دانشکده کشاورزی

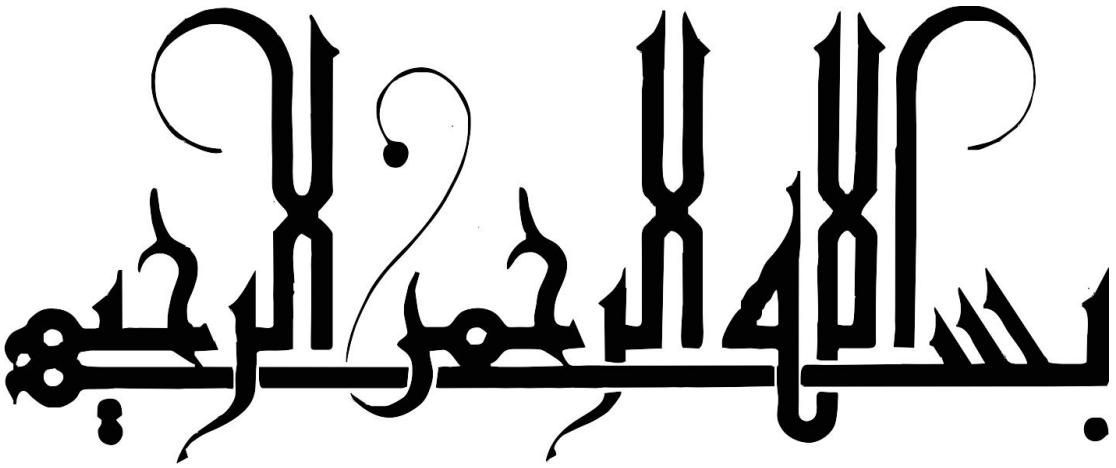
گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

کاربرد روش مولکولی نشانگر RAPD/SCAR در تشخیص تقلبات مربوط به افزودن گلرنگ به زعفران

نجمه جوانمردی

شهریور ۱۳۸۸



پایان‌نامه کارشناسی ارشد

کاربرد روش مولکولی RAPD/SCAR در تشخیص تقلبات مربوط به افزودن گلرنگ به زعفران

نجمه جوانمردی

استاد راهنما

دکتر عبدالرضا باقری

استادان مشاور

دکتر محمد فارسی

دکتر سعید ملک‌زاده

شهریور ۱۳۸۸

تصویب نامه

این پایان نامه با عنوان " بررسی امکان تشخیص مولکولی تقلبات مربوط به افزودن گلرنگ به زعفران" توسط نجمه جوانمردی در تاریخ ۱۳۸۸/۶/۳۰ با نمره ۱۹/۳۴ و درجه ارزشیابی عالی در حضور هیأت داوران با موفقیت دفاع شد.

هیأت داوران:

ردیف	نام و نام خانوادگی	مرتبه علمی	سمت در هیأت	**امضاء**
۱	آقای دکتر عبدالرضا باقری	استاد	استاد راهنما	
۲	آقای دکتر محمد فارسی	استاد	استاد مشاور	
۳	آقای دکتر سعید ملک زاده	استادیار	استاد مشاور	
۴	آقای دکتر حسن مرعشی	استادیار	استاد مدعو	
۵	خانم دکتر نسرین مشتاقی	استادیار	استاد مدعو	
۶	آقای دکتر فرج‌الله شهریاری	دانشیار	نماینده تحصیلات تکمیلی	

تعهدنامه

عنوان پایان نامه: بررسی امکان تشخیص مولکولی تقلبات مربوط به افزودن گلرنگ به زعفران

اینجانب نجمه جوانمردی دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی کشاورزی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد تحت راهنمایی آقای دکتر عبدالرضا باقری متعهد می‌شوم:

