

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

## ریز ازدیادی سماق *Rhus coriaria* L. و ارزیابی تنوع سوماکلونال در گیاهان باززا شده

پایان نامه کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی

عذرا عرب

اساتید راهنما

دکتر مجید طالبی

دکتر بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی

کلیه‌ی حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات،  
ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این  
پایان‌نامه متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است.



دانشگاه صنعتی اصفهان

دانشکده کشاورزی

پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی خانم عذرا عرب  
تحت عنوان

ریز ازدیادی سماق *Rhus coriaria* L. و ارزیابی تنوع سوماکلونال در گیاهان باززا  
شده

در تاریخ ۱۳۹۲/۹/۲۳ توسط کمیته‌ی تخصصی زیر مورد بررسی و تصویب نهایی قرار گرفت.

- |                                    |                               |
|------------------------------------|-------------------------------|
| دکتر مجید طالبی                    | ۱- استاد راهنمای پایان‌نامه   |
| دکتر بدرالدین ابراهیم سید طباطبایی | ۲- استاد راهنمای پایان‌نامه   |
| دکتر حسین زینلی                    | ۳- استاد مشاور                |
| دکتر آقا فخر میرلوحی               | ۴- استاد داور                 |
| دکتر سیروس قبادی                   | ۵- استاد داور                 |
| دکتر محمد مهدی مجیدی               | سرپرست تحصیلات تکمیلی دانشکده |

تقدیم بہ

پدر نزر کووار

و مادر مہربانم

ہرگز فراموش نہی کہم کہ فرودن ما، آودن من بود و درسا این آسایش امروز حال کت... این مومو را خاکساراندہ با

بو ای بہ دستان مامی سپارم.

## شکر و قدردانی

ای... تو آنی که از احاطت او نام بیرونی، و از ادراک عقل مصنوعی، نه مدرک عیونی، کار ساز هر مفتونی، و شاد ساز هر محزوننی، در حکم، بی چرا، و در ذات بی چند، و در صفات بی چونی. ای... در جلال، رحمتی، در کمال، سبحانی، نه محتاج زمانی، و نه آرزومند مکانی، نه کسی به تو ماند، و نه به کسی مانی، پیدا است که در میان جانی، بلکه جان زنده به چیزی است که تو آنی. ای... جز از شناخت تو، شادی است، و جز از یافت تو، زندگانی است، زندگی بی تو، چون مرده زندانی است، و زنده به تو، زنده جاویدانی است. ای... فضل تو را کران است، و شکر تو را، زبان...

سپاس بی حد از خداوند بزرگ که مثل همیشه لطف خویش را به من عطا فرمود، خدایی که مرا با بهترین یار مهربان همراه کرد تا هدف برای ادامه زیستن در سیر زندگی فراوان تر باشد. آفریدگاری که با مهربانی کران خود مرا یاری نمود تا این عمل با موفقیت به سر انجام رسد. اوست که مهربانی خود را در بهترین های وجودی من، پدر و مادرم قرار داد که حضورشان التیام بخش محضات سخت زندگانی من بود. شکر بسیار فراوان از پدر و بزرگوارم که در تمام محضات لطف بی مانند خودش را از من دریغ نکرد و یار و مشوق مهربان همیشگی من بود. سپاس بی کران بر مهدی و بهرامی مادر دلوز و مهربانم که سجده ایثارش گل محبت را در وجودم پروراند و دلان گمبارش محطه های مهربانی را به من آموخت. سپاس از خواهر و برادر مهربان و شادی آورم که خاطرات خوشان قوت قلب من در تمام مسیر بود. با تقدیر و شکر از جناب آقای دکتر مجید طباطبایی و دکتر عبدالدین ابراهیم سید طباطبایی که با نکته های دلایز صحیفه سخن را علم پرور نمودند و همواره راهنما و راه گشای این جاب در اتمام و اكمال پیمان نامه بودند و از آقای دکتر زینبی که استاد مشاور اینجانب بودند سپاسگزارم. از جناب آقای دکتر میرلوحی و آقای دکتر قبادی که زحمت بازخوانی این پیمان نامه را به عهده گرفتند شکر و دردم.

آموزگار گرانچه خداوندگار: ت بعد از خدای برتر از آموزگار: ت...

