فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی۸، جلد۳، شماره ۱،زمستان ۱۳۸۸، صفحه ۲۹ تا صفحه ۳۵

بررسی اثرات عصاره آبی گل‌های زعفران (*Crocus sativus L.*) بر روی میزان فعالیت سلول‌های مریستم ریشه نخود، زیره سیاه، پیاز و جو

عذرا عطائی عظیمی[۱]، بابک دلنواز هاشملویان[۱]، شهرزاد نصیری سمنانی[۲]

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه. attaei@iau-saveh.ac.ir
۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاداسلامی واحد زنجان.

تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۱ **تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۲۰**

چکیده

زعفران (*Crocus sativus L.*) از قدیم به عنوان یک گیاه دارویی در طب سنتی استفاده می شده و غنی از کارتنوئیدهایی است که اثرات ضد سرطانی و ضد توموری آن ها شناخته شده است. فعالیت زیستی اندام های گلی زعفران به ترکیب شیمیایی و غلظت مواد موجود در هر یک بستگی دارد. در این پژوهش، فعالیت ضد میتوزی عصاره ی آبی گلبرگ، پرچم و کلاله ی گل زعفران روی سلول های مریستمی ریشه ی نخود (*Cicer arietinum L.*)، زیره ی سیاه (*Carum carvi L.*)، جو (*Hordeum vulgare L.*) و پیاز (*Allium cepa L.*) مقایسه واثر ضد میتوزی با اندازه گیری رشد و حضور مراحل تقسیم تعیین شد. همه ی عصاره ها دارای اثر ضد میتوزی بودند ولی بیشترین بازدارندگی در تشکیل دوک های تقسیم مربوط به عصاره ی کلاله و کمترین بازدارندگی مربوط به عصاره ی گلبرگ بود. احتمالاً فعالیت متفاوت ضد میتوزی این عصاره ها بستگی به ترکیب شیمیایی و غلظت این مواد دراندام های مختلف دارد.

کلید واژه: ضد میتوزی، زعفران، نخود، زیره ی سیاه، جو، پیاز.

مقدمه

زعفران (*Crocus sativus L.*)، گیاهی از خانواده زنبقیان واجد گل‌هایی با مادگی سه کلاله‌ای و طعمی تلخ و بوی مطبوع، گران‌ترین چاشنی غذایی دنیا می‌باشد. بیشتر از ۱۵۰ ترکیب معطر، فرار و آروماتیک، و تعداد زیادی ترکیب غیر فرار مثل انواع کاروتنوئید (زآگزانتین، لیکوپن و انواعی از آلفا و بتا کاروتن) در این گیاه شناسایی شده است (۱۱). مادگی زعفران غنی از ریبوفلاوین‌ها، ویتامین و سه ماده کارتنوئیدی کروستین، پیکروکروسین، سافرانال وکروسین (کارتنوئید محلول در آب) به عنوان منبع اصلی رنگ زرد- قرمز می‌باشد. طی خشک کردن کلاله‌ها، پروتوکروسین به یک مولکول کروسین (یک گلیکوزید رنگی) و دو مولکول پیکروکروسین (یک گلیکوزید تلخ بی رنگ) تبدیل می‌شود. کروسین گلیکوزیدی مخلوط از کروسیتین (یک ترپن لیپیدی دی کربوکسیلی) و آلفا کروسین (یک استر دیژنتیوبیوز کروستین) است. اسانس کلاله مخلوطی از ۳۰ ماده است که مهم‌ترین آن‌ها ترپن‌ها و مشتقات آن‌ها هستند(۴،۱۲). دلیل تلخی و خوشبویی کلاله داشتن ترکیب‌های شیمیایی کروسین، پیکروکروسین و سافرانال می‌باشد(۱۱). رنگ طلایی یا زرد- قرمز زعفران ناشی از ماده آلفا کروسین از سری کاروتنوئیدهای آب دوست است. آلفا کروسین در زعفران نسبت به دیگر کاروتنوئیدها بیشتر بوده و حدود ۱۰٪ وزن خشک را شامل می‌شود. ماده تلخ گلوکوزیدی پیکروکروسین (فرمول شیمیایی

