نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۵، شماره ۵، صفحه ۷۷۳-۷۵۹ (۱۳۹۸)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2019.125800.2532
شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0905.1398.35.759.97.5.1576.1711

بررسی تنوع در منشأ بنه زعفران (*Crocus sativus* L.) براساس عملکرد گل و ترکیب‌های زیست فعال گلبرگ

جلال قنبری[۱] و غلامرضا خواجویی‌نژاد[۲*]

۱- دانشجوی دکترای زراعت، انجمن پژوهشگران جوان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان؛ پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران، پست الکترونیک: khajoei@uk.ac.ir

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۸ تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۸

چکیده

علاوه‌بر کلاله، سایر قسمت‌های گل زعفران (*Crocus sativus* L.) ازجمله گلبرگ به‌عنوان محصولات جانبی فرایند تولید زعفران، حاوی ترکیب‌های زیست فعال و آنتی‌اکسیدان بوده که معمولاً بدون استفاده باقی می‌مانند. برای افزایش بهره‌وری این گیاه و همچنین ارزیابی تنوع منشأ بنه از نظر عملکرد گل و ترکیب‌های زیست فعال گلبرگ زعفران، این آزمایش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان اجرا شد. در این راستا، بنه‌های مختلف از ۹ منطقه ایران (بجستان، استهبان، فردوس، گناباد، نطنز، قائن، سرایان، تربت‌حیدریه و زرند) تهیه و طی سال‌های زراعی ۹۵-۱۳۹۴، ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ بررسی شدند. نتایج بیانگر وجود ترکیب‌های فنلی بین ۵/۲۴-۲/۸۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک، ترکیب‌های فلاونوئیدی از ۰/۳۸ تا ۱/۸۱ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک و همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گلبرگ بود. یافته‌ها همچنین نشان داد که صفات مرتبط با گل، ترکیب‌های زیست فعال و قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر فصل رشد، منشأ بنه و اثر متقابل آنها قرار گرفت. در تمام صفات مورد مطالعه (بجز قدرت احیاءکنندگی)، بنه‌های با منشأ مختلف واکنش متفاوتی به فصل‌های رشد نشان دادند. بیشترین میزان عملکرد، از بنه‌های با منشأ فردوس در فصل‌های رشد اول و سوم و بجستان در فصل رشد دوم بدست آمد. بنه‌های با منشأ بجستان و گناباد به‌دلیل محتوای فنل و فلاونوئید بالا بیشترین (به‌ترتیب با ۲۱۶ و ۲۱۷ میلی‌گرم در لیتر) و استهبان به‌دلیل میزان پایین ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی، کمترین قدرت آنتی‌رادیکالی را در فصل رشد ۹۶-۱۳۹۵ نشان دادند. بنه‌های با منشأ فردوس، سرایان، بجستان و گناباد براساس عملکرد و محتوای بالای ترکیب‌های زیست فعال، قائن و استهبان با میزان کم ترکیب‌های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و نطنز، تربت‌حیدریه و زرند با میزان گلدهی پایین، براساس نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای در سه گروه اصلی قرار گرفتند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گلبرگ زعفران، محتوای فنل و فلاونوئید، منشأ بنه.

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus* L.) گیاهی چندساله متعلق به خانواده زنبقیان (Iridaceae) است. جنس *Crocus* شامل حدود ۸۰ گونه بوده که در بسیاری از نقاط مدیترانه و جنوب‌غربی آسیا توزیع شده است (Gresta *et al*., 2008). دو دیدگاه مختلف در مورد منشأ جغرافیایی زعفران بیان شده است. اولین دیدگاه آن را مربوط به مدیترانه (یونان) می‌داند و دیگری منشأ آسیای غربی و مرکزی را پیشنهاد می‌دهد (Alonso *et al*., 2012). در برخی منابع خاورمیانه و ایران به‌عنوان خاستگاه زعفران معرفی شده است (Behdani & Fallahi, 2015). زعفران از مهمترین و باارزش‌ترین گیاهان دارویی و ادویه‌ای به‌شمار می‌رود. امروزه علاوه‌بر استفاده زعفران در صنایع غذایی به عنوان رنگ و طعم‌دهنده، به‌دلیل ترکیب های مؤثره منحصربه‌فرد آن، در صنایع داروسازی نیز مورد توجه قرار گرفته است (Gresta *et al*., 2008؛ Melnyk *et al*., 2010؛ Shahi *et al*., 2016). زعفران خوراکی حاصل کلاله‌های خشک شده گیاه زعفران بوده که پس از جداسازی از قسمت‌های دیگر گل شامل گلبرگ و پرچم بدست می‌آید (Sánchez-Vioque *et al*., 2012).

براساس داده‌های بدست‌آمده از این مطالعه، برای تولید یک کیلوگرم زعفران، به طور میانگین حدود ۵۸ کیلوگرم گل براساس وزن تر (برابر حدود ۹ گیلوگرم گل خشک) نیاز است (Ghanbari *et al*., 2019b). در نتیجه، در مقایسه با کلاله زعفران، زیست‌توده بالایی از محصولات جانبی مانند گلبرگ در مراحل گوناگون تولید زعفران تولید می شود که کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است. اخیراً بسیاری از پژوهش‌های علمی بر مطالعه گلبرگ زعفران به‌عنوان یک منبع غنی از مواد زیست فعال متمرکز شده‌اند (Sánchez-Vioque *et al*., 2012؛ Goli *et al*., 2012؛ Goupy *et al*., 2013؛ Zeka *et al*., 2015؛ Shahi *et al*., 2016؛ Lahmass *et al*., 2017). افزون بر این، امروزه پژوهش‌های فراوانی روی شناسایی منابع آنتی‌اکسیدان طبیعی برای کاربرد در صنایع غذایی و مواد دارویی برای جایگزینی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی که به‌دلیل مشکلات متعدد و مضر برای سلامتی از جهت مصرف طولانی‌مدت محدود شده‌اند، متمرکز شده‌است (Ahmadian-Kouchaksaraie & Niazmand, 2017). بسیاری از ترکیب‌ها مانند ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی در گلبرگ زعفران شناسایی شده که مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه آن گزارش شده‌است (Lahmass *et al*., 2017؛ Zeka *et al*., 2015). همچنین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در محصولات جانبی زعفران ازجمله گلبرگ زعفران، با استفاده از چندین روش بررسی و گزارش شده است (Sánchez-Vioque *et al*., 2012). از سوی دیگر، در مطالعه‌ای که در شرایط مختلف عصاره‌گیری روی کارایی استخراج ترکیب‌های مختلف گلبرگ زعفران انجام شد، وجود ترکیب‌های فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌کسیدانی آن گزارش شده است (Ahmadian-Kouchaksaraie & Niazmand, 2017). همین ترکیب‌ها، مسئول بسیاری از خواص دارویی در گلبرگ زعفران هستند (Shahi *et al*., 2016؛ Vijender *et al*., 2011). بنابراین، مقدار زیادی گلبرگ حاوی مواد زیست فعال، بدون استفاده دور ریخته می‌شود (Montoro *et al*., 2008) که علاوه‌بر اینکه از قابلیت مناسبی برای بهبود ارزش اقتصادی گیاه زعفران برخوردار است (Sánchez-Vioque *et al*., 2012)، می تواند به‌عنوان یک فرآورده بیولوژیکی در صنایع غذایی و همچنین برای درمان بسیاری از بیماری‌های مهم انسان مؤثر واقع شود (Lahmass *et al*., 2017).

