

تأثیر اکسین و عنصر مس بر رشد زعفران

نسیم رضوانی^۱، علی سروش‌زاده^{۱*} و مظفر شریفی^۲

^۱ گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

^۲ گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

گیاه زعفران یکی از رایج‌ترین گونه‌های گیاهی ادویه‌ای و دارویی در دنیا شناخته شده است. در رابطه با تأثیر عنصر مس و مواد تنظیم‌کننده رشد بر خصوصیات مورفولوژیکی گیاه زعفران اطلاعات اندکی در دسترس است. هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی تأثیر غلظت‌های مختلف عنصر مس و تنظیم‌کننده رشد اکسین بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی ریشه و برگ زعفران است. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی و در شرایط گلخانه‌ای و سیستم کشت آبکشت انجام شد. عنصر مس به شکل سولفات مس (صفر، ۰/۰۲، ۰/۱، ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) و اکسین به شکل نفتالین استیک اسید (صفر، ۱ و ۲ گرم در لیتر) و به صورت پیش‌تیمار استفاده شد. نتایج نشان داد که برهم کنش نفتالین استیک اسید با غلظت ۱ گرم در لیتر و سولفات مس با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر صفاتی همچون: تعداد ریشه و وزن خشک برگ و ریشه را در گیاه زعفران افزایش داد. همچنین، نفتالین استیک اسید در غلظت‌های ۱ و ۲ گرم در لیتر در اغلب تیمارها تعداد جوانه را در گیاه زعفران کاهش دادند. در تیمارهایی که غلظت سولفات مس ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر بود غلظت عنصر مس در بخش بنه‌ای گیاه زعفران افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: بنه زعفران، زعفران، عنصر مس، نفتالین استیک اسید

مقدمه

زعفران با نام علمی *Crocus sativus* L. گران‌قیمت‌ترین محصول کشاورزی، دارویی و ادویه‌ای جهان، جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات صنعتی و صادراتی ایران دارد (Nassiri Mahallati et al., 2007). این گیاه از طریق بذر قابل تکثیر نیست و تنها راه تکثیر آن از طریق ساقه زیرزمینی به نام بنه است

(Nassiri Mahallati et al., 2007). وزن بنه از عوامل

مهمی است که ظرفیت این گیاه را برای گل‌دهی تعیین می‌کند. میزان عملکرد زعفران در سال اول به شدت متأثر از اندازه و ذخایر بنه‌هایی است که به عنوان بذر کشت می‌شوند و این بنه‌ها با رشد و نمو خود در سال اول از زمان کشت تا پایان دوره رشد سبب به وجود آمدن بنه‌های دختری می‌شوند که به عنوان بذر گیاه در

اسید (NAA) یکی از تنظیم‌کننده‌های رشد اکسینی و کارآمدترین تیمار برای القای رویان‌زایی بدنی در زعفران و تمایز ریشه‌ها است (Rajabpoor *et al.*, 2011). مقدار اکسین در جوانه‌های انتهایی تا اندازه زیادی بر رشد جوانه‌های جانبی تأثیر گذار است (Amirshakari *et al.*, 2006). از سوی دیگر، عنصر مس نیز در غلظت مناسب بر رشد ریشه تأثیر مثبت دارد (Lequeux and Hermans, 2010). اما غلظت نامناسب این عنصر از طریق ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن باعث ایجاد سمیت در گیاهان می‌شود (Ra'issi *et al.*, 2009). در اثر سمیت مس، رشد ریشه گیاهان کاهش می‌یابد. نتایج بررسی‌های Keyhani و Keyhani (۲۰۰۶) درباره اثر سمیت عنصر مس بر بنه‌ها و ریشه‌های زعفران نشان داده است که غلظت‌های بالای ۰/۰۶ میلی‌مولار عنصر مس مانع از طویل شدن ریشه می‌شود. آنها همچنین گزارش کردند که با کشت بنه‌ها در غلظت‌های ۰/۳ و ۰/۰۶ میلی‌مولار عنصر مس بافت به ویژه در ناحیه ریشه‌دهی قهوه‌ای گردید. از دیگر مشاهدات آنها این بود که تعداد ریشه در گیاه زعفران در غلظت بالاتر از ۰/۰۶ میلی‌مولار عنصر مس کاهش می‌یابد. از سوی دیگر، عنصر مس در گیاه آراییدوپسیس موجب کاهش شدید رشد ریشه و ساقه می‌شود که احتمالاً به دلیل کاهش بیان ژن‌های وابسته به اکسین و تغییرات تعادل اکسین در هر دو اندام است (Kolbert *et al.*, 2012).

از این رو، پژوهش حاضر در راستای بهبود رشد ریشه و افزایش وزن بنه‌های گیاه زعفران از طریق کاربرد خارجی نفتالین استیک اسید (NAA) و تغییر غلظت سولفات مس در محلول غذایی انجام شد. تاکنون بررسی‌های معدودی در رابطه با تغذیه گیاه

سال دوم محسوب خواهند شد و بنه‌های تولید شده جدید نیز عملکرد سال‌های بعدی را متأثر می‌کنند (Kumar *et al.*, 2009). از این رو، تحقیقات هدفمند و شناسایی عوامل مؤثر بر صفات مورفولوژیکی گیاه در سال اول رشد و نمو و تحقیقات بعدی در شناخت رابطه این صفات با عملکرد آنها در سال‌های متادای برداشت، می‌تواند ما را در رسیدن به عملکرد مطلوب یاری دهد. وزن اولیه بنه‌ها بر سرعت رشد و گسترش ریشه و افزایش طول دوره جذب مواد غذایی از خاک تأثیر معنی‌داری دارد (Goliaris, 1999). بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که در ابتدای فصل رشد بنه‌های بزرگ‌تر با افزایش سرعت تولید ریشه در واحد سطح موجب افزایش جذب آب و عناصر غذایی از خاک می‌شوند که این امر به تولید بیشتر و سریع‌تر مواد فتوسنتزی در بنه‌های بزرگ‌تر منجر می‌شود. در نتیجه، میزان کربوهیدرات انتقالی به ریشه در این بنه‌ها نسبت به بنه‌های کوچک‌تر بیشتر خواهد شد (Gresta *et al.*, 2009) و بنه‌های بزرگ‌تر قدرت بیشتری برای جذب عناصر به صورت فعال خواهند داشت. بنه‌هایی با وزن بالاتر عملکرد بالاتری دارند و در سال اول تولید گل می‌کنند. از این رو، تولید بنه‌هایی با وزن بالاتر در گیاه زعفران از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Nassiri Mahallati *et al.*, 2007) که در پژوهش حاضر به آن پرداخته شده است.