Archive of SID
www.SID.ir

($C_{۲۰}H_{۲۶}O_{۷}$) و سافرانال به زعفران طعم و عطر می‌دهند که ۴٪ وزن خشک زعفران را به خود اختصاص می‌دهند و دارای خاصیت آفت‌کشی (حشره‌کشی) نیز می‌باشند. زآگزانتین قرمز در زعفران، یکی از کاروتنوئیدهای موجود در شبکه چشم انسان است. سافرانال روغن معطر و فراری است که سبب عطر خیلی مشخص زعفران می‌شود. تلخی سافرانال کمتر از پیکروکروسین بوده و ممکن است ۷۰٪ مواد معطر زعفران خشک را شامل شود (۱،۴). این گیاه خاصیت دارویی داشته و از قدیم از آن برای درمان بیش از ۹۰ بیماری استفاده شده است. ایرانیان در استفاده از زعفران قبل از کشورهای دیگر بوده و از زعفران به عنوان عطر، رنگ، دارو و شستشوی بدن استفاده می‌کردند (۱۱). خواص دارویی زعفران از قدیم مشخص شده ولی امروزه به برخی از خواص جدید از جمله خاصیت ضد جهشی، ضد مرگ سلولی، ضد سرطانی، ضد توموری و افزایش دهنده توانایی سیستم ایمنی، ویژگی‌های آنتی اکسیدانی در شرایط آزمایشگاهی و در طبیعت پی برده‌اند (۷،۱۰). از چای گل زعفران (مادگی و کلاله) که غنی از ریبو فلاوین است به عنوان تسکین دهنده، ضد گرفتگی عضلانی، تقویت کننده، اشتهاآور، ضدنفخ، عرق‌آور، قاعده‌آور، خلط‌آور، مسکن و محرک برای بچه‌ها و درمان خون‌ریزی‌های رحم افراد بالغ، القای قاعدگی، مشکلات گوارشی و قولنج استفاده می‌کنند. استفاده بیشتر از ۱۰ گرم زعفران سمی بوده و می‌تواند سبب سقط جنین شود (۹). گلیکونجوکیت به دست آمده از این گیاه بر روی مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده و رشد ریشه توتون و آرابی دوپسیس موثر می‌باشد (۶،۸). عصاره‌های استنی- آبی گل زعفران بر روی رشد و نمو ریشه و ساقه دو گیاه گندم و ماش اثر تحریکی دارد (۲،۵). هدف از این پژوهش بررسی اثرات عصاره آبی گل‌های زعفران (*Crocus sativus L.*) بر روی میزان فعالیت سلول‌های مریستم ریشه نخود، زیره سیاه، پیاز و جو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

گل‌های زعفران در آبان ماه سال ۱۳۸۸، از مزارع اطراف مشهد تهیه و در هر بار آزمایش گلبرگ، پرچم و کلاله چهارده گل، به دقت از یکدیگر جدا، وزن و به صورت تازه برای استخراج عصاره استفاده گردید (با ۵ تکرار). هر یک از اندام‌های فوق را جداگانه در هاون خرد، نرم و سپس با ۲۰میلی لیتر آب گرم ۴۵ درجه ساییده تا یک مخلوط همگن به دست بیاید. پس از صاف نمودن مخلوط‌های همگن آن‌ها تا زمان استفاده در یخچال در دمای ۴-۰ درجه نگهداری شدند. دانه‌های نخود، زیره و جو را پس از استریل بر روی کاغذ صافی درون پلیت کشت داده و پس از جوانه زدن دانه‌ها، دانه رست‌های سه روزه نخود، زیره سیاه، جو به مدت ۵ ساعت، در عصاره آبی گل زعفران تهیه شده غوطه‌ور گردیدند. برای پیاز فقط ریشه‌های متصل به پیاز درون عصاره قرار داده شد. بعد از پایان یافتن زمان تیمار، برای تعیین درصد جوانه‌زنی و رشد دانه رست‌ها، دانه رست‌ها را درون تثبیت کننده اتانول- اسید استیک (۳: ۱) تثبیت و برای بررسی اثر عصاره‌ها بر روی میزان تقسیم میتوز، مریستم نوک ریشه هر نمونه تثبیت شده را بعد از هیدرولیز با اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال و شتشو با استوکارمن۱٪ و حرارت دادن با شعله، رنگ‌آمیزی گردیدند. محلول شاهد برای هر نمونه آب مقطر بود. بررسی‌های آماری و مقایسه میانگین‌ها با نرم‌افزارSPSS و تست دانکن در محدوده ۰/۰۵ با بیش از سه تکرار انجام گرفت.

