

## تأثیر تنش شوری بر برخی متابولیت‌های ثانویه زعفران

فاطمه سادات مسلمی<sup>۱</sup>، آتوسا وزیری<sup>۱</sup>، گل اندام شریفی<sup>۲\*</sup> و جواد قره چاهی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> ایران، تهران، پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی، پژوهشکده دانشنامه نگاری

<sup>۳</sup> ایران، تهران، پژوهشکده ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۹/۳۰

### چکیده

بمنظور بررسی اثر تنش شوری بر میزان دو متابولیت مهم گیاه زعفران شامل کروسین (عامل رنگ) و پیکروکروسین (عامل طعم)، بنه‌های گیاه زعفران در شرایط هیدروپونیک در گلدان‌های حاوی پرلیت کاشته شدند و در شرایط کنترل‌شده آزمایشگاهی با ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول غذایی ۱/۲ هوگلدن حاوی غلظت‌های ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید (NaCl) به مدت چهار هفته آبیاری شدند. پس از گلدهی، کاله‌ها برداشت شدند و کروسین و پیکروکروسین موجود در آنها به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به اسپکتروفتومتر آشکارساز (HPLC-DAD) جداسازی و خالص‌سازی شد. نتایج تحقیق، تفاوت معنی‌داری را در میزان کروسین میان تیمارهای مختلف شوری در سطح ۵٪ نشان داد، بیشترین کاهش در میزان کروسین مربوط به غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار NaCl بود که نسبت به تیمار شاهد ۹۸٪ کاهش داشت. تیمارهای مختلف بر میزان پیکروکروسین تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما در تیمارهای ۹۰ و ۱۲۰ بترتیب ۴۵٪ و ۴۱٪ نسبت به تیمار شاهد، کاهش معنی‌دار مشاهده شد. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، شوری باعث کاهش متابولیت‌های ثانویه زعفران گردید.

واژه‌های کلیدی: پیکروکروسین، تنش شوری، کروسین، *Crocus sativus* L.

\* نویسنده مسئول، تلفن: گل اندام شریفی، ۰۹۲۰۴۷۳۴۲۶۴، پست الکترونیکی: g.sharifi@ihcs.ac.ir

### مقدمه

ایران بزرگترین تولیدکننده و صادرکننده زعفران می‌باشد (۵۳). در حدود ۹۴٪ ذخیره زعفران دنیا از ایران تامین می‌شود (۵۳ و ۷۴). ادویه زعفران شامل ترکیبات متنوعی از جمله ویتامین‌ها (ریبوفلاوین و تیامین)، مواد معدنی (منیزیم، کلسیم، آهن و منگنز)، قندهای احیاکننده، پروتئین، نشاسته، فلاونوئیدها (کامفرول گلیکوزیده شده) می‌باشد (۴۳). سه متابولیت ثانویه آپوکاروتنوئیدی کروسین، پیکروکروسین و سافرانال موجب اهمیت آن شده است. آپوکاروتنوئیدها ترکیبات ترپنوئیدی می‌باشند که از طریق شکست آنزیمی کاروتنوئیدها توسط Carotenoid

زعفران (*Crocus sativus* L.) یکی از شناخته‌شده‌ترین گونه‌های تیره زنبقی‌ها (Iridaceae) و از جمله گران‌بهارترین ادویه‌جات در سرتاسر جهان می‌باشد. این تیره شامل ۶۰ جنس و ۱۵۰۰ گونه می‌باشد (۱). کاله‌های خشک زعفران علاوه بر اینکه به عنوان چاشنی رنگ و طعم‌دهنده در غذا به کار می‌روند، به عنوان دارو نیز در حوزه علوم پزشکی برای درمان بیماریهایی از قبیل افسردگی، تومور و نیز به عنوان افزایش‌دهنده حافظه استفاده می‌شوند (۲۱، ۲۶، ۳۰، ۵۰ و ۵۵).

توجه به اینکه امروزه نقش دفاعی متابولیت‌های ثانویه برای همه تقریباً پذیرفته شده است، اما هنوز فرآیندهای تاثیر تنش‌های محیطی بر تولید این مواد به طور کامل شناخته نشده است. شواهد بسیاری نشان می‌دهد که تحت شرایط تنش، تولید برخی از این ترکیبات تا چندین برابر افزایش می‌یابد، اما دلایل زیادی نیز وجود دارد که این تاثیر همیشگی و همه‌گیر نیست. در موارد زیادی نیز کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه در شرایط تنش دیده می‌شود. از طرفی تأثیر تنش‌های محیطی بر همه این ترکیبات یکسان نیست، بنابراین کیفیت مواد مؤثره نیز تحت تنش قرار می‌گیرد. به عنوان مثال تیمار شوری باعث افزایش کاروون (Carvone) موجود در اسانس زیره و کاهش مقدار لیمونن (Limonene) و لینالول (Linalool) آن می‌شود (۱۴). تنش شوری خاک یک عامل محدود کننده مهم برای تولید محصولات به خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان مانند ایران می‌باشد (۶۴). میزان قابل توجهی از زمین‌ها در جهان تحت تاثیر شوری قرار دارند و بیش از ۴۵ میلیون هکتار از زمین‌های آبیاری شده که ۲۰٪ کل زمین‌ها را تشکیل می‌دهند، توسط شوری آسیب دیده‌اند و هر سال ۱/۵ میلیون هکتار به دلیل سطوح بالای شوری خاک از نظر محصول دهی کنار گذاشته می‌شوند (۳۸ و ۳۹). در خاکهای آبیاری شده به خصوص در مناطق خشک و نیمه‌خشک، گیاهان هم در معرض شوری و هم در معرض تنش آب با شدت‌های متفاوت قرار دارند. منابع تجدیدپذیر و با کیفیت بالای آب در این مناطق محدود می‌باشد. در کشورهای در حال توسعه، بهینه‌سازی استفاده از آب شور در کشاورزی یک مشکل عمده علمی برای دولت‌ها و کشاورزان محلی می‌باشد (۲۷). منبع اصلی آب برای آبیاری زعفران از آبهای زیرزمینی است که در استان خراسان به دلیل اضافه برداشت، در معرض شوری هستند و به دلیل منابع محدود آب، تاکید بر استفاده موثرتر از آنها می‌باشد. بنابراین احتمالاً از آب شور نیز برای آبیاری زعفران استفاده می‌شود

Cleavage Dioxygenase (CCDS) تولید می‌شود (۱۷، ۱۸، ۴۲، ۴۷، ۵۱ و ۷۲).

