دانشگاه تهران
پردیس علوم
دانشکده زیست شناسی

عنوان پایان نامه

بررسی ترکیبات فنلی و فعالیت پلی فنل اکسیداز ها در ارتباط با مراحل فیزیولوژیکی خواب و بیداری در بنه های زعفران مزروعی (*Crocus sativus* L.)

نگارش

ناردانا اسمعیلی

اساتید راهنما
آقای دکتر حسن ابراهیم زاده
آقای دکتر شاهرخ صفریان

اساتید مشاور
آقای دکتر وحید نیکنام
آقای مسعود میر معصومی

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد علوم گیاهی
گرایش فیزیولوژی گیاهی

مهر ماه ۱۳۸۸

تعهد نامه اصالت اثر

اینجانب ناردانا اسمعیلی متعهد می شوم که مطالب مندرج در این پایان نامه حاصل کار پژوهشی اینجانب است و به دستاوردهای پژوهشی دیگران که در این پژوهش از آنها استفاده شده است، مطابق مقررات ارجاع و در فهرست منابع و مآخذ ذکر گردیده است. این پایان نامه قبلا برای احراز هیچ مدرک هم سطح و بالاتر ارائه نشده است. در صورت اثبات تخلف (در هر زمان) مدرک تحصیلی صادر شده توسط دانشگاه از اعتبار ساقط خواهد شد. کلیه حقوق مادی و معنوی این اثر متعلق به پردیس علوم دانشگاه تهران می باشد.

نام و نام خانوادگی
امضا

پیشکش به سرزمین مادریم

ایران

به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان

که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است

این مجموعه را به پدر و مادر عزیزم تقدیم می‌کنم

و تقدیم به برادر عزیزم خشایار

به پاس محبتهای بی دریغش که هرگز فروکش نمی‌کند

پیشکش به روح آرام و جاودانه

که یادش همیشه در خاطرم ماندگار است

و تقدیم به تمامی آنهایی که

دوستشان دارم

چکیده:

زعفران گیاهی تک لپه از تیره *Iridaceae* است که از طریق بنه در زیر خاک تکثیر می شود. این گیاه بومی ایران بوده و دارای دو مرحله خواب و بیداری در چرخه زندگی خود می باشد که در این مراحل ویژگی های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متفاوتی را از خود نشان می دهد. ترکیبات فنلی یک گروه از ترکیبات ثانوی در گیاهان هستند که به دلیل خواص پاد اکسایشی، ضد میکروبی و دارویی خود، مورد توجه بسیاری از محققان قرار دارند. ترکیبات فنلی شامل فنل های ساده، فنلیک اسیدها، کومارین ها، تانن ها و فلاونوئیدها می باشند. گیاه زعفران به دلیل اثرات دارویی فراوان، در طب سنتی به طور گسترده مورد استفاده قرار می گرفته است و در حال حاضر تحقیقات فراوانی بر روی آن در دست انجام است. استخراج فنل ها توسط متانول ۸۰٪ صورت گرفت و میزان کل این ترکیبات توسط معرف فولن سیوکالتو و سدیم کربنات اشباع به روش اسپکتروفوتومتری تعیین گردید. جهت شناسایی ترکیبات فنلی موجود در بنه از دستگاه GC-MS استفاده شد. برای این کار نمونه ها در حضور BHT و توسط کلریدریک اسید هیدرولیز و با متانول استخراج گردید. سپس توسط MSTFA+1%TMIS مشتق سازی شده و به دستگاه GC-MS تزریق شد. مطالعات GC-MS هم وجود ترکیبات فنلی از جمله گالیک اسید ، *p* هیدروکسی بنزوئیک اسید، *p* کوماریک اسید، سالسیلیک اسید، سینامیک اسید، وانیلین، ترانس فرولیک اسید، سیرنژیک اسید و کافئیک اسید را تایید کرد. نتایج سنجش میزان ترکیبات فنلی کل به روش اسپکتروفتومتر در کنار آنالیز رنگ نگاری گازی- طیف سنجی جرمی نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در اواخر دوره بیداری بیشتر از دوره خواب است. در تحقیق دیگری پلی فنل اکسیداز به روش رنگ نگاری تعویض یونی، خالص سازی نسبی گردید. سپس عصاره از نظر میزان پروتئین و زیمایه بررسی گردید و در مطالعات سینتیکی فعالیت زیمایه در غلظت های مختلفی از گهرمایه اندازه گیری شد. در مطالعات SDS-PAGE و PAGE دو نوار پروتئینی و دونوار زیمایه ای بدست آمد که دلیلی بر وجود دو ایزوفرم از زیمایه است. مطالعات سینتیکی اشباع هم تنها یک جایگاه زیمایه ای را برای اتصال

گهرمایه پیروگالل نشان داد. فعالیت پلی فنل اکسیداز در دوره خواب بیشتر از دوره بیداری است که با غلظت ترکیبات فنلی کل رابطه ای معکوس دارد. در مطالعه های سینتیک اشباع هم افت شدید فعالیت با افزایش غلظت گهرمایه دیده می شود که مربوط به مهار زیمایه توسط گهرمایه می باشد.