از آنجا که ریشه‌زایی امری مهم در مراحل رشد و نمو گیاه زعفران است، مطالعه آن اهمیت خاصی دارد. با توجه به نقش ریشه در جذب آب و مواد غذایی و در نتیجه افزایش فتوسنتز گیاه، این اندام نقش مهمی در افزایش وزن بنه‌های گیاه زعفران دارد. نفتالین استیک

صورت گرفت. در این نمونه برداری صفات مورفولوژیک از جمله: تعداد ریشه، طول ریشه، وزن خشک ریشه، تعداد جوانه های جانبی، وزن خشک برگ های جوانه اصلی و جوانه های جانبی، تعداد بنه های دختری، وزن بنه دختری بزرگ (بنه ای که در میان بنه های دختری بیشترین وزن را دارا بود) و کوچک (سایر بنه های تولید شده) اندازه گیری شدند.

غلظت عنصر مس در برگ ها و بنه های دختری نیز بررسی شد. برای اندازه گیری غلظت عنصر مس، با روش سوزاندن خشک و ترکیب با هیدروکلریک اسید (HCl) عصاره گیری انجام شد (Walinga *et al.*, 1989). همچنین، از روش جذب اتمی شعله ای برای به دست آوردن غلظت عنصر مس استفاده شد (Elmer, 1996). در این روش، میزان جذب عنصر مس در طول موج های ۲۱۳/۹ و ۳۲۴/۷ نانومتر اندازه گیری شد و غلظت آن در نمونه ها با استفاده از منحنی استاندارد به دست آمد. تجزیه و تحلیل داده ها توسط نرم افزار SAS (Statistical Analysis System) و مقایسه میانگین تیمارها با روش دانکن بررسی شد. رسم شکل ها توسط نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج

محتوای غلظت عنصر مس در برگ گیاه

زعفران: نتایج آنالیز واریانس داده ها نشان داد که برهم کنش سولفات مس و NAA در سطح ۱ درصد روی میزان عنصر مس در برگ زعفران مؤثر بود (جدول ۱). بیشترین میزان یا مقدار عنصر مس در برگ، مربوط به تیمار ۲ گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی گرم در لیتر CuSO_4 بود و کمترین آن در تیمار بدون سولفات مس و

زعفران و به ویژه اثر کمبود و سمیت عنصر مس بر صفات مورفولوژیک و بیوشیمیایی آن صورت گرفته است، بنابراین نتایج آن اطلاعات جدیدی در مورد اثر متقابل اکسین و عنصر مس بر رشد زعفران ارایه می دهد. فرض بر این است که برهم کنش این دو عامل موجب افزایش تعداد ریشه و وزن تر و خشک در گیاه زعفران می گردد و NAA موجب کاهش تعداد جوانه های جانبی در آن می شود.

مواد و روش ها

پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۰ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. غلظت های مختلف نفتالین استیک اسید (Naphthalene Acetic Acid) به عنوان عامل اول و غلظت های مختلف سولفات مس (CuSO_4) به عنوان عامل دوم استفاده گردید. در این آزمایش، بنه هایی با وزن ۸ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. این آزمایش با استفاده از سیستم کشت آبکشت اجرا شد.

پیش از کاشت بنه های زعفران در نفتالین استیک اسید با غلظت های صفر، ۱ و ۲ گرم در لیتر به مدت ۶۰ دقیقه پیش تیمار شدند. یک هفته پس از کشت، گلدان ها با محلول غذایی هوگلند (Hoagland) و غلظت های مختلف عنصر مس (صفر، ۰/۰۲) (غلظت عنصر مس در محلول هوگلند)، ۰/۱ (۵ برابر غلظت عنصر مس در محلول هوگلند)، ۰/۲ (۱۰ برابر غلظت عنصر مس در محلول هوگلند) میلی گرم در لیتر (به شکل CuSO_4) در طول دوره رشد و طی ۲۶ مرحله آبیاری شدند. نمونه برداری شش ماه پس از کشت بنه های گیاه زعفران

غلظت عنصر مس بنه‌ها نشان داد، سولفات مس با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر بیشترین و عدم استفاده از آن کمترین غلظت عنصر مس را در بنه‌ها را دارد. اثر متقابل NAA و CuSO_4 در شکل ۱ نشان داده شده است. در این شکل بیشترین غلظت عنصر مس بنه در صورت کاربرد و عدم کاربرد NAA مربوط به تیمارهایی است که دارای غلظت‌های ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر CuSO_4 هستند.

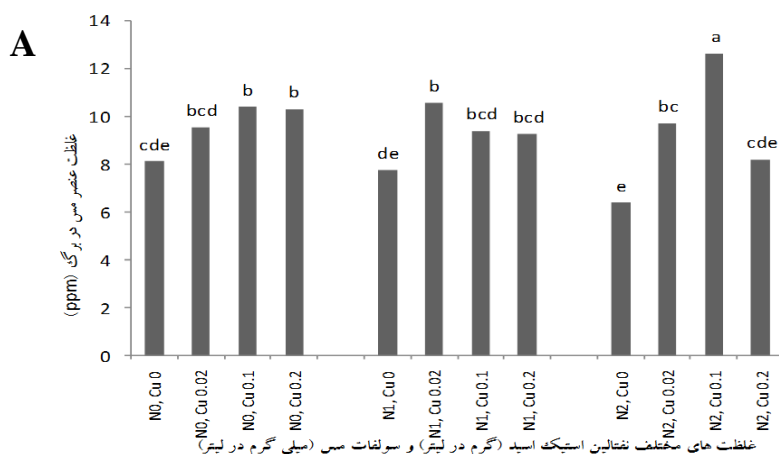
۲ گرم در لیتر NAA مشاهده شد. در واقع، هنگامی که از غلظت بالای اکسین (۲ گرم در لیتر NAA) استفاده شد، افزایش بیشتری در غلظت عنصر مس برگ دیده شد.