یکی از مهمترین عوامل افزایش عملکرد زعفران، انتخاب بنه (Corm) مناسب برای کاشت در منطقه جدید است (Baghalian *et al*., 2010؛ Agayev *et al*., 2009). ویژگی‌های بنه مادری و شرایط محیطی منشأ بنه، از مهمترین عوامل مؤثر بر عملکرد زعفران محسوب می شوند (Siracusa *et al*., 2013؛ Gresta *et al*., 2009). مطالعات نشان داده است که تنوع بالایی در صفات مرتبط با گل و پارامترهای کیفی در بین بنه های با منشأ مختلف دیده شده است (Agayev *et al*., 2009؛ Ehsanzadeh *et al*., 2004؛ Siracusa ؛Gresta *et al*., 2009 ؛Baghalian *et al*., 2010

et al., 2013). باوجوداین، در مورد تنوع در ترکیب‌های زیست فعال و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بین بنه‌های با منشأ مختلف مطالعه‌ای انجام نشده است. در مورد برخی گیاهان دارویی دیگر تنوع بین جمعیت‌های مختلف از نظر این ترکیب ها گزارش شده است. به عنوان مثال در بررسی جمعیت‌های مختلف ریحان، Moghaddam و Mehdizadeh (۲۰۱۵) تنوع قابل ملاحظه‌ای را برای ترکیب های فنولی و فلاونوئیدی گزارش کردند. در بررسی گونه های مختلف آویشن، Tohidi و همکاران (۲۰۱۷) نیز اختلاف معنی داری را بین گونه های مختلف آویشن از نظر مواد مؤثره و همچنین ترکیب های فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده کردند. همچنین از نظر این ترکیب ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، بین ژنوتیپ‌های مختلف گیاه *Ugni molinae* Turcz. تنوع قابل ملاحظه‌ای گزارش شده است (Peña-Cerda *et al.*, 2017).

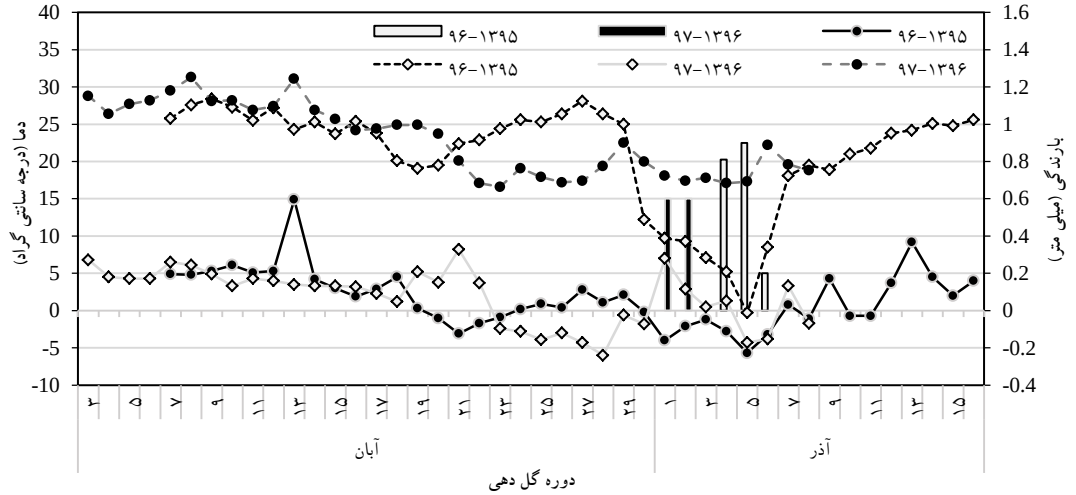
با توجه به اینکه افزایش عملکرد در گیاه زعفران از طریق اصلاح مولکولی بسیار دشوار است (Gresta *et al.*, 2008)، بنابراین انتخاب بنه های مناسب براساس صفات مرتبط با گل، کیفیت و ترکیب‌های مؤثره را می‌توان به‌عنوان ابزاری امیدبخش برای افزایش همزمان عملکرد و مواد مؤثره در واحد سطح مورد استفاده قرار داد (Agayev *et al.*, 2009؛ Baghalian *et al.*, 2010). بر این اساس و برای افزایش بهره‌وری مزارع زعفران، این مطالعه با هدف ارزیابی تنوع بنه های زعفران با منشأ مختلف از نظر عملکرد گل و میزان مواد مؤثره در گلبرگ، به عنوان یک محصول جانبی ارزان انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل و جزئیات اجرای آزمایش

آزمایشی سه ساله برای ارزیابی اثر منشأ بنه بر عملکرد گل و ترکیب‌های زیست فعال گلبرگ، در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان (۳۰/۱۴۴۰ درجه شمالی، ۵۷/۰۷۱۵ درجه شرقی و ارتفاع ۱۷۷۴ متر) در طول فصل‌های رشد ۹۵-۱۳۹۴، ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ اجرا شد. اطلاعات اقلیمی (حداقل و حداکثر دما و بارندگی روزانه) در طول دوره گلدهی طی فصول گلدهی دوم و سوم در شکل ۱ ارائه شده است.

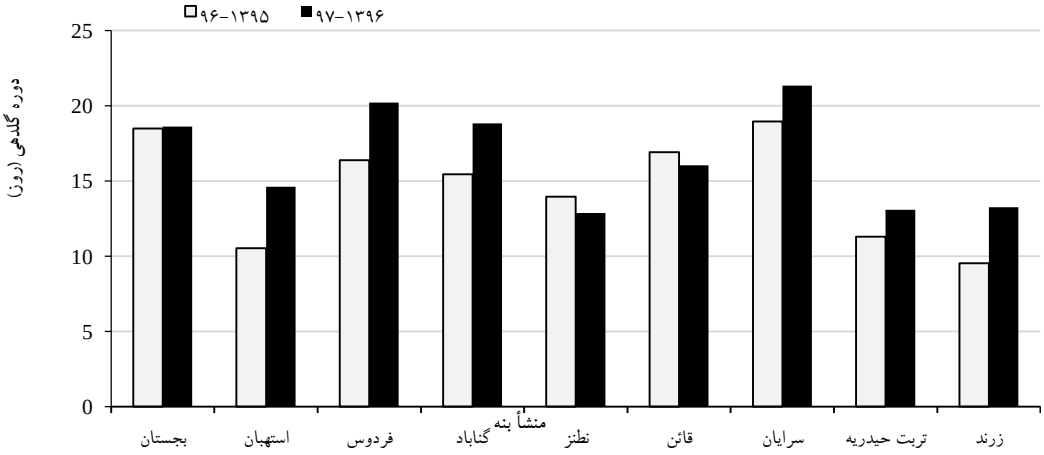
بنه های زعفران از نه منطقه عمده کشت زعفران شامل بجستان، استهبان، فردوس، گناباد، نطنز، قائن، سرایان، تربت‌حیدریه و زرند تهیه شدند. برای اطلاعات بیشتر در مورد مناطق جمع‌آوری بنه ها، Ghanbari و Khajoei-Nejad (۲۰۱۸b) را ببینید. بنه های بین ۸-۴ گرم برای کاشت انتخاب شده و برای جلوگیری از بوجود آمدن اختلاف ناشی از وزن بنه در بین بنه‌های با منشأ مختلف، بنه ها به چهار درجه تقسیم شده و از هر درجه تعداد یکسانی برای هر منشأ بنه کشت شد. بنه ها با فاصله بین ردیف ۲۰ و روی ردیف ۱۰ سانتی‌متر و تراکم ۵۰ بنه در مترمربع، در عمق ۱۰ سانتی‌متری در تاریخ ۲۶ مهرماه ۱۳۹۴ کشت شدند. آزمایش به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. منشأ بنه به‌عنوان عامل اصلی و فصل رشد به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شد. آبیاری اول در سال اول بلافاصله پس از کاشت بنه ها انجام شد. آبیاری دوم برای پیش انداختن ظهور جوانه دو هفته پس از آبیاری اول، آبیاری سوم پس از گلدهی (۱۹ آذر ۱۳۹۴)، آبیاری چهارم پس از نخستین وجین (۶ بهمن ۱۳۹۴)، آبیاری پنجم پس از وجین دوم (۱۴ اسفند ۱۳۹۴) و آخرین آبیاری در فصل رشد ۹۵-۱۳۹۴ به عنوان آبیاری تکمیلی (۲۱ فروردین ۱۳۹۵) انجام شد. در فصل رشد ۹۶-۱۳۹۵ با توجه به میزان و پراکنش مناسب بارندگی، چهار نوبت آبیاری در تاریخ‌های ۱۷ مهر ۱۳۹۵ (اولین آبیاری)، ۱۷ آذر ۱۳۹۵ (پس از گلدهی)، ۱۵ اسفند ۱۳۹۵ (پس از وجین) و ۲۰ فروردین ۱۳۹۶ (آبیاری تکمیلی) انجام گردید. اولین آبیاری در فصل رشد ۹۷-۱۳۹۶ در تاریخ ۱۵ مهرماه ۱۳۹۶ انجام شد.



