

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

جلال قنبری^۱ و غلامرضا خواجهی‌نژاد^{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 پذیرش: مرداد ۱۳۹۸

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۸

چکیده

علاوه بر کلاله، سایر قسمت‌های گل زعفران (*Crocus sativus* L.) از جمله 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 زرنند) تهیه و طی سال‌های زراعی ۹۵-۱۳۹۴، ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ بررسی شدند. نتایج بیانگر وجود ترکیب‌های فنلی بین ۲۴/۵-۲/۸۳ 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 زرنند با میزان گندهی 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 جنوب غربی 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 علاوه بر استفاده زعفران در صنایع غذایی به عنوان رنگ و طعم‌دهنده، به دلیل ترکیب‌های مؤثره منحصر به فرد آن، در صنایع داروسازی نیز مورد توجه قرار گرفته است (Shahi et al., 2016; Melnyk et al., 2010; Gresta et al., 2008). زعفران خوراکی حاصل کلالة‌های خشک شده گیاه زعفران بوده که پس از جداسازی از قسمت‌های دیگر گل شامل گلبرگ و پرچم بدست می‌آید (Sánchez-Vioque et al., 2012).

بر اساس داده‌های بدست آمده از این مطالعه، برای تولید یک کیلوگرم زعفران، به طور میانگین حدود ۵۸ کیلوگرم گل بر اساس وزن تر (برابر حدود ۹ گیلوگرم گل خشک) نیاز است (Ghanbari et al., 2019b). در نتیجه، در مقایسه با کلالة زعفران، زیست‌توده بالایی از محصولات جانبی مانند گلبرگ در مراحل گوناگون تولید زعفران تولید می‌شود 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-Goupy et al., 2012; Vioque et al., 2012; Goli et al., 2012; Shahi et al., 2016; Zeka et al., 2015; 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 به دلیل مشکلات متعدد و مضر برای سلامتی از جهت مصرف طولانی مدت محدود شده‌اند، متمرکز شده است (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 شده است (Lahmass et al., 2017; Zeka et al., 2015). همچنین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی در محصولات جانبی زعفران از جمله 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 علاوه بر اینکه از قابلیت مناسبی برای بهبود ارزش اقتصادی گیاه زعفران برخوردار است (Sánchez-Vioque et al., 2012)، می‌تواند 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 می‌شوند (Gresta et al., 2009; Siracusa et al., 2013). مطالعات نشان داده است که تنوع بالایی در صفات مرتبط با گل و پارامترهای کیفی در بین بنه‌های با منشأ مختلف دیده شده است (Agayev et al., 2009; Ehsanzadeh et al., 2004; Siracusa et al., 2010; Baghalian et al., 2009; Gresta et al., 2009).

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، تربت حیدریه و زرنند 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 به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. منشأ بنه به عنوان عامل اصلی و فصل رشد به عنوان 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.

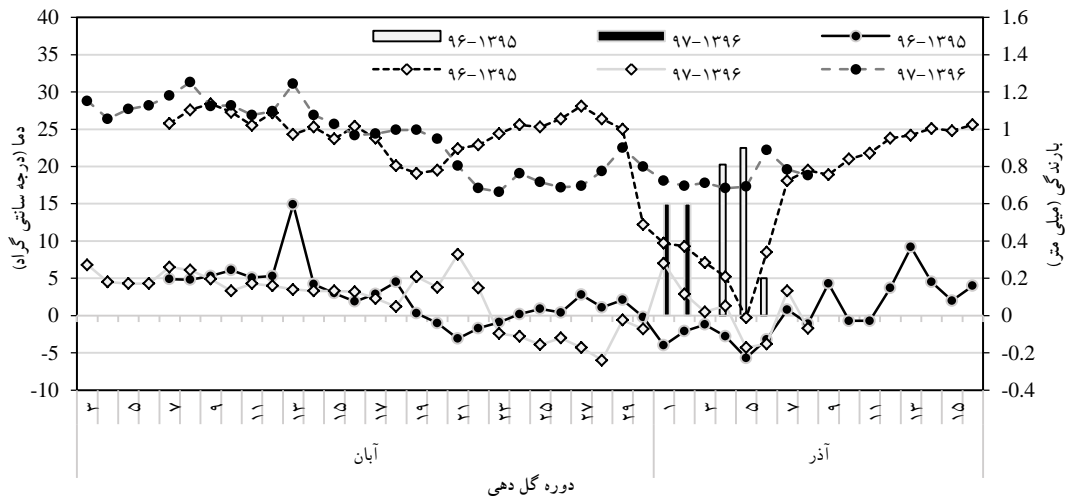
(*et al.*, 2013). با وجود این، در مورد تنوع در ترکیب‌های زیست فعال و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بین بنه‌های با منشأ مختلف مطالعه‌ای انجام نشده است. در مورد برخی گیاهان دارویی دیگر تنوع بین جمعیت‌های مختلف از نظر این ترکیب‌ها گزارش شده است. به عنوان مثال در بررسی جمعیت‌های مختلف ریحان، Moghaddam و Mehdizadeh (۲۰۱۵) تنوع قابل ملاحظه‌ای را برای ترکیب‌های فنولی و فلاونوئیدی گزارش کردند. در بررسی گونه‌های مختلف آویشن، Tohidi و همکاران (۲۰۱۷) نیز اختلاف معنی‌داری را بین گونه‌های مختلف آویشن از نظر مواد مؤثره و همچنین ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده کردند. همچنین از نظر این ترکیب‌ها 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 بنه‌های مناسب براساس صفات مرتبط با گل، کیفیت و ترکیب‌های مؤثره را می‌توان به عنوان 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 بنه‌های 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،

