مقاله پژوهشی

بررسی تغییرات آنزیمی و غیرآنزیمی در فرآیند گلدهی گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.)

رویا حقیقی[۱]، سید علی‌محمد میرمحمدی میبدی[۱*]، بدرالدین ابراهیم سیدطباطبایی[۲]

[۱] گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

[۲] گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۱۱/۰۲)

چکیده

دستیابی به تولید بیشتر و کیفیت بالاتر گیاه زعفران مستلزم درک جنبه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی فرآیند گلدهی است. به‌منظور بررسی تأثیر تغییرات آنزیمی و غیرآنزیمی در چهار مرحله رشدی (خواب، خروج گل از برگ فلسی، گلدهی کامل و رشد رویشی) بر فرآیند گلدهی، در سال ۱۳۹۶، بنه‌های زعفران سالم و یکنواخت از نظر وزن انتخاب و در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، در اتاقک رشد گلخانه دانشگاه صنعتی اصفهان کشت شدند. در چهار مرحله رشدی از بنه‌ها به‌صورت مجزا نمونه‌گیری و محتوی قند، نشاسته، پروتئین و میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز آنها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد میزان قند گیاهان در مرحله گلدهی ۶۵/۶٪ نسبت به مرحله خواب گیاه افزایش یافت و محتوی نشاسته در مرحله رشد رویشی ۶۰٪ نسبت به مرحله گلدهی کاهش داشت. آنزیم کاتالاز در مرحله خواب (۳ میکرومول هیدروژن پراکسید در گرم وزن تر در دقیقه) و آنزیم پراکسیداز در مرحله رویشی (۲/۶ واحد در گرم وزن تر در دقیقه) در حداکثر میزان فعالیت خود قرار داشتند. با توجه به وجود نشاسته کمتر گیاهان در مرحله گلدهی نسبت به آن دسته از گیاهان که در مرحله خروج گل از برگ فلسی فاقد ساقه گل بودند می‌توان نتیجه گرفت احتمالاً گیاه با توجه به نیاز خود در مرحله گلدهی، نشاسته موجود در بنه گیاه زعفران را به قند تبدیل و این دو ماده بر حسب ضرورت در تبادل با هم تغییر می‌کنند. در بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بررسی‌شده مشخص شد آنزیم پراکسیداز معمولاً به‌صورت یک آنزیم چندمنظوره عمل می‌کند و می‌تواند گل‌انگیزی را تقویت و یا مهار کند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، زعفران، قند و نشاسته، پروتئین، گلدهی

مقدمه

بیش از ۳۵۰۰ سال است که کلاله‌های خشک گل‌های گیاه زراعی زعفران (*Crocus sativus*) براساس طعم، عطر، رنگ درجه‌بندی و برای مصارف غذایی و دارویی استفاده می‌شود (Gohari *et al*., 2013; Esmaeili *et al*., 2011; Gaamoune *et al*., 2019). مراحل فنولوژیکی زعفران را می‌توان به چهار مرحله جداگانه شامل مرحله خواب، دوره زمانی رشد زایشی شامل مرحله خروج برگ فلسی (Appearance of flower cataphylls) و مرحله گلدهی کامل و درنهایت رشد رویشی تفکیک کرد. در زعفران تغییر مرحله رشد به زایشی به‌دلیل نقش تعیین‌کننده آن در تعیین عملکرد از اهمیت زیادی برخوردار است (Kumar *et al*., 2009; Andres and

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: maibody@cc.iut.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

Fernando ,2012). القای گلدهی (گل‌انگیزی)، شروع گلدهی (گل‌آغازی)، اندام‌زایی (تمایز اجزای گل)، رشد و کامل‌شدن اجزای گل و شکوفایی گل در زعفران معمولاً کم و بیش به‌طور متوالی انجام می‌شوند و به‌شدت تحت تأثیر عوامل درونی و بیرونی کنترل‌کننده آن هستند. به‌منظور درک بیشتر چگونگی تأثیر عوامل مختلف بر گل‌دهی و فرآیند تولید مثل زعفران (De Hertogh *et al*., 1983)، ضرورت دارد فرآیندهای گل‌انگیزی، مدت زمان فرآیند گلدهی و تشکیل بذر و میوه به‌خوبی مطالعه شوند. در این گیاه حذف برخی از مهارکننده‌های گل‌دهی می‌تواند موجب القا گل‌دهی شود (Srikanth and Schmid, 2011). از عوامل بیرونی مؤثر بر فرآیند گل‌دهی می‌توان به فتوپریود، کیفیت نور، دمای محیط، سن گیاه، محتوی قند و بخصوص فاکتورهایی مثل دمای پایین در زمستان و یا فراهم‌بودن آب و عناصر غذایی اشاره کرد (Behdani *et al*., 2008).

قند از تولیدات مهم فتوسنتز است و نوع ساکارز آن در گونه‌های گیاهی مختلف به‌عنوان عامل مهم القای گل‌دهی و تنظیم‌کننده فرآیندهای دیگر نموی مانند جوانه‌زنی، پیری و پاسخ به تنش‌ها شناخته شده است (میرشمسی کاخکی و همکاران، ۱۳۹۲). Corbesier و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که موتاسیون‌هایی که بر تجمع قند و نشاسته در برگ‌ها و رأس ساقه اثر دارند می‌توانند زمان انتقال گیاه *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. به مرحله گل‌دهی را تغییر دهند، به‌گونه‌ای که غلظت‌های پایین ساکارز (۱٪) با تأثیر معکوس بر گلدهی، موجب گلدهی زودتر از موعد موتانت‌های *ld, co, fca, gi, fha* این گیاه شدند، ولی تیمار ۵٪ ساکارز، تعداد برگ‌های روزت و ساقه را افزایش داد.