شکل ۱- اطلاعات هواشناسی (دما و میزان بارندگی) در دوره گلدهی در فصول گلدهی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات

گلدهی به‌ترتیب ۲۳، ۲۰ و ۱۸ روز پس از آبیاری اول در فصل‌های زراعی اول، دوم و سوم شروع شد. با توجه به تفاوت‌های فنولوژیک بنه های با منشأ مختلف، دوره گلدهی هر منشأ بنه طی فصول گلدهی دوم و سوم در شکل ۲ ارائه شده است. در هر سه فصل رشد، گلها با دست از هر کرت آزمایشی برداشت شده و وزن خشک گل در واحد سطح و وزن هر گل براساس وزن خشک اندازه‌گیری و ثبت شد. نمونه‌های گلبرگ پس از جداسازی پرچم و کلاله از گل، در دمای اتاق خشک شدند (Sánchez-Vioque *et al.*, 2012؛ Ahmadian-Kouchaksaraie & Niazmand, 2017).



شکل ۲- دوره گلدهی بنه‌های با منشأ مختلف در فصول گلدهی دوم و سوم

سنجش ترکیب‌های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای تهیه عصاره از متانول ۸۰٪ استفاده شد. بدین‌منظور، ۲۵۰ میلی گرم از نمونه پودر شده گلبرگ با ۱۰ میلی‌لیتر حلال بر روی شیکر به مدت ۸ ساعت عصاره‌گیری و محلول حاصل پس از صاف کردن، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای آنالیز ترکیب های زیست فعال نگهداری شد.

سنجش میزان ترکیب های فنلی با استفاده از روش معرف فولین (Foline-Ciocalteu's regent method) شرح داده شده توسط Pinelo و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد و جذب محلول در ۷۶۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر SPUV-26 UV/Vis (SCO Tech, Germany) خوانده شد. محتوای ترکیب های فنلی براساس میلی گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک (mg GAE/g DW) گزارش شد. روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم برای اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل بکار برده شد (Tohidi *et al.*, 2017). منحنی کالیبراسیون با استفاده از غلظت‌های مختلف کوئرستین و اعداد جذب متناظر با آنها رسم شد و محتوای فلاونوئید کل برحسب میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک گزارش گردید (mg QE/g DW).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش‌های فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد توسط ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical-scavenging activity) و همچنین روش قدرت احیاءکنندگی آهن (Reducing power ability) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. مهار رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های مختلف عصاره (۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر) با استفاده از آسکوربیک اسید به عنوان استاندارد مثبت و متانول و محلول DPPH به عنوان شاهد، براساس روش Parejo و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد. میزان تغییر در رنگ بنفش محلول حاصل در ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد اندازه‌گیری شد. پس از محاسبه درصد بازدارندگی از رابطه ۱، برای تعیین غلظت مورد نیاز هر نمونه برای بازدارندگی ۵۰٪ (IC_{50}: 50% inhibitory concentration) رادیکال‌های DPPH، میزان رنگ‌زدایی در برابر غلظت نمونه براساس تجزیه رگرسیون خطی رسم شد.

رابطه ۱:

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{Control}-A_{Sample})/A_{Control}] \times 100$$

که A_{Sample} و $A_{Control}$ به‌ترتیب مقادیر جذب برای نمونه مورد اندازه‌گیری/آسکوربیک اسید و عدد جذب برای شاهد (متانول و محلول DPPH) هستند.

قدرت احیاءکنندگی براساس روش توضیح داده شده توسط Tohidi و همکاران (۲۰۱۷) برای غلظت‌های مختلف عصاره/آسکوربیک اسید انجام شد. در این روش، قدرت احیاءکنندگی براساس قدرت عصاره/استاندارد مورد بررسی در احیای Fe^{3+} (آهن فریک) به Fe^{2+} (آهن فرو) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. افزایش جذب نمونه در طول موج ۷۰۰ نانومتر نشان‌دهنده قدرت آنتی‌اکسیدانی بیشتر است.

تجزیه‌های آماری

تجزیه واریانس داده‌های حاصل و مقایسه میانگین‌ها (LSD در سطح احتمال $P<0.05$) توسط نرم‌افزار SAS نسخه 9.1 انجام شد. مشابهت‌ها و ارتباط بین بنه های با منشأ مختلف، توسط آمار چند متغیره شامل روش‌های تجزیه خوشه‌ای سلسله مراتبی براساس روش وارد (Hierarchical cluster analysis (HCA) according to Ward's method) و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (Principal component analysis (PCA)) توسط نرم‌افزار XLSTAT 2016 و براساس صفت‌هایی انجام شد که تفاوت معنی‌داری برای عامل منشأ بنه نشان دادند.

نتایج

صفات مرتبط با گل

نتایج تجزیه واریانس بیانگر تفاوت معنی دار ($P<۰/۰۰۰۱$) منشأ بنه، فصل رشد و اثر متقابل منشأ بنه در فصل‌های رشد مورد مطالعه بود (جدول ۱). بنه های با منشأ مختلف، واکنش متفاوتی به فصل‌های رشد مورد بررسی از نظر صفات مرتبط با گل نشان دادند. همان‌طور که مشاهده می شود (جدول ۱)، فردوس در فصول رشد اول و سوم و بجستان در فصل رشد دوم بیشترین عملکرد گل را به‌خود اختصاص دادند. سرایان در هر سه فصل زراعی در رتبه بعدی قرار گرفت. بنه‌های زرند در هر سه فصل زراعی، نطنز و قائن در فصل اول، استهبان در فصل دوم و تربت‌حیدریه در فصل سوم کمترین عملکرد گل را نشان دادند. در مقابل، بیشترین وزن هر گل از زرند در سال اول و سوم حاصل شد. بیشترین تنوع از نظر وزن هر گل، بین بنه‌های با منشأ مختلف در سال اول مشاهده شد و به‌تدریج این تنوع کاهش یافت و در سال سوم تفاوت معنی داری بین بنه های مناطق مختلف مشاهده نشد (جدول ۱).

محتوای ترکیب‌های فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

محتوای ترکیب‌های زیست فعال و قدرت مهار رادیکال‌های آزاد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر عوامل منشأ بنه، فصل رشد و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۲)، در حالی‌که فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس قدرت احیاءکنندگی تنها تحت تأثیر فصل رشد قرار گرفت. محتوای ترکیب های فنلی گلبرگ از ۲/۸۳ در منشأ بنه تربت‌حیدریه در فصل رشد ۹۷-۱۳۹۶ تا ۵/۲۴ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک در منشأ بنه گناباد در فصل رشد ۹۶-۱۳۹۵ متغیر بود (جدول ۲). بنه‌های با منشأ مختلف پاسخ متفاوتی از نظر ترکیب‌های زیست فعال به فصل‌های رشد مورد بررسی نشان دادند. به عنوان مثال، ترکیب های فنلی در سرایان، تربت و زرند در سال دوم کاهش معنی داری نسبت به سال اول نشان دادند، در حالی‌که در بنه های جمع‌آوری شده از سایر مناطق بین فصول مختلف رشد از نظر آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

محتوای فلاونوئید از ۰/۳۸ در منشأ بنه زرند در فصل رشد ۹۶-۱۳۹۵ تا ۱/۸۱ میلی گرم کوئرستین در گرم ماده خشک در بجستان در همین فصل رشد متغیر بود (جدول ۲). از نظر محتوای فلاونوئید گلبرگ، بنه های با منشأ بجستان و تربت‌حیدریه در سال اول و استهبان در سال دوم افزایش معنی‌داری نشان دادند و در بنه‌های سایر مناطق واکنش معنی داری نسبت به فصل رشد مشاهده نشد (جدول ۲).