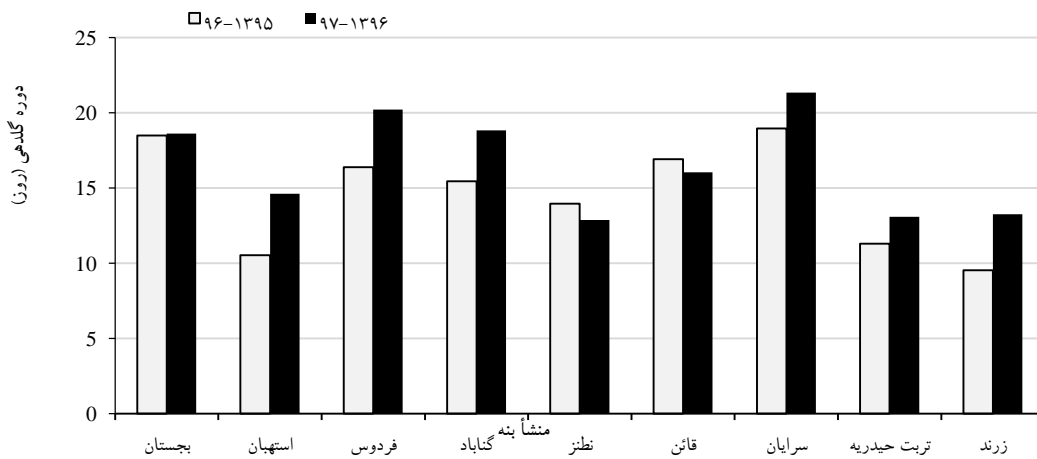


شکل ۱- اطلاعات هواشناسی (دما و میزان بارندگی) در دوره گلدهی در فصول گلدهی ۱۳۹۵-۹۶ و ۱۳۹۶-۹۷

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 گلببرگ پس از جداسازی پرچم و کلاله از گل، در دمای اتاق خشک شدند (Ahmadian-Sánchez-Vioque *et al.*, 2012; Kouchaksaraie & Niazmand, 2017).

نمونه‌برداری و اندازه‌گیری صفات

گلدهی به ترتیب ۲۳، ۲۰ و ۱۸ روز پس از آبیاری اول در فصل‌های زراعی اول، دوم و سوم شروع شد. با توجه به تفاوت‌های فنولوژیک بنه‌های 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



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

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 $A_{Control}$ و A_{Sample} به ترتیب 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 احیاء 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 بنه‌های 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.

سنجش ترکیب‌های زیست‌فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای تهیه عصاره از متانول ۸۰٪ استفاده شد. بدین منظور، ۲۵۰ میلی‌گرم 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 ترکیب‌های زیست‌فعال نگهداری شد.