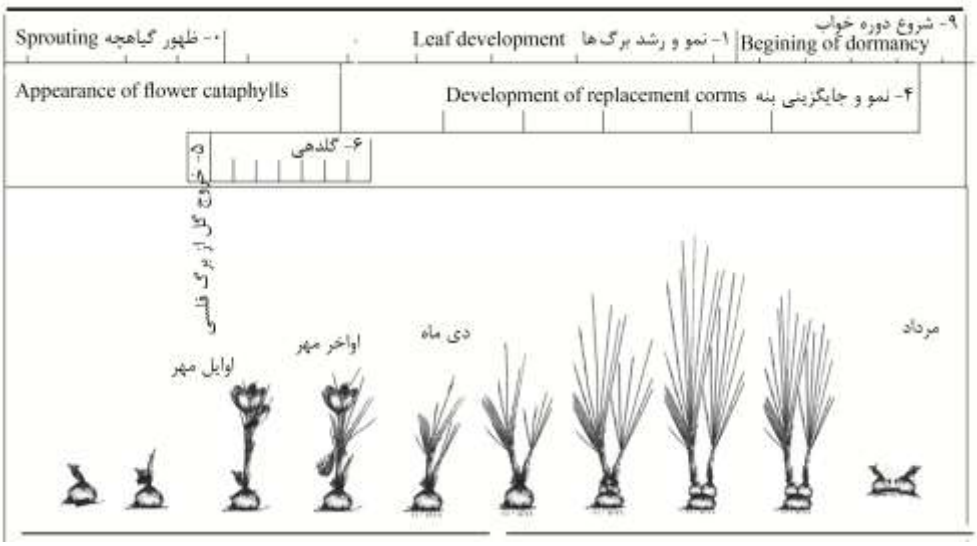
در کنار عوامل بیرونی، می‌توان به نقش عوامل و سیگنال‌های درونی مانند نقش آنزیم چندمنظوره پراکسیداز در فرآیند مورفوژنز گیاهی و آغاز فرآیند گلدهی اشاره کرد (رحمانی و همکاران، ۱۳۹۲). این آنزیم می‌تواند موجب مهار یا تقویت گل‌انگیزی و در غلظتی خاص باعث تغییر فرآیند نمو از رشد رویشی به زایشی و درنهایت تمایز گل شود. با توجه به شناخته‌شدن بیان برخی از ایزوزایم‌ها به‌عنوان نشانگر تمایز گیاه و مورفوژنز، امکان تحلیل وضعیت گل‌انگیزی گیاه از طریق اندازه‌گیری ایزوزایم‌ها و تعیین تغییرات ایجادشده در فعالیت آنزیم پراکسیداز (افزایش یا کاهش) وجود دارد. برخی از گزارش‌ها مؤید افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در انتهای دوره خواب و در طی مرحله اندام‌زایی برگ‌ها و اجزای گل و کاهش تدریجی میزان فعالیت این آنزیم پس از ورود به مرحله رشد سریع برگ‌ها و اندام‌های گل تا مرحله گلدهی است (Ebrahimzadeh and Abrishamchi, 2001).

کاتالاز یکی دیگر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلیدی مؤثر در فرایند گلدهی و تنظیم فعالیت روزنه‌های گیاهان تحت تنش است (Anjum *et al*., 2016). این آنزیم که در پراکسی‌زوم و گلی‌اکسیزوم تولید می‌شود، به‌همراه آنزیم آسکوربات پراکسیداز قادر است موجب حذف سمیت هیدروژن پراکسید (Hydrogen Peroxide) از طریق تبدیل آن به آب و مولکول اکسیژن در گیاه شود (Vandenabeele *et al*., 2004). در مرحله خواب در بنه زعفران می‌توان سه ایزوآنزیم کاتالاز با وزن مولکولی ۳۲۳۰۰۰، ۲۹۵۰۰۰ و۲۶۸۰۰۰ دالتون شناسایی کرد (Keyhani *et al*., 2002). همچنین در این گیاه دو ایزوفرم از پراکسیداز، که در فرآیندهای مختلف رشد و نمو مؤثرند، شناسایی شده است. افزایش بیش از ۷۰ میلی‌مولار سوبسترای گایاکول (Guaiacol) مراحل خواب و رشد گیاه زعفران موجب کاهش فعالیت پراکسیداز شده است (رحمانی و همکاران، ۱۳۹۲).

این تحقیق با هدف شناسایی رابطه بین میزان شکوفایی گل و محتوی نسبی قند، نشاسته و پروتئین مؤثر بر نمو گل براساس تخمینی از محتوی قند، نشاسته، پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاهان واردشده به مرحله گلدهی و گیاهان ناموفق در تولید گل در مرحله خروج گل از برگ فلسی زعفران انجام شد. تعیین دوره گلدهی طبیعی و الگوی شکوفایی گل براساس چگونگی تغییرات این صفات در بافت بنه زعفران در مراحل مختلف رشد زعفران (دوره خواب، دوره خروج گل از برگ فلسی، دوره گلدهی و دوره رشد رویشی)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]



شکل ۱- نمایش شماتیک دوره زندگی یک‌ساله و مراحل مختلف نموی گیاه زعفران در ماه‌های مختلف سال براساس مقیاس معرفی‌شده به‌وسیله Lopez-Corcolesm و همکاران (۲۰۱۵)

از اهداف دیگر این تحقیق بود.

مواد و روش‌ها

بنه‌های (پیازهای ریزومی) زعفران زراعی (*Crocus sativus*) مورد استفاده در این مطالعه از منطقه دستگرد واقع در شرق شهرستان برخوار و حدود پانزده کیلومتری شمال شهر اصفهان، برداشت و به آزمایشگاه زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، برای انجام آزمایش‌ها و اندازه‌گیری‌ها منتقل شد. در ابتدا بنه‌ها از لحاظ آلودگی بررسی و براساس وزن و اندازه گروه‌بندی شدند و بنه‌هایی با اندازه متوسط (حدود هشت تا ۱۰ گرم) انتخاب شدند. سپس در هفته اول مرداد ماه ۱۳۹۶ در گلدان‌های ۲۰×۲۰ حاوی خاک شنی ـ رسی (مقدار کمی آهک) با pH بین ۷/۶ ـ ۷ به‌صورت خطی و با فاصله ۸ سانتی‌متر از هم در محیط گلخانه دانشکده در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار کشت شدند و بلافاصله به اتاقک رشد با دمای ۲۵°C و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با رطوبت ۴۰ درصد انتقال داده شدند. اولین آبیاری گلدان‌ها در نیمه اول مهرماه صورت گرفت. در طی دوره آزمایش علف‌های هرز گلدان‌ها به‌صورت دستی وجین شدند و هیچ نوع کودی استفاده نشد. در مراحل تعریف‌شده رشدی براساس مقیاس تعریف‌شده (BBCH Scale) به‌وسیله Lopez-Corcolesm و همکاران (۲۰۱۵) شامل مرحله دوره خواب (Dormancy) (اواسط مرداد)، مرحله خروج گل از برگ فلسی (اوایل مهر)، مرحله گلدهی (Flowering) (اواخر مهر) و رشد رویشی (Leaves growth) (دی ماه) (شکل ۱) از بافت بنه زعفران در هر یک از مراحل رشدی نمونه‌گیری شد.با توجه به هدف تعریف‌شده در آزمایش در مرحله خروج گل از برگ فلسی تنها از نمونه‌های فاقد گل و در سایر مراحل از بنه قرارگرفته در مرحله رشدی خود نمونه‌گیری شد.

