مقاله پژوهشی

تأثیر سطوح مختلف شوری بر خصوصیات فیزیولوژیکی، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز و برخی ترکیبات فلاونوئیدی در کشت هیدروپونیک گیاه زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.)

فاطمه سادات مسلمی[۱]، آتوسا وزیری[۱*] و گل‌اندام شریفی[۲]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام‌نور، ایران، [۲] پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی، پژوهشکده دانشنامه نگاری، تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۰۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۰۳/۲۵)

چکیده

استفاده از گیاهان متحمل به شوری در نواحی خشک و نیمه‌خشک دنیا از جمله ایران یکی از راه‌های دستیابی به عملکرد بالا است. هدف این تحقیق بررسی تأثیر تیمارهای مختلف شوری در کشت هیدروپونیک بر خصوصیات فیزیولوژیکی، فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) و نیز میزان کمی ترکیبات فلاونوئیدی کامفرول و کوئرستین در گیاه زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.) است. بدین منظور بنه‌های گیاه زعفران در گلدان‌های حاوی پرلیت کاشته شد و در شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی با ½ محلول غذایی هوگلند حاوی غلظت‌های صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم آبیاری شد. براساس نتایج به‌دست‌آمده، اثر تنش شوری بر میزان کلروفیل a و b در سطح پنج درصد معنی‌دار نبود. میزان کاروتنوئید و گلوکز در تیمار ۶۰ میلی‌مولار به‌ترتیب افزایش معنی‌دار ۲۷ و ۵۶ درصدی نسبت به تیمار شاهد داشت. تأثیر شوری بر میزان اسیدآمینه پرولین برگ معنی‌دار نبود. درصد نسبی آب نیز در ۱۵۰ میلی¬مولار با ۲۰ درصد کاهش، بیشترین کاهش را نسبت به تیمار شاهد داشت فعالیت آنزیم PAL نیز در تنها در ۱۵۰ میلی¬مولار افزایش معنی‌دار ۵۰ درصدی نسبت به شاهد داشت. میزان کامفرول در تمام غلظت‌ها به غیر از ۱۵۰ میلی¬مولار و میزان کوئرستین نیز تنها در غلظت ۱۵۰ میلی¬مولار افزایش معنی‌دار (۱۰۰ درصد) نسبت به تیمار شاهد نشان داد به‌نظر می‌رسد با توجه به نتایج آزمایش آستانه تحمل گیاه زعفران به نمک در محدوده ۶۰ تا ۹۰ میلی‌مولار بوده و مکانیسم‌های دفاعی عنوان‌شده در این محدوده و بالاتر از ان به گیاه جهت تحمل به نمک کمک می‌نمایند.

کلمات کلیدی: تنش شوری، فنیل‌آلانین آمونیالیاز، کامفرول، کوئرستین، زعفران زراعی

مقدمه

تنش شوری وضعیتی است که در آن به‌دلیل وجود نمک مازاد در خاک، رشد گیاه محدود می‌شود. از عوامل ایجادکننده این تنش می‌توان به شوری خاک، آبیاری با زهکشی ضعیف و آب‌شور اشاره کرد (هاشمی و عمادی، ۱۳۹۴). شوری یکی از عوامل مهم کاهش محصولات کشاورزی است که موجب بروز مشکلات فیزیولوژیکی، متابولیکی، کاهش رشدونمو، جوانه‌زنی، قدرت، کمیت و کیفیت گیاه می‌شود و تهدید جدی برای صنعت کشاورزی بشمار می‌رود. شناسایی ارقام مقاوم به شوری راهکار مناسبی برای جلوگیری از خسارت است. شوری خاک بر فرایندهایی همچون محتوای آب، رنگ‌دانه‌ها، چربی‌ها، جذب مواد مغذی و متابولیسم اثر می‌گذارد (هاشمی و عمادی، ۱۳۹۴). به‌دلیل خسارت شدید تنش شوری بر رشد و نمو گیاهان، مطالعات قابل‌توجهی در بررسی فرایندهای

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: a_vaziri@pnu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برای کمک در جهت سازگاری گیاهان به تنش انجام شده است (هاشمی و عمادی، ۱۳۹۴). زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.) از گران‌ترین محصولات غذایی و دارویی دنیاست (سبزواری، ۱۳۷۴). از ویژگی‌های مهم گیاه زعفران نیاز آب و غذایی بسیار اندک آن در مقایسه با سایر محصولات زراعی و باغی است، لذا گیاه بسیار مناسبی برای قرارگرفتن در الگوی کاشت مناطق خشک و نیمه‌خشک است (کافی و همکاران، ۱۳۸۱). در ایران زعفران کاری از جنبه‌های مختلف نظیر بهره‌وری آب، اشتغال و صادرات غیرنفتی موردتوجه است (Behdani, 2011). زعفران از جمله محصولات صادراتی است که در صورت توجه به فرایندهای تولید و فرآوری برای افزایش تولید و صادرات آن می‌تواند ارز قابل‌توجهی را نصیب کشور نماید، لذا باید روش‌های مدرن، جایگزین روش‌های سنتی در مناطق مختلف تولید زعفران شود تا محصول از کیفیت بالاتری برخوردار گردد. سطح زیرکشت زعفران در سال‌های اخیر به‌شدت افزایش یافته است، به‌طوری‌که در ۳۰ سال گذشته، سطح زیرکشت این محصول از حدود ۲۵ هزار هکتار در سال ۱۳۶۰ به حدود ۸۸ هزار هکتار در سال ۱۳۹۳ رسیده که نشان از افزایش ۳/۵ برابری آن دارد (Agricultural statistics, 2015). با این وجود، در بین سال‌های ۱۳۶۰ تا ۱۳۹۳ عملکرد زعفران به ازای هر واحد سطح زیرکشت کاهش محسوسی یافته است. به‌طوری‌که از ۵/۱ کیلوگرم در سال ۱۳۶۰ به ۳/۲ کیلوگرم در سال ۱۳۹۳ رسیده است. کاهش عملکرد زعفران از جنبه¬های متفاوتی اتفاق افتاده و اساساً متأثر از عواملی مانند سوء مدیریت در بخش کشاورزی، اقتصادی، فرآوری پس از برداشت و نیز خشک‌سالی‌های اخیر بوده است (کوچکی و همکاران، ۱۳۹۵). در صورت عدم‌توجه به عوامل ذکرشده، عملکرد زعفران در سال‌های آینده نیز ممکن است بیش از پیش کاهش یابد. کشت زعفران تحت شرایط کنترل‌شده در بسترهای هیدروپونیک می‌تواند روشی موفقیت‌آمیز باشد. با توجه به اینکه در این روش، محیط رشد، تغذیه گیاه، نور، دما، آبیاری و بسیاری از عوامل دیگر به دقت کنترل می‌شود، عملکرد بالاتر و کیفیت بهتر محصول امکان‌پذیر خواهد بود، گیاهان برای مقابله با اثرات تنش شوری فرآیندهای مختلفی را به‌کار می‌گیرند. برخی از این فرآیندها شامل تنظیمات اسمزی توسط تجمع املاح سازگار مانند پرولین و یا ساکاریدهای محلول، افزایش سنتز آنتی‌اکسیدان‌ها جهت حذف گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و تغییرات در مکانیسم تنظیمی برای انتقال یون است (Rajaei *et al*., 2009). در شرایط تنش، ترکیباتی اسمزی ساخته می‌شوند که در حفظ فعالیت سوخت‌وساز بافت‌ها نقش دارد. این پاسخ درنهایت منجر به ترمیم، هموستازی سلولی، سم‌زدایی و بقا تحت تنش خواهد شد (Rajaei *et al*., 2009). پراکسیداسیون لیپیدها توسط ROS منجر به تولید مالون دآلدئید (MDA) می‌شود (Yasar *et al*., 2008). مالون دآلدئید تولیدشده می‌تواند به آنزیم‌ها و غشاءهای گیاهی آسیب رساند، موجب افزایش نشت الکترولیت‌ها شود و به همین سبب به‌عنوان یک شاخص زیستی برای تخمین میزان آسیب دیدگی غشاء تحت تنش در نظر گرفته می‌شود (Zhou and Leul, 1999; Miller *et al*., 2010). فرآیند فتوسنتز تعیین‌کننده اصلی رشد و عملکرد گیاهان است و توانایی حفظ آن در شرایط تنش‌های محیطی برای حفظ ثبات عملکرد مهم است. کل محتوای کلروفیل تحت تیمار شوری کاهش و مقاومت روزنه‌ای افزایش می‌یابد. یکی از اثرات شوری در گیاه کاهش فعالیت فتوسنتزی می‌باشد که ناشی از کاهش محتوای کلروفیل، کاهش جذب CO_2 و ظرفیت فتوسنتزی است (جوادی‌پور و همکاران، ۱۳۹۲). بررسی رنگیزه‌ها در گیاه ذرت تیمارشده نشان می‌دهد که کاهش مقدار کلروفیل a در طی تیمار شوری دلیل عمده کاهش ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II بوده است. مقدار کلروفیل a در مراکز واکنش، یکی از عوامل تعیین‌کننده کارایی عملی یا ظرفیت برانگیختگی فتوسیستم II است (Oxborough, 2004).