کلمات کلیدی: زعفران، بنه، ترکیبات فنلی، رنگ نگاری لایه نازک، GC-MS،رنگ نگاری تعویض یونی، پلی فنل اکسیداز

تقدیر و تشکر

خداوند بزرگ را به پاس تمامی خوبی ها و مهربانی هایش سپاسگزارم.
از استاد ارجمند و بزرگوار جناب آقای دکتر حسن ابراهیم زاده که راهنمایی اول این پایان نامه را برعهده گرفتند متشکرم که نه تنها درس دانش بلکه درس اخلاق و ایمان را در محضر این عزیز فرا گرفتم.
از استاد گرامی جناب آقای دکتر شاهرخ صفریان که راهنمایی دوم این پایان نامه را بر عهده داشتند و در تمامی مسیر همواره مرا حمایت نمودند، سپاسگزارم.
از اساتید مشاور آقایان دکتر وحید نیکنام و مسعود میرمعصومی به سبب راهنمایی های ارزنده شان قدردانی می نمایم.
شایسته است از جناب آقای دکتر خسرو م. عبدی، از اساتید محترم گروه داروسازی کمال تشکر را داشته باشم که در کمال صبر و متانت اینجانب را تا پایان مسیر همراهی نمودند. از خداوند بزرگ موفقیت روز افزون ایشان را خواستارم.
از جناب آقای دکتر علی فرامرزی از اساتید محترم گروه داروسازی کمال تشکر را دارم.
از کارشناس محترم آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی سرکار خانم صدیقه احمدی سخا و از دوستان عزیزم در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی، آقای عباس رحمانی، خانمها الهه وطن خواه، منیره چنیانی، مریم جریته، سمیه ترابی، آسیه حمیدی پور، ساناز قائم مقامی، کیانا کاکاوند، گل اندام شریفی، سپاسگزارم.
در پایان از دوستان عزیزم خانمها لیدا درنجفی، نیلوفر احمدی، پروانه محسنی مقدم، سمیه هاشمی فر هم به پاس تمام خوبی هایشان قدردانی می نمایم.

فهرست مطالب

۱- فصل اول: مقدمه ۱
۱-۱- تاریخچه ۱
۱-۲- بررسی سازگانی و ریخت شناختی زعفران ۲
۱-۳- زعفران مزروعی(*Crocus sativus* L.) ۳
۱-۴- بنه ۴
۱-۵- گلها ۵
۱-۶- ترکیبات شیمیایی زعفران ۶
۱-۷- مطالعه کاریوتیپی زعفران ۷
۱-۸- علت عقیم بودن زعفران مزروعی ۸
۱-۹- چرخه زیستی زعفران ۹
۱-۱۰- اهمیت ترکیبات شیمیایی در تبار شناسی ۱۱
۱-۱۱- ترکیبات فنلی ۱۲
۱-۱۱-۱- مصارف صنعتی پلی فنلها ۱۶
۱-۱۱-۲- تقسیم بندی ترکیبات فنلی ۱۸
۱-۱۱-۳- زیست آمایی ترکیبات فنلی ۲۰
۱-۱۲- بررسی پلی فنل اکسیداز ۲۰
۱-۱۲-۱- ساختار پلی فنل اکسیداز ۲۰
۱-۱۲-۲- جایگاه پلی فنل اکسیداز در گیاهان ۲۱
۱-۱۲-۳- عملکردهای فیزیولوژیکی پلی فنل اکسیداز ۲۱
۱-۱۲-۴- فرایند قهوه ای شدن اکسیداتیو ۲۲
۱-۱۲-۵- ویژگی های اختصاصی مربوط به پلی فنل اکسیداز ۲۲
۱-۱۲-۶- گهرمایه های پیشنهادی برایppo ۲۳
۱-۱۲-۷- پروتئین های وابسته به ppo ۲۳
۱-۱۲-۸- نقش ppo درزیست آمایی اکسین ۲۴
۱-۱۲-۹- پلی فنل اکسیداز در کجا رمزسازی می شود؟ ۲۴
۱-۱۲-۱۰- آیا ppo درنور آمایی شرکت دارد؟ ۲۵
۱-۱۳- فعالیت روبش رادیکالی و ظرفیت پاداکسایشی ۲۵
۱-۱۳-۱- کلیاتی درباره DPPH ۲۶
۲- فصل دوم: مواد و روشها ۲۸
۲-۱- جمع آوری نمونه ها ۳۰
۲-۲ سنجش میزان ترکیبات فنلی کل ۳۰
۲-۲-۱- استخراج نمونه ها ۳۰
۲-۲-۲- سنجش ترکیبات فنلی کل به روش فولن- دنیس ۳۱
۲-۲-۲-۱- تهیه معرف فولن دنیس ۳۱
۲-۲-۲-۲- تهیه محلول سدیم کربنات اشباع ۳۱
۲-۲-۲-۳- محلول تانیک اسید استانده ۳۱
۲-۲-۲-۴- رسم منحنی استانده تانیک اسید ۳۱