نتایج

اثر عصاره‌ها روی رویش دانه بسته به نوع گیاه و نوع اندام متفاوت بود. عصاره آبی گلبرگ و پرچم زعفران باعث افزایش معنی‌داری در میزان درصد جوانه‌زنی در بذر نخود گردیده ولی مقایسه میانگین‌ها مشخص نمود که تفاوت معنی‌داری بین درصد جوانه‌زنی تیمار عصاره آبی کلاله وجود ندارد. عصاره اندام‌های مختلف گل زعفران به طور معنی‌داری موجب کاهش میزان جوانه‌زنی بذور زیره نسبت به شاهد شده ولی میزان اثر تیمار عصاره آبی کلاله و پرچم بر روی بذور زیره شبیه به یکدیگر بود. عصاره اندام‌های مختلف گل زعفران به طور معنی‌داری

Archive of SID

www.SID.ir

موجب کاهش میزان جوانه‌زنی بذور جو نسبت به شاهد شده و تفاوت معنی‌داری ما بین میزان اثر کاهشی تیمار عصاره‌های آبی کلاله، پرچم و گلبرگ گل زعفران بر روی بذور جو مشاهده گردید. (جدول ۱). اثر عصاره‌های آبی روی رشد ریشه دانه رست‌ها در نخود، زیره و جو نیز تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. یافته‌های ما نشان داده که عصاره‌های آبی اندام‌های مختلف گل زعفران به شدت بازدارنده رشد ریشه دانه رست‌های نخود، جو و زیره است. عصاره آبی کلاله و پرچم زعفران باعث کاهش معنی‌داری در میزان رشد ریشه دانه رست‌های نخود و جو گردیده ولی مقایسه میانگین‌ها مشخص نموده که تفاوت معنی‌داری بین میزان رشد ریشه تیمار عصاره آبی گلبرگ با شاهد وجود ندارد. عصاره گلبرگ گل زعفران به طور معنی‌داری موجب کاهش میزان رشد ریشه دانه رست‌های زیره نسبت به شاهد شده ولی تفاوت معنی‌داری بر روی اثر عصاره آبی کلاله و پرچم بر روی دانه رست زیره نسبت به شاهد وجود نداشته است (جدول ۲). برای تعیین چگونگی کاهش رشد ریشه‌ها، درصد تقسیم در سلول‌های مریستم ریشه هر چهار نمونه مورد بررسی قرار گرفت. مشاهدات نشان داد که عصاره‌های زعفران اثر بازدارنده روی تشکیل دوک در تقسیم میتوز سلول‌های مریستم ریشه داشته و باعث باقی ماندن کروموزوم‌ها در آخر پروفاز و کوتاه و ضخیم شدن کروموزوم‌ها می‌شوند و این اثر بستگی به نوع گیاه و نوع اندام زعفران دارد. در سلول‌های مریستمی ریشه نخود محلول‌های شاهد و عصاره آبی گلبرگ بیش از ۹۰٪ سلول‌ها در مراحل مختلف متافاز، آنافاز و تلوفاز قرار گرفته، در حالی که در سلول‌های مریستمی تیمار شده با عصاره آبی پرچم و کلاله گل زعفران، با آن که در تعداد زیادی از سلول‌ها کروموزوم‌های متراکم و کوچک بودند، تعداد سلول‌هایی که در مرحله متافاز، آنافاز یا تلوفاز بودند بسیار کم قابل مشاهده است (جدول۳ و شکل۱). اثر بازدارندگی عصاره‌های زعفران بر روی تراکم تقسیم سلول‌های مریستم ریشه زیره سیاه تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نشان نمی‌دهد (جدول۳ و شکل۲). بررسی کروموزوم‌های زیره در نمونه تیمار شده با عصاره کلاله حضور ۲n=۱۶ کروموزوم و یک جفت ماهواره را در یک جفت از کروموزوم‌ها نشان می‌دهد (شکل۳) عصاره‌های آبی گل زعفران بر روی