- نتایج ارائه شده در این پایان نامه، مطالعات علمی و عملی اینجانب بوده، مسئولیت صحت و اصالت مطالب مندرج را به طور کامل بر عهده می‌گیرم.
- در خصوص استفاده از نتایج پژوهش‌های محققان دیگر به مرجع مورد نظر استناد شده است.
- مطالب مندرج در این پایان نامه را اینجانب یا فرد یگری به منظور اخذ هیچ نوع مدرک یا امتیازی تاکنون به هیچ مرجعی تسلیم نکرده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد. مقالات مستخرج از پایان نامه ذیل با نام دانشگاه فردوسی مشهد (Ferdowsi University of Mashhad) به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تاثیر گذار بوده‌اند در مقالات مستخرج از رساله رعایت شده است.
- در صورت استفاده از موجودات زنده یا بافت‌های آنها برای انجام پایان نامه، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.

تاریخ ۸۸/۶/۳۰

نام و امضاء دانشجو

نجمه جوانمردی

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه فردوسی مشهد تعلق دارد و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به شخص ثالث نیست.
- استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

اظهار نامه

بدین وسیله اظهار می‌دارد، کلیه نتایج ارائه شده در این پایان‌نامه حاصل تحقیقات اینجانب است و تا کنون به منظور اخذ هر گونه مدرک تحصیلی به هیچ مرجعی تسلیم نشده است. علاوه بر این، تمام منابع علمی و اطلاعاتی مورد استفاده در این پایان‌نامه به نویسندگان مربوط ارجاع داده شده است.

نام و نام خانوادگی دانشجو: مریم جوانمردی

امضاء و تاریخ

۸۸/۶/۳۰

چکیده

زعفران یکی از گرانبهاترین گیاهان زراعی جهان و بومی ایران است. از کلاله این گیاه به عنوان یکی از مهمترین طعم دهنده‌ها و رنگ‌های طبیعی در فراورده‌های غذایی و دارویی استفاده می‌شود. با توجه به ارزش فراوان تجاری زعفران، گاهی تقلباتی در فرآیند تولید آن صورت می‌گیرد. یکی از این تقلبات افزودن گلبرگ‌های گلرنگ به کلاله‌های زعفران می‌باشد. از آنجا که تعیین خلوص و کیفیت زعفران توسط روش‌های سنتی و بیوشیمیایی مشکل بوده و از حساسیت پایینی برخوردار است، استفاده از روش‌های مولکولی نظیر نشانگر RAPD /SCAR برای تشخیص این تقلبات اهمیت خاصی دارد. لذا در این بررسی استخراج DNA از کلاله خشک توده‌های مختلف زعفران و گلبرگ های خشک ۷ رقم گلرنگ انجام شد. واکنش RAPD با ۱۰ آغازگر تصادفی ۱۵ نوکلئوتیدی منجر به شناسایی دو باند اختصاصی مونومورف ۵۰۰ و ۷۰۰ جفت بازی برای گلرنگ گردید. قطعات اختصاصی بدست آمده از گلرنگ در وکتور مناسب کلون شده و توالی یابی گردید. نتایج PCR با آغازگرهای اختصاصی SCAR منجر به تکثیر دو باند اختصاصی ۴۱۴ و ۵۸۹ جفت بازی در ارقام گلرنگ شد. با توجه به کارایی این روش در تشخیص درصدهای پایین مخلوط گلبرگ گلرنگ در کلاله‌های زعفران (۱ درصد) ، می‌توان از آن به عنوان یک تکنیک کاربردی برای تشخیص و شناسایی تقلبات مربوط به افزودن گلبرگ‌های گلرنگ به زعفران تجاری حتی در مقادیر بسیار کم بهره برد.

کلید واژه ها: تقلب، زعفران، شناسایی، گلرنگ، RAPD/SCAR .