محتوای غلظت عنصر مس در بنه گیاه زعفران:

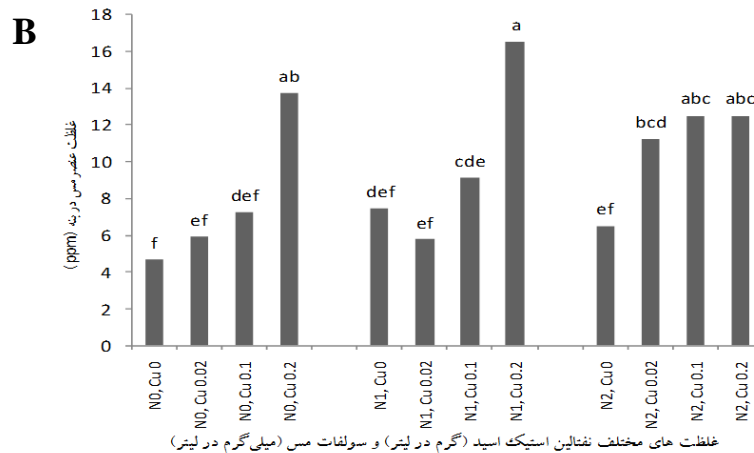
نتایج آنالیز واریانس نشان داد، اثر متقابل NAA و CuSO_4 در سطح ۵ درصد بر غلظت عنصر مس در بنه معنی‌دار است (جدول ۱). مقایسه میانگین اثر سولفات مس بر

جدول ۱- آنالیز واریانس برای غلظت عنصر مس در برگ و بنه گیاه زعفران. علامت‌های ns، ** و * به ترتیب به مفهوم عدم وجود و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد است. اعداد جدول میانگین مربعات است.

منابع تغییر	درجه آزادی	عنصر مس برگ	عنصر مس بنه
تکرار	۲	۱/۱۹۸ ^{ns}	۳/۹۳ ^{ns}
NAA	۲	۰/۴۷۳ ^{ns}	۲۴/۴۷ [*]
CuSO_4	۳	۱۸/۶۰۱ ^{**}	۱۱۰/۱۸ ^{**}
$\text{CuSO}_4 \times \text{NAA}$	۶	۴/۸۲ ^{**}	۱۴/۹۵ [*]
خطای آزمایشی	۲	۱/۱۲	۶/۲۹
ضریب تغییرات		۱۱/۳۴	۲۶/۶۳



شکل ۱- A) تأثیر برهم‌کنش نفتالین استیک اسید (NAA) و سولفات مس (CuSO_4) بر غلظت عنصر مس در برگ زعفران. مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است. برای نمونه، علائم N0 Cu0 به معنی عدم استفاده از نفتالین استیک اسید (N) و سولفات مس (Cu) و N1 Cu 0.02 به معنی نفتالین استیک اسید با غلظت ۱ گرم در لیتر و سولفات مس با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر است.



شکل ۱-B) تأثیر برهم کنش نفتالین استیک اسید (NAA) و سولفات مس (CuSO_4) بر غلظت عنصر مس بنه زعفران. مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین میانگین ها در سطح $P < 0.05$ است. برای نمونه، برای N0 Cu0 به معنی عدم استفاده از نفتالین استیک اسید (N) و سولفات مس (Cu) و N1 Cu 0.02 به معنی نفتالین استیک اسید با غلظت ۱ گرم در لیتر و سولفات مس با غلظت ۰/۰۲ میلی گرم در لیتر است.

که اثر متقابل NAA و CuSO_4 بر وزن خشک برگ جوانه اصلی گیاه زعفران در سطح ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل آنها نشان داد کاربرد ۱ گرم در لیتر NAA به همراه کلیه تیمارهایی که بدون NAA بودند به همراه غلظت های مختلف سولفات مس، تفاوت معنی داری با شاهد نشان ندادند (جدول ۳). نتایج آنالیز واریانس برای وزن خشک برگ جوانه های جانبی نشان داد که اثر متقابل این دو عامل در سطح ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). تیمارهای بدون NAA به همراه سولفات مس (۰/۱ و ۰/۲ میلی گرم در لیتر) بیشترین وزن خشک جوانه های جانبی را در گیاه زعفران نشان دادند. تیمارهایی با غلظت ۲ گرم در لیتر NAA به همراه غلظت های مختلف سولفات مس کمترین وزن خشک برگ جوانه های جانبی را در گیاه زعفران دارا بودند (جدول ۳).

تعداد جوانه در هر بنه گیاه زعفران بنه: نتایج

آنالیز واریانس داده ها نشان داد که اثر متقابل NAA و CuSO_4 بر روی تعداد جوانه در هر بنه زعفران معنی دار بود (جدول ۲). نتایج نشان داد در صورت عدم استفاده از NAA و غلظت های ۰/۰۲ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر CuSO_4 بیشترین تعداد جوانه جانبی تولید می شود. افزایش غلظت سولفات مس و یا عدم کاربرد آن (صفر و ۰/۲ میلی گرم در لیتر) در شرایط عدم کاربرد NAA سبب کاهش تعداد جوانه جانبی شد. تعداد جوانه های تولید شده در اغلب گیاهانی که با NAA تیمار شدند کمتر بود. در صورت استفاده از غلظت ۲ گرم در لیتر NAA کاربرد غلظت های مختلف CuSO_4 تأثیری بر تعداد جوانه در هر بنه نداشت (جدول ۳).

وزن خشک برگ جوانه اصلی و برگ

جوانه های جانبی: نتایج آنالیز واریانس داده ها نشان داد

جدول ۲- تجزیه واریانس میانگین مربعات برای صفات مورفولوژیک زعفران. علامت‌های ns* و * به ترتیب به مفهوم عدم وجود و وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد است. اعداد جدول میانگین مربعات است.