از نمونه‌ها منبع عصاره آنزیمی تهیه و از آن برای انجام اندازه‌گیری‌های بعدی استفاده شد. عمل عصاره‌گیری از بنه‌ها با تهیه محلول بافر بافت به نسبت ۱:۲ (میلی‌لیتر بافر: گرم بافت) به روش Ghamsari و همکاران (۲۰۰۷) و با قراردادن بافت بنه زعفران در ۴ °C به‌وسیله بافر استخراج Tris-HCl (Tris hydrochloride) یک مولار (pH=۶/۸) پس از ساییدن آنها و همگن‌سازی انجام‌شده منظور سنجش محتوی پروتئین و تعیین فعالیت آنزیم‌ها، از محلول منبع عصاره آنزیمی استفاده و پس از همگن‌سازی نمونه‌ها، همگنای عصاره حاصل (homogenized sample) با شتاب ۱۳۰۰۰ g به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. مایع روشناور

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

(Supernatant) حاصل در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای استخراج و سنجش محتوی پروتئین‌های محلول از دستگاه اسپکتروفتومتر (Spectrometer) مدل Hitachi U-1900 استفاده شد. بررسی کمی محتوی پروتئین‌ها با روش Bradford (۱۹۷٦) با کمک منحنی استاندارد (با استفاده از آلبومین سرم گاوی در محدوده صفر تا ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) انجام شد.

میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (Peroxidase, POD) از طریق بررسی حضور این آنزیم در عصاره‌های نسبتاً خالص شده به‌وسیله ستون کروماتوگرافی تعویض یونی (Ion Exchange Chromatography, IEC) (Raghavarao *et al.*, 1995) و به‌روش Chance و Maehly (۱۹۹۵) با اندکی تغییر و براساس میزان اکسیدشدن گایاکول اندازه‌گیری شد. در این روش از مخلوط ۳۳ میکرومول از عصاره استخراج‌شده با ۵ میلی‌مولار هیدروژن پراکسید (H_2O_2)، ۱۳ میلی‌مولار گایاکول و ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات با pH=۷ استفاده و از آن برای انتقال به دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. مخلوط به‌مدت ۲ دقیقه و با فواصل ۳۰ ثانیه جذب آن در طول‌موج ٤۷۰ نانومتر میزان اکسیدشدن گایاکول در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خوانده شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (Ascorbate Peroxidase, APX) به‌روش Nakona و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. بدین منظور مخلوط ۳۳ میکرومول از عصاره گیاهی به‌همراه ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (Potassium phosphate) (pH=۷)، ۰/۵ میلی‌مولار آسکوربیک اسید (Ascorbic acid, ASA) و ۰/۱۵ میلی‌مولار هیدروژن پراکسید (H_2O_2) تهیه شد و سپس از آن در دستگاه اسپکتروفتومتر برای خواندن میزان جذب آنزیم موجود در مخلوط در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر به‌مدت ۲ دقیقه و به‌فاصله هر ۳۰ ثانیه استفاده شد.

غلظت آنزیم کاتالاز (Catalase, CAT) به‌روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) مبتنی بر میزان تجزیه H_2O_2 و اندازه‌گیری تغییرات جذب در ۲٤۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات pH=۷، ۰/۱۵ میلی‌مول آب‌اکسیژنه ۳٪ و ۳۳ میکرومول عصاره آنزیمی تهیه شد و از آن برای خواندن میزان جذب این آنزیم در طول‌موج ۲٤۰ نانومتر به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. میزان فعالیت این آنزیم بر حسب هر میکرومول H_2O_2 تجزیه‌شده در دقیقه به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

برای اندازه‌گیری میزان قند ۰/۱ گرم از بافت بنه با ۵ میلی‌لیتر اتانول (Ethanol, C_2H_5OH) ۸۰٪ در هاون کوبیده شد، سپس عصاره مخلوط کوبیده‌شده استخراج و به بن‌ماری ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شد. پس از ۱۰ دقیقه، مخلوط گرم‌شده از بن‌ماری خارج و به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰ g سانتریفوژ شد. سپس مخلوطی از ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره به‌همراه معرف آنترون (Anthrone, $C_{14}H_{10}O$) برای خواندن با اسپکتروفتومتر در طول‌موج ٦۲۰ نانومتر آماده شد و از رسوب حاصل برای اندازه‌گیری میزان نشاسته استفاده شد. سپس به رسوب بقایا ۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر و ٦/۵ میلی‌لیتر اسید پرکلرید ۵۲٪ اضافه شد و به‌مدت ۲۰ دقیقه روی یخ قرار داده شد، سپس مخلوطی از عصاره موجود و معرف آنترون تهیه و از آن برای خواندن میزان نشاسته توسط اسپکتروفتومتر در طول‌موج ٦۳۰ نانومتر استفاده شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS و روش تجزیه واریانس یک طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از روش LSD استفاده شد (Soltani, 2007).

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مراحل رشدی برای کلیه صفات بجز فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۱).

بیشترین انباشت محتوی قند در بنه زعفران مربوط به مرحله گلدهی و کمترین آن در مرحله رویشی حاصل شد (جدول ۲). محتوی قند گیاهان در مرحله گلدهی نسبت به مرحله خواب ٦۵/٦٪ کاهش نشان داد. این کاهش برای گیاهان در مرحله رشد رویشی نسبت به گیاهان در مرحله گلدهی ۵۲/۸٪ بود. محتوی قند بنه گیاهان ب در مرحله گلدهی در مقایسه با بنه گیاهان ناموفق در تولید ساقه گل در مرحله

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر مراحل رشدی مختلف بر محتوی قند، پروتئین، نشاسته و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بنه زعفران

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		قند	نشاسته	پروتئین	کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز
مراحل رشدی	۳	٤/۳٥*	۰/۱۳**	۰/۰۰۰٦**	٤/٦٦**	٤/۸۹**	۰/۲۳n.s
خطا	۸	۰/۸۹۹	۰/۰۰٦	۰/۰۰۰۰۱٦	۰/۰۱۰٤	۰/۹۸	۰/۱٥
کل	۱۱						
ضریب تغییرات CV (٪)		۲٥/۸	۱۳/۳	۸/۳	۲٦	۳۷	۲۷

****، * و ns به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌داری در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیر معنی‌داری است.**

جدول ۲- مقایسه میانگین محتوی قند، نشاسته و پروتئین و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مراحل مختلف رشدی بنه زعفران

مراحل رشد	محتوی قند	محتوی نشاسته	محتوی پروتئین	کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز
	(mg g^{-1} D.W)			(µmol APX min^{-1} mg^{-1} protein)		
خواب	۳/۲b	۰/٦۷b	۰/۰٤b	۳/۰۳a	۰/۲۲b	۰/۲۳a
مرحله خروج گل از برگ فلسی (ناموفق در تولید ساقه گل)	۳/۷ab	۰/٥٦b	۰/۰٦a	۰/۲۸c	۰/۰٤b	۰/۳۳a
گلدهی	٥/۳a	۰/۳۳c	۰/۰٦a	۱/۱b	۰/۰٥b	۰/۸۲a
رویشی	۲/٥b	۰/۸۳a	۰/۰۳c	۰/٥۱ c	۲/٦a	۰/٦۹ a

اختلاف ستون‌های دارای حروف الفبای مشابه از لحاظ آماری در سطح ۵٪ معنی‌دار نمی‌باشد.