یکی دیگر از پاسخ‌های دفاعی گیاهان در برابر تنش‌های محیطی، تجمع متابولیت‌های ثانویه است (Ramawat, 2007). کامفرول یک فلاونول شناخته شده است که از انگور، توت‌فرنگی، کلم بروکسل، سیب و دیگر میوه‌ها و سبزیجات جدا شده است. در زعفران کامفرول معروف به حضور در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

کالاه‌ها است (Straubinger *et al*., 1997; Carmona *et al*., 2007) اما اخیراً گلیکوزیدهای کامفرول در گلبرگ‌های زعفران نیز شناسایی شده‌اند (Vignolini *et al*., 2008; Serrano-Diaz *et al*., 2014). گلیکوزیدهای کامفرول در واقع متابولیت‌های ثانویه طبیعی در گیاهان با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و بخشی از رژیم غذایی انسانی هستند (Hadizadeh *et al*., 2003). کامفرول در حفاظت بدن علیه آسیب‌های ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و دیگر رادیکال‌های آزاد اهمیت دارد و به‌طور گسترده در جلوگیری از سرطان و دیگر بیماری‌های حاد نقش دارد (Zeka *et al*., 2015). کوئرستین نیز یک فلاونول با منشأ گیاهی است که در میوه‌ها، سبزیجات، برگ‌ها و دانه‌ها یافت می‌شود. همچنین به‌عنوان ترکیب مکمل‌ها، نوشیدنی‌ها و غذاها استفاده می‌شود. کوئرستین فلاونوئیدی است که به‌صورت گسترده در طبیعت پراکنده شده است. نتایج تحقیقات نشان داده است که گلبرگ‌های زعفران منبع خوبی برای کوئرستین هستند (Zeka *et al*., 2015). مطالعات اخیر در برخی گیاهان نشان داده است که تنش شوری موجب تغییر در محتوای این دو ترکیب فلاونوئیدی می‌شود (Rossi *et al*., 2014; Hassanein *et al*., 2016; Kim *et al*., 2019; Xu *et al*., 2020). در گیاهان، فلاونوئیدها توسط مجموعه آنزیم‌های مختلفی که در طرف سیتوزولی غشای شبکه آندوپلاسمی وجود دارند، سنتز می‌شوند. اولین مراحل برای بیوسنتز فلاونوئید در مسیر فنیل پروپانوئید گنجانده شده است. فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) اولین آنزیم متعهد در مسیر فنیل پروپانوئید است که منجر به تولید لیگنین، لیگنان و فلاونوئیدها مانند کامفرول و کوئرستین می‌شود. این آنزیم تشکیل ترانس سینامیک اسید از فنیل‌آلانین را با از دست‌دادن هم‌زمان آمونیاک کاتالیز می‌کند. درواقع آنزیم PAL، به‌عنوان پلی بین متابولیسم اولیه و بیوسنتز محصولات طبیعی، یک محل بالقوه برای تنظیم مسیر فنیل پروپانوئید است (Bate *et al*., 1994). فعالیت آنزیم PAL می‌تواند توسط انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی شامل UV-B، زخم، سرما، آبسزیک اسید و سالیسیلیک اسید القا شود (Xu *et al*., 2012). تنش‌های غیرزیستی عموماً موجب تولید ROS می‌شوند (Pastori and Foyer, 2002) و بنابراین موجب القای تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند. ترکیبات فنلی با حلقه آروماتیک دی‌هیدروکسی مثل کافئیک اسید، کوئرستین، کامفرول یا لوتئین گلیکوزیدها دارای ظرفیت بالای آنتی‌اکسیدانی هستند و پخش آن‌ها در سلول‌های گیاهی برای عملکرد آنتی‌اکسیدانی ضروری است (Agati *et al*., 2012).

در این تحقیق کوشش بر آن بود که تأثیر تیمارهای مختلف شوری در کشت هیدروپونیک و شرایط کنترل‌شده بر خصوصیات فیزیولوژیکی، فعالیت آنزیم PAL و نیز میزان کمی ترکیبات فلاونوئیدی کامفرول و کوئرستین گیاه زعفران بررسی شود.

مواد و روش‌ها

بنه زعفران مزروعی (*Crocus sativus* L.) در اواخر شهریورماه ۱۳۹۷ از شهرستان قائنات واقع در استان خراسان جنوبی تهیه و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه پیام‌نور تهران منتقل گردید. جهت افزایش احتمال گلدهی، بنه‌هایی با وزن بالاتر از ۸ گرم انتخاب شد. بنه‌ها با قارچ‌کش کاربندازیم ۱٪ (Carbendazim) (۲۵ گرم در ۲/۵ لیتر آب) به‌مدت پنج دقیقه ضدعفونی شده و پس از خشک‌شدن در هوای آزاد، در گلدان‌های پلاستیکی حاوی پرلیت به قطر ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر قرار گرفتند. در هر گلدان پنج بنه کاشته شد و آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت و هر تیمار شامل پنج تکرار بود. گلدان‌ها در اتاقک رشد آزمایشگاه قرار داده شد. رژیم حرارتی برای القای گلدهی براساس مقدار گزارش‌شده توسط Molina و همکاران (۲۰۰۵)، دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد به‌عنوان دمای بهینه انتخاب گردید. رژیم نوری به‌صورت ۸/۱۶ ساعت (به‌ترتیب روشنایی و تاریکی) و رطوبت نسبی ۶۰٪ به‌کار گرفته شد.

تیمار شوری: گلدان‌ها در اواخر شهریورماه به‌مدت دو هفته و به‌صورت یک روز در میان با آب به‌منظور جوانه‌زدن آبیاری شد. پس از جوانه‌زدن گیاه و مشاهده برگ‌های سبز زعفران در اواسط مهرماه، گلدان‌ها به‌مدت یک هفته با محلول غذایی ½ هوگلند آبیاری شد. پس از اینکه برگ‌های سبز زعفران به حد کافی رشد کرد، تیمار شوری با شش غلظت

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (NaCl) تهیه و به‌صورت ۱۰۰ میلی‌لیتر ترکیب هوگلند و غلظت NaCl موردنظر (۰/۵ میلی‌لیتر محلول هوگلند و ۰/۱۷ گرم NaCl با آب به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد تا غلظت ۳۰ میلی‌مولار نمک به‌دست آید) به هر گلدان با فاصله سه روز در میان تیمار شد. جهت جلوگیری از شوک اسمزی، نمک در هر بار آبیاری به‌صورت پلکانی از ۳۰ میلی‌مولار اعمال شد تا به غلظت موردنظر برسد. برای جلوگیری از تجمع نمک و املاح محلول هوگلند در گلدان‌ها، پس از هر سه مرتبه اعمال تیمار شوری (پس از یک هفته)، با محلول آب-مقطر شستشو داده شد. دو هفته بعد در اواخر آبان‌ماه گل‌ها برداشت شد. کلاله‌های زعفران پس از اندازه‌گیری وزن تر جهت اندازه‌گیری وزن خشک به آون منتقل شده و به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: میزان کلروفیل a، کلروفیل b براساس روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد. ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت تر برگ از هر تیمار وزن شد و سپس با استفاده از دو میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد حجمی در محیطی تاریک و در روی یخ درون هاون چینی ساییده شد تا درنهایت محلولی همگن به‌دست آمد. عصاره حاصل در دور g۲۵۰۰ در دمای چهار درجه سانتی‌گراد مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. حجم محلول روشناور به کمک استون ۸۰ درصد در لوله‌های آزمایش به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس جذب محلول به‌دست‌آمده به‌کمک دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Shimadzu UV-160A، ساخت کشور ژاپن، در سه طول‌موج ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و از استون ۸۰ درصد به‌عنوان محلول شاهد استفاده گردید. میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید طبق فرمول برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$Chl\ a = (12/25 \times A663 - 2/79 \times A646)$$
$$Chl\ b = (21/21 \times A646 - 5/1 \times 663)$$
$$Car = (1000 \times A470 - 1/8 \times chl\ a - 85/02 \times chl\ b) / 198$$

که در آن Chl a، Chl b و Car به‌ترتیب بیانگر کلروفیل a و b و کاروتنوئید و A نشان‌دهنده جذب است.

سنجش قندهای محلول: ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره‌های به‌دست‌آمده مرحله قبل با ۱/۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر مخلوط شد و بعد از اضافه‌کردن یک میلی‌لیتر فنل ۵٪ و پنج میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ جذب آن‌ها در طول‌موج ۴۸۵ نانومتر بعد از ۳۰ دقیقه خوانده شد (Kochert, 1978).

محتوای نسبی آب: محتوای نسبی آب گیاه با استفاده از روش Cameron و همکاران (۱۹۹۹) تعیین شد .برای این منظور یک گرم برگ سبز زعفران در یک استوانه مدرج حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر قرار داده شد و این ظرف برای مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد .پس از این مدت برگ‌ها به‌دقت توسط دستمال کاغذی خشکشده و بلافاصله وزن آماس آن‌ها مورد سنجش قرار گرفت .سپس برگ‌ها را در پاکتی کاغذی قرار داده و برای مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از این مدت وزن خشک برگ‌ها تعیین شد. محتوای نسبی آب با استفاده از فرمول زیر تعیین شد:

$$RWC\ (\%) = [(FW-DW) / (TW-DW)] \times 100$$

در فرمول فوق FW بیانگر وزن برگ تازه، TW نشان‌دهنده وزن آماس و DW معادل وزن خشک برگ است.

سنجش پراکسیداسیون لیپید: میزان پراکسیداسیون لیپیدی جوان‌ترین برگ گیاه چه از طریق اندازه‌گیری مقدار مالون دی‌آلدهید (MDA) با استفاده از روش Packer و Heath (۱۹۶۸) تعیین شد. به این منظور، ۰/۱ گرم بافت گیاهی تازه در یک میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل در rpm ۱۴۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. یک میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد (حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید) به ۴۰۰ میکرولیتر از عصاره شفاف گیاهی (بعد از سانتریفیوژ) اضافه شد. مخلوط به‌دست‌آمده در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت. سپس دوباره در rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده موردنظر برای جذب در این طول‌موج کمپلکس TBA-

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

MDA بود. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت مالون دی‌آلدئید از ضریب خاموشی ($۰/۱۵۵\ cm^{-1}.\mu M^{-1}$) استفاده شد و مقادیر با واحد $\mu mol.\ g^{-1}\ FW$ بیان گردید.