۲-۲-۳- سنجش ترکیبات فنلی کل به روش فولن- سیوکالتو ۳۲
۲-۲-۳-۱- رسم منحنی استانده گالیک اسید ۳۲
۲-۳- سنجش فلاوونوئیدهای موجود در بنه زعفران ۳۳
۲-۳-۱- رسم منحنی استانده کوئرستین ۳۳
۲-۳-۲- تعیین میزان کمی فلاوونوئیدها در بنه زعفران ۳۴
۲-۴- سنجش اسیدهای فنلی ۳۵
۲-۴-۱-رسم منحنی استانده کافئیک اسید ۳۵
۲-۴-۲- تهیه معرف آرنو ۳۵
۲-۴-۳- تعیین میزان کمی اسیدهای فنلی در بنه زعفران ۳۵
۲-۵- رنگ نگاری لایه نازک ۳۶
۲-۵-۱- نحوه آماده سازی صفحات لایه نازک ۳۶
۲-۵-۲- لکه گذاری روی صفحات و محاسبه RF ۳۷
۲-۵-۳- ظهور لکه های تفکیک شده روی صفحات ۳۷
۲-۶- رنگ نگاری گازی ۳۸
۲-۷- طیف سنجی جرمی ۳۹
۲-۸- ویژگی ها و مشخصات دستگاه رنگ نگاری گازی- طیف سنجی جرمی(GC-MS) ۳۹
۲-۸-۱- عصاره گیری و آماده سازی نمونه ها جهت تزریق به دستگاه GC-MS ۴۰
۲-۸-۲- فرایند مشتق سازی ترکیبات فنلی ۴۱
۲-۸-۳- تعیین کمی ترکیبات فنلی موجود در عصاره ۴۲
۲-۹- بررسی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه توسط تست DPPH ۴۲
۲-۹-۱- استخراج ماده موثره بنه ها ۴۲
۲-۱۰- بررسی پلی فنل اکسیداز ۴۳
۲-۱۰-۱- استخراج عصاره پروتئینی و زیمایه بنه های زعفران ۴۳
۲-۱۰-۲- رسوب دهی با آمونیوم سولفات ۴۳
۲-۱۰-۳- فرایند دیالیز عصاره های پروتئینی ۴۴
۲-۱۰-۳-۱- نحوه تهیه کیسه دیالیز ۴۲
۲-۱۰-۴- سنجش میزان پروتئین به روش برادفورد ۴۴
۲-۱۰-۴-۱- تهیه معرف برادفورد ۴۵
۲-۱۰-۴-۲- رسم منحنی استانده پروتئین ۴۵
۲-۱۰-۵- سنجش فعالیت پلی فنل اکسیدازی نمونه ها ۴۶
۲-۱۱- رنگ نگاری تعویض یونی ۴۶
۲-۱۱-۱- انواع تعویض کننده های یونی ۴۶
۲-۱۱-۲- مراحل آماده سازی ستون جهت خالص سازی ۴۷
۲-۱۲- رنگ نگاری میل ترکیبی ۴۸
۲-۱۲-۱- تهیه ژل ستون رنگ نگاری میل ترکیبی ۴۹
۲-۱۲-۲- آماده سازی ستون رنگ نگاری میل ترکیبی ۵۱
۲-۱۳- انجام مطالعات الکتروفورزی ۵۱
۲-۱۳-۱- الکتروفورز پروتئینها به روش SDS-PAGE ۵۱
۲-۱۳-۱-۱- تهیه محلولها و بافرهای لازم در سازگان ناپیوسته ۵۲