قدرت مهارکنندگی براساس مقادیر IC_{50}، بین ۲۷۰-۲۱۶ میلی‌گرم در لیتر در دو فصل زراعی متغیر بود (جدول ۲). براساس جدول ۳، ضریب همبستگی بین محتوای ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس قدرت مهارکنندگی (به‌ترتیب *۰/۵۸۵ و ۰/۴۶) نشان می‌دهد که افزایش ترکیب‌های زیست فعال در عصاره می‌تواند منجر به افزایش در قدرت مهارکنندگی و کاهش غلظت لازم عصاره برای مهار ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد شود. همان‌طور که در نتایج بدست‌آمده مشاهده می‌شود، بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در سال ۹۶-۱۳۹۵ مربوط به بجستان، گناباد و تربت‌حیدریه (به‌ترتیب با ۲۱۶، ۲۱۷ و ۲۲۰ میلی‌گرم در لیتر) با میزان فنل و فلاونوئید بالا و زرند (۲۲۱ میلی‌گرم در لیتر) با میزان فنل بالا بود. در این فصل رشد، کمترین میزان قدرت مهارکنندگی مربوط به استهبان بود که احتمالاً با میزان پایین ترکیب های فنلی و فلاونوئیدی اندازه‌گیری‌شده مرتبط بود. در فصل رشد ۹۷-۱۳۹۶ تفاوت معنی‌داری بین بنه‌های مناطق مختلف ملاحظه نشد (جدول ۲).

جدول ۱- اثر متقابل منشأ بنه در فصل رشد بر صفات مرتبط با گل در بنه‌های زعفران با منشأ مختلف، بررسی شده در طول سه فصل زراعی

منشأ بنه	وزن خشک گل (گرم بر مترمربع)[a]			وزن خشک هر گل (میلی‌گرم)[b]		
	۱۳۹۴-۹۵	۱۳۹۵-۹۶	۱۳۹۶-۹۷	۱۳۹۴-۹۵	۱۳۹۵-۹۶	۱۳۹۶-۹۷
بجستان	۰/۰۷۳±۰/۰۰۴bc	۱/۲۳±۰/۰۲۰a	۳/۲۴±۰/۰۷۱c	۳۲/۰±۱/۸۵fg	۳۵/۴±۰/۶۹cde	۳۶/۷±۰/۵۰bc
استهبان	۰/۰۵۰±۰/۰۰۱d	۰/۳۳±۰/۰۲۰e	۱/۸۹±۰/۰۸۱e	۲۶/۷±۱/۵۴h	۳۳/۱±۲/۷۹def	۳۷/۳±۱/۲۸bc
فردوس	۰/۱۷±۰/۰۰۵a	۱/۰۷±۰/۰۲۴b	۴/۶۱±۰/۱۴۰a	۲۸/۸±۰/۵۴h	۳۷/۱±۰/۶۶bc	۳۸/۲±۰/۲۱bc
گناباد	۰/۰۶۵±۰/۰۰۹c	۰/۶۲±۰/۰۱۸c	۳/۲۱±۰/۰۶۸c	۳۲/۶±۱/۸۱efg	۳۲/۵±۱/۵۵efg	۳۸/۷±۰/۴۷b
نطنز	۰/۰۲۱±۰/۰۰۲e	۰/۵۱±۰/۰۲۵d	۱/۹۳±۰/۰۴۴e	۲۷/۶±۰/۸۵h	۳۵/۸±۰/۸۳bcd	۳۶/۵±۱/۴۵bc
قائن	۰/۰۲۳±۰/۰۰۲e	۱/۰۷±۰/۰۵۰b	۲/۳۸±۰/۱۵۲d	۲۹/۷±۱/۲۴gh	۳۶/۶±۰/۸۱bc	۳۶/۷±۰/۷۰bc
سرایان	۰/۰۸۳±۰/۰۰۲b	۱/۰۶±۰/۰۵۰b	۳/۸۹±۰/۲۸۳b	۲۸/۵±۱/۳۴h	۳۶/۹±۱/۳۴bc	۳۸/۲±۰/۴۸bc
تربت‌حیدریه	۰/۰۸۰±۰/۰۰۲b	۰/۴۵±۰/۰۲۱d	۱/۱۵±۰/۰۸۵f	۲۷/۲±۰/۲۳h	۳۵/۸±۰/۴۵bcd	۳۵/۹±۰/۶۴bcd
زرند	۰/۰۲۴±۰/۰۰۹e	۰/۲۷±۰/۰۲۷e	۱/۳۰±۰/۰۶۰f	۴۸/۶±۱/۳۱a	۳۶/۰±۰/۵۵bcd	۳۸/۵±۰/۷۷b
منابع تغییر						
منشأ بنه		<۰/۰۰۰۱			<۰/۰۰۰۱	
فصل رشد		<۰/۰۰۰۱			<۰/۰۰۰۱	
منشأ بنه×فصل رشد		<۰/۰۰۰۱			<۰/۰۰۰۱	

A: در هر ستون میانگین‌هایی (± خطای استاندارد) که دارای حرف مشترک هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ هستند.

B: برای این صفت، میانگین‌هایی (± خطای استاندارد) که دارای حرف مشترک می‌باشند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ هستند.

جدول ۲- اثر متقابل منشأ بنه در فصل رشد بر محتوای ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی و قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل در بنه‌های زعفران با منشأ مختلف در فصل‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶

منشأ بنه	فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک)		فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک)		قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (IC_{50}) (میلی‌گرم در لیتر)	
	۱۳۹۵-۹۶	۱۳۹۶-۹۷	۱۳۹۵-۹۶	۱۳۹۶-۹۷	۱۳۹۵-۹۶	۱۳۹۶-۹۷
بجستان	۴/۰۴±۰/۰۹c-g	۴/۶۴±۰/۵۶a-e	۱/۸۱±۰/۱۹a	۰/۸۱±۰/۰۴d-g	۲۱۶±۰/۳e	۲۶۹±۲/۷a
استهبان	۳/۷۸±۰/۲۳e-h	۳/۱۷±۰/۳۲gh	۰/۶۵±۰/۲۳e-h	۱/۱۱±۰/۰۲bcd	۲۴۹±۱/۹c	۲۶۸±۲/۹a
فردوس	۴/۲۸±۰/۲۶a-f	۳/۹۰±۰/۵۷d-g	۱/۱۷±۰/۰۷bc	۰/۸۶±۰/۰۸c-g	۲۳۱±۱/۴d	۲۶۹±۳/۴a
گناباد	۵/۲۴±۰/۳۱a	۴/۴۳±۰/۱۹a-f	۱/۱۷±۰/۱۹bc	۰/۸۷±۰/۰۱c-g	۲۱۷±۰/۶e	۲۶۶±۳/۳a
نطنز	۳/۹۶±۰/۰۴c-g	۴/۶۶±۰/۴۳a-e	۰/۸۹±۰/۱۰c-f	۰/۹۸±۰/۰۱cde	۲۲۸±۱/۵d	۲۶۶±۲/۴a
قائن	۴/۰۹±۰/۰۹b-g	۳/۶۲±۰/۴۵fgh	۰/۶۱±۰/۰۵fgh	۰/۷۴±۰/۰۴efg	۲۵۷±۱/۹b	۲۶۸±۴/۴a
سرایان	۴/۹۰±۰/۰۷abc	۳/۸۰±۰/۴۸e-h	۰/۹۳±۰/۲۵c-f	۰/۷۴±۰/۰۴efg	۲۳۴±۱/۰d	۲۶۴±۳/۱a
تربت‌حیدریه	۴/۸۳±۰/۰۵a-d	۲/۸۳±۰/۴۵h	۱/۳۱±۰/۱۰b	۰/۸۵±۰/۰۱c-g	۲۲۰±۰/۸e	۲۶۹±۵/۳a
زرند	۵/۰۴±۰/۳۸ab	۳/۶۴±۰/۳۳ fgh	۰/۳۸±۰/۰۷h	۰/۵۵±۰/۰۲gh	۲۲۱±۰/۵e	۲۷۰±۳/۱a
منابع تغییر						
منشأ بنه	<۰/۰۱		<۰/۰۰۱		<۰/۰۰۰۱	
فصل رشد	<۰/۰۰۱		<۰/۰۱		<۰/۰۰۰۱	
منشأ بنه× فصل رشد	<۰/۰۵		<۰/۰۰۱		<۰/۰۰۰۱	

برای هر صفت، میانگین‌هایی (± خطای استاندارد) که دارای حرف مشترک می‌باشند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ هستند.