جدول۱- مقایسه اثر عصاره‌های آبی گلبرگ، پرچم و کلاله بر روی میزان درصد جوانه‌زنی بذر نخود، زیره و جو

اندام	نخود	زیره	جو
شاهد	۹۶/۶ c	۷۵ a	۹۳/۳ a
گلبرگ	۱۰۰a	۲۶/۵ c	۶۵ b
پرچم	۹۸/۳ b	۶۰ b	۳۳/۳ c
کلاله	۹۶/۶ c	۶۰ b	۲۰ d

جدول۲- اثر عصاره‌های آبی اندام‌های گل زعفران بر روی رشد ریشه دانه رست نخود، زیره و جو.

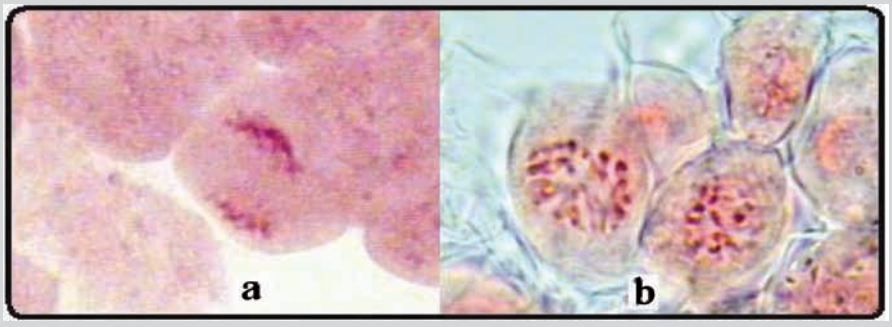
اندام	نخود	زیره	جو
شاهد	۳/۳ a	۳/۸ a	۰/۸ a
گلبرگ	۳ a	۱/۸ b	۰/۸ a
پرچم	۰/۱۷ b	۳/۵ a	۰/۳ b
کلاله	۰/۱۳ b	۳/۵ a	۰/۱ c