خروج گل از برگ فلسی ۱/٤ برابر بیشتر بود. بیشترین محتوی نشاسته در مرحله رشد رویشی مشاهده شد و نسبت به مرحله گلدهی ٦۰٪ کاهش یافت. محتوی نشاسته در بنه گیاهان ناموفق در تولید ساقه گل در مرحله خروج گل از برگ فلسی در مقایسه با بنه گیاهان در مرحله گلدهی ۱/۷ برابر بیشتر بود (جدول ۲). این نتایج بیانگر ضرورت حضور قند برای القای گل‌انگیزی است.

مقایسه بین محتوی قند و نشاسته بیانگر انباشت ٤/۸ برابر قند بیشتر در دوره خواب زعفران (اوایل اردیبهشت تا اواسط خرداد) بود. نتایج نشان داد بعد از سپری‌شدن دوره خواب، به‌تدریج از اواسط خرداد به بعد محتوی نشاسته کاهش یافت و تا اواخر مهرماه، زمان برانگیزی گل تا شکوفایی گل مقدار نشاسته به نصف مقدار دوره خواب رسید. همزمان با این کاهش محتوی قند به میزان ٦۰ درصد افزایش یافت. بنابراین نشاسته موجود در بنه زعفران در هنگام آماده‌شدن جوانه برای برانگیزی و تولید گل‌ها شکسته و به قند تبدیل می‌شود. در مجموع افزایش قند در مرحله گلدهی را می‌توان به تجزیه قندهای نامحلول و یا سنتز این ترکیب‌ها از مسیرهای غیرفتوسنتزی و متوقف‌شدن رشد مربوط دانست. نقش ساکارز در القا گل‌دهی در گونه‌های گیاهی مختلف نیز قبلاً به‌وسیله Madhusudanan و Nandakumar (۱۹۸۳) گزارش شده بودند. در مطالعه Behdani و همکاران (۲۰۱٦) میزان تجمع ماده خشک در ریشه و برگ پس از دوره گلدهی زعفران ابتدا افزایش و پس از آن کاهش یافت. زمانی که رشد برگ و ریشه در گیاه زعفران متوقف شد مرحله رشد نمایی بنه‌های جایگزین به‌عنوان محل ذخیره اصلی شروع شد. بنابراین پس از دوره گلدهی قند به نشاسته تبدیل شده و ابتدا در برگ و ریشه و سپس در بنه‌های جایگزین ذخیره شد. Corbesier و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

همکاران (۱۹۹۸) با مطالعه چگونگی حرکت نشاسته از برگ به ساقه و اندازه‌گیری میزان تجمع ساکارز در رأس ساقه در موتانت‌های بدون نشاسته *pgm sex1* گیاه *Arabidopsis thaliana* نحوه تبدیل فاز رویشی به زایشی و انتقال این گیاه به مرحله گلدهی را شناسایی کردند. Corbesier و Coupland (۲۰۰۶) ضمن مرور مطالعات انجام‌شده در مورد پاسخ گیاه به محرک‌های گلدهی و چگونگی حرکت محرک‌ها از برگ به سمت مریستم انتهایی و توقف تولید برگ و آغاز گلدهی نشان دادند انتقال نشاسته برای افزایش محتوی ساکارز در رأس ساقه ضروری است و در شرایط روز بلند همزمان با افزایش انتقال کربوهیدرات در برگ، القا گل‌دهی نیز دیده می‌شود. نتایج این تحقیق در تطابق با این نتایج بود. علاوه بر گلدهی، قند حاصل از فتوسنتز در تنظیم فرایندهای جوانه‌زنی، پیری و پاسخ به تنش‌ها نیز نقش ایفا می‌کند (Farooq and Chrungoo, 1985).

بیشترین محتوی پروتئین در مرحله گلدهی زعفران دیده شد و کمترین مقدار آن مربوط به رشد رویشی بود (جدول ۲)، به‌طوری که در مرحله گلدهی محتوی پروتئین دو برابر محتوی آن در مرحله رشد رویشی بود. بالابودن محتوی پروتئین در مرحله گلدهی احتمالاً به‌دلیل نیاز گیاه برای سنتز اسیدآمینه‌های جدید برای شکوفایی و ظهور گل بوده است. در مرحله گلدهی گیاه معمولاً همه انرژی خود را برای تولید گل هزینه می‌کند و نسبت به تنش‌ها بسیار حساس است. نتایج آزمایش حاضر نیز مؤید این یافته بود که در طی دوره خواب محتوی پروتئین زعفران در بافت بنه ثابت مانده و بلافاصله با ورود به مراحل بعدی تا شروع گلدهی محتوی پروتئین افزایش می‌یابد که با نتایج آزمایش Farooq و Chrungoo (۱۹۸۵) مطابقت داشت.

از سوی دیگر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در مراحل مختلف رشدی بسیار متنوع و در مراحلی در حداقل میزان خود بودند. میزان فعالیت آنزیمی کاتالاز بنه زعفران در مقایسه با دو آنزیم دیگر در هر دو مرحله گلدهی و خواب بیشتر بود. در مرحله رویشی نیز فعالیت آنزیمی آسکوربات پراکسیداز در مقایسه با دو آنزیم دیگر بیشتر دیده شد. تغییرات فعالیت آنزیمی به‌شدت تحت تأثیر عوامل محیطی و شرایط درونی گیاه تغییر می‌کند و متابولیسم آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان تحت تأثیر تغییرات مراحل رشدی که متأثر از فصل است (Bartolini *et al*., 2001).