سنجش پرولین: برای سنجش اسیدآمینه پرولین نیز از هر تیمار نمونه‌هایی را به‌صورت تازه برداشت کرده و به‌مدت ۲۴ ساعت در فریزر با دمای منفی ۲۰ درجه قرار داده شد. جهت سنجش پرولین روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انتخاب شد. جهت خواندن میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتری، تولوئن به‌عنوان شاهد قرار داده شد و برای سنجش میزان پرولین میزان جذب فاز فوقانی در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

استخراج پروتئین: مقدار ۰/۲ گرم از بافت تازه برگی را توزین کرده و در ۶/۵ میلی‌لیتر بافر Tris-Hcl ۵۰ میلی‌مولار (pH=8.8) روی ظرف حاوی یخ با استفاده از هاون چینی ساییده شد و عصاره به‌مدت ۳۰ دقیقه با دور ۵۰۰۰۰g در چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. محلول رویی از رسوب جدا شد. این محلول حاوی آنزیم PAL بود (Wang *et al*., 2006).

روش سنجش فعالیت آنزیم PAL: برای سنجش فعالیت PAL در یک لوله‌آزمایش ۰/۵ میلی‌لیتر محلول فنیل‌آلانین (۱۰ میلی‌مولار)، ۰/۴ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر، ۰/۱ میلی‌لیتر از پروتئین استخراج‌شده و یک میلی‌لیتر از بافر Tris-Hcl ۵۰ میلی‌مولار (pH=8.8) اضافه شد و نمونه کنترل تمام ترکیبات به‌جز پروتئین استخراج‌شده را شامل می‌شد. نمونه‌ها به‌مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد که اوج فعالیت آنزیم PAL است، انکوبه شدند. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از HCL (۶ مولار) برای غیرفعال کردن آنزیم PAL به نمونه‌ها اضافه شد. شستشوی نمونه‌ها با ۱۵ میلی‌لیتر از اتیل استات در پنج مرحله انجام شد. سپس نمونه‌ها در معرض جریان هوا تبخیر شدند. به رسوب حاصل سه میلی‌لیتر از NaOH (۰/۰۵ مولار) اضافه شد و رسوب کاملاً در آن حل شد. جذب نمونه‌ها به‌وسیله دستگاه نانودرآپ اندازه‌گیری شد. از آنجا که یک واحد آنزیم PAL مقداری از آنزیم است که در طی یک دقیقه، یک میکرومول اسید سینامیک را تولید کند، بنابراین فعالیت آنزیم برحسب واحد آنزیم با µmol cinnamic acid/min و فعالیت ویژه آنزیمی به‌صورت µmol cinnamic acid/mg protein/ min بیان شد (Wang *et al*., 2006).

مواد و حلال‌های شیمیایی: مواد شیمیایی استاندارد کوئرستین و کامفرول از شرکت Sigma Chemical (سنت لوئیس،MO ، USA) و حلال‌های با درجه HPLC مانند کلروفرم، متانول و آب از شرکت Merck (آلمان) خریداری شد.

استخراج: ۵۰۰ میلی‌گرم گل‌های خشک پودرشده زعفران در ۵۰ میلی‌لیتر اتانول ٪۷۰ به حالت معلق در آمد و سپس با استفاده از اسید فرمیک به pH= 2.0 رسید و به‌مدت یک شبانه‌روز در آزمایشگاه قرار داده شد. پس از استخراج، نمونه‌ها برای از بین‌بردن بقایای گیاه از صافی عبور داده شد و سپس تحت شرایط خلأ در دمای اتاق تبخیر شد. مواد باقی‌مانده دوباره در EtOH / H_2O (70:30) حل شده و با اسید فرمیک به pH 2.0 و حجم سه میلی‌لیتر رسید (Vignolini *et al*., 2008).

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC): دستگاه کروماتوگرافی مایع ساخت شرکت Waters (USA) متشکل از یک ماژول جداکننده waters 2695 و یک PDA Detector waters 996 برای آنالیز HPLC استفاده شد. ستون مورد استفاده EurospHer 100-5 C18 به طول ۱۵ سانتی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر بود که توسط ماتریس فاز معکوس Waters (۳/۵ میکرومتر) تجهیز شده بود. شستشو در یک سیستم گرادیان با متانول به‌عنوان فاز آلی (حلال A) و آب‌مقطر (حلال B) با سرعت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه انجام شد. قله‌ها در طول‌موج ۱۹۵–۴۰۰ نانومتر به تصویر کشیده شد. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر بود و دما در ۲۵ درجه سانتی‌گراد حفظ شد. جمع‌آوری داده‌ها و ادغام با نرم‌افزار Millennium 32 انجام گردید.

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. بررسی‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS23 و تجزیه واریانس آنوای یک طرفه (one way ANOVA) انجام

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

شد. مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون Dancan انجام و سطوح معنی‌داری تیمارها در سطح $P \leq 0.05$ محاسبه گردید برای رسم شـکل از نرم‌افزار Excel 2013 استفاده شد.

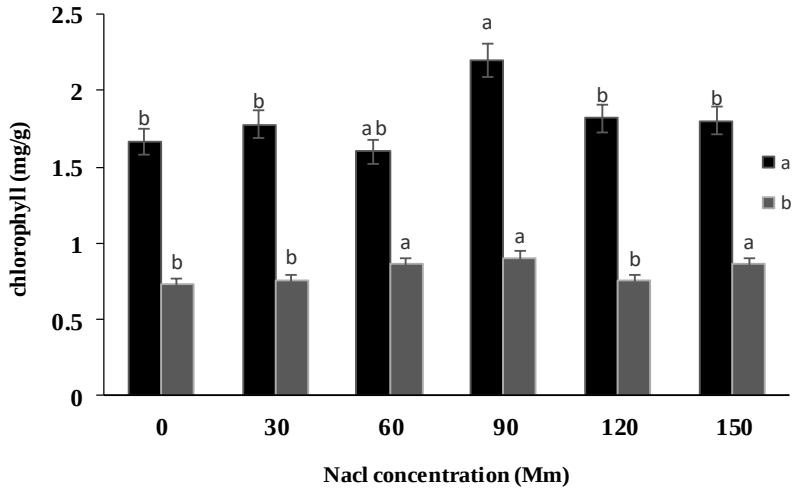
نتایج و بحث

اثر سطوح مختلف تنش شوری بر رنگیزه‌های برگ زعفران: نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که شوری تأثیر معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بر محتوای کلروفیل a و b نداشت (شکل ۱). کمترین مقدار کلروفیل a در تیمار شاهد به میزان ۰/۶۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه و بیشترین میزان آن در تیمار با هدایت الکتریکی ۹۰ میلی‌مولار به میزان ۲/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. کمترین مقدار کلروفیل b نیز در تیمار شاهد به میزان ۰/۷۳ میلی‌گرم بر گرم نمونه تر بود و بیشترین مقدار آن با ۰/۸۳ میلی‌گرم بر گرم ماده تر در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد. نسبت کلروفیل a به b نیز معنی‌دار نبود و فقط در ۶۰ میلی¬مولار به کمترین مقدار خود رسید (شکل ۲). به‌طورکلی با افزایش شوری تا حد ۹۰ میلی‌مولار، میزان کلروفیل b افزایش و بعد از آن مقداری کاسته شد. این نتایج با نتایج صالحی و همکاران (۱۳۸۳) مطابقت دارد. نتایج تحقیقات این پژوهشگران نشان داد که با اعمال تنش شوری متوسط میزان کلروفیل برگ گندم افزایش یافت، ولی با تداوم شرایط و افزایش بیشتر شدت تنش شوری میزان کلروفیل برگ با شیب ملایمی کاهش یافت. در آزمایش انجام‌شده بر روی گیاه زعفران توسط رستمی و همکاران (۱۳۹۳) نیز غلظت کلروفیل‌ها تحت اثر شوری با آب آبیاری قرار نگرفت و میزان کلروفیل a و b تا غلظت ۶۰ میلی‌مولار افزایش و پس از آن کاهش یافت. کاهش سطح کلروفیل در گیاهانی که تحت شوری هستند به‌عنوان یک علامت معمول تنش اکسیداتیو در نظر گرفته شده است (Smirnoff and Cumbes, 1989) و به‌دلیل مهار سنتز کلروفیل همراه با فعال‌شدن تخریب آن توسط آنزیم کلروفیلاز رخ می‌دهد (Santos, 2004). کاهش محتوای کلروفیل درنتیجه سنتز آهسته یا تجزیه سریع، نشان داد که یک مکانیسم محافظت‌کننده نوری وجود دارد که از طریق کاهش محتوای کلروفیل جذب نور را کاهش می‌دهد (Elsheery and Cao, 2008). هم‌چنین کاهش ظرفیت فتوسنتزی گیاه زعفران می‌تواند ناشی از کاهش محتوی نسبی آب برگ‌ها باشد (نقی‌زاده و همکاران ۱۳۹۳). کاهش محتوی نسبی آب در برگ‌ها می‌تواند با کاهش آب سلول، سرعت واکنش‌ها را نیز کاهش دهد و از طرف دیگر موجب بسته‌شدن روزنه‌ها و کاهش سرعت فتوسنتز شود. همچنین کاهش محتوی آب در گیاه می‌تواند مانع از انتقال سریع مواد فتوسنتزی به بنه شده و لذا این موضوع به‌صورت بازخورد منفی عمل کرده و ظرفیت فتوسنتزی را کاهش داده باشد. یکی دیگر از دلایل احتمـالی ایـن امر رقابت و پیشـی‌گـرفتن گلوتـامین کینـاز (آنـزیم کاتـالیزکننـده پرولین) به هنگام تنش شوری از آنـزیم گلوتامـات لیگـاز (اولـین آنزیم مسیر بیوسنتز کلروفیل) است که موجب می‌شود تا پیش‌ساز گلوتامات (پیش‌ساز مسیر سـنتز کلروفیـل و پـرولین) بیشـتر بـه مصرف پرولین برسد و بنابراین بیوسنتز کلروفیـل بـا محـدودیت مواجه می‌شود (Bybordi *et al*., 2010؛ رستمی و همکاران، ۱۳۹۳).