آپوکاروتنوئید کروسین (Crocetin di-( $\beta$ -D-gentiobiosyl) ester) نقش‌های مختلفی در گیاهان دارد که از جمله آنها نقش هورمونی، رنگدانه و ترکیبات فرار است. کروسین فرم گلیکوزیله شده، فعال و آبدوست کروسین می‌باشد که به میزان زیاد در کلاله زعفران تجمع پیدا می‌کند. کروسین باعث ایجاد رنگ زرد طلایی- نارنجی در زعفران می‌شود (۷ و ۲۸). مطالعات نشان داده است که کروسین علاوه بر ایجاد رنگ، خاصیت دارویی نیز دارد و از جمله آنها می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی (۴۱ و ۴۶)، کاهش پاسخ‌های ایمنی سلول (۴)، ضد التهاب (۳۱ و ۳۵) و مهار کننده رشد تومورهای سرطانی (۳، ۶، ۸، ۲۲، ۲۴، ۴۰ و ۴۵) اشاره کرد. پیکروکروسین ( $\beta$ -D-4-glucopyranosyloxy)-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde یک مونوترپن گلیکوزیله (گلیکوزید تلخ) است که مسئول طعم تلخ زعفران می‌باشد (۷۰). ویژگی عطر و بوی زعفران نیز توسط سافرانال (۲،۶،۶-trimethyl-1,3-cyclohexadiene-1-carboxaldehyde) ایجاد می‌شود که یک آلدئید مونوترپن است (۱۳ و ۲۳).

تولید این سه ترکیب در زعفران توسط آنزیم‌های خانواده CCDS صورت می‌گیرد (۲۵). وجود آن‌ها در زعفران نشان دهنده ارزش زعفران است (۶).

بیان چرخه‌های تولید متابولیت‌های ثانویه، به وسیله فاکتورهای خارجی مانند سطوح متفاوت مواد غذایی، تنش‌های محیطی، محرک‌ها و هورمون‌های رشد به سادگی قابل تغییر است. محرک‌ها به دو صورت زنده (سلول‌های گیاهی و میکروب‌ها) و غیر زنده (یون‌های سنگین و دیگر تنش‌های محیطی) می‌باشد که باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه می‌شود. بر این اساس، تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاه به دلیل پاسخ به دفاع در برابر آلودگی‌های میکروبی و تنش‌های محیطی می‌باشد (۴۹). با

تعیین کیفیت زعفران ارائه دادند که روشی آسان، سریع و با حساسیت و دقت بالا برای آنالیز ترکیبات حساس در عصاره محصولات طبیعی است (۷۰). در این تحقیق، تأثیر تیمارهای مختلف شوری در کشت هیدروپونیک و شرایط کنترل شده آزمایشگاهی (دما، رطوبت و رژیم نوری مناسب) بر میزان کمی ترکیبات کروسین و پیکروکروسین گیاه زعفران به روش HPLC با آشکار ساز آرایه دیود (HPLC-DAD) بررسی شد.

### مواد و روشها

بنه زعفران مزروعی (*Crocus sativus* L) در اواخر شهریور ماه ۱۳۹۷ از شهرستان قائنات واقع در استان خراسان جنوبی تهیه و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه پیام نور تهران منتقل گردید. جهت افزایش احتمال گلدهی، بنه‌هایی با وزن بالاتر از هشت گرم انتخاب شد. بنه‌ها با قارچ‌کش کاربندازیم ۱% (Carbendazim) (۲۵ گرم در ۲/۵ لیتر آب) به مدت ۵ دقیقه ضد عفونی شده و پس از خشک شدن در هوای آزاد در گلدان‌های پلاستیکی حاوی پرلیت به قطر ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر قرار گرفت. در هر گلدان پنج بنه کاشته شد و آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت و هر تیمار شامل پنج تکرار بود. گلدان‌ها در اتاق رشد آزمایشگاه قرار داده شد. رژیم حرارتی برای القای گلدهی بر اساس مقدار گزارش شده توسط مولینا و همکاران (۲۰۰۵)، دمای ۱۷ درجه سانتی‌گراد به عنوان دمای بهینه انتخاب گردید (۳۸). رژیم نوری به صورت ۸/۱۶ ساعت (بترتیب روشنایی و تاریکی) و رطوبت نسبی ۶۰٪ به کار گرفته شد.

**تیمار شوری:** گلدان‌ها در اواخر شهریور ماه به مدت دو هفته و به صورت یک روز در میان با آب خالی بمنظور جوانه زدن آبیاری شد. پس از جوانه زدن گیاه و مشاهده برگ‌های سبز زعفران، در اواسط مهر ماه، گلدان‌ها به مدت یک هفته با محلول غذایی ۱/۲ هوگلد آبیاری شد. پس از اینکه برگ‌های سبز زعفران به حد کافی رشد کرده

(۱۶ و ۵۹). شوری بسیاری از خصوصیات رشد و فیزیولوژی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و مانع رشد و عملکرد مناسب آنها می‌شود. بیوستز متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی نه تنها به صورت ژنتیکی کنترل می‌شود، بلکه تحت تأثیر عوامل محیطی دیگر شامل شوری نیز قرار می‌گیرد (۲۰). تا چند سال گذشته، تعداد محدودی از مطالعات برای ارزیابی اثرات شوری روی گیاهان دارویی انجام شده است، اما در سال‌های اخیر، مطالعات بیشتری بر روی این موضوع متمرکز شده است. تأثیرات شوری و تنش آب بر بازده زعفران در مطالعات مختلف گزارش شده است (۱۶، ۴۸، ۵۶، ۵۷، ۵۸ و ۵۹)، اما تحقیقات اندکی در مورد تأثیر تنش شوری بر متابولیت‌های مهم زعفران صورت گرفته است. برای مثال، با استفاده از روش UV/VIS اسپکتروفوتومتری و بر اساس استاندارد تجاری ISO 3632 مشخص شد که غلظت‌های بالای شوری بترتیب باعث کاهش ۹، ۱۳ و ۱۸ درصدی میزان کروسین، پیکروکروسین و سافرانال می‌شود. از آنجائیکه ترکیبات شیمیایی زعفران مهم‌ترین شاخص برای نشان دادن ارزش و کیفیت زعفران هستند (ISO 3632-1, ISO 3631-2:2003)، مطالعات متعددی برای تعیین روشهای مختلف بررسی کیفیت زعفران در شرایط و مناطق مختلف صورت گرفته است (۲۳، ۲۸، ۳۶ و ۷۶).