سپاسگزاری

خداوند متعال را شاکرم که توفیق کسب علم و دانش در جوار بنده برگزیده‌اش حضرت علی‌ابن موسی‌الرضا علیه السلام را به اینجانب عطا فرمود. اینک که اجرا و ارائه این پایان نامه به یاری خداوند مهربان و عنایات ویژه حضرتش به پایان رسیده، بر خود لازم می دانم که از اولین و مهربانترین معلمان زندگیم، پدر و مادر بی نظیرم که حمایت های بی دریغ و دعای خیرشان همیشه شامل حالم بوده، صمیمانه تشکر کنم.

همچنین بی شائبه‌ترین سپاس‌ها را به اساتید ارجمندم این معلمان اندیشه‌پرور که راهیان طریق علم و پژوهش را همراهانی مشفق و بی دریغ‌اند، تقدیم می‌کنم. لذا از اساتید بزرگوارم جناب آقای دکتر عبدالرضا باقری، جناب آقای دکتر سعید ملک زاده، جناب آقای دکتر محمد فارسی، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنم. از اساتید گرانقدرم جناب آقای دکتر حسن مرعشی، جناب آقای دکتر فرج الله شهریاری و سرکار خانم نسرین مشتاقی کمال تشکر را دارم. از سرکار خانم شهربانو بوستانی تکنسین محترم آزمایشگاه بیوتکنولوژی گیاهی به خاطر مساعدت‌های فراوان و بی دریغشان بی نهایت سپاسگزارم. از آقای دکتر جعفر ذوالعلا، آقای دکتر ابراهیم دورانی، آقای دکتر امین میرشمسی و آقای مهندس محمد زارع به خاطر راهنمایی‌های ارزنده‌شان تشکر می‌کنم. از جناب آقای مهندس مهدی قبولی به خاطر همراهی‌ها و راهنمایی‌های بی دریغشان صمیمانه سپاسگزاری و قدردانی می‌کنم. از پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان بخاطر تأمین هزینه‌های این طرح، آقای مهندس احمد شریفی به واسطه زحمات ایشان و مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان بویژه جناب آقای دکتر مهدی عزیزی بخاطر در اختیار قرار دادن بذر ارقام مختلف گلرنگ کمال تشکر را دارم. از دوست بسیار عزیزم خانم فریده کریمی مهر به خاطر تمام همراهی‌هایشان در طول این مدت صمیمانه قدردانی می‌کنم. از همه همکلاسی‌ها و دوستان عزیزم در آزمایشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی که در طول انجام این تحقیق همواره از همکاری های مؤثر و بی دریغشان بهره‌مند بودم، صمیمانه تشکر میکنم و برای همه این عزیزان آرزوی موفقیت و سلامتی می‌کنم.