۲-۱۳-۱-۲- روش تهیه ژل SDS-PAGE ۵۴
۲-۱۳-۱-۳- آماده سازی پروتئین و تزریق در ژل SDS-PAGE ۵۶
۲-۱۳-۱-۴- تثبیت ژل ها ۵۶
۲-۱۳-۱-۵- رنگ آمیزی پروتئین ها در ژل ۵۷
۲-۱۳-۱-۶- رنگبری ژل ۵۷
۲-۱۳-۲- الکتروفورز زیمایه ها به روش PAGE ۵۸
۲-۱۳-۲-۱- روش تهیه محلول ها و بافرهای لازم در سیستم PAGE ۵۸
۲-۱۳-۲-۲- تهیه ژل به روش PAGE ۵۹
۲-۱۳-۲-۳- آماده سازی پروتئین ها در سازگان PAGE ۶۰
۲-۱۳-۲-۴- آشکار سازی فعالیت پلی فنل اکسیداز در ژل PAGE ۶۱
۲-۱۴- مطالعات سینتیکی پلی فنل اکسیداز بنه های زعفران در دو مرحله خواب و بیداری ۶۱
فصل سوم: نتایج ۶۲
۳-۱- نتایج حاصل از سنجش میزان ترکیبات فنلی کل ۶۲
۳-۲- نتایج حاصل از سنجش اسیدهای فنلی ۶۳
۳-۳- نتایج حاصل از سنجش فلاوونوئیدها ۶۴
۳-۴- نتایج حاصل از رنگ نگاری لایه نازک ۶۴
۳-۵- نتایج حاصل از رنگ نگاری گازی- طیف سنجی جرمی ۶۶
۳-۶- نتایج حاصل از فعالیت پاداکسایشی نمونه ها ۸۴
۳-۷- نتایج حاصل از تخلیص پلی فنل اکسیداز ۸۵
۳-۷-۱- نتایج حاصل از خالص سازی ستون رنگ نگاری میل ترکیبی در بنه های بیدار زعفران مزروعی ۸۵
۳-۷-۲- نتایج حاصل از خالص سازی تعویض یونی دوره بیداری در بنه های زعفران ۸۷
۳-۷-۳- نتایج حاصل از خالص سازی تعویض یونی دوره خواب در بنه های زعفران ۸۸
۳-۸- نتایج حاصل از مطالعات الکتروفورزی ۹۰
۳-۸-۱- نتایج مطالعات الکتروفورزی به روشSDS-PAGE ۹۰
۳-۸-۲- نتایج مطالعات الکتروفورزی به روش PAGE ۹۰
۳-۹- نتایج حاصل از مطالعات سینتیکی پلی فنل اکسیداز در بنه های زعفران در دو مرحله خواب و بیداری ۹۲
فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۹۶
۴-۱- تفسیر نتایج مربوط به ترکیبات فنلی ۹۶
۴-۲- تفسیر نتایج مربوط به مطالعات سینتیکی پلی فنل اکسیداز ۱۰۱
پیشنهادات ۱۰۴
منابع ۱۰۵

فهرست جدولها

جدول۱-۱- میزان ترکیبات فنلی صنعتی در جهان ۱۷
جدول۳- ۱- مقایسه حلال های مختلف در عصاره گیری ترکیبات فنلی(استانده گالیک اسید) ۶۲
جدول ۳-۲- مقایسه حلال های مختلف در عصاره گیری ترکیبات فنلی(استانده تانیک اسید) ۶۳
جدول ۳-۳- میزان اسیدهای فنلی موجود در بنه ۶۴
جدول۳-۴- میزان فلاوونوئیدهای موجود در بنه ۶۴
جدول ۳- ۵- زمان خروج ترکیبات فنلی سیلیله استانده ۶۷
جدول ۳-۶- ترکیبات فنلی شناسایی شده در بنه ها توسط آنالیز GC-MS ۶۹
جدول ۳-۷- میزان فعالیت روبش رادیکالی بنه های زعفران ۸۴
جدول۳-۸- نتایج حاصل از خالص سازی با ستون رنگ نگاری میل ترکیبی زیمایه PPO در بنه های بیدار ۸۶
جدول۳-۹- نتایج حاصل از خالص سازی با ستون رنگ نگاری تعویض یونی زیمایه PPO در بنه های بیدار ۸۷
جدول۳-۱۰- نتایج حاصل از خالص سازی با ستون رنگ نگاری تعویض یونی زیمایهPPO دربنه های خواب ۸۹
جدول ۳-۱۱- مقادیر K_m و V_{max} در بررسی سینتیکی زیمایه PPO در دو مرحله خواب و بیداری .....
.....
.....
۹۵