روش‌های تحلیلی که شامل کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، GC-MS، کروماتوگرافی گازی، UV/VIS اسپکتروفوتومتری، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و کروماتوگرافی لایه نازک با کارایی بالا (HPTLC) می‌باشد، برای آنالیز متابولیت‌های زعفران به کار گرفته شده است (۳۰، ۳۲ و ۷۵). در میان این روشها، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) معمولاً تکنیکی قابل اطمینان‌تر برای شناسایی کیفیت ترکیبات اصلی زعفران است (۲۳، ۳۲ و ۷۰). والگارسیا رودریگز و همکاران (۲۰۱۴) یک روش HPLC با آشکار ساز آرایه دیود (HPLC-DAD) برای

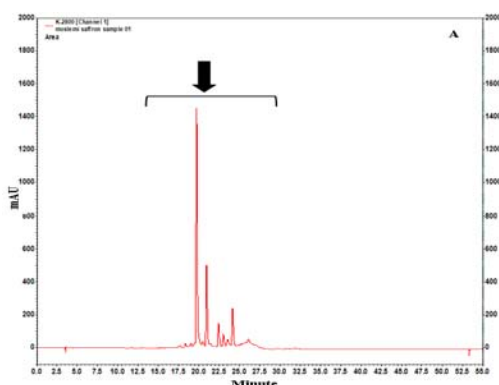
صوتی در تاریکی عصاره‌گیری شد (۳۲). سپس نمونه‌ها سانتریفیوژ شده و محلول رویی برای کروماتوگرافی استفاده شد.

آنالیز عصاره با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی شرکت Knauer ساخت کشور آلمان مدل wellchome k-1001، مجهز به اسپکتروفوتومتر آشکار ساز مدل UV-Vis 2800-(DAD) در پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی تهران انجام شد. ستون مورد استفاده برای جداسازی کمی Knuer Crospher RP (۱۸) به طول ۲۵ سانتی‌متر و قطر ۴/۶ میلی‌متر و فاز متحرک استونیتریل (A) و آب (B) با شدت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. آشکار سازی در طول موج های ۳۰۸ nm و ۴۴۰ nm بترتیب برای پیکروکروسین و کروسین تنظیم شد (۳۲).

**تجزیه و تحلیل آماری:** بررسی‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS23 و تجزیه و تحلیل واریانس آنوای یک طرفه (one way ANOVA) انجام شد.

## نتایج

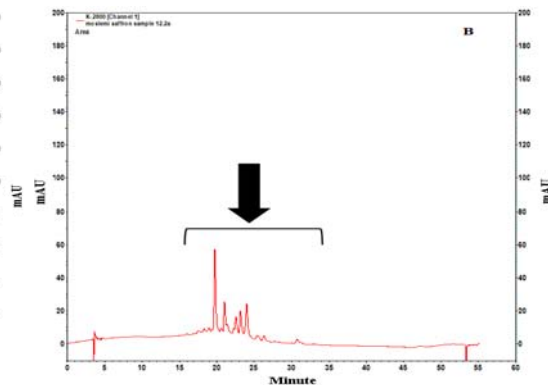
بررسی کیفی نشان داد که نمونه‌های مورد بررسی حاوی کروسین و پیکروکروسین بود. شکل‌های ۱ و ۲ کروماتوگرام‌های مربوط به چهار نمونه از تیمارهای شوری است.



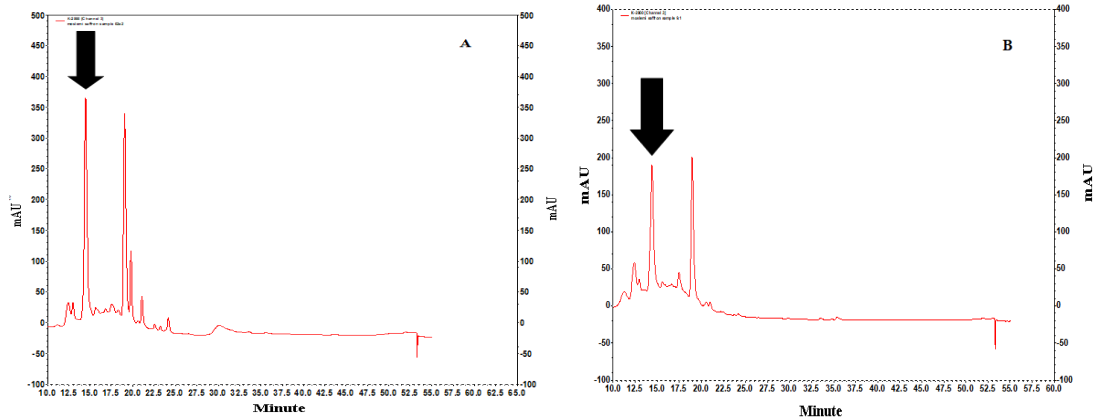
و از چمچه (لوله‌ای غشایی و سفید رنگ در اطراف برگها) خارج شد، تیمار شوری با شش غلظت ۰،۳۰،۶۰،۹۰،۱۲۰،۱۵۰ میلی‌مولار NaCl انجام شد و به صورت ۱۰۰ میلی‌لیتر ترکیب هوگلدن و غلظت NaCl مورد نظر به هر گلدان با فاصله سه روز در میان بود. جهت جلوگیری از شوک اسمزی، نمک در هر بار آبیاری به صورت پلکانی از ۳۰ میلی‌مولار اعمال شد تا به غلظت مورد نظر برسد. برای جلوگیری از تجمع نمک و املاح محلول هوگلدن در گلدان‌ها، پس از هر سه مرتبه اعمال تیمار شوری، با محلول آب مقطر شستشو داده شد. دو هفته بعد در اواخر آبان ماه گلها برداشت شد. کلاله‌های زعفران پس از اندازه‌گیری وزن تر جهت اندازه‌گیری وزن خشک به آن منتقل شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

**عصاره‌گیری و سنجش توسط HPLC:** استاندارد های پیکروکروسین و کروسین توسط HPLC نیمه مقدماتی با خلوص بترتیب ۹۱/۳۱٪ و ۹۷/۲۰٪ طبق روش کبیری و همکاران (۲۰۱۷) جدا شد (۳۲). استونیتریل به عنوان حلال استاندارد HPLC از شرکت مواد شیمیایی DAEJUNG (کره)، استاندارد اتانول HPLC از شرکت Carlo Erba (فرانسه) خریداری شد. آب فوق خالص شده از طریق سیستم Millipore Milli-Q خالص سازی شد.