Archive of SID

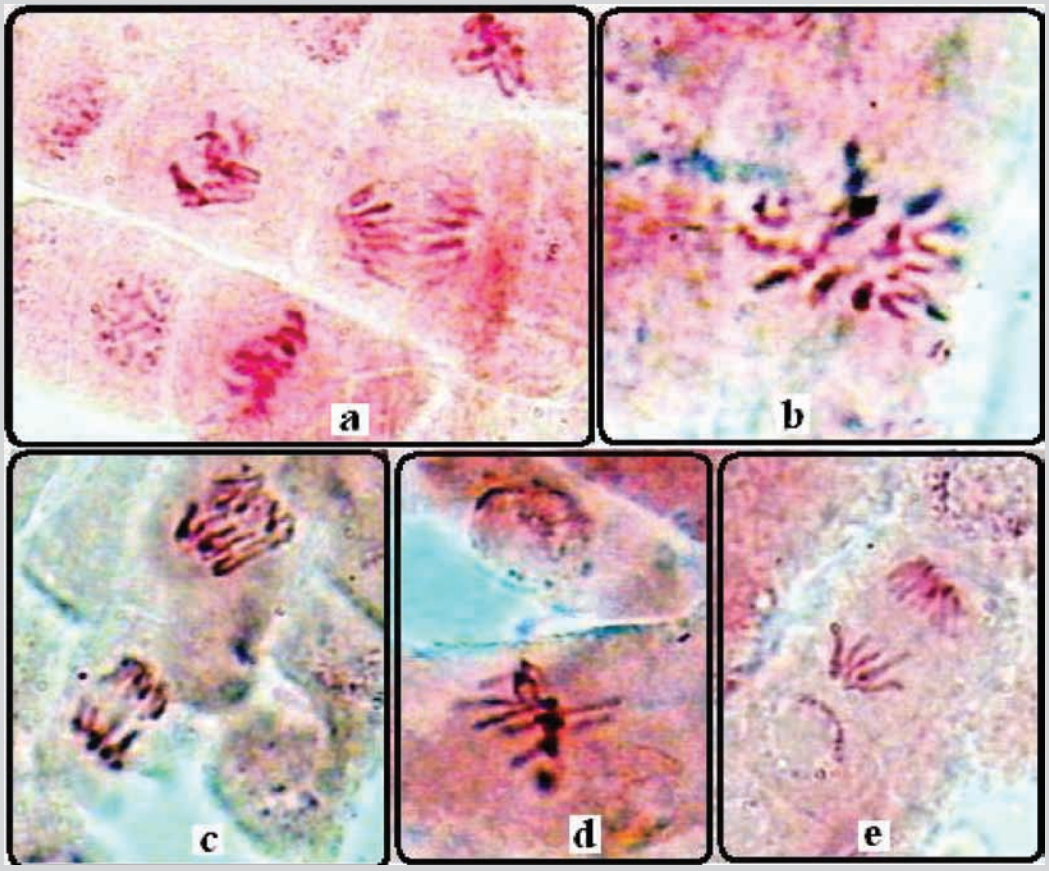
www.SID.ir

جدول۳- اثر عصاره‌های آبی اندام‌های گل زعفران بر روی میزان تقسیم میتوز بر اساس میانگین درصد حضور سلول‌ها در مراحل مختلف متافاز، آنافاز و تلوفاز، نسبت به میانگین کل سلول‌های تقسیمی مریستم ریشه.

اندام	نخود٪	زیره٪	جو٪	پیاز٪
شاهد	۹۰	۸۷/۳	۹۲/۵	۸۵/۴
گلبرگ	۹۰/۳	۷۰/۵	۷۳	۵۰/۵
پرچم	۰/۳	۸۶/۷	۵۵/۴	۴۶/۶
کلاله	۰	۸۵	۱۰/۴	۰/۲



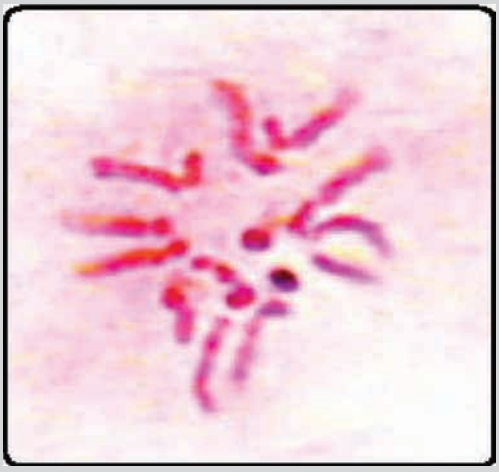
شکل۱- نمایش سلول مریستم ریشه نخود در تیمار شاهد و کلاله:
a- نمایش آنافاز در تیمار شاهد. b- نمایش کروموزوم‌های فشرده در سلول تیمار شده با عصاره آبی کلاله.