سنجش میزان ترکیب‌های فنلی با استفاده از روش معرف فولین (Foline-Ciocalteu's reagent 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 ترکیب‌های فنلی براساس میلی‌گرم 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 میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک گزارش گردید (mg QE/g DW).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از روش‌های فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد توسط ۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)) و همچنین روش قدرت احیاء‌کنندگی آهن (Reducing power ability) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. مهار رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های مختلف عصاره (۵۰، ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم 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

نتایج

صفات مرتبط با گل

نتایج تجزیه واریانس بیانگر تفاوت معنی دار ($P < 0.0001$) منشأ بانه، فصل رشد و اثر متقابل منشأ بانه در فصل‌های رشد مورد مطالعه بود (جدول ۱). بانه‌های با منشأ مختلف، واکنش متفاوتی به فصل‌های رشد مورد بررسی از نظر صفات مرتبط با گل نشان دادند. همان‌طور که مشاهده می‌شود (جدول ۱)، فردوس در فصول رشد اول و سوم و بجستان در فصل رشد دوم بیشترین عملکرد گل را به خود اختصاص دادند. سرایان در هر سه فصل زراعی در رتبه بعدی قرار گرفت. بانه‌های 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 بانه‌های با منشأ مختلف در سال اول مشاهده شد و به تدریج این تنوع کاهش یافت و در سال سوم تفاوت معنی داری بین بانه‌های مناطق مختلف مشاهده نشد (جدول ۱).

محتوای ترکیب‌های فنلی، فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

محتوای ترکیب‌های زیست فعال و قدرت مهار رادیکال‌های آزاد به طور معنی داری تحت تأثیر عوامل منشأ بانه، فصل رشد و اثر متقابل آنها قرار گرفت (جدول ۲)، در حالی که فعالیت آنتی‌اکسیدانی براساس قدرت احیاءکنندگی تنها تحت تأثیر فصل رشد قرار گرفت. محتوای ترکیب‌های فنلی گلبرگ از ۲/۸۳ در منشأ بانه تربت‌حیدریه در فصل رشد ۹۷-۱۳۹۶ تا ۵/۲۴ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک در منشأ بانه گناباد در فصل رشد ۹۶-۱۳۹۵ متغیر بود (جدول ۲). بانه‌های با منشأ مختلف پاسخ متفاوتی از نظر ترکیب‌های زیست فعال به فصل‌های رشد مورد بررسی نشان دادند. به عنوان مثال، ترکیب‌های فنلی در

سرایان، تربت و زرند در سال دوم کاهش معنی داری نسبت به سال اول نشان دادند، در حالی که در بانه‌های جمع‌آوری شده از سایر مناطق بین فصول مختلف رشد از نظر آماری تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول ۲).

محتوای فلاونوئید از ۰/۳۸ در منشأ بانه زرند در فصل رشد ۹۶-۱۳۹۵ تا ۱/۸۱ میلی‌گرم کوئرستین در گرم ماده خشک در بجستان در همین فصل رشد متغیر بود (جدول ۲). از نظر محتوای فلاونوئید گلبرگ، بانه‌های با منشأ بجستان و تربت‌حیدریه در سال اول و استهبان در سال دوم افزایش معنی داری نشان دادند و در بانه‌های 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 (به ترتیب 0.585^* و 0.46) 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 بدست آمده مشاهده می‌شود، بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در سال ۹۶-۱۳۹۵ مربوط به بجستان، گناباد و تربت‌حیدریه (به ترتیب 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 ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی اندازه‌گیری شده مرتبط بود. در فصل رشد ۹۷-۱۳۹۶ تفاوت معنی داری بین بانه‌های 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 (میلی گرم) ^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±۰/۰۰۵b	۲/۳۸±۰/۱۵۲d	۲۹/۷±۱/۲۴gh	۳۶/۶±۰/۸۱bc	۳۶/۷±۰/۷۰bc
سرایان	۰/۰۸۳±۰/۰۰۲b	۱/۰۶±۰/۰۰۵b	۳/۸۹±۰/۲۸۳b	۲۸/۵±۱/۳۴h	۳۶/۹±۱/۳۴bc	۳۸/۲±۰/۴۸bc
تربت حیدریه	۰/۰۸۰±۰/۰۰۲b	۰/۴۵±۰/۰۲۱d	۱/۱۵±۰/۰۸۵f	۲۷/۲±۰/۲۳h	۳۵/۸±۰/۴۵bcd	۳۵/۹±۰/۶۴bcd
زرنند	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 ۱۳۹۵-۹۶ و ۱۳۹۶-۹۷

قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (IC ₅₀) (میلی گرم در لیتر)		فلاونوئید کل (میلی گرم کوئرستین در گرم وزن خشک)		فنل کل (میلی گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک)		منشأ بنه
۱۳۹۶-۹۷	۱۳۹۵-۹۶	۱۳۹۶-۹۷	۱۳۹۵-۹۶	۱۳۹۶-۹۷	۱۳۹۵-۹۶	
۲۶۹±۲/۷a	۲۱۶±۰/۳e	۰/۸۱±۰/۰۴d-g	۱/۸۱±۰/۱۹a	۴/۶۴±۰/۵۶a-e	۴/۰۴±۰/۰۹c-g	بجستان
۲۶۸±۲/۹a	۲۴۹±۱/۹c	۱/۱۱±۰/۰۲bcd	۰/۶۵±۰/۲۳e-h	۳/۱۷±۰/۳۲gh	۳/۷۸±۰/۲۳e-h	استهبان
۲۶۹±۳/۴a	۲۳۱±۱/۴d	۰/۸۶±۰/۰۸c-g	۱/۱۷±۰/۰۷bc	۳/۹۰±۰/۵۷d-g	۴/۲۸±۰/۲۶a-f	فردوس
۲۶۶±۳/۳a	۲۱۷±۰/۶e	۰/۸۷±۰/۰۱c-g	۱/۱۷±۰/۱۹bc	۴/۴۳±۰/۱۹a-f	۵/۲۴±۰/۳۱a	گناباد
۲۶۶±۲/۴a	۲۲۸±۱/۵d	۰/۹۸±۰/۰۱cde	۰/۸۹±۰/۱۰c-f	۴/۶۶±۰/۴۳a-e	۳/۹۶±۰/۰۴c-g	نطنز
۲۶۸±۴/۴a	۲۵۷±۱/۹b	۰/۷۴±۰/۰۴efg	۰/۶۱±۰/۰۵fgh	۳/۶۲±۰/۴۵fgh	۴/۰۹±۰/۰۹b-g	قائن
۲۶۴±۳/۱a	۲۳۴±۱/۰d	۰/۷۴±۰/۰۴efg	۰/۹۳±۰/۲۵c-f	۳/۸۰±۰/۴۸e-h	۴/۹۰±۰/۰۷abc	سرایان
۲۶۹±۵/۳a	۲۲۰±۰/۸e	۰/۸۵±۰/۰۱c-g	۱/۳۱±۰/۱۰b	۲/۸۳±۰/۴۵h	۴/۸۳±۰/۰۵a-d	تربت حیدریه
۲۷۰±۳/۱a	۲۲۱±۰/۵e	۰/۵۵±۰/۰۲gh	۰/۳۸±۰/۰۷h	۳/۶۴±۰/۳۳ fgh	۵/۰۴±۰/۳۸ab	زرنند
منابع تغییر						
<۰/۰۰۰۱		<۰/۰۰۱		<۰/۰۱		منشأ بنه
<۰/۰۰۰۱		<۰/۰۱		<۰/۰۰۱		فصل رشد
<۰/۰۰۰۱		<۰/۰۰۱		<۰/۰۰۵		منشأ بنه × فصل رشد

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 ($r=0.628^{***}$)، تأییدکننده این نتایج است (جدول ۳). قدرت احیاء‌کنندگی آهن به طور معنی‌داری در فصل رشد ۹۶-۱۳۹۵ نسبت به فصل رشد

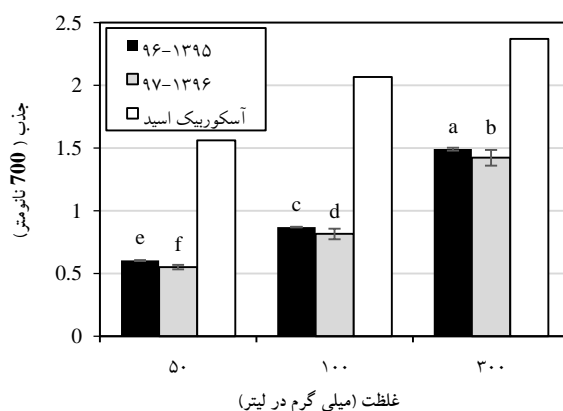
با وجود عدم تفاوت معنی‌دار در بین بنه‌های با منشأ مختلف و اثر متقابل منشأ بنه در فصل رشد، نتایج بدست‌آمده از قدرت احیاء‌کنندگی با نتایج قدرت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در بین فصول رشد مورد بررسی، در یک راستا بود (جدول ۲ و شکل ۳) که ضریب همبستگی معنی‌دار بین این دو روش ($r=0.628^{***}$)، تأییدکننده این نتایج است (جدول ۳). قدرت احیاء‌کنندگی آهن به طور معنی‌داری در فصل رشد ۹۶-۱۳۹۵ نسبت به فصل رشد