۱۰ میلی‌گرم از کلاله پودر شده زعفران با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ به مدت ۱۵ دقیقه توسط ارتعاش



شکل ۱- کروماتوگرام HPLC کروسین (۴۴۰ nm)، (A) نمونه شاهد (B) غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار نمک



شکل ۲- کروماتوگرام HPLC پیکروکروسین (۲۵۰ nm) (A) نمونه شاهد (B) غلظت ۹۰ میلی-مولار نمک

معنی‌داری را در میزان کروسین میان تیمارهای مختلف شوری در سطح ۵٪ نشان داد. تیمارهای ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۵۰ میلی-مولار بترتیب ۳۱٪، ۷۰٪، ۹۵٪ و ۹۰٪ نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. بیشترین کاهش در میزان کروسین، مربوط به غلظت ۱۲۰ میلی-مولار نمک بود که نسبت به تیمار شاهد ۹۸٪ کاهش داشت. تیمارهای مختلف بر میزان پیکروکروسین تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما در تیمارهای ۹۰ و ۱۲۰ بترتیب ۴۵٪ و ۴۱٪ درصد نسبت به تیمار شاهد، کاهش معنی‌دار مشاهده شد.

با استفاده از کروماتوگرام‌های رسم شده و مشاهده قله‌ها در طول موج‌های مربوط به هر کدام از ترکیبات مورد بررسی در زعفران، سطح زیر هر منحنی توسط نرم افزار دستگاه HPLC محاسبه شد و با استفاده از منحنی استاندارد که از ماده خالص رسم شده بود، غلظت هر ترکیب محاسبه شد و میانگین داده‌ها به دست آمد. جدول ۱ میانگین اطلاعات کمی را نشان می‌دهد که بیانگر میزان هر یک از ترکیبات مورد بررسی در هر گرم از نمونه‌های مختلف زعفران است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها، تفاوت

جدول ۱- مقایسه میزان ترکیبات شناسایی شده زعفران (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) به روش HPLC

سطوح شوری (میلی مولار)	کروسین (میلی گرم/گرم)	پیکروکروسین (میلی گرم/گرم)
۰	۷/۸۱ $\pm$ ۰/۱۱ <sup>d</sup>	۵/۹۳ $\pm$ ۰/۴۲ <sup>b</sup>
۳۰	۵/۳۸ $\pm$ ۰/۹۱ <sup>c</sup>	۴/۵۰ $\pm$ ۰/۴۰ <sup>ab</sup>
۶۰	۲/۳۳ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۴/۴۵ $\pm$ ۱/۲۴ <sup>ab</sup>
۹۰	۰/۳۲ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>a</sup>	۳/۲۷ $\pm$ ۰/۳۵ <sup>a</sup>
۱۲۰	۰/۱۶ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>a</sup>	۳/۴۸ $\pm$ ۰/۶۴ <sup>a</sup>
۱۵۰	۰/۷۷ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۴/۱۶ $\pm$ ۰/۱۸ <sup>ab</sup>

میانگین‌ها با حروف مشابه در سطح ۵٪ معنی‌دار نیستند.

## بحث و نتیجه‌گیری

سطوح بالای نمک‌ها در محیط رشد، باعث القای تنش اسمزی می‌شود که به موجب آن گیاه با خشکی

فیزیولوژیکی مواجه می‌شود، شرایطی که گیاهان نمی‌توانند آب را علی‌رغم در دسترس بودن جذب کنند. در خاک‌هایی که سطوح بالای نمک را دارند، کاهش میزان فتوسنتز، رشد و جذب مواد غذایی در گیاهان مشاهده شده

غلظت شوری کاهش یافت که محققان فوق این کاهش را به کاهش فعالیت آنزیمی در گیاه زعفران نسبت دادند (۷۳). در مطالعات قبلی، بسیاری از محققان تأیید کردند که مسیر بیوستز کاروتنوئید احتمالاً به عنوان یک مجموعه چند آنزیمی برای تسهیل در انتقال متابولیت‌ها عمل می‌کند (۱۰، ۱۹، ۳۴)، این نشان می‌دهد که فرآیند مطالعه بیوستز کاروتنوئیدها پیچیده است و هر فرآیند به یک تحقیق چند رشته‌ای نیاز دارد تا آنها را به شیوه‌ای جامع بررسی کند (۴۴). اکسیداسیون آنزیمی کاروتنوئیدها توسط *carotenoid cleavage dioxygenase* (CCDs) در گیاهان منجر به تشکیل ترکیبات آپوکاروتنوئیدی می‌شود که نقش مهمی در سنتز ترکیبات طعم دهنده و عطر دهنده گلها و مواد غذایی دارد (۱۵). تنظیم بیان ژن‌های CCDs توسط تنش‌های زیستی و غیر زیستی به خوبی بررسی نشده است. بررسی‌ها نشان داده است که تنش شوری، خشکی، اشعه ماورا بنفش و سرما باعث افزایش بیان ژن‌های CCDs دخیل در مسیر سنتز ترکیبات آپوکاروتنوئیدی زعفران مانند  $\beta$ -ionon و  $\beta$ -cyclocitral می‌شوند که به عنوان مولکول‌های سیگنال دهنده در شرایط تنش عمل می‌کند (۶۹). در تحقیق صورت گرفته بر تاثیر تنش شوری بر بیان ژن‌های مسیر بیوستز کاروتنوئیدها در گیاه *Bixa orellana*، بیان ژن CCD در پایین‌ترین غلظت شوری (۲۵ میلی‌مولار) افزایش یافت، اما در غلظت‌های بالا سطوح نسخه‌های mRNA کاهش و به دنبال آن تجمع آپوکاروتنوئید بتا کاروتن ( $\beta$ -Caroten) که سوبسترای این آنزیم و پیش‌ساز ترکیبات  $\beta$ -ionon و  $\beta$ -cyclocitral است، افزایش یافت. از سوی دیگر میزان آپوکاروتنوئید آبسزیک اسید (ABA) نیز افزایش پیدا کرد (۵۲). در واقع تنش باعث تحریک و تغییر متابولیسم سلولی می‌شود و در نتیجه  $\beta$ -Caroten به عنوان پیش‌ساز بیوستز ABA تجمع می‌یابد. ABA نقش تنظیمی در بسیاری از مراحل فیزیولوژیکی گیاهان دارد و تحت شرایط تنش‌های غیر زیستی مانند شوری، خشکی، سرما، نور و دما افزایش