در این مطالعه اگر چه فعالیت آنزیم پراکسیداز در مرحله گل‌دهی نسبت به مرحله خواب کاهش داشت، با این حال این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود. فعالیت آنزیم پراکسیداز در بافت بنه زعفران در مرحله رشد رویشی در بیشترین میزان خود قرار داشت. فعالیت آنزیم پراکسیداز در مرحله رشد رویشی ۵۰ برابر بیشتر از فعالیت آن در مرحله گلدهی بود (جدول ۲). از آنجایی که آنزیم پراکسیداز یک آنزیم چند منظوره است و می‌تواند گل‌انگیزی را تقویت و یا مهار کند و در سیستم بیولوژیک قادر است از طریق مصرف هیدروژن پراکسید، این ماده را از محیط سیستم حذف کند (Chance and Maehly, 1995) و با تجزیه ایندول تری‌استیک اسید (Indole-3-acetic acid, IAA)، نقش مؤثری را در تولید لیگنین که در سلول گیاه نقش ساختاری و استحکامی ایفا نماید، دارد می‌توان انتظار داشت که در مرحله رویشی که گیاه در حال تولید برگ و تولید بنه جایگزین است، میزان این آنزیم حداکثر باشد. با توجه به عدم‌تفاوت معنی‌دار بین میانگین فعالیت‌های آنزیم پراکسیداز در دو مرحله خواب و گلدهی و تفاوت معنی‌دار آن با مرحله رویشی می‌توان نتیجه گرفت افزایش در میزان فعالیت پراکسیداز در بنه در مرحله پیش‌گلدهی به‌منظور تسهیل در سرعت رشد و نمو برگ‌ها و اندام‌های گل است. این یافته با نتایج به‌دست آمده از مطالعه رحمانی و همکاران (۱۳۹۲) در بررسی غلظت‌های مختلف سوبسترای گایاکول در مرحله خواب و بیداری (رشد رویشی و گلدهی) زعفران مطابقت دارد. آنها نشان دادند که سرعت واکنش پراکسیدازی در مرحله رشد به مراتب بیشتر از مرحله خواب بوده است. خادم مقدم و همکاران (۱۳۹۸) در گیاه کلزا نیز فعالیت بیشتر آنزیم پراکسیداز در مرحله قبل از گلدهی در مقایسه با مرحله گلدهی را گزارش کرده‌اند. احتمالاً در مرحله خواب تمایل آنزیم پراکسیداز برای اتصال به سوبسترا نسبت به مرحله رشد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

افزایش می‌یابد، اما سرعت فعالیت این آنزیم در مرحله رشد بسیار بیشتر از مرحله خواب است. در کل فعالیت آنزیم پراکسیداز در دو مرحله خواب و گلدهی بین ۱۰ تا ۲۰ برابر کمتر از فعالیت آنزیم کاتالاز بود که احتمالاً بتوان آسیب‌پذیری این دو مرحله را با توجه به نقش اصلی آنزیم کاتالاز در کاهش خسارت اکسیداتیوی در این مرحله از زندگی زعفران توجیه کرد، با این حال میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در مرحله رویشی در مقایسه با فعالیت آنزیم کاتالاز پنج برابر بیشتر دیده شد. این یافته با نتایج تحقیقات Bhar و Randforth (۱۹٦۹) و ونایی و همکاران (۱۳۹۰) در گیاه *Pharbitis nil* مطابقت دارد.

Ebrahimzadeh و Abrishamchi (۲۰۰۱) گزارش کردند که فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در مرحله تشکیل گل زعفران در جوانه در مقایسه با بافت بنه رفتار متفاوتی نشان داد به‌طوری که در بافت بنه میزان فعالیت این آنزیم در مرحله تشکیل گل کاهش یافت، انتقال زعفران از مرحله رویشی به مرحله گلدهی با فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز مرتبط است.

نتایج این آزمایش نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به مرحله خواب بنه زعفران تعلق داشت، به‌گونه‌ای که در مرحله گل‌دهی فعالیت آنزیم کاتالاز سه برابر نسبت به مرحله خواب کاهش یافت (جدول ۲). احتمالاً در مرحله خواب، این آنزیم بیان کمتری نسبت به مرحله رشد دارد که حتی با وجود میل ترکیبی زیاد این آنزیم به سوبسترا، باز هم درنهایت سرعت انجام واکنش پراکسیدازی در مرحله رشد بسیار بیشتر از مرحله خواب است. آنزیم کاتالاز بنه‌ها در مرحله گلدهی چهار برابر بنه گیاهان ناموفق به تولید ساقه گل در مرحله خروج گل از برگ فلسی بودند. کاتالاز از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با سرعت فعالیت بالا است و قادر است سمیت رادیکال آزاد اکسیژن در گیاه ناشی از قطع سیستم انتقال الکترون در تنش‌های زیستی و غیرزیستی را به‌طور کامل از طریق تبدیل هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن حذف کند (Dhindsa *et al.*, 1981).

جباری و همکاران (۱۳۹۳) از طریق قطع آبیاری، تنش خشکی آخر فصل در کلزا را در مرحله گلدهی مطالعه کردند و نشان دادند که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در کلزا افزایش و همزمان میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت. محمدی و همکاران (۱۳۹٤) مشاهده کردند در گیاه کلزا فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت شرایط تنش افزایش ولی فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در جهت مخالف یکدیگر عکس‌العمل نشان می‌دهند. اگر چه میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به مرحله خواب افزایش یافت با این حال فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در این آزمایش در کلیه مراحل رشدی مورد مطالعه از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

اطلاع از همبستگی‌های بین صفات و تجزیه ضرایب همبستگی (r) بین ویژگی‌های مختلف (مانند همبستگی محتوی قند و یا محتوی پروتئین با دیگر صفات نظیر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) می‌تواند محقق را در تصمیم‌گیری در مورد اهمیت نسبی هر یک از این صفات و ارزش نسبی آنها به‌عنوان معیارهای انتخاب کمک کند (Ario *et al.*, 1986). این تصمیم‌گیری بالاخص در زمانی که انتخاب براساس دو یا چند صفت و به‌طور همزمان بر مبنای شاخص انتخاب صورت می‌گیرد حائز اهمیت است (Agrama, 1996). در شرایطی که همبستگی‌ها نتوانند به‌خوبی ارتباط‌ها را روشن کنند، روش تجزیه به مؤلفه‌های اصلی (Principal Component Analysis) از طریق خلاصه‌کردن متغیرهای همبسته اولیه به شکل مؤلفه‌هایی مستقل و محدود امکان دسته‌بندی افراد در فضای دو بعدی یا سه بعدی را به‌وجود می‌آورد (مقدم و همکاران، ۱۳۷۳). در این مطالعه از روش همبستگی برای تعیین ارتباط بین ارزش‌های مقداری صفات محتوی قند و پروتئین با برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده شد. برآورد ضریب‌های همبستگی ساده محاسبه‌شده برای صفات مرتبط با گل‌انگیزی در جدول ۳ ثبت شده است. برای همبستگی‌های اندازه‌گیری شده نمی‌توان روند کلی مشخصی در مراحل مختلف رشدی مشاهده کرد. با این حال همبستگی مثبت و معنی‌داری بین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

جدول ۳- مقادیر ضریب‌های همبستگی ساده (پیرسون) بین ویژگی‌های فعالیت آنزیم‌های اکسیداتیوی و محتوی قند و پروتئین در بنه زعفران در مراحل مختلف رشد (تعداد نمونه ۱۲=