باشکر فراوان از جناب آقای دکتر بهار که آموزگار من برای سیر زندگی بودند و خانم دکتر شاه سپری که افتخار شاگردی ایشان را داشته ام. از مسئولین و پرسنل محترم آزمایشگاه های بیوتکنولوژی و بیماری آقای مهندس محمدی و آقای مهندس حسینی و آقای غیزی و آقای رحمتی و کلیه عزیزانی که به نحوی در انجام این پروژه من رویاری دادند شکر می کنم.

از کمک های بی دریغ آقایان سید شیم میرزایی و صابر محمدی و میلاد صداقت فروخانم مریم دوستی که صیانه یاری ام داده اند سپاسگزارم. از تمامی دانشجویان بیوتکنولوژی و بیماری و رودی ۸۹، ۹۰ و ۹۱ ممنونم که برگ ویکری به دفتر خاطرات زندگی من افزودند. بهتم بدرقه ی راه کن ای طایر قدس که در از است ره مقصد و من نوسفرم....

عذر اعراب

آذر ۱۳۹۲

## چکیده:

گیاه دارویی سماق با نام علمی *Rhus coriaria* L. متعلق به خانواده پسته، یک گیاه بومی ایران می باشد و سابقه طولانی در طب سنتی دارد. خصوصیت آنتی اکسیدانی در بسیاری از گونه های آن گزارش شده که در تعویق فرآیند پراکسیداسیون لیپید در روغن و غذاهای چرب نقش دارد و برای بیماران دیابتی توصیه می شود. سماق از طریق پاجوش و قلمه تکثیر می یابد و تکثیر آن از طریق بذر با مشکل مواجه است؛ زیرا بذرهای این گونه فاقد قوه نامیه بوده و با تیمارهای مختلف هم قادر به جوانه زنی نمی باشند. کشت بافت گیاهی، راه حلی برای جلوگیری از انقراض این گونه و تکثیر آن است. علاوه بر این، با توجه به اهمیت ترکیبات و آنتی اکسیدان ها، بررسی ترکیبات و فعالیت آنتی اکسیدان در این خانواده ضروری به نظر می رسد. در این تحقیق تکثیر گونه سماق ایرانی با استفاده از بهترین ترکیب و غلظت هورمون های رشد، در محیط کشت بافت انجام شد. نتایج نشان داد که بهترین رشد و شاخه زایی مربوط به تیمار دارای هورمون های  $1 \text{ mg/l BAP}$ ،  $1 \text{ mg/l NAA}$ ،  $0/1 \text{ mg/l GA}_3$  و  $1 \text{ mg/l GA}_3$  به همراه  $1/5 \text{ g/l}$  زغال فعال است که در مدت زمان ۳۰-۲۵ روز انجام گرفت. بهترین غلظت هورمونی برای ریشه دهی،  $1 \text{ mg/l BAP}$  و  $1 \text{ mg/l NAA}$  به همراه  $1 \text{ mg/l}$  اسید آسکوربیک در محیط حاوی  $1/5 \text{ g/l}$  زغال فعال در مدت زمان ۱۴-۲۰ به دست آمد. به دلیل فراوانی فنول موجود در سماق، حضور زغال فعال در تمامی مراحل کشت بافت الزامی بود. با توجه به اهمیت حفظ یکپارچگی ژنتیکی گیاهان باززا شده نسبت به گیاهان مادری، تنوع سوماکلونال با نشانگر SRAP با ۱۰ آغازگر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که گیاهان باززا شده تفاوت چندانی با گیاهان مادری ندارند و میزان تنوع سوماکلونال در آن ها کم است. بیشترین تعداد نوار در آغازگر MIE6 و بیشترین مقدار چند شکلی با  $38/4\%$  در همین آغازگر مشاهده شد. به نظر می رسد به دلیل اینکه نمونه های باززا شده از ریز نمونه گره بودند میزان شباهت در آن ها بالا بود. مشاهده شدن میزان تنوع سوماکلونال موجود، احتمالاً مربوط به تفاوت ساختاری در محصول ژن و فعالیت ها بیولوژیکی است و تأثیر فنوتیپی چندانی ندارد. بررسی کلروفیل ها و کارتنوئیدها در برگ های سماق نشان داد که اختلاف معنی داری در غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئیدها بین دو فصل مورد مطالعه وجود دارد. در انتهای فصل رشد سماق، برگ ها به همراه میوه ها قرمز می شوند، بنابراین میزان کارتنوئید که در آن مشاهده شد نسبت به کلروفیل بالاتر بود. در گیاه سماق میزان کل ترکیبات فنولی با توجه به منحنی استاندارد  $04/95 \text{ mg/gDw}$  برآورد شد که با توجه به بررسی های انجام شده، نشان دهنده ی مقدار زیاد فنول در گیاه سماق می باشد. میزان فعالیت آنتی اکسیدانی با توجه به استاندارد BHT در چهار غلظت ۵۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ قسمت در میلیون به طور معنی داری افزایش یافت. به دلیل میزان آنتی اکسیدان و فنول بالا در سماق این فعالیت نسبت به استاندارد بیشتر بود. در مقدار فلاونوئیدها و آنتوسیانین ها دارای اختلاف معنی داری بین زمان نمونه برداری و مقدار متفاوت طول موج ها بودند ( $p < 0/05$ ). به طور کلی روند تغییرات در میزان ترکیبات فلاونوئیدی به طور چشمگیری نسبت به روند تغییرات در مقدار ترکیبات آنتوسیانینی متفاوت است که میزان آنتوسیانین در اواخر فصل رشد بیشتر بود و رنگ قرمز را در برگ ها ایجاد نمود. استفاده از روش های بیوتکنولوژی مبتنی بر کشت بافت به منظور تکثیر و افزایش توان ژنتیکی گیاهان دارویی و همچنین افزایش متابولیت های ثانویه، می تواند بسیار کارآمد و از لحاظ تجاری سودآور باشد.