است (۱۲). متابولیت‌های ثانویه نیز در گیاهان ممکن است در پاسخ به شوری القا شده توسط تنش اسمزی یا سمیت یونی کاهش یا افزایش یابد که به جنس یا گونه گیاهی، مرحله رشدی یا نموی، میزان دسترسی به مواد غذایی، شرایط فصلی و شرایط تنش بستگی دارد (۵۸ و ۷۱). کاهش در سطوح کاروتنوئیدی در پاسخ به تنش شوری در بسیاری از گونه‌های گیاهی شامل: *Triticum aestivum* (۶۵ و ۶۷)، *Zea mays* (۲۹ و ۳۳)، *Capsicum annuum* (37)، *Cicer haseolus Pvulgaris* (66)، *Nicotiana tabacum*، *Picea abies* (54) *arietinum* (59) (wild type) (۶۰ و ۶۲)، *Salicorniana prostrate* و *Suaeda prostrate* (۹) گزارش شده است، اما به خوبی مشخص نشده است که تا چه حد عوامل محیطی یا ژنتیکی در بیوستز کاروتنوئیدها در گیاهان نقش دارند. عثمان و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که سطوح کاروتنوئیدها در نور و تحت تنش شوری در کشت کالوس سیب زمینی شیرین کاهش می‌یابد. آنها احتمال دادند که کاهش تجمع کاروتنوئیدها به دلیل خاموش شدن بیان ژن‌های تولید کننده بتا کاروتن و دیگر کاروتنوئیدها توسط تنش شوری است. تنش‌های غیر زیستی می‌تواند بیان ژن را تغییر داده و متابولیسم سلولی را در گیاهان آغاز کند که موجب انتقال اطلاعات به درون سلول و در کل گیاه می‌شود. تغییر در بیان ژن، رشد و نمو را تغییر می‌دهد و حتی بیوستز کاروتنوئیدها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. (۴۴). در این تحقیق نیز بر اساس نتایج به دست آمده، تنش شوری در محیط کشت هیدروپونیک موجب کاهش میزان متابولیت‌های آپوکاروتنوئیدی کروسین و پیکروکروسین در زعفران شد. در تحقیقی دیگر که توسط یارمی و سپاسخواه (۶۶) بر تاثیر تنش شوری در غلظت‌های ۰/۴۵، ۱، ۲ و ۳ دسی‌زیمنس بر میزان ترکیبات کروسین، پیکروکروسین و سافرانال در زعفران به روش UV اسپکتروفوتومتر و بر اساس استاندارد تجاری ISO 3632 صورت گرفت، میزان کروسین و پیکروکروسین با افزایش

کردن اثرات رادیکال‌های آزاد نبوده و میزان آنها کاهش می‌یابد (۵). بنا براین می‌توان احتمال داد که به دلیل اکسیداسیون کاروتنوئیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط بالای تنش، گیاهان با تغییر بیان ژن‌های مسیر بیوسنتز آنها، از تولید آنها تحت شرایط تنش جلوگیری میکنند و این می‌تواند یک سیستم دفاعی برای حفاظت از دستگاه فتوسنتزی گیاه در مقابل اثرات زیان‌بار تنش باشد.

مستندات زیادی در مورد تاثیر تنش شوری بر فرآیند‌های بیوشیمیایی و یا ژنتیکی بیوسنتز کروسین و پیکروکروسین در زعفران زراعی در دست‌نمی‌باشد و نتایج تحقیقات قبلی فقط به تاثیر تنش شوری در میزان کمی یا کیفی این ترکیبات پرداخته است (۷۳) که نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه دارد.

متابولیت‌های ثانویه در گیاهان انواع گوناگونی دارد که برخی مانند آپوکاروتنوئیدهای کروسین و پیکروکروسین در زعفران در ایجاد رنگ و طعم گیاه نقش دارد و برخی مانند ABA نقش سیگنال‌دهنده در شرایط تنش را دارد. افزایش یا کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه به فعالیت آنزیم‌های مسیر بیوسنتز آنها بستگی دارد. تنش‌های محیطی می‌تواند بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه را از طریق تاثیر بر بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌های این مسیر تغییر دهد و به سمت سنتز آپوکاروتنوئیدهای دفاعی مانند ABA هدایت کند، در نتیجه میزان آپوکاروتنوئیدهای عطردهنده و طعم‌دهنده کاهش می‌یابد. با توجه به اهمیت نقش آنزیم‌ها در مسیر بیوسنتز کاروتنوئیدها در گیاهان، پیشنهاد می‌شود که تاثیر تنش‌های غیر زیستی مانند تنش شوری بر بیان ژن‌های دخیل در تولید این آنزیم‌ها بررسی شود تا بتوان اطلاعات جامع‌تری از نقش تنش‌ها در میزان تولید متابولیت‌های ارزشمند در گیاهان تجاری- دارویی مانند زعفران به دست آورد.

می‌یابد (۶۴). بنابراین، می‌توان گفت یک مرحله نظارتی برای مسیر بیوسنتزی کاروتنوئیدها در مقابل تنش محیطی وجود دارد که توسط ABA تعدیل می‌شود و شامل تنظیم یا مهار  $\beta$ - Caroten است. به نظر می‌رسد  $\beta$ - Caroten یک عامل مهم و شاخص برای حضور تنش محیطی است.

بر این اساس، می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً با افزایش غلظت شوری و کاهش بیان ژن‌های CCD، مسیر سنتز آپوکاروتنوئیدها به جای تولید آپوکاروتنوئیدهای عامل رنگ و طعم در زعفران، به سمت تولید ABA که یک آپوکاروتنوئید دفاعی است می‌رود و این می‌تواند علت احتمالی کاهش ترکیبات آپوکاروتنوئیدی کروسین و پیکروکروسین در گیاه زعفران باشد. در مطالعه‌ای که بر روی تاثیر تنش شوری بر بیان چند ژن دخیل در مسیر بیوسنتز کاروتنوئیدها در گوجه‌فرنگی صورت گرفت، بیان تمام ژنها با افزایش غلظت شوری کاهش پیدا کرد که در نتیجه آن میزان کاروتنوئیدها کاهش یافت، زیرا کاروتنوئیدها نقش مهمی در برداشت انرژی نوری در سیستم فتوسنتزی ایفا می‌کنند و با کاهش تولید آنها تحت شرایط تنش شوری، سرعت فتوسنتز و به دنبال آن بازده محصول کاهش می‌یابد (۱۱). افشار محمدیان و همکاران در بررسی تاثیر تنش خشکی که خود یکی از پیامدهای تنش شوری در گیاهان است، مشاهده کردند که میزان کاروتنوئیدهای در دو رقم گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) با افزایش میزان خشکی کاهش پیدا کرد که احتمالاً می‌تواند نتیجه اکسیداسیون کاروتنوئیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باشد (۲). کاروتنوئیدها قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یکتایی را به سه تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی‌اکسیداسیون خود را ایفا کنند. تنش ملایم خشکی باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها می‌شود، در حالی که در تنش‌های شدید کم‌آبی دیگر قادر به خنثی