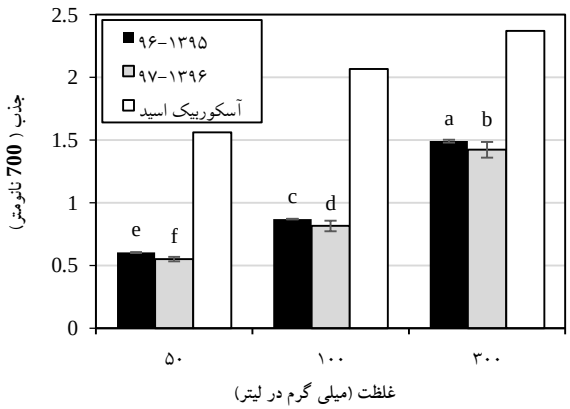
با وجود عدم تفاوت معنی‌دار در بین بنه‌های با منشأ مختلف و اثر متقابل منشأ بنه در فصل رشد، نتایج بدست‌آمده از قدرت احیاءکنندگی با نتایج قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در بین فصول رشد مورد بررسی، در یک راستا بود (جدول ۲ و شکل ۳) که ضریب همبستگی معنی‌دار بین این دو روش (**۰/۶۲۸)، تأییدکننده این نتایج است (جدول ۳). قدرت احیاءکنندگی آهن به طور معنی داری در فصل رشد ۹۶-۱۳۹۵ نسبت به فصل رشد ۹۷-۱۳۹۶ برای هر سه غلظت مورد ارزیابی بیشتر بود (شکل ۳). در تأیید نتایج ذکر شده، در سال ۹۶-۱۳۹۵ محتوای ترکیب های فنلی (۷/۷٪)، ترکیب های فلاونوئیدی (۱۸/۹٪) و کاهش غلظت لازم برای مهار ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد (۱۴٪) افزایش نشان داد. در تأیید نتایج همبستگی بین صفات (جدول ۳)، می توان گفت قدرت احیاءکنندگی بالاتر اندازه‌گیری شده در این فصل رشد، با افزایش در ترکیب های فنلی و فلاونوئیدی مرتبط است.

جدول ۳- ضرایب همبستگی محاسبه شده بین صفات مرتبط با گل، ترکیب‌های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلبرگ زعفران اندازه‌گیری شده در فصل‌های زراعی مختلف

صفات	(۱)	(۲)	(۳)	(۴)	(۵)	(۶)
(۱) تعداد گل[a]	۱					
(۲) وزن خشک گل [a]	۱/۰۰۰**	۱				
(۳) وزن هر گل [a]	۰/۴۵۳*	۰/۴۵۵*	۱			
(۴) فنل کل	-۰/۱۹۸	-۰/۱۸۵	-۰/۲۷۱	۱		
(۵) فلاونوئید کل	-۰/۰۸۲	-۰/۰۸۵	-۰/۲۳۲	۰/۱۰۰	۱	
(۶) مهار رادیکال آزاد (IC_{50})	۰/۶۶۴**	۰/۶۵۱**	۰/۵۷۸*	-۰/۵۸۵**	-۰/۴۶۰	۱
(۷) قدرت احیاءکنندگی [b]	-۰/۲۸۲	-۰/۲۶۰	-۰/۳۳۷	۰/۵۹۱**	۰/۲۰۴	-۰/۶۲۸**

A: برای صفات مرتبط با گل، جهت بررسی دقیق‌تر ارتباط موجود، ضرایب همبستگی بین داده‌های سه ساله انجام شد (n=۲۷)، در حالی‌که برای همبستگی بین صفات مرتبط با گل با ترکیب‌های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، به‌دلیل عدم اندازه‌گیری این صفات در فصل رشد ۹۵-۱۳۹۴، از صفات اندازه‌گیری شده در فصل‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ استفاده شد (n=۱۸).

B: برای محاسبه ضریب همبستگی قدرت احیاءکنندگی با سایر صفات، از میانگین سه غلظت مختلف استفاده شده است.

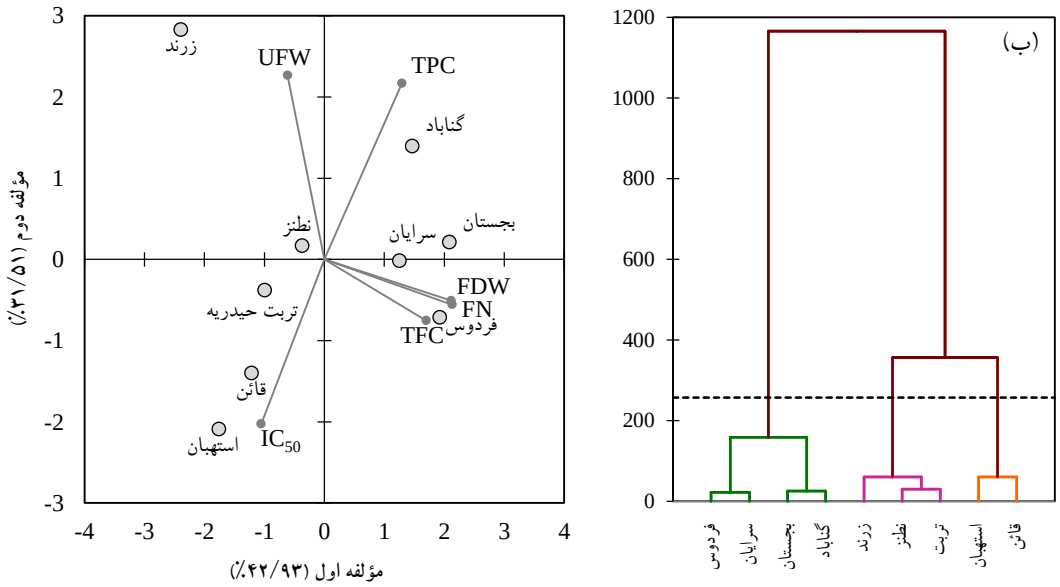


شکل ۳- مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلبرگ زعفران براساس قدرت احیاءکنندگی در فصول رشد مورد بررسی

بررسی تنوع بنه‌های با منشأ مختلف توسط روش‌های آماری چندمتغیره

برای بررسی تنوع منشأ بنه های مورد ارزیابی براساس متغیرهایی که تفاوت معنی داری برای عامل منشأ بنه نشان دادند و همچنین بررسی ارتباط بین صفات مورد ارزیابی و منشأ بنه، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی انجام شد و نمودار مربوط به آن براساس دو مؤلفه اصلی اول رسم شد (شکل ۴-الف). همان‌طور که ملاحظه می شود، دو مؤلفه اول ۷۴/۴۴٪ از کل تنوع را توجیه کردند. مؤلفه اول با توجیه ۴۳٪ واریانس، با تعداد گل و وزن خشک گل و محتوای فلاونوئید و فنل کل همبستگی مثبت نشان داد. این متغیرها بیشترین سهم را در تمایز بنه های با منشأ مختلف داشتند. بنه های فردوس، سرایان، بجستان و گناباد با بیشترین میانگین‌ها در صفات مرتبط با گل و محتوای ترکیب های زیست فعال توسط مؤلفه اول، از سایر مناطق متمایز شدند. همچنین وزن هر گل که بیشترین همبستگی را با مؤلفه دوم نشان داد، زرند، تربت‌حیدریه و نطنز را از سایرین متمایز کرد. قائن و استهبان با محتوای پایین ترکیب‌های فنلی و بیشترین میزان IC_{50} (کمترین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد) نیز در یک گروه قرار گرفتند.