	قند	نشاسته	پروتئین	کاتالاز	پراکسیداز
نشاسته	-۰/٦۱*				
پروتئین	۰/۵ns	-۰/۸۵*			
کاتالاز	۰/۱۰ns	۰/۰۸ns	-۰/۲٤ns		
پراکسیداز	-۰/۵۳ns	۰/۷۵*	-۰/۸۱*	-۰/۳۰ns	
آسکوربات پراکسیداز	-۰/۱۳ns	-۰/۲۵ns	۰/۰۸ns	-۰/٤۲ns	۰/۲٦ns

ns عدم‌معنی‌داری، * نشان‌دهنده سطح معنی‌دار منبع تغییر مربوط در سطح احتمال پنج درصد

صفات فعالیت‌های آنزیمی مرتبط با گل‌انگیزی و محتوی قند، پروتئین و نشاسته وجود داشت. از ۱۵ ضریب همبستگی محاسبه‌شده، تعداد چهار ضریب همبستگی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شدند. بیشترین میزان همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیمی پراکسیداز و محتوی نشاسته (۰/۷۵) و بیشترین همبستگی منفی بین محتوی نشاسته با محتوی پروتئین (۰/۸۵-) دیده شد که در سطح آماری پنج درصد معنی‌دار بودند (جدول ۳). همچنین بین فعالیت آنزیمی پراکسیداز و محتوی پروتئین (۰/۸۱-) و محتوی نشاسته با محتوی قند (۰/٦۱-) همبستگی معنی‌داری دیده شد. این نتایج دلالت بر این موضوع دارد که به‌منظور دست‌یابی به تولید بیشتر در این گیاه می‌توان محتوی قند و نشاسته را بررسی و با تخمین مناسب و قابل‌قبول از ارزش مقداری گل‌انگیزی، وضعیت گل‌انگیزی گیاه را تحلیل کرد.

به‌منظور ارزیابی صفات مرتبط با گل‌انگیزی زعفران در چهار مرحله فنولوژیکی و تعیین عامل‌های توجیه‌کننده مؤثر در هریک از این مراحل، تجزیه به مؤلفه‌های اصلی با استفاده از نرم‌افزار STATGRAPHICS2.1 با در نظرگرفتن مقادیر ویژه بزرگ‌تر از یک دو عامل در بنه‌های زعفران شناسایی شدند.

تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در بنه‌های مورد ارزیابی، براساس صفات مورد مطالعه و ماتریس همبستگی صفات نشان داد که دو مؤلفه ۸۷ درصد از تغییرات کل صفات را توجیه کردند (جدول ٤). مؤلفه اول که بیشترین سهم (۵۸/۲۹ درصد) از تغییرات داده‌ها را نشان داد دارای ضریب بزرگ و مثبت برای محتوی قند و محتوی پروتئین و ضریب منفی برای محتوی نشاسته و فعالیت آنزیم پراکسیداز بود. با توجه به حضور این صفات در این دسته می‌توان نام این مؤلفه را مؤلفه گل‌انگیزی بیان کرد. عامل دوم که ۲۹/۲٤ درصد از تغییرات داده‌ها را توجیه کردند دارای ضرایب بزرگ برای صفت کاتالاز بود که با توجه به اجزای گروه می‌توان آن را مهم‌ترین جز مؤثر بر خواب نامید. بنابراین، انتخاب هر یک از این مؤلفه‌ها می‌تواند منجر به انتخاب ارقام با گل‌انگیزی یا خواب بیشتر شود.

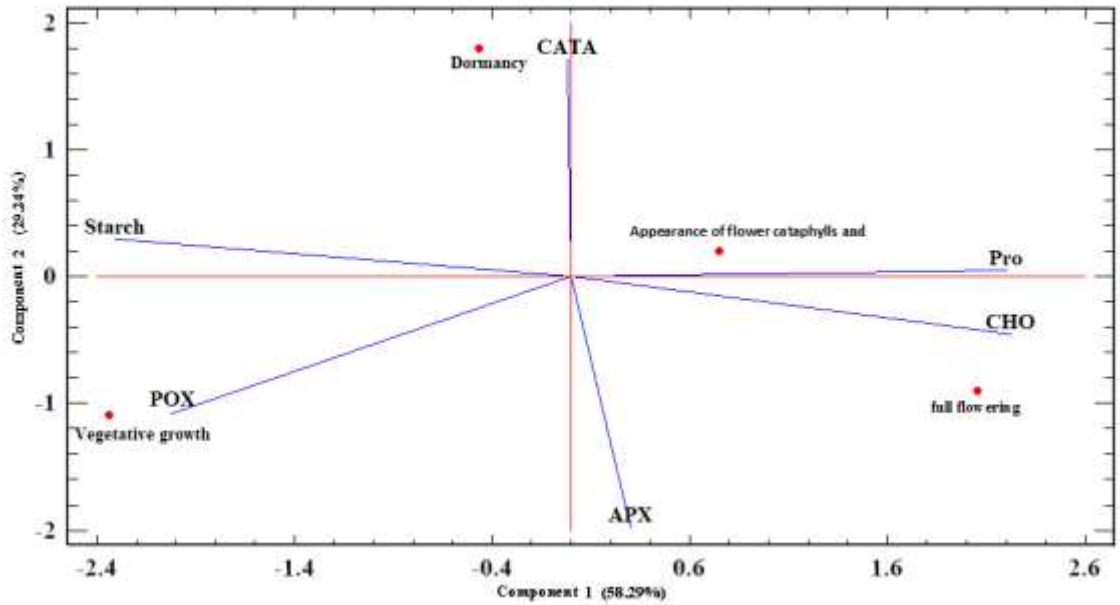
نمودار بای‌پلات براساس مولفه‌های اصلی اول و دوم براساس صفات مورد ارزیابی و مراحل مختلف رشدی بنه‌های زغفران ترسیم شد (شکل ۲). این نمودار نشان داد که بالاترین مقادیر در مؤلفه اول متعلق به صفات محتوی قند و محتوی پروتئین در مرحله گلدهی با ضریب مثبت بود. این صفات بردارهایی نزدیک به یکدیگر در نیمه راست نمودار را تشکیل دادند که ارتباط نزدیک آنها را نشان می‌دهد. در نیمه چپ نمودار، بردارهای مرحله رشد رویشی و خواب و صفات محتوی نشاسته و فعالیت آنزیمی پراکسیداز که از ضریب منفی برخوردار بودند و صفت فعالیت آنزیم کاتالاز از بیشترین ضریب مثبت برخوردار بود قرار داشتند. این یافته اهمیت فعالیت آنزیمی پراکسیداز را در شرایط خواب بنه در حفاظت آنها نشان می‌دهد. همچنین براساس نتایج بای‌پلات، مرحله رشد رویشی بیشترین همبستگی را با آنزیم پرکسیداز داشت.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