## منابع

- ۱- ابراهیم زاده، ح.، رجیبیان، ط.، ابریشم چی، ر.، کریمیان، ر. و صبور، ع. (۱۳۸۵). زعفران ایران، با نگاه پژوهشی. انتشارات اطلاعات. ۶۴۴ صفحه.
- ۲- افشار محمدیان، م.، امید پور، م. و جمال امیدی، ف. (۱۳۹۷). اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر شاخص‌های فلورسانس کلروفیل دو رقم لویبا. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۳۱(۳): ۷۰۹-۶۹۴.
- ۳- تاجیک، س.، زرین کمر، ف. و بطحایی، س. ز. (۱۳۹۱). بررسی میزان رنگیزه کاروتنوئیدی کروسین، پیکروکروسین و سافرانال در
- گونه زعفران *Crocus sativus* L. در مناطق قائن و طبس. مجله زیست‌شناسی ایران. ۲۵(۳): ۴۲۹-۴۲۳.
- ۴- رجیبیان، ط.، غضنفری، ط. و دانیالی، ف. (۱۳۸۷). اثر کاروتنوئیدهای محلول در آب زعفران بر پاسخ ایمنی سلولی در موش BALB/c. مجله دانشور پزشکی. ۷: ۱-۷.
- ۵- عباسپور، ح. و رضایی، ح. (۱۳۹۳). اثر جیبرلیک اسید بر سرعت واکنش هیل، رنگیزه‌های فتوسنتزی و ترکیبات فنلی در گیاه دارویی بادرشبو (*Dracocephalum moldavica* L.) تحت شرایط تنش خشکی. مجله پژوهش‌های گیاهی. ۲۷(۳): ۹۰۳-۸۹۳.
- 6- Abdullaev, F. (2002). Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L.). *Experimental Biology and Medicine*, 227(1), 20–25.
- 7- Abdullaev, F. (2003). *Crocus sativus* against cancer. *Archives of Medical Research*, 34(4), 354.
- 8- Abdullaev, F. I., & Espinosa-Aguirre, J. J. (2004). Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. *Cancer Detection and Prevention*, 28(6), 426–432.
- 9- Akcin, A., & Yalcin, E. (2016). Effect of salinity stress on chlorophyll, carotenoid content, and proline in *Salicornia prostrata* Pall. and *Suaeda prostrata* Pall. subsp. *prostrata* (Amaranthaceae). *Brazilian Journal of Botany*, 39(1), 101–106.
- 10- Al-Babili, S., Lintig, J. v, Haubruck, H., & Beyer, P. (1996). A novel, soluble form of phytoene desaturase from *Narcissus pseudonarcissus* chromoplasts is Hsp70-complexed and competent for flavinylation, membrane association and enzymatic activation. *The Plant Journal*, 9(5), 601–612.
- 11- Ann, B. M., Devesh, S., & Gothandam, K. M. (2011). Effect of salt stress on expression of carotenoid pathway genes in tomato. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7(3).
- 12- Ashraf, M., Iqbal, M., Hussain, I., & Rasheed, R. (2015). Physiological and biochemical approaches for salinity tolerance. *Managing Salt Tolerance in Plants: Molecular and Genomic Perspectives*, 79.
- 13- Assimopoulou, A. N., Sinakos, Z., & Papageorgiou, V. (2005). Radical scavenging activity of *Crocus sativus* L. extract and its bioactive constituents. *Phytotherapy Research*, 19(11), 997–1000.
- 14- Atal, C. K., & Kapur, B. M. (1982). Cultivation and utilization of medicinal plants.
- 15- Auldridge, M. E., McCarty, D. R., & Klee, H. J. (2006). Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 315–321.
- 16- Avarseji, Z., Kafi, M., Sabet Teimouri, M., & Orooji, K. (2013). Investigation of salinity stress and potassium levels on morphophysiological characteristics of saffron. *Journal of Plant Nutrition*, 36(2), 299–310.
- 17- Baba, S. A., & Ashraf, N. (2016). Apocarotenoid Biosynthesis in *Crocus sativus* L. In *Apocarotenoids of Crocus sativus* L: From biosynthesis to pharmacology (pp. 1–21). Springer.
- 18- Baba, S. A., Jain, D., Abbas, N., & Ashraf, N. (2015). Overexpression of Crocus carotenoid cleavage dioxygenase, CsCCD4b, in Arabidopsis imparts tolerance to dehydration, salt and oxidative stresses by modulating ROS machinery. *Journal of Plant Physiology*, 189, 114–125.
- 19- Bonk, M., Tadros, M., Vandekerckhove, J., Al-Babili, S., & Beyer, P. (1996). Purification and characterization of chaperonin 60 and heat-shock protein 70 from chromoplasts of *Narcissus pseudonarcissus* (Involvement of heat-shock protein 70 in a soluble protein complex containing phytoene desaturase). *Plant Physiology*, 111(3), 931–939.