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 ($n=27$)، در حالی‌که برای همبستگی بین صفات مرتبط با گل با ترکیب‌های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، به دلیل عدم اندازه‌گیری این صفات در فصل رشد ۹۵-۱۳۹۴، از صفات اندازه‌گیری شده در فصل‌های زراعی ۹۶-۱۳۹۵ و ۹۷-۱۳۹۶ استفاده شد ($n=18$).

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



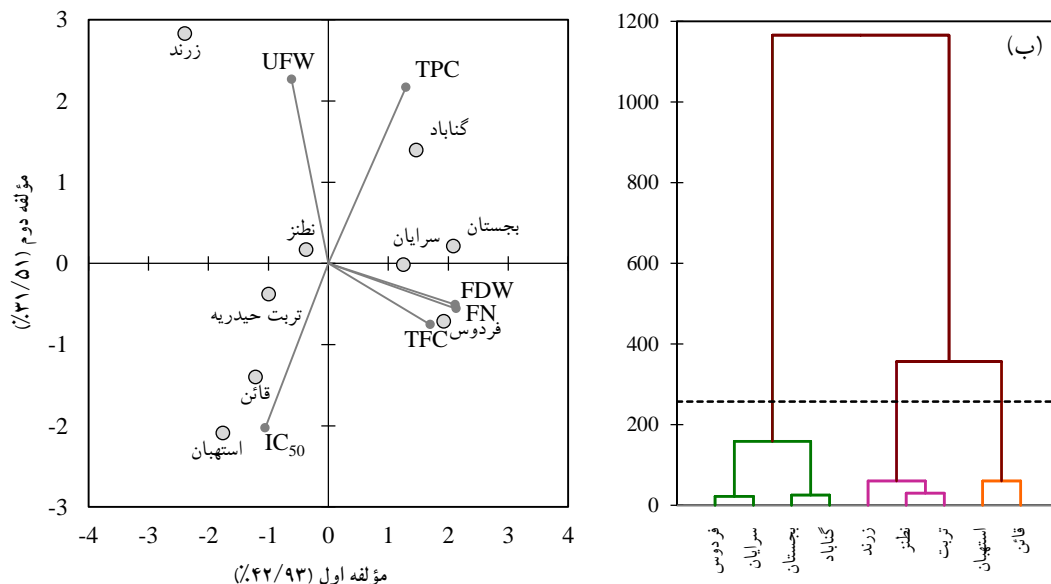
شکل ۳- مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی گلبرگ زعفران براساس قدرت احیاء‌کنندگی در فصول رشد مورد بررسی

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 بنه‌های با منشأ مختلف، توسط تجزیه خوشه‌ای به روش وارد (Ward's method) مورد بررسی قرار گرفت که منشأ بنه‌های 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 ترکیب‌های زیست فعال، در یک خوشه دسته‌بندی شدند. در حالی‌که استهبان و قائن با عملکرد متوسط گل و میزان پایین ترکیب‌های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (همان‌طور که تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد) در یک گروه قرار گرفتند. بنه‌های سایر مناطق (زرنند، نطنز و تربت‌حیدریه) عمدتاً به دلیل عملکرد پایین و میزان متوسط ترکیب‌های زیست فعال و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دسته دیگر طبقه‌بندی شدند.

بررسی تنوع بنه‌های با منشأ مختلف توسط روش‌های آماری چندمتغیره

برای بررسی تنوع منشأ بنه‌های مورد ارزیابی براساس متغیرهایی که تفاوت معنی‌داری 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 می‌شود، 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 بنه‌های با منشأ مختلف داشتند. بنه‌های فردوس، سرایان، بجستان و گناباد با بیشترین میانگین‌ها در صفات مرتبط با گل و محتوای ترکیب‌های زیست فعال توسط مؤلفه اول، از سایر مناطق متمایز شدند. همچنین وزن هر گل که بیشترین همبستگی را با مؤلفه دوم نشان داد، زرنند، تربت‌حیدریه و نطنز را از سایرین متمایز