وزن خشک کل بندهای دخترى	وزن بنه دخترى کوچک	وزن بنه دخترى بزرگ	وزن بنه دخترى بزرگ	وزن خشک ریشه	تعداد بنه دخترى	وزن بنه دخترى	طول ریشه	وزن خشک برگ	وزن خشک جوانه جانبى	وزن خشک برگ جوانه اصلى	تعداد جوانه	درجه منابع تغییر
۰/۸۶	۰/۶۳ ^{ns}	۰/۱۶	۱/۶۹ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}	۱۸/۲۵ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۱۲ ^{ns}	۰/۵۲ ^{ns}	۲	تکرار		
۲۳/۹۷	۳۷/۹۸ ^{**}	۵۵/۷۰	۲۷/۴۴ ^{**}	۱/۱۰ ^{ns}	۲۲۲/۷۵ ^{**}	۰/۳۷۲ ^{**}	۲/۴۱ ^{**}	۴۸/۸۶ ^{**}	۲	NAA		
۱۵/۴۲	۰/۹۲ [*]	۲۱/۹۵	۴/۳۲ ^{ns}	۰/۰۷۸ ^{**}	۵۸۲/۰۳ ^{**}	۰/۰۲۰ ^{**}	۰/۴۷ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۳	CuSO ₄		
۴/۰۶	۰/۷۸ ^{ns}	۵/۲۵	۳/۲۹ ^{ns}	۰/۰۱۵ ^{**}	۱۵۲/۸۹ ^{**}	۰/۰۲۵ ^{**}	۰/۱۱ [*]	۲/۴۱ ^{**}	۶	CuSO ₄ ×NAA		
۰/۲۷	۰/۳۰	۰/۳۴	۲/۰۲	۰/۰۰۲	۱۷/۸۸	۰/۰۰۲	۰/۰۵	۰/۲۲	۲۲	خطای آزمایش		
۲۴/۶۳	۲۲/۹۸	۷/۲۹	۲۳/۰۹	۱۴/۶۳	۷/۷۱	۳/۳۴	۱۰/۴۹	۱۲/۲۷		ضرب تغییرات		

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل NAA و CuSO₄ برای صفات مورفولوژیک زعفران. در هر ستون مقادیر میانگین سه تکرار ± انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح P<0.05 است.

وزن بنه دخترى کوچک (گرم)	وزن بنه دخترى بزرگ (گرم)	وزن بنه دخترى	وزن خشک دخترى	وزن خشک ریشه	طول ریشه (سانتی‌متر)	تعداد ریشه	وزن خشک برگ جوانه جانبى (گرم)	وزن خشک برگ جوانه اصلى (گرم)	تعداد جوانه	سطح NAA (گرم در لیتر)
۴/۰۳b	۷/۴۴de	۴/۶۶ab	۰/۲۷e	۱۳/۸۳a	۴۷/۶۶d	۱/۶۹b	۱/۵۷g	۵/۳۳b	صفر	
۴/۰۵b	۹/۱۱c	۶/۰۰a	۰/۳۵d	۱۳/۵۰a	۵۷/۳۳c	۱/۸۶a	۱/۸۰efg	۶/۶۶a	۰/۰۲	
۵/۱۶a	۱۰/۹۴b	۶/۰۰a	۰/۵۱b	۱۳/۷۲a	۵۹/۰۰c	۱/۸۰a	۱/۶۹g	۷/۰۰a	۰/۱	
۳/۸b	۷/۸۲d	۳/۰۰bc	۰/۲۶e	۱۴/۷۲a	۵۲/۳۳cd	۱/۶۸b	۱/۷۲fg	۵/۶۶b	۰/۲	
۱/۸۹cd	۹/۷۹c	۲/۳۳bc	۰/۴۳c	۱۲/۸۳a	۶۶/۶۶b	۱/۵۷c	۲/۲۹cd	۴/۰۰c	صفر	
۲/۷۳c	۱۰/۸۸b	۴/۶۶ab	۰/۴۴bc	۱۴/۴۴a	۷۲/۰۰b	۱/۵۷c	۲/۸۵ab	۲/۳۳d	۰/۰۲	
۲/۱۸cd	۱۲/۱۶a	۲/۰۰c	۰/۵۹a	۱۵/۹۱a	۸۷/۰۰a	۱/۵۵c	۲/۹۷a	۲/۰۰d	۰/۱	
۲/۰۷cd	۵/۸۶fg	۳/۳۳bc	۰/۲۷e	۱۲/۶۶a	۴۹/۶۶d	۱/۶۸b	۲/۱۰de	۳/۶۶c	۰/۲	
۰/۷۹ef	۵/۸۹fg	۲/۳۳bc	۰/۲۳ef	۱۳/۳۳a	۳۸/۳۳ef	۱/۳۴d	۲/۱۴de	۲/۳۳d	صفر	
۱/۴۹de	۶/۵۹ef	۲/۰۰c	۰/۱۶f	۱۳/۳۳a	۴۷/۳۳d	۱/۳۷d	۲/۵۵bc	۲/۳۳d	۰/۰۲	
۰/۳۲f	۵/۶۰g	۲/۰۰c	۰/۱۵f	۱۳/۷۲a	۴۵/۳۳de	۱/۵۸c	۲/۵۶bc	۲/۶۶d	۰/۱	
۰/۲۴f	۴/۲۹h	۱/۳۲c	۰/۰۲g	۱۳/۳۳a	۳۵/۳۳f	۱/۳۴d	۲/۲۰cd	۲/۳۳d	۰/۲	