- 20- Baghalian, K., Haghiri, A., Naghavi, M. R., & Mohammadi, A. (2008). Effect of saline irrigation water on agronomical and phytochemical characters of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Scientia Horticulturae*, 116(4), 437–441.
- 21- Bathaie, S. Z., & Mousavi, S. Z. (2010). New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(8), 761–786.
- 22- Bhandari, P. R. (2015). *Crocus sativus* L.(saffron) for cancer chemoprevention: a mini review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 5(2), 81–87.
- 23- Caballero-ortega, H., Pereda-miranda, R., & Abdullaev, F. I. (2007). Food Chemistry HPLC quantification of major active components from 11 different saffron (*Crocus sativus* L.) sources. *Food Chemistry*, 100(3), 1126–1131.
- 24- Escribano, J., Alonso, G.-L., Coca-Prados, M., & Fernández, J.-A. (1996). Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. *Cancer Letters*, 100(1–2), 23–30.
- 25- Frusciante, S., Diretto, G., Bruno, M., Ferrante, P., Pietrella, M., Prado-Cabrero, A., Al-Babili, S. (2014). Novel carotenoid cleavage dioxygenase catalyzes the first dedicated step in saffron crocin biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(33), 12246–12251.
- 26- Gantait, S., & Vahedi, M. (2015). In vitro regeneration of high value spice *Crocus sativus* L. a concise appraisal. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 2(4), 124–133.
- 27- Gengmao, Z., Yu, H., Xing, S., Shihui, L., Quanmei, S., & Changhai, W. (2015). Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower. *Industrial Crops and Products*, 64, 175–181.
- 28- Gohari, A. R., Saeidnia, S., & Mahmoodabadi, M. K. (2013). An overview on saffron, phytochemicals, and medicinal properties. *Pharmacognosy Reviews*, 7(13), 61.
- 29- Gul, H., Kinza, S., Shinwari, Z. K., & Hamayun, M. (2017). Effect of selenium on the biochemistry of *Zea mays* under salt stress. *Pak J Bot*, 49, 25–32.
- 30- Hadizadeh, F., Mohajeri, S. A., & Seifi, M. (2010). Extraction and purification of crocin from saffron stigmas employing a simple and efficient crystallization method. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 13(14), 691.
- 31- Hosseinzadeh, H., & Younesi, H. M. (2002). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacology*, 2(1), 7.
- 32- Kabiri, M., Rezadoost, H., & Ghassempour, A. (2017). A comparative quality study of saffron constituents through HPLC and HPTLC methods followed by isolation of crocins and picrocrocin. *LWT*, 84, 1–9.
- 33- Liu, R. Q., Xu, X. J., Wang, S., & Shan, C. J. (2016). Lanthanum improves salt tolerance of maize seedlings. *Photosynthetica*, 54(1), 148–151.
- 34- Lopez, A. B., Van Eck, J., Conlin, B. J., Paolillo, D. J., O’neill, J., & Li, L. (2008). Effect of the cauliflower Or transgene on carotenoid accumulation and chromoplast formation in transgenic potato tubers. *Journal of Experimental Botany*, 59(2), 213–223.
- 35- Martin, G., Goh, E., & Neff, A. W. (2002). Evaluation of the developmental toxicity of crocetin on *Xenopus*. *Food and Chemical Toxicology*, 40(7), 959–964.
- 36- Melnyk, J. P., Wang, S., & Marcone, M. F. (2010). Chemical and biological properties of the world’s most expensive spice: Saffron. *Food Research International*, 43(8), 1981–1989.
- 37- Melo, H. F. de, Souza, E. R. de, Duarte, H. H. F., Cunha, J. C., & Santos, H. R. B. (2017). Gas exchange and photosynthetic pigments in bell pepper irrigated with saline water. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 21(1), 38–43.
- 38- Molina, R. V, Valero, M., & Navarro, Y. (2005). Temperature effects on flower formation in saffron (*Crocus sativus* L.). *Scientia Horticulturae*, 103, 361–379.
- 39- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651–681.
- 40- Nair, S. C., Pannikar, B., & Panikkar, K. R. (1991). Antitumour activity of saffron (*Crocus sativus*). *Cancer Letters*, 57(2), 109–114.
- 41- Ochiai, T., Ohno, S., Soeda, S., Tanaka, H., Shoyama, Y., & Shimeno, H. (2004). Crocin prevents the death of rat pheochromyctoma (PC-12) cells by its antioxidant effects stronger than those of  $\alpha$ -tocopherol. *Neuroscience Letters*, 362(1), 61–64.

- 42- Ohmiya, A. (2009). Carotenoid cleavage dioxygenases and their apocarotenoid products in plants. *Plant Biotechnology*, 26(4), 351–358.
- 43- Ordoudi, S. A., & Tsimidou, M. Z. (2004). Saffron quality: Effect of agricultural practices, processing and storage. In *Production Practices and Quality Assessment of Food Crops Volume 1* (pp. 209–260). Springer.
- 44- Othman, R., Kammona, S., Jaswir, I., Jamal, P., & Mohd, H. (2017). Effect of abiotic stress on carotenoids accumulation in orange sweet potato callus under light and dark conditions. *International Food Research Journal*, 24(Suppl.).
- 45- Premkumar, K., Abraham, S. K., Santhiya, S. T., Gopinath, P. M., & Ramesh, A. (2001). Inhibition of genotoxicity by saffron (*Crocus sativus* L.) in mice. *Drug and Chemical Toxicology*, 24(4), 421–428.
- 46- Premkumar, Kumpati, Kavitha, S., Santhiya, S. T., & Ramesh, A. (2004). Interactive effects of saffron with garlic and curcumin against cyclophosphamide induced genotoxicity in mice. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 13(3).
- 47- Priya, R., & Siva, R. (2014). Phylogenetic analysis and evolutionary studies of plant carotenoid cleavage dioxygenase gene. *Gene*, 548(2), 223–233.
- 48- Rajaei, S. M., Niknam, V., Seyedi, S. M., Ebrahimzadeh, H., & Razavi, K. (2009). Contractile roots are the most sensitive organ in *Crocus sativus* to salt stress. *Biologia Plantarum*, 53(3), 523–529.
- 49- Ramawat, K. G. (2007). *Biotechnology: secondary metabolites*. CRC Press.
- 50- Saeidnia, S. (2012). Future Position of *Crocus sativus* as a Valuable Medicinal Herb in Phytotherapy. *Pharmacognosy Journal*, 27(4), 71.
- 51- Sánchez-Rodríguez, E., Moreno, D. A., Ferreres, F., del Mar Rubio-Wilhelmi, M., & Ruiz, J. M. (2011). Differential responses of five cherry tomato varieties to water stress: changes on phenolic metabolites and related enzymes. *Phytochemistry*, 72(8), 723–729.
- 52- Sankari, M., Hridya, H., Sneha, P., Doss, C. G. P., Christopher, J. G., Mathew, J., Ramamoorthy, S. (2019). Implication of salt stress induces changes in pigment production, antioxidant enzyme activity, and qRT-PCR expression of genes involved in the biosynthetic pathway of *Bixa orellana* L. *Functional & Integrative Genomics*, 1–10.
- 53- Saxena, R. B. (2010). Botany, Taxonomy and Cytology of *Crocus sativus* series. *Ayu*, 31(3), 374.
- 54- Schiop, S. T., Al Hassan, M., Sestras, A. F., Boscaiu, M., Sestras, R. E., & Vicente, O. (2015). Identification of Salt Stress Biomarkers in Romanian Carpathian Populations of *Picea abies* (L.) Karst. *PloS One*, 10(8), e0135419.
- 55- Schmidt, M., Betti, G., & Hensel, A. (2007). Saffron in phytotherapy: pharmacology and clinical uses. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 157(13–14), 315.
- 56- Sepaskhah, A. R., Dehbozorgi, F., & Kamgar-Haghighi, A. A. (2008). Optimal irrigation water and saffron corm planting intensity under two cultivation practices in a semi-arid region. *Biosystems Engineering*, 101(4), 452–462.
- 57- Sepaskhah, A. R., & Kamgar-Haghighi, A. A. (2009). Saffron Irrigation Regime. *International Journal of Plant Production*, 3(1), 1–16.
- 58- Sepaskhah, A. R., & Yarami, N. (2009). Interaction effects of irrigation regime and salinity on flower yield and growth of saffron. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84(2), 216–222.
- 59- Sepaskhah, A. R., & Yarami, N. (2012). Evaluation of macroscopic water extraction model for salinity and water stress in saffron yield production. *International Journal of Plant Production*, 4(3), 175–186.
- 60- Shankar, V., Kumar, D., & Agrawal, V. (2016). Assessment of antioxidant enzyme activity and mineral nutrients in response to NaCl stress and its amelioration through glutathione in chickpea. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(2), 267–284.
- 61- Shi, Y., Guo, J., Zhang, W., Jin, L., Liu, P., Chen, X., Li, W. (2015). Cloning of the lycopene  $\beta$ -cyclase gene in *Nicotiana tabacum* and its overexpression confers salt and drought tolerance. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(12), 30438–30457.
- 62- Shi, Y., Liu, P., Xia, Y., Wei, P., Li, W., Zhang, W., Jin, L. (2015). Downregulation of the lycopene  $\epsilon$ -cyclase gene confers tolerance to salt and drought stress in *Nicotiana tabacum*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(10), 210.
- 63- Spitaler, R., Schlorhauser, P. D., Ellmerer, E. P., Merfort, I., Bortenschlager, S., Stuppner, H., & Zidorn, C. (2006). Altitudinal variation of secondary metabolite profiles in flowering heads of *Arnica montana* cv. ARBO. *Phytochemistry*, 67(4), 409–417.