تقدیم

تقدیم به ذات مقدس باریتعالی

تقدیم به ساحت مقدس علی ابن موسی الرضاالمرتضی علیه السلام

تقدیم به پیشگاه صاحب العصر و الزمان عج الله تعالی فرجه

فهرست

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه ۱

فصل دوم: بررسی منابع ۵

۲-۱- تاریخچه زعفران ۵

۲-۲- پراکندگی و نواحی کاشت زعفران ۶

۲-۳- جنس زعفران ۶

۲-۴- گونه های زعفران شناخته شده در ایران ۷

۲-۵- زعفران زراعی یا خوراکی ۷

۲-۵-۱- گیاهشناسی ۷

۲-۵-۲- اکوفیزیولوژی ۸

۲-۵-۳- نیازهای اقلیمی ۹

۲-۵-۳-۱- رطوبت ۹

۲-۵-۳-۲- دما ۱۰

۲-۵-۳-۳- خاک مناسب ۱۰

۲-۵-۴- ترکیبات شیمیایی زعفران ۱۱

۲-۵-۴-۱- ترکیبات عمومی ۱۱

۲-۵-۴-۲- ترکیبات ویژه ۱۱

الف- ترکیبات عامل طعم ۱۱

ب- ترکیبات عامل عطر و بو ۱۱

پ- ترکیبات رنگی ۱۲

۲-۵-۵- موارد مصرف ۱۲

۲-۵-۵-۱- مصارف غذایی ۱۳

۲-۵-۵-۲- خواص و کاربردهای دارویی ۱۳

الف- طب قدیم ۱۳

ب- کاربردهای جدید ۱۴

۲-۵-۶- سمیت ۱۶

۲-۶- سطح زیر کشت در استان خراسان ۱۶
۲-۷- اهمیت اقتصادی و تجاری ۱۷
۲-۸- انواع زعفران تجاری ۱۹
۲-۸-۱- زعفران دسته‌ای ۱۹
۲-۸-۲- زعفران رشته‌ای ۱۹
۲-۸-۳- گرد زعفران ۱۹
۲-۹- صادرات زعفران و مشکلات آن ۱۹
۲-۱۰- تقلبات زعفران ۲۱
۲-۱۰-۱- گلرنگ از مهمترین مواد تقلبی در زعفران ۲۲
۲-۱۱- روش‌های شناسایی تقلبات زعفران ۲۳
۲-۱۱-۱- واکنش‌های رنگی ۲۳
۲-۱۱-۲- روش‌های کروماتوگرافی ۲۵
۲-۱۱-۳- معیارهای شیمیایی ۲۷
۲-۱۱-۴- روش‌های میکروسکوپی ۲۷
۲-۱۱-۵- روش‌های نوین بیوتکنولوژی ۲۷
۲-۱۲- اهمیت استفاده از فناوری DNA برای کشف تقلبات ۲۸
۲-۱۲-۱- مثال‌هایی از کاربرد موفق بیوتکنوژی در تشخیص تقلبات ۲۹
۲-۱۲-۲- DNA چند شکل تکثیر شده تصادفی (RAPD) ۳۵
۲-۱۲-۳- ناحیه تکثیر شونده با توالی مشخص (SCAR) ۳۷
۲-۱۲-۴- مثال‌هایی از کاربرد نشانگر SCAR ۳۹
۲-۱۲-۵- مثال‌هایی از کاربرد نشانگر SCAR در تشخیص تقلبات ۴۵
فصل سوم: مواد و روش ۴۹
۳-۱- مواد گیاهی ۴۹
۳-۲- نحوه کشت ۴۹
۳-۳- استخراج DNA ۵۰
۳-۳-۱- روش استخراج DNA به روش دلاپورتا از برگ (نمونه تازه) ۵۰
۳-۳-۲- روش استخراج DNA به روش CTAB از برگ (نمونه تازه) ۵۱

۳-۳-۳- روش استخراج DNA از نمونه خشک شده به روش CTAB ۵۳
۳-۴- بررسی کیفیت و تعیین غلظت DNA ژنومی ۵۳
۳-۴-۱- روش اسپکتروفتومتری ۵۳
۳-۴-۲- الکتروفورز ژل آگارز ۵۴
۳-۵- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) مربوط به نشانگر RAPD ۵۴
۳-۶- الکتروفورز محصولات PCR ۵۶
۳-۷- بررسی نتایج واکنش‌های PCR مربوط به RAPD ۵۷
۳-۸- همسانه‌سازی ۵۷
۳-۸-۱- خالص‌سازی ۵۷
۳-۸-۲- اتصال ۵۸
۳-۸-۳- وارد نمودن پلاسمید نوترکیب به سلول میزبان ۵۸
۳-۸-۴- تهیه سلول مستعد ۵۹
۳-۸-۵- تراریختگی ۵۹
۳-۸-۶- شناسایی سلول‌های حاوی پلاسمید نوترکیب ۶۰
۳-۸-۷- استخراج پلاسمید ۶۰
۳-۸-۷-۱- استخراج پلاسمید به روش معمول ۶۰
۳-۸-۷-۲- استخراج پلاسمید با استفاده از کیت ۶۲
۳-۸-۸- تأیید حضور قطعه مورد نظر در پلاسمید با استفاده از هضم آنزیمی ۶۲
۳-۸-۹- تأیید حضور قطعه مورد نظر در پلاسمید با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۶۲
۳-۹- توالی‌یابی ۶۳
۳-۱۰- طراحی آغازگر SCAR ۶۳
۳-۱۱- واکنش PCR مربوط به SCAR ۶۳
۳-۱۲- الکتروفورز محصولات واکنش SCAR ۶۵
فصل چهارم: نتایج و بحث ۶۷
۴-۱- بررسی کمیت و کیفیت DNA ژنومی ۶۷
۴-۲- بررسی نتایج PCR نشانگر RAPD ۶۹
۴-۳- گزینش بهترین باند ۷۲

