshzadeh[1]*, Seyyed Ali Mohammad Modares Sanavi[1], Majid Ghorbani Javid[2]

[1] Department of Agronomy, Tarbiat Modares University, Tehran

[2] Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, University of Tehran, Tehran

Corresponding Author: Soroosh@modares.ac.ir

Abstract

Dried stamens of saffron (*Crocus sativus* L.), are the most expensive spice in the world. This plant is propagated by its corms whose size plays an important role in its yield. In addition to the size of corms, plant growth regulators, including polyamines, affect the yield of the plant, as well. In this study, the effect of corm size and polyamines (spermidine and putrescine) on germination percentage, number of lateral sprouts, chlorophyll a and b content, and starch and carbohydrate content of produced corms were investigated. As the results indicated, corm size and different concentrations of polyamines had significant effects on all traits except starch and carbohydrate content. The biggest size of the corms, regardless of applying polyamines, caused the highest germination percentage. However, in two other sizes of the corms, germination percentage enhanced by increasing the concentration of polyamines. The highest content of chlorophylls a and b was related to the biggest corm size, and chlorophyll content increased by using both polyamines, although the effect of putrescin outweighed that of spermidine on chlorophyll b content. In conclusion, big size of corms and applying polyamines can improve the mentioned traits, except starch and carbohydrate content.

***Keywords*: Carbohydrate, Chlorophyll, Lateral Sprouts, Putrescine, Spermidine**