**واژه های کلیدی:** سماق، کشت بافت، تنوع سوماکلونال، آنتی اکسیدان، رنگدانه.

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
هشت	فهرست مطالب
دوازده	فهرست اشکال
چهارده	فهرست جداول
۱	چکیده

### فصل اول: مقدمه و بررسی منابع

۲	۱-۱- اهمیت و اهداف پژوهش
۳	۲-۱- گیاه شناسی و تاکسونومی سماق
۶	۳-۱- خواص دارویی سماق
۷	۴-۱- ترکیبات گیاهی موجود در سماق
۷	۴-۱-۱- آنتی اکسیدان ها
۸	الف- تعویق فرآیند پراکسیداسیون لیپید
۱۱	ب- ممانعت از گلکیکه شدن پروتئین آلبومین
۱۲	ج- مهار آنزیم آلفا آمیلاز
۱۳	۴-۱-۲- رنگدانه ها
۱۴	۴-۱-۳- پلی فنول ها
۱۴	۴-۱-۴- فلاونوئیدها
۱۵	۴-۱-۵- آنتوسیانین ها
۱۶	۵-۱- کشت بافت
۱۷	۶-۱- تنوع سوماکلونال در کشت بافت
۱۸	۶-۱-۱- تنوع یا تغییرات ژنتیکی (توارث پذیر)
۱۸	الف- تغییر در سطوح پلوئیدی
۱۸	ب- تغییرات ساختاری در DNA هسته‌ای
۱۹	ج- نوتریبی شیمیری در لایه‌های بافتی
۱۹	۶-۱-۲- تنوع یا تغییرات اپی ژنتیکی (توارث ناپذیر)
۲۰	۷-۱- نشانگرهای ژنتیکی