این یافته‌ها تا حد زیادی توسط تجزیه خوشه‌ای تأیید شد. مشابهت‌ها در بین بنه های با منشأ مختلف، توسط تجزیه خوشه‌ای به روش وارد (Ward's method) مورد بررسی قرار گرفت که منشأ بنه های مورد بررسی را به سه گروه اصلی تقسیم‌بندی کرد (شکل ۴-ب). فردوس، سرایان، بجستان و گناباد با تعداد گل و عملکرد بالا از نظر صفات زراعی اندازه‌گیری شده و همچنین میزان بالای ترکیب های زیست فعال، در یک خوشه دسته‌بندی شدند. در حالی‌که استهبان و قائن با عملکرد متوسط گل و میزان پایین ترکیب های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (همان‌طور که تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد) در یک گروه قرار گرفتند. بنه های سایر مناطق (زرند، نطنز و تربت‌حیدریه) عمدتاً به‌دلیل عملکرد پایین و میزان متوسط ترکیب‌های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دسته دیگر طبقه‌بندی شدند.



شکل ۴- گروه‌بندی بنه‌های با منشأ مختلف با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (الف) و تجزیه خوشه‌ای به روش وارد (ب)

FN: تعداد گل؛ FDW: وزن خشک گل؛ UFW: وزن هر گل؛ TPC: محتوای فنل کل؛ TFC: محتوای فلاونوئید کل؛ IC_{50}: غلظت مورد نیاز هر نمونه برای بازدارندگی ۵۰٪ رادیکال‌های آزاد

بحث

در این بررسی، اثر منشأ بنه زعفران بر عملکرد گل و ترکیب های زیست فعال گلبرگ زعفران در فصول مختلف رشد ارزیابی شد. نتایج به وضوح نشان داد که بالاترین میزان تفاوت در صفات مرتبط با گل، در بین فصول رشد مشاهده شد. وزن خشک گل در طی فصول رشد به‌طور میانگین در سال دوم ۱۱-۱۰ برابر سال اول و در سال سوم در حدود ۳/۵ برابر سال دوم بود. زعفران گیاهی چندساله بوده که با بنه تکثیر می‌شود (Kumar *et al.*, 2009). در طول هر فصل رشد، بنه های دختری تشکیل شده و رشد می‌کنند، در نتیجه منجر به افزایش معنی دار در تولید گل در فصل رشد آینده می‌شوند (Lage & Cantrell, 2009). در بررسی ارتباط بین عملکرد با پارامترهای مختلف رشد و خصوصیات بنه مرتبط با این پژوهش، تأثیر پارامترهای رشد و خصوصیات بنه در سال اول بر عملکرد گل در سال دوم نشان داده شده است (Ghanbari & Khajoei-Nejad, 2018b). از سوی دیگر، به‌نظر می‌رسد تنوع مشاهده شده در وزن هر گل به تعداد و عملکرد گل در واحد سطح بستگی دارد. با توجه به تنوع مشاهده شده در عملکرد گل بین بنه‌های با منشأ مختلف در سال دوم و سوم، می‌توان گفت که عامل افزایش عملکرد گل در واحد سطح بیشتر به تعداد گل وابسته بوده تا وزن هر گل (Ghanbari *et al.*, 2019a).

واکنش متفاوت منشأ بنه های مورد بررسی به فصول مختلف رشد، می تواند به‌دلیل تفاوت در خصوصیات بنه های جمع‌آوری شده باشد که در شرایط محیطی مختلف تولید شده‌اند (Amirnia *et al.*, 2013؛ Babaei *et al.*, 2014). به همین دلیل، این بنه ها دوره خواب فیزیولوژیکی سازگار با شرایط محیطی منطقه تولید شده دارند که منجر به واکنش‌های فنولوژیکی متفاوت در منطقه کاشت جدید می‌شود (شکل ۲). زمان گل‌انگیزی (Flower induction) در طول دوره خواب (خفتگی) بنه‌ها، می‌تواند منجر به بروز تفاوت در ظهور جوانه گردد (Behdani *et al.*, 2016). در پژوهشی که در همین ارتباط روی زمان و قدرت ظهور جوانه و رشد اولیه در زعفران با منشأ بنه های مختلف انجام شد، تفاوت قابل ملاحظه‌ای در پارامترهای ظهور جوانه گزارش شده است (Ghanbari & Khajoei-Nejad, 2018a). تفاوت در ظهور جوانه منجر به بروز تفاوت در استقرار مناسب و رشد گیاه در طول فصل رشد اول شده و تفاوت در عملکرد را در سال‌های بعد موجب می‌شود (Ghanbari & Khajoei-Nejad, 2018a,b). بنابراین، انتخاب بنه مناسب برای کاشت در منطقه جدید یکی از عوامل مؤثر بر عملکرد زعفران به‌شمار می‌رود (Agayev *et al.*, 2009؛ Baghalian *et al.*, 2010).

مطالعات اخیر ژنتیکی نشان می‌دهد که گونه های ایرانی *C. almehensis* و *C. michelosnii* نزدیکترین خویشاوندان و به احتمال زیاد نیاکان فعلی زعفران زراعی هستند (Alavi-Kia *et al.*, 2008). با وجود واحد بودن منشأ تمام بنه های زعفران، به‌نظر می‌رسد تفاوت در عوامل اقلیمی منطقه پرورش بنه، موتاسیون ژنی و انتخاب بنه‌های برتر در طول زمان توسط پرورش‌دهندگان، از عوامل تنوع در بین بنه‌های زعفران باشد (Babaei *et al.*, 2014). از سوی دیگر در مطالعات ژنتیکی نیز در بسیاری از موارد تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین جمعیت‌های زعفران مشاهده شده است. به‌عنوان مثال، Babaei و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی تنوع ژنتیکی بین ۲۸ جمعیت زعفران از نقاط مختلف ایران توسط نشانگرهای SRAP، این جمعیت‌ها توسط تجزیه خوشه‌ای در چهار گروه مختلف قرار گرفتند. در مطالعه بنه های نقاط مختلف جغرافیایی، Siracusa و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که این بنه‌ها دارای قابلیت متفاوت تولید بنه‌های دختری بوده و از نظر پروفایل ترکیب های کیفی نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای نشان دادند. در این بررسی، همچنین ارتباط ژنتیکی بنه های با منشأ جغرافیایی مختلف بررسی شد که آنها را در دو گروه آسیایی و اروپایی قرار داد. به طوری که تفاوت در پارامترهای مورفولوژیک و عملکرد زعفران در بین بنه های زعفران با منشأ مختلف، گزارش شده است

(Baghalian *et al.*, 2010؛ Ehsanzadeh *et al.*, 2004؛ Amirnia *et al.*, 2013؛ Gresta *et al.*, 2009).

ترکیب‌های بیوشیمیایی گلبرگ زعفران به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر عوامل آزمایش قرار گرفت. محتوای فنل کل، میزان فلاونوئید کل و قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد براساس IC_{50}، در عصاره متانولی گلبرگ، به‌ترتیب بین ۵/۲۴-۲/۸۳ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک، ۱/۸-۰/۳۸ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک و ۲۷۰-۲۱۶ میلی گرم در لیتر متغیر بود. محتوای ترکیب های فنلی در گلبرگ زعفران ۳/۴۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۷۴-۲۲٪ مهارکنندگی در غلظت‌های ۵۰۰-۵۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است (Goli *et al.*, 2012). در مطالعه Ahmadian-Kouchaksarai و Niazmand (۲۰۱۷) در شرایط مختلف عصاره‌گیری، میزان ترکیب‌های فنلی ۱۴۲۳-۸۹۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم، میزان ترکیب های فلاونوئیدی ۱۸۰-۱۴۰ میلی گرم در ۱۰۰٪ و درصد مهارکنندگی حدود ۷۴-۶۳٪ رادیکال‌های آزاد در عصاره گلبرگ گزارش شده‌است. همچنین میزان ترکیب‌های فنلی در گلبرگ زعفران ۷۴۲۲-۴۶۱۶ میلی‌گرم گالیک اسید در لیتر عصاره گزارش شده است (Tuberoso *et al.*, 2016).