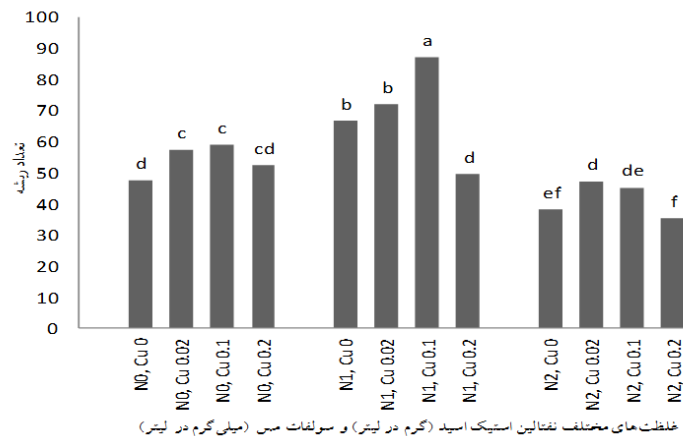
ریشه در سطح ۱ درصد معنی دار هستند (جدول ۲). تیمار با ۱ گرم در لیتر NAA به همراه ۰/۱ میلی گرم در لیتر سولفات مس بیشترین اثر افزایشی را نسبت به سایر تیمارها بر وزن خشک ریشه داشت، پس از این تیمار، تیمارهای ۱ گرم در لیتر NAA به همراه سولفات مس صفر و ۰/۰۲ میلی گرم در لیتر موجب افزایش این صفت شدند. سایر برهم کنش‌ها به ویژه ۲ گرم در لیتر NAA و سولفات مس ۰/۲ میلی گرم در لیتر وزن خشک ریشه را کاهش دادند (جدول ۳).

تعداد بنه‌های دختری: نتایج جدول آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تنها اثر اصلی NAA بر تعداد بنه‌های دختری معنی دار بود (جدول ۲)، به طوری که استفاده از هر دو غلظت ۱ و ۲ گرم در لیتر NAA، تعداد بنه‌های دختری را نسبت به گیاهان شاهد کاهش دادند (جدول ۳ و شکل ۳).

تعداد ریشه: نتایج آنالیز واریانس روی تعداد ریشه نشان داد، اثر متقابل NAA و سولفات مس بر تعداد ریشه در سطح ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد، بیشترین تعداد ریشه مربوط به کاربرد ۱ گرم در لیتر NAA به همراه ۰/۱ میلی گرم در لیتر سولفات مس بود و پس از آن، تیمارهای ۱ گرم در لیتر NAA به همراه سولفات مس صفر و ۰/۰۲ میلی گرم در لیتر بالاترین تعداد ریشه را نشان دادند. کمترین تعداد ریشه را تیمارهایی که دارای ۲ گرم در لیتر NAA و صفر و ۰/۲ میلی گرم در لیتر سولفات مس بودند، نشان دادند (جدول ۳ و شکل ۲).

طول ریشه: نتایج نشان داد که اکسین و مس بر طول ریشه اثر معنی داری نداشتند (جدول ۲).

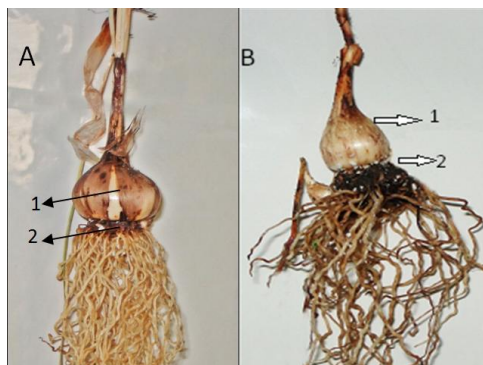
وزن خشک ریشه: نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که کلیه آثار اصلی و متقابل بر وزن خشک



شکل ۲- تأثیر برهم کنش نفتالین استیک (NAA) و سولفات مس (CuSO_4) بر تعداد ریشه زعفران. مقادیر میانگین سه تکرار \pm انحراف معیار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها در سطح $P < 0.05$ است. برای نمونه، علامت N0 Cu0 به معنی عدم استفاده از نفتالین استیک (N) و سولفات مس (Cu) و N1 Cu 0.02 به معنی نفتالین استیک با غلظت ۱ گرم در لیتر و سولفات مس با غلظت ۰/۰۲ میلی گرم در لیتر است.



شکل ۳- بانه های دخترتی تولید شده شش ماه پس از کشت. (A) گیاهانی که با NAA تیمار نشده‌اند؛ (B) گیاهانی که با ۱ گرم در لیتر NAA تیمار شده‌اند.



شکل ۴- مقایسه دو گیاه زعفران. (A) با تیمار ۱ گرم در لیتر NAA به همراه ۰/۱ میلی گرم در لیتر CuSO_4 ؛ (B) تیمار ۲ گرم در لیتر NAA به همراه ۰/۲ میلی گرم در لیتر CuSO_4 از نظر اندازه بانه دخترتی. (1) بانه دخترتی؛ (2) بانه مادری تحلیل یافته.

مشخص است احتمالاً برهم کنش سمیت سولفات مس (غلظت ۰/۲ میلی گرم در لیتر) و سمیت NAA (غلظت ۲ گرم در لیتر) بر رشد ریشه‌ها و بانه‌های دخترتی اثر منفی داشته است. در شکل ۴ تفاوت در تعداد ریشه‌ها و اندازه بانه دخترتی کاملاً مشهود است. همچنین، در شکل ۴-B دیده می‌شود که ریشه‌ها به علت سوختگی ناشی از سمیت عوامل مورد استفاده به رنگ قهوه‌ای درآمده‌اند.

وزن بانه‌های دخترتی کوچک: نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که NAA در سطح ۱ درصد و CuSO_4 در سطح ۵ درصد، بر وزن بانه‌های دخترتی کوچک اثر معنی دار داشتند، اما اثر متقابل آنها معنی دار

وزن بانه دخترتی بزرگ: نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان دادند که کلیه آثار اصلی و متقابل در سطح ۱ درصد معنی دار شدند (جدول ۲). مقایسه میانگین برهم کنش آنها نشان داد بیشترین وزن بانه دخترتی بزرگ در گیاهان با ۱ گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی گرم در لیتر سولفات مس و به طور متوسط ۱۲/۱۶ گرم به دست آمد که این میزان، ۳۴ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت.