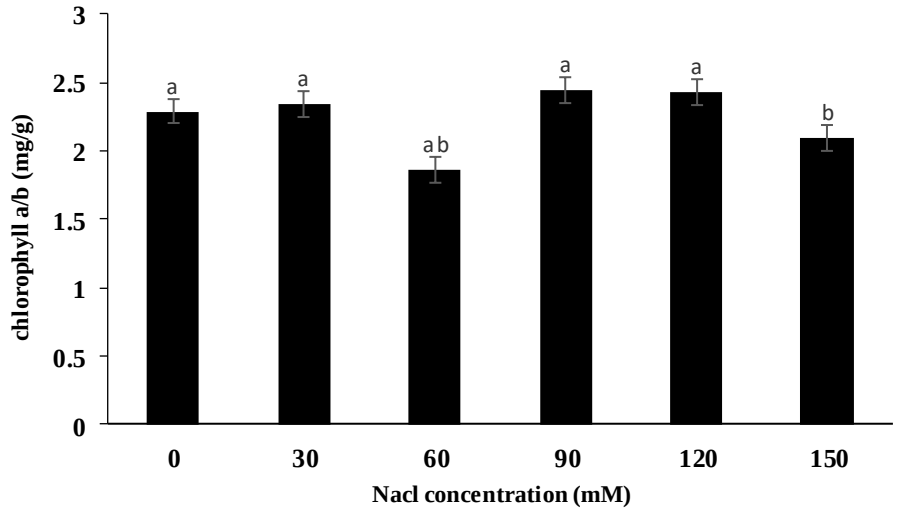
اثر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان کاروتنوئید موجود در برگ زعفران در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (شکل ۳). با افزایش شدت تنش شوری، میزان کاروتنوئید موجود در برگ افزایش یافت به‌طوری‌که کمترین آن در تیمار شاهد به میزان ۸/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و بیشترین مقدار آن در تیمار ۶۰ میلی‌مولار به میزان ۱۰/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مشاهده شد که ۲۷ درصد نسبت به شاهد افزایش نشان داد که مشابه با نتایج به‌دست‌آمده توسط رستمی و همکاران (۱۳۹۳) بود که میزان کاروتنوئید¬ها در شوری ۱۰ دسی‌زیمنس بیشترین افزایش را نشان داد. محققان فوق چند علت عمده برای این افزایش مطرح کردند که از جمله خشکی فیزیولوژیکی حاصل از تنش شوری که ممکن است موجب محدودیت در جذب آب شـود و از سوی دیگر افزایش جذب نمک توسـط گیـاه، سـبب اخـتلال در کارکرد سلولی و آسیب رسـاندن بـه فرآینـدهای فیزیولـوژیکی از قبیـل فتوسـنتز و تـنفس می‌شود (Leopold and Willing, 1984). همچنین علت دیگر آن

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]



شکل ۱- اثر سطوح مختلف تنش شوری بر محتوای کلروفیل. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

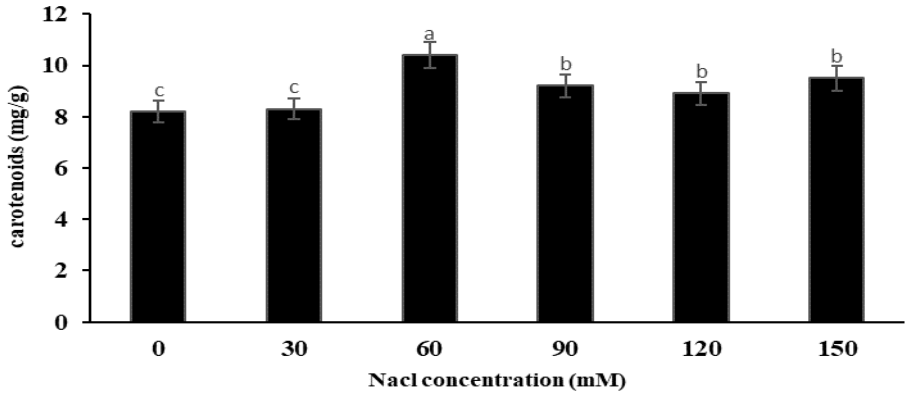


شکل ۲- اثر سطوح مختلف تنش شوری بر نسبت کلروفیل a/b. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

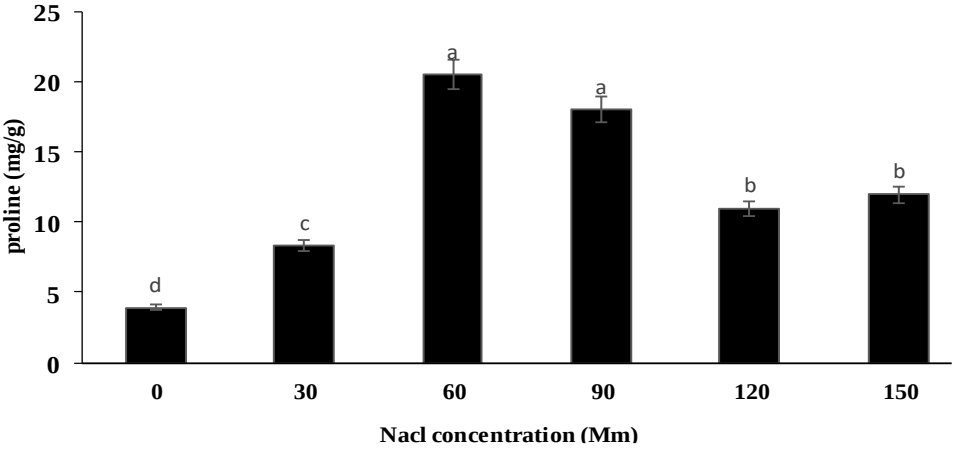
می‌تواند این باشد که تنش شوری موجب تجزیه بتاکاروتن شده و در چرخه گزانتوفیل‌ها فرآیند د-اپوکسیداسیون موجب افزایش مقدار زآگزانتین می‌شود. این فرآیندها در حفاظت از بازدارندگی نوری مؤثر و با تأثیر مثبت روی سیالیت غشاهای تیلاکوئیدی موجب کاهش در نفوذپذیری غشاها در برابر ROS تیلاکوئیدها شده و افزایش کاروتنوئیدها توان مقابله با شرایط تنشی در گیاه را افزایش می‌دهد (Misra *et al.*, 2006).

اثر شوری بر محتوای پرولین: اثر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان پرولین برگ زعفران در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (شکل ۴). کمترین میزان پرولین برگ (۳/۹ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار شاهد مشاهده شد و با افزایش تنش شوری میزان پرولین به‌تدریج افزایش یافت و بیشترین میزان (۲۰/۵ میلی‌گرم بر گرم) آن ۶۰ میلی‌مولار بود و پس از آن کاهش در میزان پرولین مشاهده شد. Al-saady و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیق مشابهی بر روی گیاه شنبلیله مشاهده کردند که میزان پرولین با افزایش تنش شوری تا ۸۰

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]



شکل ۳- اثر سطوح مختلف شوری بر محتوای کاروتنوئید. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۴- اثر سطوح مختلف شوری بر محتوای پرولین. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می-باشد.

میلی‌مولار افزایش یافت و پس از آن کاهش پیدا کرد. هم‌چنین در آزمایشی که بر روی گیاه برنج صورت گرفت مشاهده شد که میزان پرولین تا ۵۰ میلی‌مولار نمک افرایش یافت و با افزایش شوری به میزان ۱۰۰ میلی‌مولار کاهش پیدا کرد (Lutts *et al.*, 1999). رستمی و همکاران (۱۳۹۳) نیز نتایج مشابهی را بر روی گیاه زعفران مشاهده کردند به‌طوری‌که میزان پرولین در غلظت ۴۰ میلی‌مولار به بیشترین حد خود رسید و پس از آن کاهش پیدا کرد. در آزمایش کنونی نیز پس از حداکثر افزایش در ۶۰ میلی‌مولار شوری، میزان پرولین کاهش یافت و این یافته‌ها نشان می‌دهد که یک سطح شوری بحرانی وجود دارد. همان‌طور که در چغندرقند ، گندم و گونه‌های دیگر یافت می‌شود (Mari *et al.*, 2018)، پرولین فقط به آرامی جمع می‌شود تا زمانی که گیاه به سطح شوری بحرانی برسد .بیش از این غلظت نمک، منجر به واکنش بیشتر و تجمع پرولین در مقادیر بسیار زیاد می‌شود. بنابراین، زعفران در غلظت ۳۰ میلی¬مولار NaCl به سطح شوری بحرانی خود نرسیده است و ۶۰ میلی‌مولار غلظت نمک به‌عنوان سطح شوری بحرانی در مطالعه ما در نظر گرفته شده است. این توضیح با یافته‌های

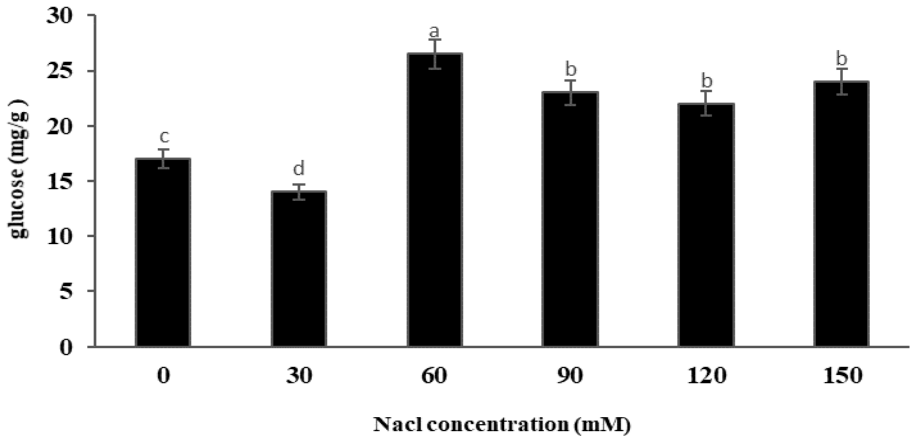
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