- 64- Swamy, P. M., & Smith, B. N. (1999). Role of abscisic acid in plant stress tolerance. *Current Science*, 1220–1227.
- 65- Tabatabaei, S., & Ehsanzadeh, P. (2016). Photosynthetic pigments, ionic and antioxidative behaviour of hulled tetraploid wheat in response to NaCl. *Photosynthetica*, 54(3), 340–350.
- 66- Taïbi, K., Taïbi, F., Abderrahim, L. A., Ennajah, A., Belkhdja, M., & Mulet, J. M. (2016). Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany*, 105, 306–312.
- 67- Teimouri, M. S., Khazae, H. R., Nezami, A., & Nassiri Mahallati, M. (2008). Effect of different salinity levels on antioxidant enzymes activity in leaf and physiological characteristics of sesame (*Sesamum indicum* L.).
- 68- Tian, F., Wang, W., Liang, C., Wang, X., Wang, G., & Wang, W. (2017). Overaccumulation of glycine betaine makes the function of the thylakoid membrane better in wheat under salt stress. *The Crop Journal*, 5(1), 73–82.
- 69- Uarrotta, V. G., Stefen, D. L. V., Leolato, L. S., Gindri, D. M., & Nerling, D. (2018). Revisiting Carotenoids and Their Role in Plant Stress Responses: From Biosynthesis to Plant Signaling Mechanisms During Stress. In *Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants* (pp. 207–232). Springer.
- 70- Valle Garcia-Rodriguez, M., Serrano-Diaz, J., Tarantilis, P. A., López-Córcoles, H., Carmona, M., & Alonso, G. L. (2014). Determination of saffron quality by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(32), 8068–8074.
- 71- Verpoorte, E. (2002). Microfluidic chips for clinical and forensic analysis. *Electrophoresis*, 23(5), 677–712.
- 72- Vogel, J. T., Tan, B.-C., McCarty, D. R., & Klee, H. J. (2008). The carotenoid cleavage dioxygenase 1 enzyme has broad substrate specificity, cleaving multiple carotenoids at two different bond positions. *Journal of Biological Chemistry*, 283(17), 11364–11373.
- 73- Yarami, N., & Sepaskhah, A. R. (2016). Effect of irrigation water salinity, manure application and planting method on qualitative compounds of saffron (*Crocus sativus* L.). *International Journal of Plant Production*, 10(2), 123–138.
- 74- Zeka, K., Ruparelia, K. C., Continenza, M. A., Stagos, D., Vegliò, F., & Arroo, R. R. J. (2015). Petals of *Crocus sativus* L. as a potential source of the antioxidants crocin and kaempferol. *Fitoterapia*, 107, 128–134.
- 75- Zhang, H., Zeng, Y., Yan, F., Chen, F., Zhang, X., Liu, M., & Liu, W. (2004). Semi-preparative isolation of crocins from saffron (*Crocus sativus* L.). *Chromatographia*, 59(11–12), 691–696.
- 76- Zougagh, M., Ríos, A., & Valcárcel, M. (2006). Determination of total safranal by in situ acid hydrolysis in supercritical fluid media: Application to the quality control of commercial saffron. *Analytica Chimica Acta*, 578(2), 117–121.

## The effect of salt stress on some secondary metabolites of saffron

Moslemi F.S.<sup>1</sup>, Vaziri A.<sup>1</sup>, Sharifi G.<sup>2</sup> and Gharechahi J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, I.R. of Iran.

<sup>2</sup> Dept. of Basic Sciences, Encyclopedia Research Center, Institute for Humanities and Cultural Studies, Tehran, I.R. of Iran.

<sup>3</sup> Human Genetics Research Center, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R. of Iran.

### Abstract

In order to investigate the effect of salinity stress on the amount of two important metabolites of saffron (Crocine) and Picrocrocine (Flavor Factor), saffron corms were planted in hydroponic conditions in pots containing perlite and in controlled laboratory conditions with 100 ml of ½ Hoagland nutrient solution containing 0, 30, 60, 90, 120 and 150 mM Sodium chloride (NaCl) were irrigated for four weeks. After flowering, stigmas were harvested and crocine and picrocrocine were separated and purified by high performance liquid chromatography (HPLC) equipped with detector spectrophotometer (HPLC-DAD). The results showed a significant difference in the amount of crocine between different salinity treatments at 5% level, the highest decrease in crocine content was observed at 120 mM NaCl, which was 98% lower than the control treatment. There was no significant difference in picrocrocine in different treatments, but in the 90 and 120 treatments, there was a significant decrease of 45% and 41%, respectively. According to the results of the present study, salinity decreased the secondary metabolites of saffron.

**Key words:** Picrocrocine, Salinity stress, Crocine, *Crocus sativus* L.