۴-۴- همسانه‌سازی ۷۳
۴-۵- توالی‌یابی ۷۶
۴-۶- آغازگرهای SCAR ۷۷
۴-۷- واکنش PCR با آغازگرهای SCAR ۷۷
۴-۷-۱- آغازگرهای SAF-L40 و SAF-L4 ۷۷
۴-۷-۲- آغازگر SAF-L70 ۷۹
۴-۸- تعیین حساسیت روش RAPD/SCAR در کشف تقلبات گلرنگ در زعفران ۷۹
فصل پنجم: نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادات ۸۳
۵-۱- نتیجه‌گیری کلی ۸۳
۵-۲- پیشنهادات ۸۴
منابع ۸۵
پیوست‌ها ۹۳
پیوست۱ ۹۴
پیوست۲ ۹۶

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ٤-١- الکتروفورز DNA ژنومی نمونه‌های تازه برگ ارقام گلرنگ و برگ توده‌های زعفران
روی ژل آگارز یک درصد به روش دلاپورتا ۶۸

شکل ٤-٢- الکتروفورز DNA ژنومی نمونه‌های تازه برگ ارقام گلرنگ و برگ توده‌های زعفران
روی ژل آگارز یک درصد به روش CTAB ۶۸

شکل ٤-٣- الکتروفورز DNA ژنومی نمونه‌های خشک گلبرگ ارقام گلرنگ و کلاله توده‌های
زعفران روی ژل آگارز یک درصد به روش CTAB ۶۹

شکل٤-٤- تشابه الگوی باندی واکنش PCR در DNA استخراجی از نمونه تازه (سمت راست)
و نمونه خشک (سمت چپ) در حضور آغازگر RAP5 ..... ۷۰

شکل ٤-٥- الگوی باندی آغازگر RAP2 در ارقام گلرنگ و توده‌های زعفران ۷۰

شکل ٤-٦- الگوی باندی آغازگر RAP3 در ارقام گلرنگ و توده‌های زعفران ۷۱

شکل ٤-٧- الگوی باندی آغازگر RAP5 در ارقام گلرنگ و توده‌های زعفران ۷۱

شکل ٤-٨- الگوی باندی آغازگر RAP10 در ارقام گلرنگ و توده‌های زعفران ۷۲

شکل ٤-٩- باندهای ۵۰۰ و ۷۰۰ جفت بازی گزینش شده از نتایج PCR ارقام گلرنگ در حضور آغازگر RAP5 ..... ۷۳

شکل ٤-١٠- تأیید عمل خالص سازی باندهای مورد نظر روی ژل آگارز ۷۴

شکل ٤-١١- نتیجه استخراج پلاسمید نوترکیب به روش معمول بر روی ژل آگارز ۷۴

شکل ٤-١٢- نتیجه استخراج پلاسمید نوترکیب توسط کیت استخراج پلاسمید با خلوص بالا بر روی ژل آگارز ۷۵

شکل ٤-١٣- نتایج تأیید حضور قطعات ۵۰۰ و ۷۰۰ جفت بازی در پلاسمید نوترکیب به روش
هضم آنزیمی روی ژل آگارز ۷۵