جدول ٤- اجزای تشکیل‌دهنده دو مؤلفه اول (همبستگی بین مراحل مختلف رشدی زعفران و صفات مرتبط با گل‌انگیزی) برای هر یک از صفات مورد مطالعه

متغیر	مؤلفه اول	مؤلفه دوم
قند	۰/۵۱	-۰/۱٦
نشاسته	-۰/۵۲*	۰/۱۰
پروتئین	۰/۵	۰/۰۲
کاتالاز	۰-/۰۰۵	۰/۵۹
پراکسیداز	-۰/٤٦	-۰/۳۸
آسکوربات پراکسیداز	۰/۰۷	-۰/٦۸



شکل ۲ - نمودار بای‌پلات یا رسته‌بندی مراحل مختلف رشدی و صفات محتوی قند، پروتئین، نشاسته و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش PCA مبتنی بر دو مؤلفه اصلی برای صفات مورد ارزیابی.

تفکیک مراحل مختلف رشدی و قرارگرفتن مرحله گلدهی در نیمه سمت راست نمودار و در مجاورت صفات محتوی پروتئین و محتوی قند، این موضوع را نشان می‌دهد که این دو صفت در مرحله گلدهی حائز اهمیت هستند. مرحله خواب نیز بیشترین همبستگی را با فعالیت آنزیم کاتالاز داشت و مراحل گلدهی و خروج گل از برگ فلسی هر دو با پروتئین و قند هبستگی بالایی داشتند. به‌طور کلی می‌توان گفت گزینش بر مبنای مؤلفه اول منجر به گزینش ژنوتیپ‌هایی با گل‌انگیزی برتر خواهد شد و گزینش براساس مؤلفه دوم منجر به گزینش ژنوتیپ‌هایی با مرحله خواب طولانی‌تر خواهد بود.

نتیجه‌گیری

تأثیر قند و نشاسته در گیاه بر فرآیند گل‌انگیزی گیاهان معمولاً به‌صورت عکس یکدیگر است. برخورداری بیشتر گیاهان ناموفق در تولید ساقه گل در مرحله خروج از برگ فلسی از محتوی نشاسته نسبت به گیاهان موفق در تولید جوانه گل و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

انتقال به مرحله گلدهی را می‌توان به‌دلیل شکسته‌شدن تدریجی این ماده در فاصله بین دوره خواب تا دوره گلدهی، به قند و ذخیره آن در گیاه دانست. بنابراین تغییر محتوی قند محلول در آماده‌سازی گیاه برای تغییر مرحله رشدی گیاه به زایشی و تشکیل گل مؤثر است و فاکتورهای محتوی قند و نشاسته از از عوامل مهم درونی مؤثر در تعیین سرنوشت گیاه برای انتقال به مرحله گلدهی است. این عامل می‌تواند به‌عنوان معیاری در تعیین وضعیت گل‌انگیزی گیاهان مورد توجه قرار گیرد. باید توجه داشت که عمل ذخیره‌سازی قند تا اتمام فرآیند گلدهی ادامه خواهد داشت و در مرحله گلدهی به حداکثر خود می‌رسد. پس از دوره گلدهی تا زمان اتمام فرآیند تولید بنه‌های جایگزین، روند ذخیره‌سازی از قند به نشاسته تغییر کرده و میزان قند گیاه کاهش می‌یابد. فعالیت آنزیم پراکسیداز در بافت بنه زعفران در مرحله رشد رویشی بسیار بیشتر از مراحل خواب و گلدهی بود.

منابع

جباری، ح.، اکبری غ. ع.، خوش خلق سیما ن. ا.، الهدادی ا.، شیرانی‌راد ا. ح. و طباطبایی، ع. (۱۳۹۳) مقایسه نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پرولین در تحمل به تنش خشکی در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.). تولید گیاهان روغنی ۱: ۳۱-۱۵.

خادم مقدم، ن.، متشرع‌زاده، ب. و معالی امیری، ر. (۱۳۹۸) تأثیر تیمارهای روی و پتاسیم بر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و پاسخ‌های فیزیولوژیک کلزا در خاک شور. تحقیقات آب و خاک ایران ۵۰: ۱۳۱-۱.

رحمانی، ع.، صیقلی، ن. و ابراهیم‌زاده، ح. (۱۳۹۲) بررسی سینتتیکی فعالیت پراکسیداز در غلظت‌های مختلف گایاکول در بنه‌های زعفران زراعی. تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی ۳: ۸۱-۷۷.

محمدی، ن.، باقی‌زاده، ا. و رجایی، پ. (۱۳۹٤) تأثیر بتا آمینوبوتیریک اسید بر روی محتوی آب نسبی، تنظیم اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) تحت تنش خشکی. مجله پژوهش‌های گیاهی ۲۸: ۸٦۰-۸٤٤.

مقدم، م.، محمدی شوطی، ا. و آقایی سربرزه، م. (۱۳۷۳) آشنایی با روش‌های آماری چندمتغیره. انتشارات پیشتاز علم.

میرشمسی کاخکی، ا.، بهرامی، ا.، شهریاری احمدی، ف. و گری، ج. (۱۳۹۲) بررسی بیان ژن *ein2* در گیاه اطلسی (Petunia×hybrida) و مطالعه نقش تنظیم‌کنندگی آن در مسیر انتقال پیام اتیلن. نشریه پژوهش‌های سلولی مولکولی (زیست‌شناسی ایران) ۲٦: ۵۸٦-۵۷۲.

ونایی، س.، سی‌وسه مرده، ع. و حیدری، غ. (۱۳۹۰) اثرات تنش سرما در مرحله جوانه‌زنی و گیاهچه‌ای بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی صفات فیزیولوژیکی در نخود (*Cicer arietinum*). نشریه پژوهش‌های زراعی ایران ۹: ۵۲٤-۵۱٤.

Agrama, H. A. (1996) Sequential path analysis of grain yields its components in maize. Plant Breeding 115: 343-346.

Andres, F. and Fernando, G. (2012) The genetic basis of flowering responses to seasonal cues. Nature Reviews Genetics 13: 627-639.

Anjum, N. A., Sharma, P., Gill, S. S., Hasanuzzaman, M., Khan, E. A., Kachhap, K., Mohamed, A. A., Thangavel, P., Devi, G. D., Vasudhevan, P. and Sofo, A. (2016) Catalase and ascorbate peroxidase-representative H_2O_2 detoxifying heme enzymes in plants. Environmental Science and Pollution Research 23: 19002-19029.