همان‌طور که در نتایج مشاهده شد بیشترین میزان ترکیب های فنلی و فلاونوئیدی و به‌همین ترتیب فعالیت آنتی‌اکسیدانی از بنه های با منشأ مختلف در فصل رشد ۹۶-۱۳۹۵ بدست آمد. براساس ارتباط منفی موجود بین عملکرد گل با ترکیب‌های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (جدول ۳)، می‌توان گفت علاوه‌بر شرایط محیطی اثرگذار بر تولید متابولیت‌های ثانویه، عملکرد و وزن هر گل نیز می‌تواند یکی از عوامل کاهش میزان ترکیب های مؤثره در واحد وزن اندام گیاهی باشد. باوجوداین، تولید متابولیت‌ها در واحد سطح (عملکرد اندام هدف در واحد سطح × محتوای متابولیت ثانویه) باید مورد توجه قرار گیرد.

تنوع قابل توجهی در دوره گلدهی بین بنه های با منشأ مختلف در این مطالعه مشاهده شد (شکل ۲). به طوری که مواجه شدن زمان گلدهی با شرایط مختلف اقلیمی می تواند یکی از عوامل تفاوت بین بنه‌ها در تولید ترکیب‌های زیست فعال باشد (شکل‌های ۱ و ۲). از سوی دیگر تنوع در فعالیت آنتی‌اکسیدانی به تنوع در ترکیب های زیست فعال ارتباط دارد (جدول‌های ۲ و ۳). علاوه بر تفاوت‌های فنولوژیک بین بنه های با منشأ مختلف (شکل ۲)، تنوع در ترکیب های فنلی و فلاونوئیدی در سال‌های مختلف می تواند به تغییرات اقلیمی مرتبط باشد (Dinçer *et al.*, 2013). در این مطالعه نیز همان‌طور که از نظر فنولوژیک بین بنه های با منشأ مختلف تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد، دوره گلدهی نیز با شرایط مختلف اقلیمی بین فصول گلدهی مواجه بوده (شکل ۱) و همین می تواند عامل تنوع در ترکیب های زیست فعال بین دو فصل گلدهی باشد. البته اثر فصل رشد بر محتوای ترکیب‌های زیست فعال گیاهان دارویی و معطر به‌خوبی مورد مطالعه قرار نگرفته است. به‌عنوان مثال، در مطالعه‌ای روی ترکیب‌های فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گونه‌های جنس *Sideritis*، اثر سال غیرمعنی‌دار گزارش شد (Dinçer *et al.*, 2017). در مقابل، محتوای ترکیب های فنولی و فلاونوئیدی مریم‌گلی در سال‌های برداشت متفاوت گزارش شد، در حالی‌که اثر سال بر مقادیر IC_{50} غیرمعنی‌دار بود (Dinçer *et al.*, 2013). همان‌طور که نتایج نشان داد، تیمارهایی که محتوای ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی بالاتری داشتند فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری نشان دادند که این نتایج توسط نتایج تجزیه همبستگی مورد تأیید قرار گرفت. در بسیاری از مطالعات انجام شده نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی را وابسته به ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی عصاره گزارش کرده‌اند (Lahmass *et al.*, 2017؛ Zeka *et al.*, 2015؛ Ahmadian-Kouchaksaraie & Niazmand, 2017).

نتایج این مطالعه نشان داد که گلبرگ زعفران حاوی ترکیب های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده که می تواند به‌عنوان منبعی ارزان در فرایند تولید زعفران، در صنایع مربوطه مورد استفاده قرار گیرد. علاوه‌براین، واکنش متفاوت بنه‌های با منشأ مختلف در فصول زراعی، نشان‌دهنده تنوع بالایی از نظر صفات مورد بررسی بود که

اهمیت انتخاب بنه مناسب را برای کاشت دوچندان می‌کند. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای در گروبندی منشأ بنه ها براساس صفات مختلف، مؤثر بود. بنه های با منشأ فردوس، سرایان، بجستان و گناباد، براساس عملکرد گل بالا و محتوای قابل توجه ترکیب‌های زیست فعال مشخص شدند. قائن و استهبان با میزان ترکیب‌های زیست فعال پایین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضعیف، از سایرین متمایز شدند. بنه های تربت‌حیدریه، زرند و نطنز با تعداد گل و عملکرد گل پایین در یک گروه قرار گرفتند. علاوه‌بر اینکه تنوع مشاهده شده در برنامه‌های مرتبط زراعی و اصلاحی کاربرد دارد، نتایج این بررسی می تواند در راستای افزایش بهره وری در مزارع زعفران نیز مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین برای توصیه در مورد منشأ تهیه بنه برای کاشت در هر منطقه، مطالعات بیشتر مورد نیاز است.

سپاسگزاری

هزینه اجرای این طرح (شماره: ۹۰۰/۱۰۶/پ) از طریق پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، دانشگاه شهید باهنر کرمان تأمین شده است، بدین‌وسیله از دست‌اندرکاران قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- Agayev, Y.M., Fernandez, J.A. and Zarifi, E., 2009. Clonal selection of saffron (*Crocus sativus* L.): the first optimistic experimental results. Euphytica, 169: 81-99.
- Ahmadian-Kouchaksaraie, Z. and Niazmand, R., 2017. Supercritical carbon dioxide extraction of antioxidants from *Crocus sativus* petals of saffron industry residues: Optimization using response surface methodology. The Journal of Supercritical Fluids, 121: 19-31.
- Alavi-Kia, S.S., Mohammadi, S.A., Aharizad, S. and Moghaddam, M., 2008. Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships in *Crocus* genus of Iran using inter-retrotransposon amplified polymorphism. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 22: 795-800.
- Amirnia, R., Bayat, M. and Gholamian, A., 2013. Influence of corm provenance and sowing dates on stigma yield and yield components in saffron (*Crocus sativus* L.). Turkish Journal of Field Crops, 18(2): 198-204.
- Alonso, G.L., Zalacain, A. and Carmona, M., 2012. Saffron: 469-498. In: Peter, K.V., (Ed.). Handbook of Herbs and Spices. Woodhead Publishing, Cambridge, 640p.
- Babaei, S., Talebi, M., Bahar, M. and Zeinali, H., 2014. Analysis of genetic diversity among saffron (*Crocus sativus*) accessions from different regions of Iran as revealed by SRAP markers. Scientia Horticulturae, 171: 27-31.
- Baghalian, K., Shabani Sheshtamand, M. and Jamshidi, A.H., 2010. Genetic variation and heritability of agro-morphological and phytochemical traits in Iranian saffron (*Crocus sativus* L.) populations. Industrial Crops and Products, 31: 401-406.
- Behdani, M.A. and H.R. Fallahi, 2015. Saffron: Technical Knowledge Based on Research Approaches. University of Birjand Press, 411p.
- Behdani, M.A., Jami Al-Ahmadi, M. and Fallahi, H.R., 2016. Biomass partitioning during the life cycle of saffron (*Crocus sativus* L.) using regression models. Journal of Crop Science and Biotechnology, 19(1): 71-76.
- Dinçer, C., Tontul, I., Cam, I.B., Özdemir, K.S., Topuz, A., Nadeem, H.Ş., Tuğrulay, S.T. and Göktürk, R.S., 2013. Phenolic composition and antioxidant activity of *Salvia tomentosa* Miller: effects of cultivation, harvesting year, and storage. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37(5): 561-567.
- Dinçer, C., Torun, M., Tontul, I., Topuz, A., Sahin-Nadeem, H., Gokturk, R.S., Tugrul-Ay, S. and Ozdemir, F., 2017. Phenolic composition and antioxidant activity of *Sideritis lycia* and *Sideritis libanotica* subsp. *linearis*: effects of cultivation, year and storage. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 5: 26-32.
- Ehsanzadeh, P., Yadollahi A. and Maibodi, A.M., 2004. Productivity, growth and quality attributes of 10 Iranian Saffron accessions under climate condition of Chahar-Mahal Bakhteyari. Acta Horticulturae, 650: 183-188.
- Ghanbari, J. and Khajoei-Nejad, G.R., 2018a. Effect of compost and combination of compost and biochar application on soil bulk density of planting bed and seedling emergence rate and early growth of saffron ecotypes. Saffron Agronomy & Technology, 19: 17-33.
- Ghanbari, J. and Khajoei-Nejad, G.R., 2018b. Effect of organic and chemical fertilizers application on relationships among growth indices, corm characteristics, flower related attributes and yield of saffron (*Crocus sativus* L.) ecotypes. Iranian Journal of Crop Sciences, 19(4): 297-318.