فهرست شکلها

شکل۱-۱- چرخه رویشی گیاه زعفران(*Crocus sativus* L.) ۱۰
شکل۱-۲- چرخه یکساله زندگی*Crocus sativus* L ۱۲
شکل۱-۳- دسته بندی ترکیبات فنلی ۱۹
شکل۱-۴- ساختا پلی فنل اکسیداز در سیب زمینی ۲۱
شکل ۲-۱- منحنی استانده تانیک اسید ۳۲
شکل۲-۲- منحنی استانده گالیک اسید ۳۳
شکل۲-۳- منحنی استانده کوئرستین ۳۴
شکل ۲-۴- منحنی استانده کافئیک اسید ۳۵
شکل ۲-۵- منحنی استانده سنجش پروتئین ها ۴۵
شکل ۲-۶- عملکردسازگان رنگ نگاری میل ترکیبی و تعویض یونی ۴۸
شکل ۲-۷- عملکرد ستون رنگ نگاری میل ترکیبی ۴۹
شکل ۲-۸- اجزای تشکیل دهنده ژل رنگ نگاری میل ترکیبی ۵۱
شکل۳-۱- صفحه سیلیکاژل زیر نور UV ۶۵
شکل۳-۲- اثر KIO_3 روی صفحه سیلیکاژل بنه بیدار ۶۵
شکل ۳-۳- اثر رودامینB روی صفحات سیلیکاژل ۶۵
شکل۳-۴- رنگ نگاره TIC ترکیبات فنلی استانده ۶۶
شکل۳-۵-۱- رنگ نگاره TIC حاصل ازGC-MS بنه های بیدار ۶۸
شکل ۳-۵-۲- رنگ نگاره TICحاصل ازGC-MS بنه های خواب ۶۸
شکل ۳-۶- رنگ نگاره و طیف جرمی سیرینژیک اسید ۷۰
شکل ۳-۷- رنگ نگاره و طیف جرمی سینامیک اسید ۷۱
شکل۳-۸- رنگ نگاره و طیف جرمی پارا هیدروکسی بنزوئیک اسید ۷۲
شکل۳-۹- رنگ نگاره و طیف جرمی جنتیسیک اسید ۷۳
شکل۳-۱۰- رنگ نگاره و طیف جرمی پارا کوماریک اسید ۷۴
شکل۳-۱۱- رنگ نگاره و طیف جرمی گالیک اسید ۷۵
شکل۳-۱۲- رنگ نگاره و طیف جرمی کافئیک اسید ۷۶
شکل۳-۱۳- رنگ نگاره و طیف جرمی کاتکول ۷۷
شکل۳-۱۴- رنگ نگاره و طیف جرمی وانیلین ۷۸
شکل۳-۱۵- رنگ نگاره و طیف جرمی ترانس فرولیک اسید ۷۹
شکل ۳-۱۶- ساختار شیمیایی ترکیبات فنلی و اشکال مشتق شده آنها ۸۳
شکل۳-۱۷- فعالیت آنتی رادیکالی بنه های خواب وبیدار زعفران مزروعی ۸۵
شکل ۳-۱۸- رنگ نگاره میل ترکیبی مربوط به خالص سازی زیمایه PPO دربنه های بیدار زعفران ۸۶
شکل ۳-۱۹- رنگ نگاره تعویض یونی مربوط به خالص سازی زیمایه PPO در بنه های بیدار زعفران ۸۸
شکل۳-۲۰- رنگ نگاره تعویض یونی مربوط به خالص سازی زیمایه PPO در بنه های خواب زعفران ۸۹
شکل ۳-۲۱- الکتروفوروگرام SDS-PAGE بنه خواب ۹۱
شکل۳-۲۲- الکتروفوروگرام SDS-PAGE بنه بیدار ۹۱
شکل ۳-۲۳- الکتروفوروگرام PAGE بنه خواب و بیدار ۹۲

شکل ۳-۲۴- منحنی اشباع سینتیکی پلی فنل اکسیداز در حضور غلظت های مختلف گهرمایه پیروگالل در مرحله بیداری .....
.....
.....
۹۳.....
شکل ۳-۲۵- منحنی اشباع سینتیکی پلی فنل اکسیداز در حضور غلظت های مختلف گهرمایه پیروگالل در مرحله خواب ۹۴

فصل اول

مقدمه

۱-۱- تاریخچه

زعفران گیاهی پایا و علفی دارای گل آذین کاهش یافته و اغلب واجد یک گل است. ساقه آن بسیار کوتاه و زیر سطح خاک قرار دارد. این گیاه از زمانهای بسیار دور به عنوان منبع زعفران مصرفی کاشته می شده است. که گیاهی تریپلوئید است که از طریق بنه هادر طول دوره خواب تکثیر می شود(Saiedian and Keyhani, 2007).