شکل ٤-١٤- نتایج تأیید حضور قطعات ۵۰۰ و ۷۰۰ جفت بازی در پلاسمید نوترکیب به روش
واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حضور آغازگر RAP5 روی ژل آگارز ۷۶

شکل ٤-١٥- نتایج PCR نمونه‌های گلرنگ و زعفران در حضور آغازگر SAF-L40 ..... ۷۸

شکل٤-١٦- نتایج PCR نمونه‌های گلرنگ و زعفران در حضور آغازگر SAF-L4 ..... ۷۸

شکل٤-١٧- نتایج PCR نمونه‌های گلرنگ و زعفران در حضور آغازگر SAF-L70 ..... ۷۹

شکل ٤-١٨- نتایج PCR در حضور آغازگر SAF-L4 با درصدهای مختلف گلرنگ در زعفران..... ٨٠

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول۱-۲- سهم تولید زعفران کشورهای مختلف جهان در سال ۲۰۰۶-۲۰۰۵..... ۱۸

جدول ۲-۲- واکنش زعفران و دیگر مواد طبیعی رنگین به معرف‌های مختلف..... ۲۴

جدول ۲-۳- واکنش‌های رنگی جهت تشخیص تقلبات در زعفران..... ۲۵

جدول ۲-٤- روش‌های کروماتوگرافی مورد استفاده در تشخیص انواع تقلبات در زعفران..... ۲۶

جدول ۳-۱- نحوه تهیه بافر استخراج DNA..... ۵۲

جدول ۳-۲- مواد لازم در واکنش PCR اختصاصی RAPD و غلظت نهایی آنها در واکنش..... ۵۵

جدول ۳- ۳- اسامی، توالی و دمای اتصال آغازگرهایRAPD..... ۵۵

جدول ۳-٤- برنامه چرخه حرارتی برای انجام واکنش PCR نشانگرRAPD..... ۵۶

جدول ۳-۵- غلظت و حجم‌های بهینه شده مواد تشکیل دهنده واکنش اتصال..... ۵۸

جدول ۳-٦- غلظت و حجم‌های بهینه شده مواد تشکیل دهنده واکنش هضم برای حجم ۲۰ میکرولیتر..... ۶۲

جدول ۳-۷- مواد لازم در واکنش PCR اختصاصی SCAR و غلظت نهایی آنها در واکنش..... ۶۴

جدول ۳-۸- برنامه چرخه حرارتی برای انجام واکنش PCR اختصاصی SCAR..... ۶۴

جدول٤-۱- نام و اندازه آغازگرهای SCAR..... ۷۷

فهرست علائم اختصاری

علامت	معادل انگلیسی	معادل فارسی
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism	تفاوت طول قطعه‌های حاصل از تکثیر
ALP	Amplicon Length Polymorphism	تفاوت طول قطعه‌های قابل تکثیر
ARMS	Amplification Refractory Mutation System	سیستم بازتاب تکثیری جهش
DGGE	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis	الکتروفورز ژل شیب واسرشته شونده
FAO	Food and Agriculture Organization	سازمان غذا و کشاورزی
FINS	Forensically Informative Nucleotide Sequencing	توالی نوکلئوتیدی اطلاعات مفید دادگاهی
ISO	International Standard Organization	سازمان استاندارد بین‌المللی
ISSR	Inter Simple Sequence Repeats	تکثیر بین ردیف تکراری ساده
ITS	Internal Transcribed Spacers	جداکننده‌های نواحی رونوشت‌برداری داخلی
MAAP	Multiple arbitrary amplicon profiling	نیمرخ ردیف‌های قابل تکثیراختیاری چندگانه
PCR	Polymerase Chain Reaction	واکنش زنجیره‌ای پلیمراز
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA	DNA چند شکل تکثیر شده تصادفی
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism	تفاوت طول قطعه‌های حاصل از هضم
RGA	Resistance Gene Analogs	آنالوگ‌های ژن مقاومت
SCAR	Sequence Characterized Amplified Region	ناحیه تکثیر شونده با ردیف مشخص
SNP	Single Nucleotide Polymorphism	تفاوت تک نوکلئوتیدی
SRAP	Sequence Related Amplified Polymorphism	چند شکلی تکثیر شده توالی تکراری
SSCP	Single Strand Conformation Polymorphism	تفاوت فرم فضایی رشته‌های منفرد
SSR	Simple Sequence Repeats	ردیف تکراری ساده
STMS	Sequence Tagged Microsatellite Site	ریزماهواره‌های نشانمند از ردیف
STS	Sequence Tagged Site	نقاط نشانمند از ردیف
WHO	World Health Organization	سازمان سلامت جهانی