توماس و هاردی نیز سازگار است (Hartzendorf and Rolletschek, 2001) افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش شدید می‌تواند از پروتئین‌ها در برابر یون‌های نمک محافظت کرده و از تجزیه پروتئین‌ها، غشاها و ساختارهای زیر سلولی جلوگیری کند. مقادیر بیشتر NaCl بیشتر از اینکه تعادل بین هموستازی یونی ایجاد کند، در جهت ایجاد تنش عمل می‌کند (Munns and Tester, 2008). از طرفی با توجه به نتایج به‌دست‌آمده روند افزایش غلظت پرولین در پاسخ به تنش شوری به‌صورت خطی نبود و با افزایش شدت تنش (۹۰ میلی‌مولار) به‌تدریج واکنش تدافعی گیاه کاهش یافت که این امر ممکن است به این دلیل باشد که اعمال غلظت‌های بالای سطح بحرانی شوری می‌تواند متابولیسم گیاه را دچار اختلال کند و گیاه نتواند سازوکار دفاعی مناسبی از خود نشان دهد زیرا هر گونه گیاهی با توجه به تحملی که نسبت به یک تنش دارد تا سطح مشخصی پاسخ‌های مقاومتی ایجاد می‌کند و چنانچه شدت تنش از سطح مشخصی بالاتر رفت، پاسخ‌های مقاومتی گیاه نیز ضعیف‌تر می‌شود (رستمی و همکاران، ۱۳۹۳). علت دیگر می‌تواند به‌دلیل استفاده بیشتر از پرولین نسبت به سنتز آن باشد که ناشی از تنش شوری است. افزایش تجمع پرولین تحت تنش نمک ممکن است به‌دلیل تجزیه پروتئین غنی از پرولین یا سنتز جدید پرولین باشد (Tewari and Singh, 1991). پرولین بعد از تنش به سرعت شکسته می‌شود که ممکن است عامل‌هایی را فراهم کند که موجب حمایت از چرخه فسفوریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری شود و انرژی (ATP) لازم برای برگشت از حالت تنش را فراهم کند (Satoh *et al*., 2002).

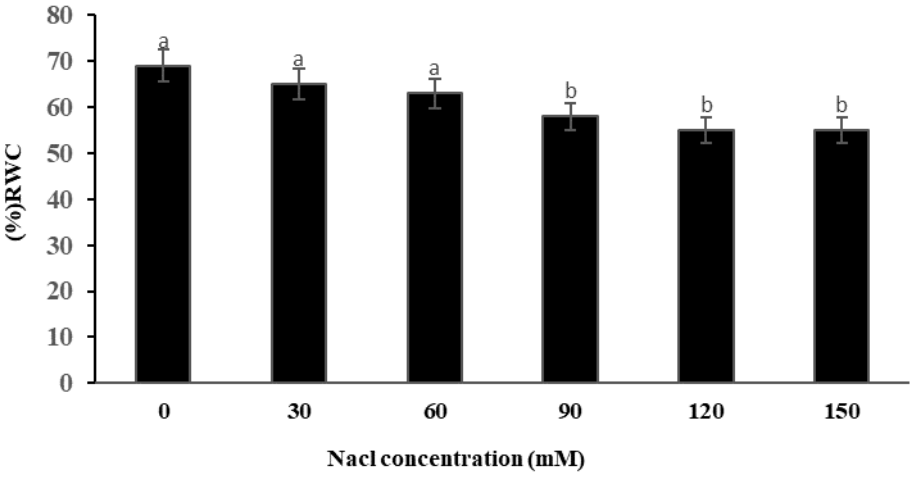
اثر سطوح مختلف شوری بر محتوای قندها: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که سطوح مختلف تنش شوری تأثیر معنی‌داری بر میزان گلوکز موجود در زعفران داشت ($P\leq0.05$) (شکل ۵). براساس نتایج موجود در نمودار میزان گلوکز در تمام تیمارها به غیر از تیمار ۳۰ میلی‌مولار، نسبت به شاهد افزایش نشان داد و بیشترین میزان آن در سطح تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار مشاهده شد. افزایش تجمع قندها در بسیاری از گونه‌های گیاهی در معرض شوری گزارش شده است (Dubey and Singh, 1999; Flowers, 2004; Pattanagul and Thitisaksakul, 2008). به گفته Stoop و Pharr (۱۹۹۴) به نظر می‌رسد افزایش استخر گلوکز ناشی از شوری در دم برگ‌های کرفس، به‌دلیل کاهش تقاضای کربن باشد. اعتقاد بر این است که تحت تنش شوری، تجمع قندها به‌همراه سایر املاح سازگار به تنظیم اسمزی کمک می‌کند (Dubey and Singh, 1999) که به گیاهان این امکان را می‌دهد که ذخیره را برای حمایت از متابولیسم پایه در محیط تحت تنش به حداکثر برسانند (Hurry *et al*., 1995). بیان روبیسکو را می‌توان با مقدار بیش از حد قندهای سیتوپلاسم سرکوب کرد (Sawada *et al*., 1992; Koch, 1996). بنابراین، کاهش فتوسنتز و تغییرات متابولیکی توسط تجمع قند می‌تواند به حساسیت نمک کمک کند که رشد رقم حساس به نمک را در شرایط تنش نمکی محدود می‌کند. در گیاه زعفران نیز رستمی و همکاران (۱۳۹۳) بیان داشتند که افزایش غلظت قندهای محلول می‌تواند یک پاسخ نسبت به تغییرات میزان محتوای نسبی آب (RWC) و پتانسیل آب برگ‌ها ارزیابی شود، زیرا افزایش در غلظت ساکارز و سطح قندهای محلول تحت شرایط تنش شوری به سبب بهبود وضعیت آب برگ در القای تحمل به شوری نقشی مهم بازی می‌نماید و می‌تواند از کاهش شدید میزان پتانسیل آب و همچنین محتوی نسبی آب برگ جلوگیری کند. آغاسی و همکاران (۱۳۹۰) نیز گزارش کردند قندهای محلول از اسمولیت‌های سازگار هستند که در شرایط تنش شوری تجمع یافته و به‌عنوان عوامل حفاظتی در گیاه گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*) عمل می‌کنند.

اثر سطوح مختلف تنش شوری بر محتوی نسبی آب برگ زعفران: اثر تیمارهای آزمایشی بر محتوی نسبی آب برگ زعفران در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (شکل ۶). افزایش میزان شوری موجب شد که محتوی نسبی آب برگ کاهش یابد و بیشترین کاهش (۲۰ درصد) در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار نمک مشاهده شد. مطالعات متعدد نشان داده است که تنش شوری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]



شکل ۵- اثر سطوح مختلف شوری بر محتوای قندها. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.



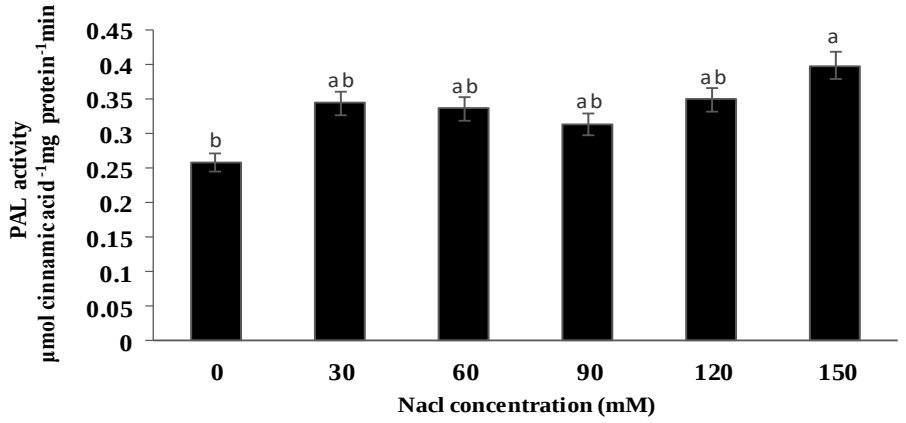
شکل ۶- اثر سطوح مختلف تنش شوری بر محتوی آب زعفران. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

موجب کاهش محتوای آب نسبی می‌شود (Munns *et al.*, 2006). وضعیت آب عامل اصلی تأثیرگذار در رشد و نمو گیاهان است. کاهش پتانسیل آب خارجی موجب جمع‌شدن خالص املاح در سلول‌ها می‌شود که پتانسیل اسمزی سلول را برای حفظ فشار تورژسانس کاهش می‌دهد (Navarro *et al.*, 2003). در پژوهش حاضر، مشاهده شد که میزان نسبی آب در برگ‌های گیاه زعفران با افزایش شوری به سطوح منفی‌تر تنظیم می‌شود که این یک واکنش معمول به شوری است و مشابه آن برای سایر گونه‌ها گزارش شده است (Navarro *et al.*, 2003; Suarez and Medina, 2008).

کاهش محتوی نسبی آب در برگ‌های تیمار داده‌شده با غلظت‌های مختلف شوری در زعفران می‌تواند ناشی از کاهش پتانسیل آب برگ باشد. در واقع، کاهش نسبی آب برگ‌ها نشان‌دهنده ظرفیت کمتر جذب آب است که این ویژگی به‌دلیل نحوه رشد زعفران است زیرا این گیاه در طول فصل سرد به رشد خود ادامه می‌دهد و به‌منظور جلوگیری از خسارت تنش یخبندان، محتوی نسبی آب خود را در سطح پایینی حفظ می‌کند (Avarseji *et al.*, 2013).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