- Ghanbari, J., Khajoei-Nejad, G. and van Ruth, S.M., 2019a. Effect of saffron (*Crocus sativus* L.) corm provenance on its agro-morphological traits and bioactive compounds. Scientia Horticulturae, 256: 108605.
- Ghanbari, J., Khajoei-Nejad, G., van Ruth, S.M. and Aghighi, S., 2019b. The possibility for improvement of flowering, corm properties, bioactive compounds, and antioxidant activity in saffron (*Crocus sativus* L.) by different nutritional regimes. Industrial Crops and Products, 135: 301-310.
- Goli, S.A.H., Mokhtari, F. and Rahimmalek, M., 2012. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity from Saffron (*Crocus sativus* L.) Petal. Journal of Agricultural Science, 4(10): 175-181.
- Goupy, P., Vian, M.A., Chemat, F. and Caris-Veyrat, C., 2013. Identification and quantification of flavonols, anthocyanins and lutein diesters in tepals of *Crocus sativus* by ultra performance liquid chromatography coupled to diode array and ion trap mass spectrometry detections. Industrial Crops and Products, 44: 496-510.
- Gresta, F., Lombardo, G.M., Siracusa, L. and Ruberto, G., 2008. Saffron, an alternative crop for sustainable agricultural systems: a review. Agronomy for Sustainable Development, 28: 95-112.
- Gresta, F., Avola, G., Lombardo, G.M., Siracusa, L. and Ruberto, G., 2009. Analysis of flowering, stigmas yield and qualitative traits of saffron (*Crocus sativus* L.) as affected by environmental conditions. Scientia Horticulturae, 119: 320-324.
- 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(1): 44-85.
- Lage, M. and Cantrell, C.L., 2009. Quantification of saffron (*Crocus sativus* L.) metabolites crocins, picrocrocin and safranal for quality determination of the spice grown under different environmental Moroccan conditions. Scientia Horticulturae, 121: 366-373.
- Lahmass, I., Lamkami, T., Delporte, C., Sikdar, S., Van Antwerpen, P., Saalaoui, E. and Megalizz, V., 2017. The waste of saffron crop, a cheap source of bioactive compounds. Journal of Functional Foods, 35: 341-351.
- Melnyk, J.P., Wang, S. and Marcone, M.F., 2010. Chemical and biological properties of the world's most expensive spice: Saffron. Food Research International, 43: 1981-1989.
- Moghaddam, M. and Mehdizadeh, L., 2015. Variability of total phenolic, flavonoid and rosmarinic acid content among Iranian basil accessions. LWT-Food Science and Technology, 63: 535-540.
- Montoro, P., Tuberoso, C.I.G., Maldini, M., Cabras, P. and Pizza, C., 2008. Qualitative profile and quantitative determination of flavonoids from *Crocus sativus* L. Petals by LC-MS/MS. Natural Product Communications, 3: 2013-2016.
- Parejo, I., Viladomat, F., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Saavedra, G., Murcia, M.A., Jiménezd, A.M. and Codina, C., 2003. Investigation of Bolivian plant extracts for their radical scavenging activity and antioxidant activity. Life Sciences, 73: 1667-1681.
- Peña-Cerda, M., Arancibia-Radich, J., Valenzuela-Bustamante, P., Pérez-Arancibia, R., Barriga, A., Seguel, I., García, L. and Delporte, C., 2017. Phenolic composition and antioxidant capacity of *Ugni molinae* Turcz. leaves of different genotypes. Food chemistry, 215: 219-227.
- Pinelo, M., Rubilar, M., Sineiro, J. and Nunez, M.J., 2004. Extraction of antioxidant phenolics from almond hulls (*Prunus amygdalus*) and pine sawdust (*Pinus pinaster*). Food Chemistry, 85: 267-273.
- Sánchez-Vioque, R., Rodriguez-Conde, M.F., Reina-Urena, J.V., Escolano-Tercero, M.A., Herraiz-Penalver, D. and Santana-Meridas, O., 2012. In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus* L.). Industrial Crops and Products, 39: 149-153.
- Shahi, T., Assadpour, E. and Jafari, S.M., 2016. Main chemical compounds and pharmacological activities of stigmas and tepals of 'red gold'; saffron. Trends in Food Science & Technology, 58: 69-78.
- Siracusa, L., Gresta, F., Avola, G., Albertini, E., Raggi, L., Marconi, G., Lombardo G.M. and Ruberto, G., 2013. Agronomic, chemical and genetic variability of saffron (*Crocus sativus* L.) of different origin by LC-UV-vis-DAD and AFLP analyses. Genetic Resources and Crop Evolution, 60: 711-721.
- Tohidi, B., Rahimmalek, M. and Arzani, A., 2017. Essential oil composition, total phenolic, flavonoid contents, and antioxidant activity of *Thymus* species collected from different regions of Iran. Food Chemistry, 220: 153-161.
- Tuberoso, C.I.G., Rosa, A., Montoro, P., Fenu, M.A. and Pizza, C., 2016. Antioxidant activity, cytotoxic activity and metabolic profiling of juices obtained from saffron (*Crocus sativus* L.) floral by-products. Food Chemistry, 199: 18-27.
- Vijender, K., Bhat, Z.A., Dinesh, K., Shah, M.Y., Chashoo, I.A. and Khan, N.A., 2011. Physicochemical and preliminary phytochemical studies on petals of *Crocus sativus* 'Cashmerianus'. Pharmacognosy Journal, 3: 46-49.
- Zeka, K., Ruparelia, K.C., Continenza, M.A., Stagos, D., Vegliò, F. and Arroo, R.R.J., 2015. Petals of *Crocus sativus* L. as a potential source of the antioxidants crocin and kaempferol. Fitoterapia, 107: 128-134.

Variation in corm origin of saffron (*Crocus sativus* L.) based on flower yield and bioactive compounds in petals

J. Ghanbari[1] and Gh. Khajoei-Nejad[2*]

1- Ph.D. student, Young Researcher Society, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
2*- Corresponding author, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran; Research and Technology Institute of Plant Production (RTIPP), Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran, E-mail: Khajoei@uk.ac.ir

Received: April 2019 Revised: July 2019 Accepted: July 2019

Abstract

In addition to the stigma, other parts of saffron (*Crocus sativus* L.) flower including petals, as by-products of the saffron production process, contain bioactive and antioxidant compounds that are usually left unused. This experiment was conducted at the research field of Shahid Bahonar University of Kerman, Iran, to increase the productivity of this crop as well as investigate the variation in corm origin in terms of flower yield and bioactive compounds of saffron petals. In this regard, different corms from nine different regions of Iran (Bajestan, Estahban, Ferdows, Gonabad, Natanz, Qaen, Sarayan, Torbate-Heydarieh and Zarand) were evaluated during the three growing seasons of 2015-16, 2016-17 and 2017-18. Based on the results, phenolic compounds ranged from 2.83 to 5.24 mg gallic acid/g dry weight and flavonoid compounds ranged from 0.38 to 1.81 mg quercetin/g dry weight in petals. The results also demonstrated that flower-related traits, bioactive compounds and radical scavenging activity were significantly affected by the growing season, corm origin and their interaction. In all the traits studied (except reducing power ability), corms of different origins showed different responses to the growing season. The highest yield was obtained from the corms of Ferdows in the first and third growing seasons and Bajestan in the second growing season. The corms of Bajestan and Gonabad (the highest phenolic and flavonoid contents) and Estahban (the least phenolic and flavonoid contents) showed, respectively, the highest (216 and 217 mg/L, respectively) and lowest antiradical activity in 2016-17 growing season. The corms of Ferdows, Sarayan, Bajestan, and Gonabad origin based on high yield and bioactive compounds content, Qaen and Estahban due to low bioactive compounds content and antioxidant activity, and Natanz, Torbate-Heydarieh and Zarand with the lowest flower production were grouped into three main clusters according to cluster and principal component analyses.

Keywords: Antioxidant activity, saffron petals, phenol and flavonoid content, corm provenance.