اولین زعفرانی که بشر اقدام به کشت آن نمود زعفران مزروعی یا *Crocus sativus* است که مصرف گسترده ای در صنایع مختلف از جمله تغذیه، پزشکی، نساجی و... دارد. همچنین به دلیل نیاز آبی کم، سهولت در کاشت، داشت و برداشت، از اهمیت اقتصادی بسیار زیادی برخوردار است(Tarantilis et al., 1995; Brighton et al., 1980). خاستگاه این گیاه در ایران، ترکیه و یونان می باشد اما امروزه در برخی از کشورهای اروپایی از جمله اسپانیا، ایتالیا، فرانسه، نروژ و حتی مصر و اسرائیل، آذربایجان، پاکستان، هند، نیوزیلند، استرالیا و ژاپن به طور زراعی تکثیر و رشد یافته است. در مجموع محصول سالیانه زعفران حدود ۱۹۰ تن می باشد که ایران حدود ۹۰ درصد از کل این محصول را به خود اختصاص می دهد(Caballero –Ortega, 2007).

طرحهایی از زعفران در قصر مینوس[۱] و کنوسوس[۲] در جزیره کرت در نقشهای دیواری و ظروف سفالی مربوط به تمدن باستان کرت مشاهده شده است . به نظر می رسد این تصاویر بخاطر کلاله های منشعب قرمز و طویل خارج شده از گل مربوط به *Crocus sativus* است. یکی دیگر از نقوش دیواری مربوط به زعفران که قدمت آن حدود ۱۵۰۰ سال قبل از میلاد می باشد در آکروتینی[۳] در جزیره ترا[۴] (سانتورینی[۵]) یافت شده است.

همچنین در دیوار نوشته های غار کوری سین[۶] در سیسیل فضائل زعفران برشمرده شده و مورد ستایش قرار گرفته است. نام عمومی *Crocus* از کلمه یونانی کروکوس[۷] گرفته شده که ریشه آن کلمه عبرانی کارکوم[۸] است. البته این نام در گذشته در مورد گلرنگ و زردچوبه نیز به کار رفته است. سافرون[۹] تیز از کلمه عربی زعفران[۱۰] به معنای زرد گرفته شده است و امروزه از نظر گیاه شناسی مترادف *C.sativus* است. قبل از میلاد مسیح نویسندگان قدیمی لاتین از *Crocus* یا *Crocum* در نوشته های خود استفاده می کردند (Tarantilis et al., 1995; Brighton et al., 1980).رومی ها به طور گسترده ای از آن به عنوان عطر برای بانوان و همچنین تزئین کف تالارها استفاده می کرده اند. از زعفران به شکل ادویه و یک ماده مقوی و نیروبخش نیز استفاده می شده است.

(Sampathu et al., 1984; Brighton et al., 1980).

در طب سنتی همانند طب مدرن امروزی زعفران در مهار بیماریهای عصبی مفید و موثر بوده است. ترکیبات دارویی موجود در زعفران گروههای تحقیقاتی متعددی را در طی یک دهه گذشته به خود

---

1 –Minos
2 –Knossos
3- Akrotini
4- Thera
5- Santorini
6- Corycin
7- Krokos
8- Karkom
9- Saffron
10- Zaferan

جلب کرده است که حدود ۱۵۰ ترکیب فرار و ترکیبات غیر فرار متعددازجمله این مواد میباشند (Fikrat et al., 2001). بایستی خاطر نشان کرد که مادگی گیاه زعفران در طب سنتی به عنوان یک ضد زکام، مسکن اعصاب، خلط آور، ضد انقباض، پیش اندازنده قاعدگی(emmenagogue) و موثر بر گوارش طبیعی (eupeptic) استفاده می شده است. در طب جدید از این گیاه در مطالعات روی پارکینسون در موش ها استفاده شده است و یک اثرات پاداکسایشی را در شیشه روی آلزایمر نشان داده است. البته باید گفت اثرات ضد افسردگی این گیاه بر روی انسان هم به اثبات رسیده است . (Pitsikas, 2008)

۱-۲- بررسی سازگانی(سیستماتیکی) و ریخت شناختی زعفران

زعفران از نظرسازگانی در شاخه اسپرماتوفیت ها یا دانه داران، زیر شاخه نهاندانگان، رده تک لپه ای ها، راسته سوسنی ها، تیره زنبق Iridaceae و سرده زعفران قرار دارد. طبقه بندیهای متعددی در رابطه با تنوع مشخصات ارائه شده است که هر یک مزایا و معایبی دارند. بطور کلی امروزه طبقه بندی Maw با اندکی تغییرات و افزودن تمام گونه های جدیدی که تاکنون گزارش شده است، از اعتبار بیشتری برخوردار می باشد(Mathew 1982).

طبق پیشنهاد Strasburger و همکارانش در سال ۱۹۷۴ در کتاب Text book of botany و بر اساس کد بین المللی گیاه شناسی، زعفران از نظر تاکسونومی به صورت زیر طبقه بندی می شود: (Ingram, 1969; Stebbings, 1951).