فصل اول

مقدمه

زعفران زراعی با نام عمومی Saffron و نام علمی *Crocus sativus* در منطقه آب و هوایی مدیترانه و غرب آسیا در مناطق بسیار کم باران ایران- توران که دارای زمستان سرد و تابستان گرم هستند، گسترش دارد. سابقه زراعت زعفران به بیش از ۲۵۰۰ سال قبل بر می‌گردد (کافی و همکاران، ۱۳۸۱). این گیاه بومی ایران بوده و قرن‌هاست که در ایران کشت می‌شود (ابریشمی،۱۳۶۶؛ ملافیلابی، ۱۳۸۱). هر چند گونه‌های دیگر جنس زعفران به دلیل دارا بودن گل‌های زیبا، به عنوان گیاهان زینتی نیز مورد استفاده قرار می گیرند، ولی گونه مذکور که گونه زراعی آن می‌باشد از نظر اقتصادی جایگاه ویژه‌ای دارد (حبیبی و باقری، ۱۳۶۸؛ کافی و همکاران، ۱۳۸۱). زعفران گیاه زراعی بی‌نظیر و منحصر به فردی است که خصوصیات ویژه آن باعث شده است که فناوری تولید آن که در نوع خود از پیچیدگی زیادی نیز برخوردار است بین کشاورزان سینه به سینه منتقل گردد. از ویژگی‌های بارز این گیاه، ظهور گل آن قبل از هر اندام رویشی دیگر، شروع رشد آن در پاییز، پایان دوره رشدی آن در بهار، عدم تولید بذر علیرغم تولید گل‌های کامل فراوان و ضرورت برداشت گل آن در صبح قبل از گرم شدن هوا می‌باشد. به نظر می-رسد زعفران گرانبهاترین گیاه زراعی موجود در روی کره زمین بوده و تنها گیاهی است که واحد خرید و فروش آن به جای تن و کیلوگرم، مثقال و گرم می‌باشد.

زعفران به عنوان یکی از گرانترین محصولات کشاورزی و دارویی جهان جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات صنعتی و صادراتی ایران دارد (کافی و همکاران، ۱۳۸۱). ممنوع شدن استفاده از رنگ زرد شیمیایی مخصوص غذا، یعنی تارتارازین E-102 (که توسط سازمان‌های بین‌المللی WHO و FAO به عنوان یک ماده مضر برای سلامتی معرفی شده، فرصتی بسیار مهم و مغتنم برای بالا رفتن مصرف زعفران است (ابریشمی، ۱۳۸۳). بنابراین با توجه به