کمترین وزن بانه دخترتی بزرگ مربوط به تیمار ۲ گرم در لیتر NAA و ۰/۲ میلی گرم در لیتر سولفات مس (حداکثر غلظت‌ها) یعنی با وزن متوسط ۴/۲۹ گرم مشاهده شد (جدول ۳). همان طور که در شکل ۴

غوطه‌ور کردن بنه‌های زعفران به مدت یک شب در ۴۰۲- دی کلرو فنوکسی استیک اسید به میزان ۵۰ ppm، شاخص‌های: رشد، ارتفاع گیاه، تعداد برگ‌ها به بنه و تعداد بنه‌های دختری به بنه مادری را نسبت به شاهد افزایش دادند. همچنین، با مطالعه Nagarathna و همکاران (۲۰۱۰) در مورد تأثیر منفی اکسین بر جوانه جانبی هماهنگی داشت. ولی مغایر با نتیجه آزمایش انجام شده توسط Sadeghi Bakhtavari و همکاران (۲۰۱۱) که تأثیر اکسین را بر جوانه جانبی مثبت گزارش کرده بودند. آنها با استفاده از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر ایندول استیک اسید و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تیدیا زورون، تعداد جوانه در زعفران را افزایش دادند. مقدار هورمون اکسین در جوانه‌های انتهایی تا اندازه زیادی بر رشد جوانه‌های جانبی مؤثر است و با افزایش آن در گیاه، رشد جوانه‌های جانبی کاهش می‌یابد (پدیده غالبیت انتهایی). افزایش رشد جوانه انتهایی و به خواب رفتن جوانه‌های جانبی در حضور مقدار زیاد اکسین در جوانه انتهایی، در واقع به میزان حساسیت آنها به غلظت اکسین بستگی دارد، به طوری که جوانه‌های فرعی نسبت به جوانه انتهایی حساسیت بیشتری به اکسین نشان می‌دهند. بنابراین، کاهش تعداد جوانه‌های جانبی در بنه‌های زعفران به علت افزایش NAA با تکیه بر پدیده غالبیت انتهایی قابل تفسیر است و دومین فرضیه مورد نظر در پژوهش حاضر به اثبات رسید. همان‌طور که اشاره شد دستیابی به این نتیجه می‌تواند در تولید بنه‌های دختری با تعداد کمتر و با وزن بالاتر کمک کند.

برخلاف آنچه تصور می‌شد، سولفات مس در هیچ کدام از غلظت‌های به کار رفته تأثیر معنی‌داری بر غلظت عنصر مس برگ نداشت و تنها کمبود عنصر

نبود (جدول ۲). وزن بنه‌های دختری کوچک در گیاهانی که با NAA تیمار شده بودند به ویژه در غلظت ۲ گرم در لیتر NAA کاهش یافت. کلیه غلظت‌های سولفات مس به غیر از ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر نسبت به شاهد تفاوتی نداشت (جدول ۳). غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس احتمالاً به دلیل سمیت عنصر مس در گیاه موجب کاهش وزن بنه‌های دختری کوچک شده است.

بحث

یکی از اصلی‌ترین مشکلات کاهش عملکرد زعفران در سال اول کشت، کوچک بودن بنه‌ها و در نتیجه عدم تشکیل گل است. از عوامل اصلی کاهش وزن بنه‌های دختری تولید تعداد زیاد جوانه مولد بنه است در نتیجه پتانسیل هر بنه برای رسیدن به وزن مناسب برای گل‌دهی در سال بعد کاهش می‌یابد. با کاهش تعداد بنه‌های دختری مواد فتوسنتزی بیشتری به بنه‌های دختری باقی مانده اختصاص می‌یابد و در نتیجه تولید بنه‌های با تعداد کمتر و با وزن بالاتر در هر گیاه افزایش می‌یابد.

نتایج آزمایش نشان داد که تعداد جوانه‌های تولید شده در گیاهانی که با NAA تیمار شدند به طور چشمگیری نسبت به گیاهانی که با NAA تیمار نشده بودند، کاهش پیدا کرد. این نتیجه با پژوهش Farooq و Chrungoo (۱۹۹۰) هماهنگی دارد. آنها گزارش کردند که کاربرد هورمون مصنوعی نفتالین استیک اسید (NAA) در زعفران به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در هر بنه، رشد جوانه‌های جانبی را متوقف کرد. Kumar و همکاران (۲۰۰۹) با کاربرد اکسین و جیبرلین تولید بنه‌های دختری را افزایش دادند. همچنین آنها با

عنصر مس بر بنه‌ها و ریشه‌های زعفران نشان دادند که تعداد ریشه در غلظت بالاتر از ۰/۰۶ میلی مولار عنصر مس کاهش پیدا کرد. Kolbert و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقی گزارش کردند که سمیت عنصر مس در گیاه آراییدوپسیس موجب کاهش شدید رشد در ریشه و ساقه شد. آنها اظهار داشتند، تغییرات رشد وابسته به تغییرات تعادل اکسین در هر دو اندام است و سمیت عنصر مس بیان ژن‌های وابسته به اکسین را کاهش می‌دهد.

تیمارهای اثر متقابلی که دارای سولفات مس ۰/۰۲ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر بودند، نسبت به اثر متقابل‌هایی که دارای غلظت صفر و ۰/۲ میلی گرم در لیتر بودند، وزن خشک برگ‌های جوانه اصلی را افزایش دادند. نتایج مربوط به وزن خشک برگ‌های جوانه اصلی را می‌توان به اثر NAA بر افزایش رشد آن و جلوگیری از رشد جوانه‌های جانبی و نقش آن در تحریک بیوسنتز پروتئین نسبت داد. به همین ترتیب با ایجاد غالبیت انتهایی تولید جوانه‌های جانبی کاهش یافته، این امر سبب افزایش وزن بنه حاصل از جوانه اصلی و کاهش وزن بنه‌های مربوط به جوانه‌های جانبی شد.