- **Division** = *Spermatophyta*
- **Sub division** = *Magnoliophytina* **(Angiosperms)**
- **Class** = *Liliatae* **(Monocotyledons)**
- **Sub class** = *Liliidae*
- **Order** = *Liliales*
- **Family** = *Iridaceae*
- **Genus** = *Crocus*
- **Species** = *Crocus sativus* Linnaeus

سرده *Crocus* در مجموع شامل ۸۵ گونه مختلف است که از منطقه مدیترانه ای اروپا تا غرب آسیا بین عرض های جغرافیایی ۱۰° غربی و ۸۰° شرقی ۳۰°و تا۵۰° طول جغرافیایی شمالی پراکندگی دارد.Mathew در ۱۹۸۲و ۱۹۹۹ این سرده را به زیر تیره، بخشه ها و گروههائی تقسیم بندی نمود. او زعفران را در بخش *Crocus* و سری های زعفرانی شامل ۸ عضو تقسیم بندی کرد که شامل:
C.cartwrightianus, *C.moabiticus*, *C.oreocreticus*, *C.pallasii*, *C.thomasii*, *C.badriaticus*, *C.asumaniae*, *C.mathewii*

گیاهان سرده *Crocus* به خوبی به شرایط آب و هوایی با زمستانهایی سرد و بارانی و تابستانهایی گرم وخشک سازگاری یافته اند(Degalo et al., 2006).

۱-۳- زعفران مزروعی (*Crocus Sativus* L.)

زعفران مزروعی متعلق به زیر سرده و گروه *Crocus* است. بنه های آن مدور، سخت، گوشتدار و به رنگ سفید است. قطرآن بین ۳-۵ سانتی متر بوده ودر زیر خاک قرار می گیرد. پوشش بنه ها از نوع الیاف طولی موازی و قهوه ای رنگ است. برگ ها ۶ تا ۹ عدد و بعداز تشکیل گل روی بنه ظاهر می شوند. فرو برگ ها ۳ تا ۵ عدد می باشد گلها پاییزه به تعداد ۱ تا۳ عدد می باشند. گل نر ـ ماده، شعاعی ریخت جام گل لوله ای باریک و بلند و به رنگ گلپوش است. گلپوش از ۳ کاسبرگ و ۳گلبرگ به رنگ بنفش و با رگه های تیره تر می باشد. تعداد پرچمها ۳عدد، طول میله پرچم دو برابر بساک و بساک به رنگ زرد است. تخمدان زیرین و سه خانه و در هر خانه ۹-۱۵ تخمک وجود دارد(Wndelbo and Mathew, 1975).

همانطور که گفته شد، زعفران می تواند یک دوره خشک را در زیر خاک به حالت خواب بگذراند. از نظر گیاه شناسی، زعفران گیاهی پیچیده است و پیچیدگی آن ناشی از کاهش یافتگی شدید می باشد بطوریکه گل آذین آن تقلیل یافته است و اغلب دارای یک گل با پایه ای بسیار کوتاه در زیر سطح خاک می باشد. بنه در اصل ساقه زیرزمینی گیاه محسوب می شود که یک اندام ذخیره ای وغنی از نشاسته است و در فاصله زمانی بین مرحله گل دهی و میوه دهی تحلیل می رود و یک بنه جدید جایگزین آن می شود بنه جدید بر روی بنه قدیمی و از فعالیت مرسیتمی انتهایی جدیدی که در مجاورت قاعده دم گل تشکیل می شود، بوجود می آید. گاهی برخی از جوانه های جانبی نیز رشد می کنند و تعداد بیشتری بنه جدید بر روی بنه قدیمی تشکیل می شود. ریشه ها که در ابتدای فصل رویش در نقاطی از شیار قاعده ای بنه تولید می شوند، عمر محدودی دارند و تا مرحله میوه دهی که بنه مادر چروکیده شده از بین می رود، بر روی آن باقی می مانند. ریشه های انقباضی غده ای شکل در قاعده بنه جدید و در حال رشد، روی بنه مادر ایجاد می شوند وبنه را با قدرت تمام به طرف پایین و عمق خاک می کشند. ظاهراً بنه های زعفران باید در عمق مناسبی از خاک قرار گیرند زیرا اعمالی چون بلوغ گل تنها در یک عمق مشخص انجام می شود
. (Bastford, 1982)

بنه در زعفران شکلهای متفاوتی دارد و از حالت پهن، تخم مرغی تا کروی متغیر است پوشش بنه نیز خصوصیت بسیار مهمی در تشخیص گونه های زعفران است پوشش بنه شامل غلافهایی است که از لحاظ ظاهری بسیار متنوع هستند. هرچند زعفران در محیط هایی با شرایط آب و هوایی متفاوت رشد می کند (از مناطق مدیترانه ای تا خاورمیانه و هند) ولی محققان بسیاری پیشنهاد کرده اند که بهترین شرایط برای رشد این گیاه پائیزهای بارانی، زمستانهایی ملایم و تابستانهایی گرم می باشد ولی گزارش شده است که زعفران دماهایی حدود $^{\circ C}$۱۸- و بالاتر از $^{\circ C}$۴۰ را هم تحمل می کنند(Gresta et al., 2008).