اثرات اقتصادی، اجتماعی، تاریخی و فرهنگی زعفران ایران و موقعیتی که تولید آن در جهان دارد به نظر می رسد هر میزان تحقیق، اقدام آموزشی، ارشادی و حمایت‌های فنی که برای افزایش کمی و کیفی این محصول انجام پذیرد، باز هم کم بوده و هر مورد پژوهش در این زمینه می‌تواند راهنمائی برای برنامه ریزان و سیاست گذاران کشاورزی کشور باشد تا بتوانند در فرایند تولید، توزیع و صادرات این محصول صادراتی همزمان با توسعه کشت آن، برنامه‌های حمایتی و هدایتی لازم را از این محصول منطقه بزرگ خراسان اعمال نمایند که نتیجه آن تحول بزرگ اقتصادی است که عاید کشور خواهد شد (امیرقاسمی، ۱۳۸۰). این گیاه به دلیل ویژگی‌های خاص از جمله نیاز آبی کم، فصل رشد مطلوب، آبیاری در زمانهای غیربحرانی نیاز آبی سایر گیاهان، امکان بهره‌برداری از مزارع به مدت چندین سال در یک نوبت کاشت، سهولت حمل و نقل و نگهداری محصول، عدم نیاز زراعت آن به ماشین‌آلات ویژه و تکنولوژی پیچیده، توان جذب نیروی کار زیاد در زمان برداشت گل، اشتغال‌زایی، جلوگیری از مهاجرت، درآمدزایی، توسعه صادرات غیرنفتی و جذب ارز موقعیت آن را بویژه در مناطقی که فاقد استعدادهای صنعتی و دارای محدودیت آب کشاورزی می‌باشد مطرح و ممتاز نموده است (کافی و همکاران،۱۳۸۱؛ ملافیلابی، ۱۳۸۱).

گسترش صادرات زعفران که در حال حاضر یکی از مهمترین محصولات صادراتی ایران بویژه استان خراسان است، با توجه به مزیت های نسبی این محصول و ارز آوری آن دارای اهمیت فراوانی است که با تولید و صدور آن همه ساله ارز قابل توجهی وارد کشور می‌شود (امیر قاسمی، ۱۳۸۰؛ ملافیلابی، ۱۳۸۱؛ کافی و همکاران، ۱۳۸۱) و از آنجا که محصولی گران‌قیمت است، به شیوه‌های گوناگون توسط افراد سودجو مورد تقلب قرار می‌گیرد (همتی کاخکی، ۱۳۸۱) و افزایش قیمت این محصول در سال‌های اخیر باعث شده است که تقلب در محصول زعفران افزایش یابد. تعیین خلوص و کیفیت زعفران صادراتی با روش‌های سنتی، بیوشیمیایی و میکروسکوپی مشکل است به همین دلیل ارائه یک روش دقیق و سریع برای تعیین خلوص زعفران لازم و ضروری است (حبیبی و باقری، ۱۳۶۸؛ همتی کاخکی، ۱۳۸۱) و با توجه به اهمیت خلوص زعفران صادراتی ایران، تشخیص سریع و دقیق ناخالصی‌های موجود در آن مهم است. امروزه از انواع روش‌های سنتی و بیوشیمیایی نظیر کروماتوگرافی برای شناسایی ناخالصی‌های موجود در زعفران استفاده می شود ولی روش‌های مولکولی نظیر استفاده از نشانگرهای DNA برای شناسایی گونه‌ها و تقلبات گیاهی آنها از دقت بیشتری نسبت به روش‌های سنتی و همچنین کروماتوگرافی برخوردار است. در روش‌های سنتی و کروماتوگرافی برای تشخیص دقیق باید میزان ناخالصی بالا باشد تا قابل شناسایی باشد، در حالیکه با روش‌های مولکولی مقادیر ناچیز ناخالصی در حجم کم نمونه قابل

تشخیص است، علاوه بر این امکان تشخیص سریع را ممکن می‌سازد و با توجه به اینکه در بین افزودنی‌هایی که به عنوان تقلب به محصول زعفران افزوده می‌شود گل‌های گلرنگ بیش از همه رایج است، هدف اصلی از انجام این پایان‌نامه بررسی امکان استفاده از تکنیک RAPD/SCAR به منظور طراحی آغازگر اختصاصی گلرنگ جهت شناسایی تقلبات گلرنگ در زعفران صادراتی می‌باشد که زمینه را برای کاربرد تکنیک‌های مولکولی در شناسایی تقلبات گیاهی و کاربردی کردن این تحقیق برای استفاده‌های تجاری فراهم می‌کند.