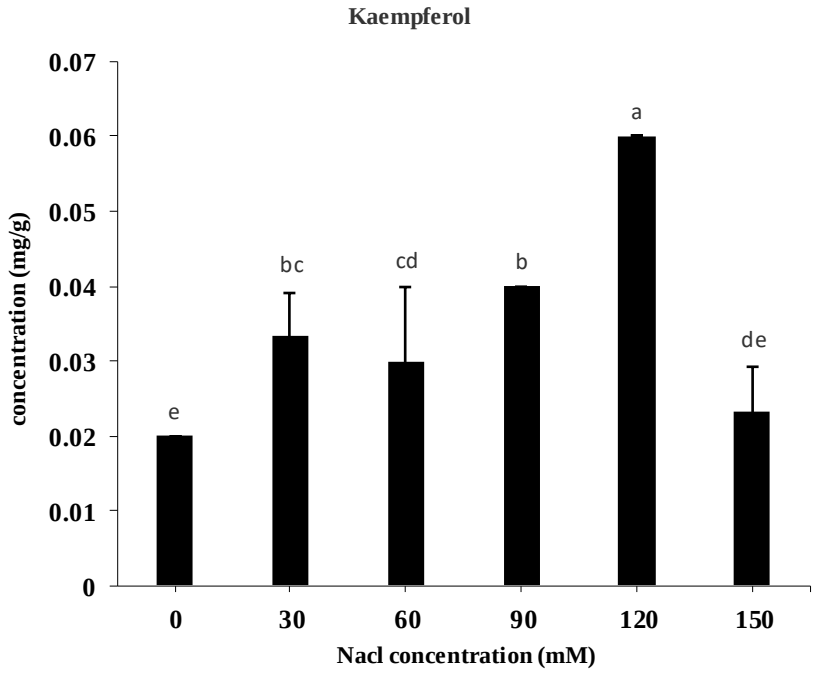


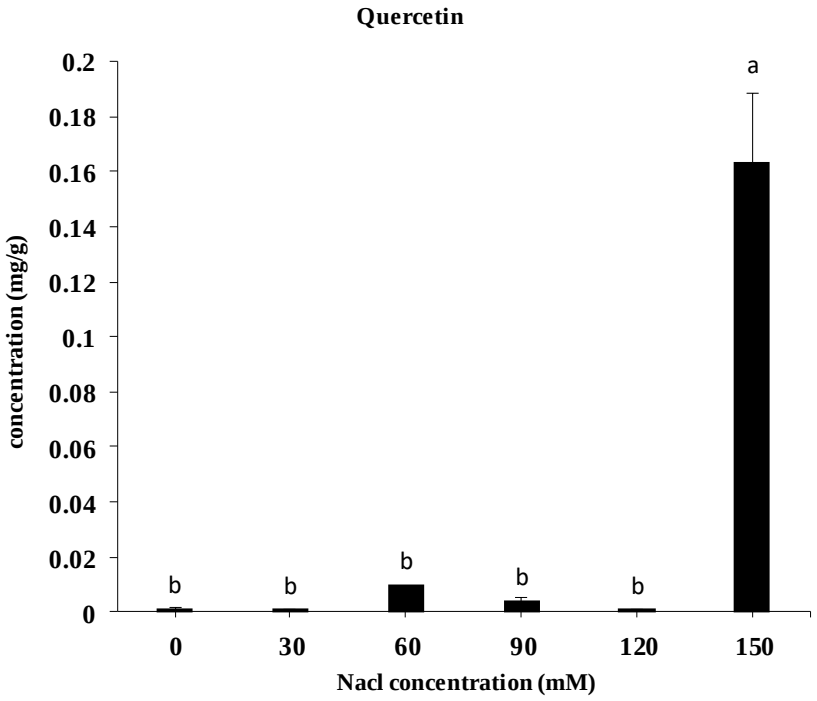
شکل ۷- تأثیر غلظت‌های مختلف شوری بر فعالیت آنزیم PAL در برگ زعفران. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم PAL: غلظت‌های مختلف شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم PAL نسبت به شاهد گردید (شکل ۷)، هر چند این افزایش در بین گروه‌های تیماری در سطح پنج درصد معنی‌دار نبود و فقط تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد ($P\leq0.05$). در آزمایشی مشابه، Gao و همکاران (۲۰۰۸) فعالیت PAL را در لپه‌ها، محور زیرلپه و ریشه‌چه گیاهان *Jatropha curcas* L.، تحت غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl بررسی کردند که نتایج نشان داد با افزایش غلظت شوری فعالیت PAL به‌تدریج تا غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار افزایش می‌یابد و این افزایش در محور زیرلپه نسبت به دو اندام دیگر بیشتر بود و در غلظت ۲۰۰ به حداکثر خود رسید که این افزایش می‌تواند پاسخی به آسیب سلولی ناشی از غلظت‌های بالاتر NaCl باشد؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد که در گیاهچه *Jatropha curcas* L.، افزایش فعالیت PAL می‌تواند به پیامد این آنزیم در پاسخ گیاه به تنش شوری مربوط باشد. آن‌ها همچنین نشان دادند فعالیت PAL قویاً وابسته به اندام گیاهان و غلظت NaCl است. افزایش فعالیت PAL ممکن است به‌عنوان پاسخ به آسیب سلولی تحریک‌شده توسط غلظت‌های بالاتر NaCl رخ دهد. ظاهراً در گیاه زعفران، افزایش فعالیت PAL ممکن است در راستای نقش این آنزیم در پاسخ گیاه به تنش نمکی باشد. به‌نظر می‌رسد کنترل فعالیت PAL یکی از عناصر مهم در تنظیم این مسیر باشد. همچنین فعالیت افرایش یافته PAL با تجمع ترکیبات فنیل پروپانوئید در بافت‌های چندین گونه گیاهی در ارتباط است. در پژوهشی دیگر که توسط Valifard و همکاران (۲۰۱۵) بر روی دو گونه گیاه دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) صورت گرفت فعالیت آنزیم پس از تیمار شوری افزایش یافت و این افزایش با افزایش تجمع ترکیبات فنلی در این گیاهان همراه بود. در این تحقیق نیز افزایش فعالیت آنزیم PAL با افزایش دو ترکیب فنلی کامفرول و کوئرستین همراه بود. بنابراین، با توجه به اثرات ثابت‌شده ضدسرطانی و آنتی‌اکسیدانی این دو ترکیب فنلی در گیاه زعفران، افزایش فعالیت PAL که یک آنزیمی کلیدی در مسیر بیوسنتز این دو ترکیب است، دور از انتظار نیست.

تأثیر تنش شوری بر میزان کامفرول و کوئرستین: غلظت‌های مختلف شوری تأثیر معنی‌داری ($P\leq0.05$) بر میزان کامفرول و کوئرستین داشت (شکل ۸). میزان کوئرستین در تیمارهای ۶۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار به نسبت به شاهد و سایر تیمارها افزایش معنی‌دار نشان داد ($P\leq0.05$). میزان کامفرول

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]





شکل ۸- مقایسه میزان کامفرول و کوئرستین در زعفران به روش HPLC. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد آزمون دانکن می‌باشد.

نیز به‌غیر از شوری ۱۵۰ میلی¬مولار، در بقیه تیمارها با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نشان داد ($P\leq0.05$) و بیشترین افزایش در تیمارهای ۹۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار نمک مشاهده شد.

فلاونوئیدها خانواده بزرگی از ترکیبات پلی‌فنلی هستند که

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

توسط گیاهان سنتز می‌شوند و از لحاظ ساختاری از ماده فلاونون مشتق می‌شوند. بسیاری از مطالعات نشان داده که فلاونوئیدها مانند روتین، کامفرول، کوئرستین، آپیژنین و غیره به‌دلیل خواص ضدالتهاب، خواص ضدحساسیت، ضدترومبیت، محافظت‌کننده کبدی، ضداسپاسم و ضدسرطان آن بسیار مشهور هستند (Maheshkumar and Kirti, 2012). در مطالعات قبلی گزارش شده بود که فلاونوئیدها ترجیحاً در گیاهانی که تحت شرایط تنش شدید، از جمله تنش نمکی قرار دارند، تجمع می‌یابند تا ROS را از بین ببرند (Agati *et al.*, 2011, 2012) و به همین دلیل بیوسنتز چنین ترکیباتی عموماً در گیاهان در معرض شوری، تحریک می‌شود (Navarro *et al.*, 2006). هر چند تجمع ترکیبات فنلی تحت تنش شوری ممکن است در گونه‌های گیاهی مختلف متفاوت باشد این بدان معنی است که تنش نمک یک روش مؤثر برای تقویت تجمع فلاونوئیدها در گیاهان است که ممکن است کیفیت گیاهان دارویی مانند زعفران را بهبود بخشد. Shao و همکاران (۲۰۱۵) گزارش دادند که تیمار نمک متوسط (میلی‌مولار ۱۴۳≥) با القای تجمع ترکیبات گیاهی فعال زیستی، کیفیت خواص دارویی گیاه *Andrographis paniculata* را بهبود می‌بخشد. در مطالعه‌ای که توسط Xu و همکاران (۲۰۲۰) صورت گرفت، سطح کامفرول و کوئرستین در نهال‌های *Apocynum venetum* تحت تنش نمک، به‌طور خاص در ۲۰۰ میلی‌مولار NaCl افزایش پیدا کرد درحالی‌که سطح سایر فلاونوئیدها مانند هیپروزاید، ایزوکوئرستین و دی‌هیدرو کوئرستین همراه با مقدار کل فلاونوئیدها، با تنش نمک کاهش یافت. آن‌ها نتیجه گرفتند که غلظت بالای نمک موجب تحریک تجمع ترکیبات با خواص دارویی می‌شود. این ترکیبات دارویی به‌طور انتخابی تحت تنش نمک انباشته می‌شوند از سوی دیگر Rossi و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند محتوای کامفرول و کوئرستین در برگ‌های زیتون رقم مقاوم (Frantoio) در بالاترین تیمار NaCl (۱۲۰ میلی‌مولار) افزایش یافت. بنابراین نتیجه گرفتند که رقم متحمل به نمک Frantoio از طریق افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های حساس‌تر مانند برگ، با سمیت ناشی از شوری مقابله می‌کند. در تحقیق حاضر نیز در برگ‌های زعفران میزان کامفرول در غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار و میزان کوئرستین در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار نمک به‌طور مشابه با غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار نمک در رقم متحمل Frantoio افزایش نشان داد. هر چند تاکنون در گیاه زعفران مانند سایر گیاهان زراعی، آستانه دقیق تحمل به شوری و یا ارقام مقاوم و حساس به شوری شناسایی و معرفی نشده‌اند اما، با توجه به نتایج فوق، می‌توان احتمال داد که زعفران زراعی (*Crocus sativus* L.) یک رقم متحمل به نمک باشد. در واقع، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند ترکیبات فنلی معمولاً در گونه‌هایی که به‌خوبی با محیط‌های شور تطبیق می‌شوند یا گونه‌ها و ژنوتیپ‌هایی که مقاوم به نمک هستند افزایش یافته و یا در غلظت‌های بالا حضور دارند (Jabeen and Ahmad, 2013; Wani *et al.*, 2013; Reginato *et al.*, 2014). همچنین مطرح شده است که تجمع ترکیبات فلاونوئیدی در پاسخ به تیمار نمک علیرغم تغییر در میزان ترکیبات فرعی دیگر، پیش از هر چیز توسط افزایش در سطوح سه ترکیب اصلی: kaempferol-3-o-β-glucopyranoside، Quercetin و Quercetin -3-o-β-glucopyranoside ایجاد می‌شود و افزایش سطوح این سه ترکیب منعکس‌کننده تغییرات در محتوای فنل کل و ترکیبات فلاونوئیدی است (Hassanein *et al.*, 2016). درنهایت اینکه، شواهد در حال افزایش نشان می‌دهد که فلاونوئیدها در گیاهان عالی این پتانسیل را دارند که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در پاسخ به تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری خدمت کنند (Winkel-Shirley, 2002; Babu *et al.*, 2003; Tattini *et al.*, 2006; Agati *et al.*, 2011, 2012). بنابراین افزایش فلاونوئیدها در اثر تنش‌های غیرزیستی موجب افزایش سطوح حفاظتی گیاه در مقابل تنش‌ها می‌گردد (Dixon and Paiva, 1995; Grace and Logan, 2000).