در پژوهشی اثر محرک بودن NAA بر رشد طولی ریشه در گیاه پروانش بررسی شد. نتایج نشان داد که در مقادیر سمی NAA رشد ریشه کاهش پیدا کرد و ریشه‌ها به رنگ قهوه‌ای درآمدند و موجب از بین رفتن اغلب گیاهچه‌ها شد (van Iersel, 1998). Sharifi و Ebrahimzadeh (۲۰۱۰) اثر NAA و IBA و نوع محیط کشت را روی القای ریشه دهی ریزنمونه‌های بنه‌های زعفران بررسی کردند و بیشترین میانگین تعداد ریشه در هر ریزنمونه در محیط کشت MS حاوی ۱۹/۶ میکرومولار IBA گزارش شد. علت تأثیر مثبت NAA

مس در محلول غذایی موجب کاهش غلظت آن در برگ شد. بیشترین غلظت عنصر مس برگ مربوط به تیمار ۲ گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی گرم در لیتر CuSO_4 است. ممکن است در این تیمار افزایش غلظت عنصر مس در بخش‌های هوایی گیاه، با بالا بودن غلظت NAA رابطه داشته باشد. البته صحت این فرضیه که اکسین تأثیری بر غلظت عنصر مس در بخش‌های هوایی گیاهان دارد مستلزم مطالعات دقیق‌تر و کامل‌تر است. تاکنون در مورد اثر متقابل NAA و انتقال عنصر مس در گیاهان مطالعه دقیقی صورت نگرفته است.

مؤثر نبودن غلظت‌های ۵ و ۱۰ برابر سولفات مس محلول غذایی هوگ‌لند، بر غلظت عنصر مس برگ ممکن است به دلیل تجمع عنصر مس در ریشه‌های ارتباطی و یا در بافت بنه زعفران باشد. همان‌طور که در برخی از صفات مورفولوژیک ذکر شد، کمبود عنصر مس آثار سوء خود را بر خصوصیات گیاه نشان داد و اندازه‌گیری غلظت آن در تیمار بدون NAA و سولفات مس (ppm ۷/۴۲) وجود کمبود آن را در گیاه اثبات کرد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، به نظر می‌رسد غلظت‌های بالای CuSO_4 در بنه‌ها تجمع یافته است و نسبت آن در بنه بیشتر از برگ‌ها است. می‌توان حدس زد که بنه‌ها به عنوان عاملی در تجمع عناصر سنگین مانند عنصر مس عمل می‌کنند و تاحدوی از بروز علائم سمیت عنصر مس در بخش‌های هوایی گیاه می‌کاهند. البته اثبات این موضوع به بررسی‌های دقیق در این زمینه نیاز دارد.

سولفات مس ۰/۱ میلی گرم در لیتر بیشترین وزن خشک ریشه را ایجاد کرد و ۰/۲ میلی گرم در لیتر آن کاملاً برعکس بود و به شدت آن را کاهش داد (جدول ۳). Keyhani و Keyhani (۲۰۰۶) درباره اثر سمیت

(and Feldman, 2005). با توجه به رشد سریع ریشه‌های زعفران حتی در محیط‌هایی با رطوبت بسیار اندک و حتی تأثیر کمترین غلظت به کار برده شده نفتالین استیک اسید (۱ گرم در لیتر)، نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر تأیید کننده نتایج Pilet و Saugy (۱۹۸۷) است که گزارش کردند که تأثیر IAA بر رشد ریشه، به سرعت طویل شدن اولیه ریشه بستگی دارد. رشد ریشه‌های سریع الرشد با کاربرد اکسین‌های مصنوعی در غلظت‌های اندک افزایش می‌یابد، در حالی که در ریشه‌های با رشد کندتر، از رشد ریشه ممانعت می‌کند.

جمع‌بندی

نتایج نشان دادند اکسین و عنصر مس با غلظت‌های مناسب می‌توانند صفات مهم مورفولوژیک مؤثر در افزایش رشد گیاه را بهبود ببخشند. تیمار نفتالین استیک اسید با غلظت ۱ گرم در لیتر و سولفات مس با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر (۵ برابر غلظت عنصر مس در محلول هو گلند) در افزایش صفات مهم مورد نظر در این پژوهش، از جمله: وزن خشک جوانه اصلی، وزن خشک ریشه، تعداد ریشه و وزن بنه دختری بزرگ، نقش مؤثری از خود نشان داد و به عنوان بهترین تیمار در این تحقیق معرفی می‌گردد.

سپاسگزاری

نگارندگان از جناب آقای مهندس علیزاده کارشناس آزمایشگاه گروه زراعت دانشکده دانشگاه تربیت مدرس به خاطر همکاری در مدت انجام آزمایش تشکر و قدردانی می‌نمایند.

بر درصد ریشه‌زایی را می‌توان به تأثیر اکسین‌ها در تحریک تقسیم نخستین یاخته‌های آغازگر ریشه مربوط دانست (Nassiri Mahallati et al., 2007). به نظر می‌رسد همزمان با تحریک ریشه‌زایی توسط اکسین، انتقال کربوهیدرات‌ها از برگ به سوی ریشه، به ریشه‌زایی کمک شایانی کرده، همین موضوع درصد ماده خشک ریشه‌ها را افزایش می‌دهد. به طور کلی، قندها، ترکیبات حاوی نیتروژن، ترکیبات فنلی و سایر کوفاکتورها در ریشه‌زایی مؤثرند (Moallemi and Chehrazind, 2003).

چنین نتیجه‌گیری می‌شود که ۲ گرم در لیتر NAA بر طول ریشه (صفت مهم) تأثیر منفی داشته است و برعکس، غلظت ۱ گرم در لیتر آن موجب بهبود طول ریشه شد. تعداد ریشه برای حداکثر جذب آب و مواد غذایی اهمیت بسیار ویژه‌ای بر افزایش طول دوره فعالیت مفید گیاه و در نتیجه موجب تولید بیوماس بیشتر آن می‌شود. بیشترین تعداد ریشه مربوط به ۱ گرم در لیتر NAA به همراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سولفات مس بود (شکل ۲).