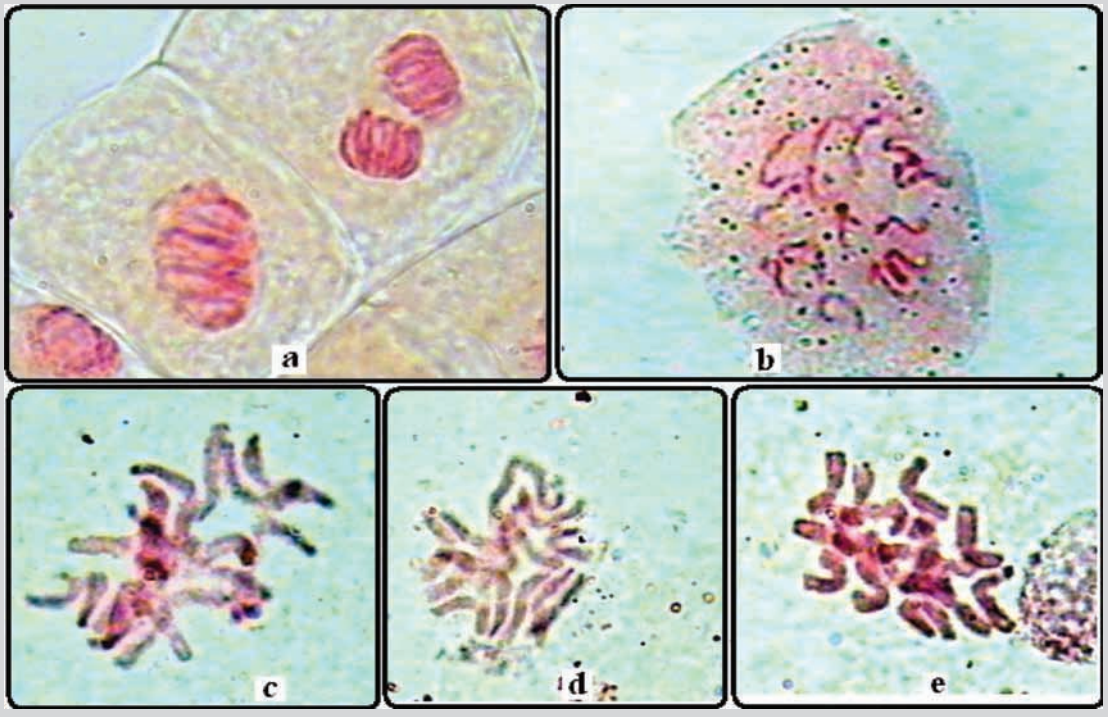
شکل۲- نمایش تراکم تقسیم در مریستم ریشه زیره تیمار شده با عصاره‌های آبی اندام‌های گل زعفران.
a- نمایش متافاز وآنافاز در تیمار شاهد.
b- نمایش کروموزوم‌های فشرده در سلول‌های تیمار شده با عصاره گلبرگ.
c- نمایش آنافاز و متافاز در نمونه تیمار شده با عصاره پرچم.
d- نمایش آنافاز در نمونه تیمار شده با عصاره کلاله.

www.SID.ir

تراکم تقسیم میتوز سلول‌های مریستم ریشه جو کاهش معنی‌داری نسبت به سلول‌های شاهد نشان داده و بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به کلاله و کمترین اثر به گلبرگ بوده است. (جدول۳ و شکل۴) عصاره‌های آبی گل زعفران، بر روی تقسیم میتوز سلول‌های مریستم ریشه پیاز اثر بازدارنده داشته و بیشترین میزان تاثیر مربوط به عصاره آبی کلاله گل زعفران بود. (جدول۳ و شکل ۵).



شکل۳- نمایش ۲n =۱۶کروموزوم و ماهواره(s) در یک جفت از کروموزوم‌های ریشه دانه رست زیره.



شکل٤- نمایش کروموزوم‌ها در سلول‌های مریستم ریشه جو بعد از تیمار پنج ساعته با عصاره‌های آبی گل زعفران:

a- مراحل آنافاز و متافاز در تیمار شاهد.

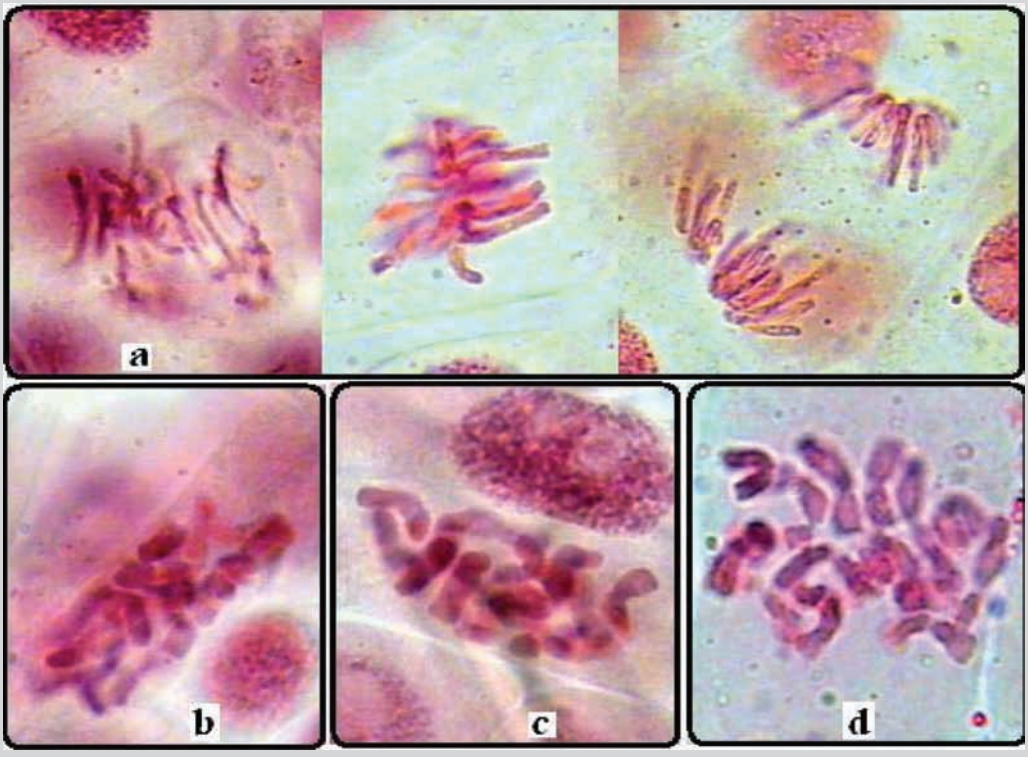
b- مرحله آخر پروفاز در تیمار شاهد.