نتیجه‌گیری

با توجه به داده‌های آزمایش و نتایج آن به‌نظر می‌رسد آستانه تحمل گیاه زعفران در محدوده ۶۰ تا ۹۰ میلی‌مولار است و گیاه زعفران برای مقابله با سطوح بالای نمک از مکانیسم‌های

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

تحمل به شوری از جمله تنظیم اسمزی از طریق تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول و نیز افزایش میزان رنگیزه‌های کاروتنوئیدی استفاده می‌کند، از سوی دیگر فعالیت آنزیم PAL و میزان تجمع ترکیبات فنیل پروپانوئیدی مانند کامفرول و کوئرستین در غلظت‌های بالای نمک در گیاه زعفران افزایش می‌یابد. بنابراین می‌توان گفت سطوح عملکردی ترکیباتی مانند کامفرول و کوئرستین به‌طور فعال در تحمل به تنش شوری در گیاهان نقش دارد و افزایش محتوای این ترکیبات در گیاه زعفران زراعی می‌تواند نشان‌دهنده تحمل این گیاه به نمک باشد زیرا بر طبق گزارشات پیشین، افزایش این ترکیبات در پاسخ به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است که به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی در گیاهان مقاوم به شوری صورت می‌گیرد.

تقدیر و تشکر

از دانشگاه پیام‌نور تهران و دانشگاه شهید بهشتی تهران بابت حمایت از این تحقیق تقدیر و تشکر داریم.

منابع

آغاسی یزدی، ن.، عباسپور، ح. و محمودزاده، ه. (۱۳۹۰) بررسی اثر تنش شوری بر جوانه‌زنی و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis*). دومین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر، مشهد، ایران.

جوادی‌پور، ز.، موحدی دهنوی، م. و بلوچی، ح. (۱۳۹۲) ارزیابی پارامترهای فتوسنتزی، محتوا و فلورسانس کلروفیل برگ ارقام گلرنگ تحت تنش شوری. نشریه الکترونیک تولید گیاهان زراعی ۲: ۵۶–۳۵.

رستمی، م.، محمد پرست، ب. و گلفام، ر. (۱۳۹۳) اثر سطوح مختلف تنش شوری بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.). نشریه زراعت و فناوری زعفران ۳: ۱۹۳–۱۷۹.

سبزواری، ع. (۱۳۷۴) زعفران طلای سرخ کویر، نشریه بانک کشاورزی.

صالحی، م.، کوچکی، ع. و نصیری محلاتی، م. (۱۳۸۳) میزان نیتروژن و کلروفیل برگ به‌عنوان شاخصی از تنش شوری در گندم. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۱: ۳۳–۲۵.

کافی، م.، راشد محصل، م. ح.، کوچکی، ع. و ملافیابی، ع. (۱۳۸۱) زعفران، فناوری تولید و فراوری، انتشارات زبان و ادب، مشهد.

کوچکی، ع.، کرباسی، ع. و سیدی، س. م. (۱۳۹۵) بررسی برخی دلایل کاهش عملکرد زعفران در طی ۳۰ سال اخیر (مقاله مروری). نشریه زراعت و فناوری زعفران ۵: ۱۲۲–۱۰۷.

نقی‌زاده، م.، غلامی شبستری، م.، و شمس‌الدین، م. (۱۳۹۳) بررسی برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک سه توده بومی زعفران. (*Crocus sativus* L.) ایران به تنش شوری. نشریه زراعت و فناوری زعفران ۳: ۱۳۶–۱۲۷.

هاشمی، ع. و عمادی، م. (۱۳۹۴) اثرات تنش شوری در گیاهان. همایش بین‌المللی پژوهش‌های کاربردی در کشاورزی، تهران، ایران.

Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S. and Tattini, M. (2012) Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. Plant Science 196: 67-76.

Agati, G., Biricolti, S., Guidi, L., Ferrini, F., Fini, A. and Tattini, M. (2011) The biosynthesis of flavonoids is enhanced similarly by UV radiation and root zone salinity in vulgare leaves. Journal of Plant Physiology 168: 204-212.

Agricultural Statistics, (2015) Department of Planning and Economy (from 2002 to 2015). http://www.maj.ir/. [in Persian].

Al-Saady, N. A., Khan, A. J., Rajesh, L. and Esechie, H. A. (2012) Effect of salt stress on germination, proline metabolism and chlorophyll content of fenugreek (*Trigonella foenum gracium* L.). Journal of Plant Sciences 7: 176.

Avarseji, Z., Kafi, M., Sabet Teimouri, M. and Orooji, K. (2013) Investigation of salinity stress and potassium levels on morphophysiological characteristics of saffron. Journal of Plant Nutrition 36: 299-310.

Babu, T. S., Akhtar, T. A., Lampi, M. A., Tripuranthakam, S., Dixon, D. G. and Greenberg, B. M. (2003) Similar stress responses are elicited by copper and ultraviolet radiation in the aquatic plant *Lemna gibba*: Implication of reactive oxygen species as common signals. Plant and Cell Physiology 44: 1320-1329.

Bate, N. J., Orr, J., Ni, W., Meromi, A., Nadler-Hassar, T., Doerner, P. W. and Elkind, Y. (1994) Quantitative

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

relationship between phenylalanine ammonia-lyase levels and phenylpropanoid accumulation in transgenic tobacco identifies a rate-determining step in natural product synthesis. Proceedings of the National Academy of Sciences 91: 7608-7612.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil 39: 205-207.

Behdani, M. A. (2011) SAFFRON (*Crocus sativuc* L.). In: Future Crops. (ed. Peter, P. K. V.) Pp. 203-208. Daya Publishing House, New Delhi.

Bybordi, A., Tabatabaei, S. J. and Ahmadev, A. (2010) Effect of salinity on the growth and peroxidase and IAA oxidase activities in canola. Journal Food Agriculture Environment 8: 109-112.

Cameron, R. W. F., Harrison-Murray, R. S. and Scott, M. A. (1999) The use of controlled water stress to manipulate growth of container-grown Rhododendron cv. Hoppy. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 74: 161-169.

Carmona, M., Sanchez, A. M., Ferreres, F., Zalacain, A., Tomas-Barberan, F. and Alonso, G. L. (2007) Identification of the flavonoid fraction in saffron spice by LC/DAD/MS/MS: Comparative study of samples from different geographical origins. Food Chemistry 100: 445-450.

Dixon, R. A. and Paiva, N. L. (1995) Stress-induced phenylpropanoid metabolism. The Plant Cell 7: 1085.

Dubey, R. S. and Singh, A. K. (1999) Salinity induces accumulation of soluble sugars and alters the activity of sugar metabolising enzymes in rice plants. Biologia Plantarum 42: 233-239.

Elsheery, N. I. and Cao, K. F. (2008) Gas exchange, chlorophyll fluorescence, and osmotic adjustment in two mango cultivars under drought stress. Acta Physiologiae Plantarum 30: 769-777.

Flowers, T. J. (2004) Improving crop salt tolerance. Journal of Experimental Botany 55: 307-319.

Gao, S., Ouyang, C., Wang, S., Xu, Y., Tang, L. and Chen, F. (2008) Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. Plant Soil Environment 54: 374-381.

Grace, S. C. and Logan, B. A. (2000) Energy dissipation and radical scavenging by the plant phenylpropanoid pathway. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences 355: 1499-1510.

Hadizadeh, F., Khalili, N., Hosseinzadeh, H. and Khair-Aldine, R. (2003) Kaempferol from saffron petals. Chemistry Preprint Archive 2003: 234-239.

Hartzendorf, T. and Rolletschek, H. (2001) Effects of NaCl-salinity on amino acid and carbohydrate contents of *Phragmites australis*. Aquatic Botany 69: 195-208.

Hassanein, R. A., Marzouk, M. M., El-Khawas, S. A. and Soliman, W. M. (2016) Effect of sea water and mannitol on total phenolics, flavonoid constituents and antioxidant activity of Kaff Maryam (*Anastatica hierochuntica* L.). Open Access Original Research. The Egyptian Journal of Experimental Biology (Botany) 12: 247-254.

Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125: 189-198.

Hurry, V. M., Strand, A., Tobiaeson, M., Gardestrom, P. and Oquist, G. (1995) Cold hardening of spring and winter wheat and rape results in differential effects on growth, carbon metabolism, and carbohydrate content. Plant Physiology 109: 697-706.

Jabeen, N. and Ahmad, R. (2013) The activity of antioxidant enzymes in response to salt stress in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) seedlings raised from seed treated with chitosan. Journal of the Science of Food and Agriculture 93: 1699-1705.