Ario, O. J., Pkenova, M. E. and Fatokun, C. A. (1986) Plant character correlations and path analysis of pod yield in okra. Euphytica 36: 677-686.

Bartolini, S., Zanol, G. and Viti, R. (2001) Changes in antioxidant compounds in flower buds of two apricotcultivars during winter season 12th International Symposium on Apricot Culture and Decline 701.

Behdani, M. A., Al-Ahmadi, M. J. 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: 71-76.

Behdani, M. A., Koocheki, A., Nassiri, M. and Rezvani, P. (2008) Models to predict flowering time in the main saffron production regions of khorasan province. Journal of Applied Sciences 8: 907-909.

Bhar, D. S. and Radforth, N. W. (1969) Vegetative and reproductive development of shoot apices of *Pharbitis nil* as influenced by photoperiodism. Canadian Journal of Botany 47: 1403-1406.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Chance, B. and Maehly, A. C. (1995) Assay of catalase and peroxidase. In: Methods in Enzymology (eds. Culowic, S. P. and Kaplan, N. O.) Pp. 764-765. Academic Press, New York.

Corbesier, L., Lejeune, P. and Bernier, G. (1998) The role of carbohydrates in the induction of flowering in *Arabidopsis thaliana*: Comparison between the wild type and a starchless mutant. Planta 206: 131-137.

Corbesier, L. and Coupland, G. (2006) The quest for florigen: A review of recent progress. Journal of Experimental Botany 57: 3395-3403.

De Hertogh, A. A., Aung, L. H. and Benschop, M. (1983) The tulip: Botany, usage, growth and development. Horticulture Review 5: 45-125.

Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T. A. (1981) Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany 32: 93-101.

Ebrahimzadeh, H. and Abrishamchi, P. (2001) Changes in IAA, phenolic compounds, peroxidase, IAA oxidase, and polyphenol oxidase in relation to flower formation in *Crocus sativus*. Russian Journal of Plant Physiology 48: 190-195.

Esmaeili, N., Ebrahimzadeh, H., Abdi1, K. and Safarian, S. (2011) Determination of some phenolic compounds in *Crocus sativus* L. Pharmacognosy Magazine 7: 74-80.

Farooq, S. and Chrungoo, N. K. (1985) Correlative changes in carbohydrate content and starch hydrolysing enzymes in corms of saffron crocus (*Crocus sativus* L.) during dormancy and sprouting. Biochemie and Physiologie der Pflanzen 180: 55-61.

Ghamsari, L., Keyhani, E. and Golkhoo, Sh. (2007) Kinetics properties of guaiacol peroxidase activity in *Crocus sativus* L. corm during rooting. Iranian Biomedical Journal 11: 137-146.

Gohari, A. R., Saeidnia, S. and Kourepaz Mahmoodabadi, M. (2013) An overview on saffron, phytochemicals, and medicinal properties. Pharmacognosy Review 7: 61-66.

Keyhani, J., Keyhani, E. and Kamali, J. (2002) Thermal stability of catalases active in dormant saffron (*Crocus sativus* L.) corms. Molecular Biology Reports 29: 125-128.

Kumar, R., Singh, V., Devi, K., Sharma, M., Singh, M. K. and Ahuja, P. S. (2009) State of art of saffron (*Crocus sativus* L.) agronomy: A comprehensive review. Food Reviews International 25: 44-85.

Lopez-Corcolesm, H., Brasa-Ramos, A., Montero-Garcia, F., Romero-Valverde, M. and Montero-Riquelme, F. (2015) Phenological growth stages of saffron plant (*Crocus sativus* L.) according to the BBCH scale. Spanish Journal of Agricultural Research 13:e09sc01.

Madhusudanan, K. N. and Nandakumar, S. (1983) Carbohydrate changes in shoot tip and subtending leaves during ontogenetic development of pineapple. Pflanzenphysiologie 110: 429-438.

Nakona, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867-880.

Raghavarao, K. S. M. S., Rastogi, N. K., Gowthaman, M. K. and Karanth, N. G. (1995) Aqueous two-phase extraction for downstream processing of enzymes/proteins. Advances in Applied Microbiology 41: 97-171.

Soltani, A. (2007) Application of SAS in Statistical Analysis. Mashhad University Jihad Press, Mashhad, Iran.

Srikanth, A. and Schmid, M. (2011) Regulation of flowering time: All roads lead to Rome. Cellular and Molecular Life Sciences 68: 2013-2037.

Vandenabeele, S., Vanderauwera, S., Vuylsteke, M., Rombauts, S., Langebartels, C., Seidlitz, H. K., Zabeau, M., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Breusegem, F. (2004) Catalase deficiency drastically affects gene expression induced by high light in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Journal 39: 45-58.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

Evaluation of enzymatic and non-enzymatic changes in flowering process of saffron (*Crocus sativus L.*)

Roya Haghighi [1], Sayed Ali Mohammad Mirmohammady Maibody [1*], and Badraldin Ebrahim Sayed Tabatabaei[3]

[1] Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
[2] Department of Biotechnology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
(Received: 22/10/2019, Accepted: 22/01/2020)

Abstract

Knowledge concerning some physiological and biochemical basis of flowering process is essential for achieving higher yield and quality of saffron. This study was aimed to elucidate the enzymatic and non-enzymatic changes at four growth stages (dormancy, appearance of flower cataphylls, full flowering and vegetative growth), affecting flower development. In order to investigate the enzymatic and non-enzymatic changes in four growth stages, 120 healthy and uniform weight saffron corms were selected in 1396 and were grown in a completely randomized design (CRD) with three replicates in Isfahan University of Technology greenhouse growth chamber. Corms were sampled separately and their sugar, starch, protein and activity levels of catalase, peroxidase and ascorbate peroxidase enzymes were measured. The results showed that sugar content of plants at flowering stage was increased 65.6% compared to complete dormancy stage and the starch content was decreased 32% in vegetative growth stage compared to the flowering stage. Catalase enzyme activity was at its maximum level (3 μmol H_2O_2 min^{-1} mg^{-1} protein) and peroxidase at vegetative stage (2.6 μmol POX min^{-1} mg^{-1} protein). Due to the lower starch content in plants at flowering stage than non-blooming saffron plants at appearance of flower cataphylls, it can be concluded that the plant may convert the starch in the corm of saffron into sugar, depending on its need at the flowering stage, and exchange these two substances as needed. Among the antioxidant enzymes investigated, it was found that the peroxidase enzyme usually acted as a multifunctional enzyme and could enhance or inhibit flower induction.

Key words: Antioxidant Enzyme, Dormancy, Flowering, saffron, Suger,Protein and Starch

Corresponding author, Email: maibody@cc.iut.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-09-13]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1399.9.38.22.9]