c- مرحله آخر پروفاز در تیمار گلبرگ، فشردگی کروموزوم‌ها نسبت به شاهد بیشتر و کروموزوم‌ها قابل شمارش هستند.

d- مرحله آخر پروفاز در تیمار پرچم، فشردگی کروموزوم‌ها نسبت به شاهد بیشتر ولی مشابه تیمار گلبرگ. کروموزوم‌ها قابل شمارش هستند.

e- مرحله آخر پروفاز در تیمار کلاله، فشردگی کروموزوم‌ها نسبت به شاهد و دو عصاره قبلی خیلی بیشتر شده، محل سانترومر مشخص و کروموزوم‌ها به راحتی قابل شمارش هستند.

www.SID.ir



شکل ۵- نمایش اثر عصاره‌های گل زعفران روی تقسیم میتوز سلول‌های مریستم ریشه پیاز.
a- چهار مرحله پروفاز، متافاز، آنافاز و شروع تلوفاز در تیمار شاهد. به کشیدگی کروموزوم‌ها در همه مراحل دقت کنید.
b- مرحله آخر پروفاز در تیمار گلبرگ، فشردگی و ضخامت کروموزوم‌ها نسبت به شاهد بیشتر و کروموزوم‌ها قابل شمارش هستند.
c- مرحله آخر پروفاز در تیمار پرچم، فشردگی و ضخامت کروموزوم‌ها نسبت به شاهد بیشتر ولی مشابه تیمار گلبرگ. کروموزوم‌ها قابل شمارش هستند.
d- مرحله آخر پروفاز در تیمار کلاله، فشردگی کروموزوم‌ها و ضخامت نسبت به شاهد و دو عصاره قبلی خیلی بیشتر شده، محل سانترومر مشخص و

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج به دست آمده مشخص نمود که ما بین رشد ریشه و تقسیم سلولی دانه رست‌ها ارتباط مستقیمی وجود دارد و کاهش رشد با جلوگیری از ادامه تقسیم میتوزسلول‌ها همراه است. همان طور که نتایج نشان می‌دهد، عصاره آبی کلاله روی تقسیم میتوز و به عبارتی تشکیل دوک‌های تقسیم سلول‌های مریستم ریشه سه گیاه نخود، جو و پیاز اثر بازدارنده داشته و این حاکی از وجود ماده‌ای در کلاله است که با تراکم کمتری در پرچم و گلبرگ وجود دارد. هر چه اثر ممانعت از تقسیم بیشتر باشد، مشاهده مراحل تقسیم به ویژه متافاز، آنافاز و تلو فاز کاهش می‌یابد. اثر بازدارندگی این عصاره‌ها مشابه ماده ضد سرطان کلشی سین بوده و چون از تشکیل دوک‌های تقسیم جلوگیری می‌شود، کروموزوم‌ها در آخر متافاز باقی و ضخامت‌شان بیشتر و طول‌شان کمتر می‌گردد وجود ترکیب‌های شیمیایی کروسین، پیکروکروسین و سافرانال در عصاره آبی کلاله زعفران خاصیت ضدسرطانی زعفران را تایید می‌کند ولی تایید کننده نتایجی که نشان دهنده اثر بازدارندگی ماده کروسیتین بر روی ساخت پروتئین، DNA وRNA دارد، نیست. نتایج ما نشان می‌دهد که عصاره سرشار از کروسیتین کلاله، از سازمان‌یابی میکروتوبول‌ها و به عبارتی تشکیل دوک‌های تقسیم مثل ماده ضد سرطان کلشی سین جلوگیری می‌کند. در گزارشی اثر ضد سرطانی سه ماده کروسین، پیکروکروسین و سافرانال بررسی و نتیجه آن مشخص نمود که اثر ضد سرطانی کروسین بیشتر از دیگر ترکیبات است. اثر ضد سرطانی زعفران روی سرطان‌های خون، استخوان و تومورها مشخص شده است (۱۲). تحقیقات نشان داده که عصاره‌های زعفران به ویژه کروسین (crocin) روی رشد سلول‌های سرطانی خال اثر بازدارنده داشته ولی روی