Kim, N. S., Kwon, S. J., Cuong, D. M., Jeon, J., Park, J. S. and Park, S. U. (2019) Accumulation of phenylpropanoids in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) under salt stress. Agronomy 9: 739.

Koch, K. E. (1996) Carbohydrate-modulated gene expression in plants. Annual Review of Plant Biology 47: 509-540.

Kochert, G. (1978) Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. Handbook of Phycological Methods, Phycological and Biochemical Methods 95.

Leopold, A. C. and Willing, R. P. (1984) Evidence for toxicity effects of salt on membranes. In: Salinity Tolerance in Plants (eds. Staples, R. and Toenniessen, G. H.) Pp. 67-76. New York, Wiley.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.

Lutts, S., Majerus, V. and Kinet, J. (1999) NaCl effects on proline metabolism in rice (*Oryza sativa*) seedlings. Physiologia Plantarum 105: 450-458.

Maheshkumar, S. K. and Kirti, S. L. (2012) Determination of total flavonoids content and quantification of rutin in *Momordica tuberosa* (Roxb) Cogn. fruits by RP-HPLC. Asian Journal of Traditional Medicines 7: 222-224.

Mari, A. H., Rajpar, I., Tunio, S. and Ahmad, S. (2018) Ions accumulation, proline content and juice quality of sugar beet genotypes as affected by water salinity. Journal of Animal and Plant Sciences 28.

Miller, G. A. D., Suzuki, N., Ciftci-yilmaz, S. and Mittler, R. O. N. (2010) Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. Plant, Cell and Environment 33: 453-467.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

Misra, A. N., Latowski, D. and Strzalka, K. (2006) The xanthophyll cycle activity in kidney bean and cabbage leaves under salinity stress. Russian Journal of Plant Physiology 53: 102-109.

Molina, R. V., Valero, M. and Navarro, Y. (2005) Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). Scientia Horticulturae 103: 361-379.

Munns, R., James, R. A. and Lauchli, A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany 57: 1025-1043.

Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.

Navarro, J. M., Flores, P., Garrido, C. and Martinez, V. (2006) Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. Food Chemistry 96: 66-73.

Navarro, J. M., Garrido, C., Martinez, V. and Carvajal, M. (2003) Water relations and xylem transport of nutrients in pepper plants grown under two different salts stress regimes. Plant Growth Regulation 41: 237-245.

Oxborough, K. (2004) Imaging of chlorophyll a fluorescence: Theoretical and practical aspects of an emerging technique for the monitoring of photosynthetic performance. Journal of Experimental Botany 55: 1195-1205.

Pastori, G. M. and Foyer, C. H. (2002) Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of “redox” and abscisic acid-mediated controls. Plant Physiology 129: 460-468.

Pattanagul, W. and Thitisaksakul, M. (2008) Effect of salinity stress on growth and carbohydrate metabolism in three rice (*Oryza sativa* L.*)* cultivars differing in salinity tolerance. Indian Journal of Experimental Biology (IJEB) 46: 736-42.

Rajaei, S. M., Niknam, V., Seyedi, S. M., Ebrahimzadeh, H. and Razavi, K. (2009) Contractile roots are the most sensitive organ in *Crocus sativus* to salt stress. Biologia Plantarum 53: 523-529.

Ramawat, K. G. (2007) Biotechnology: Secondary Metabolites. CRC Press.

Reginato, M. A., Castagna, A., Furlan, A., Castro, S., Ranieri, A. and Luna, V. (2014) Physiological responses of a halophytic shrub to salt stress by Na_2SO_4 and NaCl: Oxidative damage and the role of polyphenols in antioxidant protection. AoB Plants 6: 1-13.

Rossi, L., Borghi, M., Francini, A., Xie, D. Y. and Sebastiani, L. (2014) Metabolic profilingand gene expression analyses in salt-stressed olive trees (*Olea europaea* L.) cultivars ‘leccino’and ‘frantoio.’ International Conference for Olive Tree and Olive Products. Amman.

Santos, C. V. (2004) Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. Scientia Horticulturae 103: 93-99.

Satoh, R., Nakashima, K., Seki, M., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2002)ACTCAT, a novel cis-acting element for proline and hypo osmolarity-responsive expression of the ProDHgene encoding proline dehydrogenase in Arabidopsis. Plant Physiology 130: 709-719.

Sawada, S., Usuda, H. and Tsukui, T. (1992) Participation of inorganic orthophosphate in regulation of the ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase activity in response to changes in the photosynthetic source-sink balance. Plant and Cell Physiology 33: 943-949.

Shao, Y. H., Gao, J. L., Wu, X. W., Li, Q., Wang, J. G., Ding, P. and Lai, X. P. (2015) Effect of salt treatment on growth, isoenzymes and metabolites of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees. Acta Physiologiae Plantarum 37: 35.

Serrano-Diaz, J., Sanchez, A. M., Martinez-Tome, M., Winterhalter, P. and Alonso, G. L. (2014) Flavonoid determination in the quality control of floral bioresidues from *Crocus sativus* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry 62: 3125-3133.

Smirnoff, N. and Cumbes, Q. J. (1989) Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. Phytochemistry 28: 1057-1060.

Stoop, J. M. H. and Pharr, D. M. (1994) Mannitol metabolism in celery stressed by excess macronutrients. Plant Physiology 106: 503-511.

Straubinger, M., Jezussek, M., Waibel, R. and Winterhalter, P. (1997) Two kaempferol sophorosides from *Crocus sativus*. Natural Product Letters 10: 213-216.

Suarez, N. and Medina, E. (2008) Salinity effects on leaf ion composition and salt secretion rate in *Avicennia germinans* (L.) Brazilian Journal of Plant Physiology 20: 131-140.

Tattini, M., Remorini, D., Pinelli, P., Agati, G., Saracini, E., Traversi, M. L. and Massai, R. (2006) Morpho-anatomical, physiological and biochemical adjustments in response to root zone salinity stress and high solar radiation in two Mediterranean evergreen shrubs, *Myrtus communis* and *Pistacia lentiscus*. New Phytologist 170: 779-794.

Tewari, T. N. and Singh, B. B. (1991) Stress studies in lentil (*Lens esculenta* Moench). Plant and Soil 136: 225-230.

Valifard, M., Mohsenzadeh, S., Niazi, A. and Moghadam, A. (2015) Phenylalanine ammonia lyase isolation and functional analysis of phenylpropanoid pathway under salinity stress in 'Salvia' species. Australian Journal of Crop Science 9: 656-665.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

Vignolini, P., Heimler, D., Pinelli, P., Ieri, F., Sciullo, A. and Romani, A. (2008) Characterization of by-products of saffron (*Crocus sativus* L.) production. Natural Product Communications 3: 1934578X0800301203.

Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. X. (2006) Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and Taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. Nitric Oxide 15: 351-358.

Wani, A. S., Ahmad, A., Hayat, S. and Fariduddin, Q. (2013) Salt-induced modulation in growth, photosynthesis and antioxidant system in two varieties of *Brassica juncea*. Saudi Journal of Biological Sciences 20: 183-193.

Winkel-Shirley, B. (2002) Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion in Plant Biology 5: 218-223.

Xu, F., Deng, G., Cheng, S., Zhang, W., Huang, X., Li, L. and Li, J. (2012) Molecular cloning, characterization and expression of the phenylalanine ammonia-lyase gene from Juglans regia. Molecules 17: 7810-7823.

Xu, Z., Zhou, J., Ren, T., Du, H., Liu, H., Li, Y. and Zhang, C. (2020) Salt stress decreases seedling growth and development but increases quercetin and kaempferol content in *Apocynum venetum*. Plant Biology 22: 813-821.

Yasar, F., Ellialtioglu, S. and Yildiz, K. (2008) Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean. Russian Journal of Plant Physiology 55: 782-786.

Zeka, K., Ruparelia, K. C., Continenza, M. A., Stagos, D., Veglio, 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.

Zhou, W. and Leul, M. (1999) Uniconazole-induced tolerance of rape plants to heat stress in relation to changes in hormonal levels, enzyme activities and lipid peroxidation. Plant Growth Regulation 27: 99-104.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]

Effect of different salinity levels on physiological characteristics, phenylalanine ammonia lyase activity and some flavonoid compounds in hydroponic cultivation of saffron (*Crocus sativus* L.)

Fateme Sadat Moslemi[1], Atousa Vaziri[1]*, Golandam Sharifi[2]

[1] Department of biology, Payame Noor University,[2] Department of Basic Sciences, Encyclopedia Research Center, Institute for Humanities and Cultural Studies

(Received: 23/12/2020, Accepted: 15/06/2021)

Abstract

The use of salt tolerant plants in arid and semi-arid regions of the world, including Iran, is one of the ways to achieve high yields. The aim of this study was to investigate the effect of different salinity treatments in hydroponic culture on physiological characteristics, phenylalanine-ammonialyase (PAL) activity and also the small amount of flavonoid compounds kaepmferol and quercetin in cultivated saffron (*Crocus sativus* L.). For this purpose, saffron corms were planted in pots containing perlite and irrigated in controlled laboratory conditions with ½ Hoagland nutrient solutions containing concentrations of 0, 30, 60, 90, 120 and 150 mM sodium chloride. Based on the obtained results, the effect of salinity stress was not significant on chlorophyll a and b levels at 5% level. Meanwhile, carotenoids and glucose levels in the 60 mM treatment had a significant increase of 27% and 56%, respectively, compared to the control treatment. The effect of salinity on leaf amino acid proline was not significant..The relative water content (RWC) in 150 mM with a decrease of 20%, had the highest decrease compared to the control treatment. The activity of PAL enzyme in only 150 mM had a significant increase of 50%. The amount of kaempferol in all concentrations except 150 mM and the amount of quercetin in only 150 mM showed a significant increase (100%) compared to the control treatment.It seemed that according to the test results, the tolerance threshold of saffron plant to salt was in the range of 60 to 90 mM and the defense mechanisms mentioned in this range and above helped the plant to tolerate salt.

Keywords: Salinity stress, Phenylalanine ammonia lyase, Kaempferol, Quercetin, Saffron

Corresponding author, Email: a_vaziri@pnu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1400.10.45.10.8]