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

پژوهشی که در همین ارتباط روی زمان و قدرت ظهور جوانه و رشد اولیه در زعفران با منشأ بنه‌های 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 گونه‌های ایرانی *C. almehensis* و *C. michelosi* نزدیکترین خویشاوندان و به احتمال زیاد نیاکان فعلی زعفران زراعی هستند (Alavi-Kia et al., 2008). با وجود واحد بودن منشأ تمام بنه‌های 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 بنه‌های نقاط مختلف جغرافیایی، Siracusa و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که این بنه‌ها دارای قابلیت متفاوت تولید بنه‌های دختری بوده و از نظر پروفایل ترکیب‌های کیفی نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای نشان دادند. در این بررسی، همچنین ارتباط ژنتیکی بنه‌های 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 بنه‌های زعفران با منشأ مختلف، گزارش شده است

در این بررسی، اثر منشأ بنه زعفران بر عملکرد گل و ترکیب‌های زیست‌فعال 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، بنه‌های دختری تشکیل شده و رشد می‌کنند، در نتیجه منجر به افزایش معنی‌دار 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 بنه‌های مورد بررسی به فصول مختلف رشد، می‌تواند به دلیل تفاوت در خصوصیات بنه‌های جمع‌آوری شده باشد که در شرایط محیطی مختلف تولید شده‌اند (Amirnia et al., 2013; Babaei et al., 2014). به همین دلیل، این بنه‌ها 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

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 ترکیب‌های زیست فعال ارتباط دارد (جدول‌های ۲ و ۳). علاوه بر تفاوت‌های فنولوژیک بین بنه‌های با منشأ مختلف (شکل ۲)، تنوع در ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی در سال‌های مختلف می‌تواند به تغییرات اقلیمی مرتبط باشد (Dinçer et al., 2013). در این مطالعه نیز همان‌طور که از نظر فنولوژیک بین بنه‌های با منشأ مختلف تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد، دوره گلدهی نیز با شرایط مختلف اقلیمی بین فصول گلدهی مواجه بوده (شکل ۱) و همین می‌تواند عامل تنوع در ترکیب‌های 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 ترکیب‌های فنلی 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 (Zeka et al., 2015; Lahmass et al., 2017; Ahmadian-Kouchaksaraie & Niazmand, 2017).

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

(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 ۲/۸۳-۵/۲۴ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک، ۱/۸-۰/۳۸ میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک و ۲۷۰-۲۱۶ میلی‌گرم در لیتر متغیر بود. محتوای ترکیب‌های فنلی در گلبرگ زعفران ۳/۴۲ میلی‌گرم در گرم وزن خشک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۷۴-۲۲٪ مهارکنندگی در غلظت‌های ۵۰-۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر گزارش شده است (Goli et al., 2012). در مطالعه Ahmadian-Kouchaksaraie (2012) در شرایط مختلف عصاره‌گیری، میزان ترکیب‌های فنلی ۱۴۲۳-۸۹۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم، میزان ترکیب‌های فلاونوئیدی ۱۸۰-۱۴۰ میلی‌گرم 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 ترکیب‌های فنلی و فلاونوئیدی و به‌همین ترتیب فعالیت آنتی‌اکسیدانی از بنه‌های 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 علاوه بر شرایط محیطی اثرگذار بر تولید متابولیت‌های ثانویه، عملکرد و وزن هر گل نیز می‌تواند یکی از عوامل کاهش میزان ترکیب‌های مؤثره در واحد وزن اندام گیاهی باشد. باوجود این، 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 بنه‌های با منشأ مختلف در این مطالعه مشاهده شد (شکل ۲). به طوری که مواجه شدن زمان گلدهی با شرایط مختلف اقلیمی می‌تواند

- (*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.
- اهمیت انتخاب بنه مناسب را برای کاشت دوجندان می‌کند. نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای در گروبندی منشأ بنه‌ها براساس صفات مختلف، مؤثر بود. بنه‌های با منشأ فردوس، سرایان، بجزستان 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. بنه‌های تربت‌حیدریه، زرنند و نطنز با تعداد گل و عملکرد گل پایین در یک گروه قرار گرفتند. علاوه بر اینکه تنوع مشاهده شده در برنامه‌های مرتبط زراعی و اصلاحی کاربرد دارد، نتایج این بررسی می‌تواند در راستای افزایش بهره‌وری 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، بدین وسیله 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

- 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., Jiménez, 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., Rodríguez-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.
- 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., Lamkani, 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.

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

J. Ghanbari¹ 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.