۱-۴- بنه

از نظر گیاه شناسی، بنه یک ساقه کوتاه و ضخیم است که بسیار مشابه پیاز خوراکی می باشد با این تفاوت که ساختمانی سفت و محکم دارد و فاقد لایه های متعدد می باشد و پیاز توسط پوشش های فیبری محافظت می شود. همانطور که بعدا آشکار شد، این پوشش ها از تخریب ساختارهای برگی شکل متعدد حاصل می شود. وقتی این پوشش های فیبری برداشته شود، بنه ای کرم رنگ با اپیدرمی نرم ظاهر می شود که شامل یک سری گره (node) می باشد که ممکن است سرتاسر بنه را احاطه نکرده باشد. جوانه های راسی، نیمه راسی و محوری هم دیده می شوند که توسط پوشش هایی قهوه ای رنگ محافظت می شوند. ۷۵ درصد همه این جوانه ها در بخش مرکزی- فوقانی بنه وجود دارد. با افزایش پهنا و اندازه آن ها به یکدیگر ملحق می شوند و بنابراین اکثریت آنها در یک، دو یا سه میان گره یافت می شوند. از نقطه نظر عملکردی، جوانه ها به دو گروه تقسیم می شوند:

۱- جوانه هائی با طبیعت مختلط (mix) یا جوانه های رویشی- زایشی که منجر به تولید گل ها و برگ ها می شوند(جوانه های راسی و نیمه راسی).
۲- جوانه های کمکی(auxiliary) یا تولید کننده برگ که منجر به تولید جوانه های رویشی می شود و تنها برگها را تولید می کند.

در هر حال بین اندازه بنه (وزن و اندازه) و تعداد کل جوانه ها یک رابطه خطی وجود دارد. تعداد کل جوانه ها در بنه هایی با اندازه ای بیش از ۳/۸ سانتی متر افزایش می یابد بطوریکه متوسط تعداد آنها به ۲/۶ تا ۲/۸ جوانه در هر بنه می رسد. با توجه به نحوه تولید، بنه ها به دو تیپ عمده تقسیم می شوند. اگر بنه ها از جوانه مختلط بوجود آیند، یک جوانه با نمو فراوان و زیاد در منطقه مرکزی – راسی به چشم می خورد و جوانه های باقی مانده کمکی خواهند بود. اگرجوانه ای منجر به تولید گل شود، یک کاهش در ناحیه راسی- مرکزی بنه بوجود می آید، جایی که باقی مانده های اندام گلی مشاهده می شوند. در هر حال آنها توسط جوانه هایی با نمو گسترده و فراوان احاطه شده اند، یکی راسی و یک یا دو تا نیمه راسی. در کل اکثر اوقات جوانه ها قابل تشخیص از یکدیگر نیستند(Degalo, M.C., Alonso, G.L., (Aramburu, M. Z., 2006).

بنه های زعفران معمولاً متقارن و شکل آن از پهن، تخم مرغی تا کروی تغییر می نماید و از چند پوشش فیبری، غشایی یا چرمی پوشیده شده اند. رشد جوانه های نابجا روی شیارهای حلقه ای بنه منجر به تولید یک یا چند بنه جدید بر روی بنه قدیمی می شود(Rudall and Mathew, 1990).

ریشه ها در ابتدای فصل رویش (معمولاً پاییز) روی نقاطی از محیط شیار قاعده ای تشکیل شده و تا مرحله میوه دهی باقی می مانند. ریشه معمولاً فاقد انشعاب و به ندرت در برخی گونه ها دارای انشعاب کاملاً مشخص می باشد. گاهی در قاعده بنه جدید در حال رشد ریشه های انقباضی غده ای شکل تشکیل می گردد که بنه جدید را با تمام قدرت به طرف پایین و عمق مناسبی از خاک می کشند. پوشش بنه ها نقش بسیار مهمی در شناسایی گونه های زعفران دارد. در برخی گونه ها این پوشش ها غلافهایی نازک، نرم و در برخی دیگر کاغذی و یا چرم مانند بوده و به صورت حلقه هایی در قاعده می باشند و در برخی دیگر به شکل الیاف مشبک ظریف یا خشن می باشند.