Archive of SID

www.SID.ir

رشد سلول‌های عادی بی‌اثر است(۳). کونجی کیت‌هایی از بنه‌های زعفران استخراج شده است که باعث القای آپوپتوسیسی و واسرشتی سلول‌های سرطانی انسان در محیط کشت مصنوعی و احتمالاً مانع از رشد غده‌های سرطانی می‌شود (۱۳). یافته‌های ما در این پژوهش، که نشان دهنده اثر ضد میتوزی عصاره‌های گل، به ویژه کلاله (سرشار از کروسین، پیکروکروسین و سافرانال)، روی سلول‌های مریستمی ریشه گیاهان است، می‌تواند گویای اثرات ضد سرطانی زعفران باشد. پژوهش‌ها نشان داده که عصاره غلیظ استخراج شده از کلاله مانع رشد سلول‌های سرطانی غده با جلوگیری از ساخت اسیدهای نوکلئیک می‌شود(۲). نتایج به دست آمده از این پژوهش که نشان می‌دهد کروموزوم‌ها در مرحله پروفاز باقی مانده و ضخامت‌شان افزایش می‌یابد این گزارش را تایید نمی‌کند.

منابع

۱- زرگری، علی. ۱۳۷۶. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران. جلد چهارم. ۵۹۱-۵۷۴.

2. Ataei, A.A., Delnavaz, H.B. (2006). Study of increasing mungbean root and shoot production by Saffron extracts.2nd International Symposium of Saffron/CE/C,ISHS.

3. Aung, H.H. (2007). Crocin from *Crocus sativus* possesses significant anti-proliferation effects on human colorectal cancer cells. Exp Oncol, 29(3), 175–180.

4.Corradi, C., MicheliG. (1979). General characteristics of Saffron. Boll. Chim. Farm (Milan), 118(9),537-552.

5. Delnavaz, H.B., Ataei Azimi, A. (2006). Growth plant regulator effects of saffron, 2nd International Symposium of Saffron/CE/C,ISHS.

6. Fernández, J.A., Piqueras, A., Medina, J. (2000). A glycoconjugate from Corms of Saffron plant *(Crocus sativus L.)* inhibits root growth and affects in vitro cell viability .Journal of Experimental Botany. 51(345):731-737.

7. Fikrat, I., Abdullae, V. (2002). Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of Saffron *(Crocus sativus L.)*.Experimental Biology and Medicine, 227,20-25.

8.Garrido, J.L. (1987). Flavanoid composition of hydrolysed petal extracts from *Crocus sativus L.* Anales de Bromatologia, 39(1),69-80.

9. http://www.Plants For A Future database. Corms *(Crocus nudiflorus* and *Crocus sativus)*.

10. Nair, S.C., Kurumboor, S.K., Hasegawa, J.H. (1995). Saffron chemoprevention in biology and medicine: a review. Cancer Biother, 10(4),257-264.

11. Saffron, W. (2006). The free encyclopedia. htm "http://en.wikipedia.org/wiki/Saffron.

12. Saffron.(2009): http://www. Drug.com

13. Taraphdar, A.K., Roy, M., Bhattacharya, R.K. (2001). Natural products as inducers of apoptosis: Implication for cancer therapy and prevention. Current science, 80(11),1387-1396.

Archive of SID

www.SID.ir