شایان ذکر است که ریشه گیاهانی که با غلظت ۲ گرم در لیتر NAA به همراه غلظت‌های بالای سولفات مس پیش تیمار شده بودند، متورم و قهوه‌ای شده بودند. در بررسی‌های Arthur و همکاران (۱۹۷۰) غلظت‌های بالاتر از ۱۰ میکرومولار IAA، نوع دومی از ممانعت رشدی ریشه را که غیر وابسته به اتیلن بود، به وجود آورد. آنها اظهار داشتند که این پدیده ممکن است به دلیل سمیت اسیدی ایندول استیک اسید باشد و وزن و طول ریشه را کاهش داده است. این نتایج در گزارش‌های سایر پژوهشگران نیز آمده است (Jiang

منابع

- Amirshékari, H., Sorooshzadeh, A., Modaress Sanavy, A. and Jalali Javaran, M. (2006) Study the effects of root temperature, corm size and gibberellin on underground organs of saffron (*Crocus sativus* L.). Iranian Journal of Biology 19(1): 5-18 (in Persian).
- Arthur, V., Chadwick, P. and Stanley, P. B. (1970) Regulation of root growth by auxin-ethylene interaction. Plant Physiology 45: 192-200.
- Elmer, P. (1996) Analytical methods for atomic absorption spectrophotometry. The Perkin Elmer Inc, Netherlands.
- Farooq, S. and Chrungoo, N. K. (1990) Effect of GA3 and NAA on carbohydrate degradation in corms of saffron crocus (*Crocus sativus* L.) during development. International Congress of Plant Physiology, Delhi, India,
- Goliaris, A. (1999) Saffron cultivation in Greece. In: Saffron (Ed. Neghbi, M.) 73-83 Harwood Academic Press, Amesterdam.
- Gresta, F., Avola, G. G., Lombardo, 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. Science Horticulture 119(3): 320-324.
- Jiang, K. and Feldman, L. J. (2005) Regulation of root apical meristem development. Annual Review of Cell and Developmental Biology 21:485-509.
- Keyhani, J. and Keyhani, E. (2006) Alterations in lignin peroxidase and ascorbate peroxidase activities in *Crocus sativus* L. Corms Exposed to Copper. 2nd International Symposium on Saffron Biology, Albacete, Spain.
- Kolbert, Z., Peto, A., Lehotai, N., Feigl, G. and Erdei, L. (2012) Long-term copper (Cu²⁺) exposure impacts on auxin, nitric oxide (NO) metabolism and morphology of *Arabidopsis thaliana* L. Plant Growth Regulation 68: 151-159.
- Kumar, R. Virendra, S., Kiran, D., Sharma, S. and Ahuja, P. S. (2009) State of art of saffron (*Crocus sativus* L.) agronomy: a comprehensive review. Food Reviews International 25(1): 44-85.
- Lequeux, H. and Hermans, C. (2010) Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. Plant Physiology and Biochemistry 48: 673-682.
- Moallemi, N. and Chehrazi, M. (2003) Effects of auxines on rooting of stem cutting with leaves and leaves *Bougainvillea spectabilis*. The 3rd Iranian Congress of Horticultural Science, Karaj-Iran. (in Persian).
- Nagarathna, T. K., Shadakshari, Y. G., Jagadish, K. S. and Sanjay, M. T. (2010) Interactions of auxin and cytokinins in regulating axillary bud formation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Helia 33(52): 85-94.
- Nassiri Mahallati, M., Koocheki, A., Boroumand Rezazadeh, Z. and Tabrizi, L. (2007) Effects of corm size and storage period on allocation of assimilates in different parts of saffron plants (*Crocus sativus* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 5(1): 155-166 (in Persian).
- Pilet, P. E. and Saugy, M. (1987) Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA, a critical reexamination. Plant Physiology 83: 33-38.
- Ra'issi, M. A., Asrar, Z., Pourseyedi, Sh. (2009) Interaction of sodium nitroprusside and copper on some growth and physiologic parameters of garden cress (*Lepidium sativum* L.). Iranian Journal of Plant Biology 1(1-2): 55-76 (in Persian).

- Rajabpoor, S., Saboora, A., Vatanpour Azghandi, A. (2011) Changes in exogenous hormone concentration and its effect on somatic embryo maturation and microcorm Iranian Journal of Plant Biology 3(8): 41-57 (in Persian).
- Sadeghi Bakhtavari, A., Khawar, K. H. M. and Arslan, N. (2011) *Ex vitro* shoot regeneration and lateral buds of freshly harvested saffron corms. African Journal of Agricultural Research 6(15): 3583-3587.
- Sharifi, G. and Ebrahimzadeh, H. (2010) Interaction of IBA and NAA with enzymes in root induction of *Crocus sativus* (L). African Journal of Biotechnology 9(2): 217-225.
- van Iersel, M. V. (1998) Auxins affect post-transplant root and shoot growth of vinca seedlings. HortScience 33: 1210-1214.
- Walinga, I., van Vark, W., Houba, V. J. G. and van der Lee, J. J. (1989) Plant analysis procedure. Wageningen Agricultural University, Netherlands.

Effects of auxin and copper on growth of saffron

Nasim Rezvani ¹, Ali Sorooshzadeh ^{1*} and Mozafar Sharifi ²

¹ Department of Plant Breeding, School of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

² Department of Plant Biology, School of Biological Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract

Saffron is known as one of the most common spices and medicinal plant in the world. Little information is available on the effects of copper and growth regulators on morphological characteristics of saffron. The aim of this study was to evaluate the influence of different concentrations of copper and auxin on morphological properties of root and leaf of saffron. This study was arranged as a factorial experiment in greenhouse condition and in hydroponic system. Copper was used in copper sulfate (CuSO₄) form (0, 0.02, 0.1 and 0.2 mg/L) and auxin in naphthalene acetic acid (NAA) form (0, 1 and 2 g/L). Results showed that interaction of Naphthalene acetic acid 1 g/L and copper sulfate 0.1 mg/L increased root number, as well as root and leaf dry weight. Furthermore, naphthalene acetic acid 1 and 2 g/L in most treatments reduced the number of buds. Copper concentration of corm was increased in 0.2 mg/L copper sulfate.

Key words: Corm, Saffron, Copper, Naphthalene acetic acid

* Corresponding Author: soroosh@modares.ac.ir