۸-۱- نشانگر SRAP ..... ۲۱

## فصل دوم: مواد و روش ها

۱-۲- کشت بافت و مواد گیاهی ..... ۲۴

۱-۱-۲- تهیه مواد شیمیایی ..... ۲۴

۱-۲-۲- تهیه مواد گیاهی ..... ۲۴

۱-۲-۳- تهیه محلول های غذایی پایه ..... ۲۵

۱-۲-۴- ضد عفونی ..... ۲۵

۱-۲-۵- انتقال قطعات به محیط ..... ۲۵

۲-۲- آزمایش های کشت بافت ..... ۲۶

۲-۲-۱- باززایی مستقیم ..... ۲۶

۲-۲-۲- باززایی غیر مستقیم ..... ۲۶

۲-۲-۳- تولید ریشه در نمونه های باززا شده ..... ۲۹

۲-۲-۴- اندازه گیری پارامترها ..... ۳۰

۲-۲-۴-۱- اندازه گیری تعداد شاخه ..... ۳۰

۲-۲-۴-۲- اندازه گیری میزان کالوس ..... ۳۰

۲-۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصل از کشت بافت ..... ۳۰

۲-۲-۶- بررسی تنوع سوماکلونال ..... ۳۱

۲-۲-۶-۱- انتخاب گیاه ..... ۳۱

۲-۲-۶-۲- استخراج DNA ژنومی از نمونه های گیاهی ..... ۳۱

۲-۲-۶-۳- تعیین کمیت و کیفیت DNA ..... ۳۱

۲-۲-۶-۴- مواد لازم جهت واکنش SRAP- PCR ..... ۳۲

۲-۲-۶-۵- تهیه واکنش PCR ..... ۳۴

۲-۲-۶-۶- تهیه ژل پلی اکریل آمید غیر واسرشت ساز ۸% ..... ۳۴

۲-۲-۶-۷- مراحل رنگ آمیزی ژل پلی اکریل آمید با نیترات نقره ..... ۳۵

۲-۲-۶-۸- محاسبات آماری داده های حاصل از نشانگر SRAP ..... ۳۵

۲-۲-۷- اندازه گیری ترکیبات گیاهی ..... ۳۵

۲-۲-۷-۱- اندازه گیری کلروفیل و کارتنوئید ..... ۳۵

- ۳۷..... ۲-۷-۲ اندازه گیری کل ترکیبات فنولی
- ۳۸..... ۳-۷-۲ اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی
- ۳۹..... ۴-۷-۲ اندازه گیری مقدار فلاونوئید
- ۳۹..... ۵-۷-۲ اندازه گیری مقدار آنتوسیانین
- ۳۹..... ۶-۷-۲ تجزیه و تحلیل داده ها حاصل از ترکیبات گیاهی

### فصل سوم: نتایج و بحث

- ۴۰..... ۱-۳-۱ کشت جوانه گره در محیط های کشت
- ۴۰..... ۳-۱-۱-۱ انتخاب روش مناسب برای ضد عفونی نمونه گره
- ۴۱..... ۳-۱-۲ تعیین بهترین مقدار آگار برای محیط کشت
- ۴۱..... ۳-۱-۳ تعیین بهترین محیط کشت از نظر زغال فعال
- ۴۴..... ۳-۲-۲ باززایی غیر مستقیم ریزنمونه برگ
- ۴۶..... ۳-۳-۳ تعیین بهترین نوع هورمون سیتوکنین در شاخه زایی
- ۴۷..... ۳-۴-۳ تعیین بهترین محیط کشت برای رشد طولی مناسب شاخه ها
- ۴۹..... ۳-۵-۳ ریشه زایی شاخه ها
- ۵۰..... ۳-۶-۳ سازگاری
- ۵۱..... ۳-۷-۳ انتقال گیاهچه های ریشه دار شده به خاک
- ۵۳..... ۳-۸-۳ بررسی ثبات ژنتیکی
- ۵۶..... ۳-۹-۳ آنالیز ترکیبات گیاهی
- ۵۶..... ۳-۹-۱-۱ بررسی رنگدانه های فتوستتزی
- ۵۸..... ۳-۹-۲-۲ کل ترکیبات فنولی
- ۵۹..... ۳-۹-۳-۳ بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی
- ۶۰..... ۳-۹-۴-۴ اندازه گیری مقدار فلاونوئید
- ۶۲..... ۳-۹-۵-۵ اندازه گیری مقدار آنتوسیانین

### فصل چهارم: نتیجه گیری و پیشنهادات

- ۶۴..... ۴-۱-۱ نتیجه گیری کلی
- ۶۵..... ۴-۲-۲ پیشنهادات

پیوست ..... ۶۸

منابع ..... ۷۶

## فهرست اشکال

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱- نمایی از درخت <i>Rhus coriaria</i> L. در فصل پاییز	۴
شکل ۲-۱- مناطق پراکنش گیاه سماق در کشور ایران	۵
شکل ۳-۱- مسیر خارج شدن رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن توسط آنتی اکسیدان‌های آنزیمی	۹
شکل ۴-۱- دومین سطح دفاع آنتی اکسیدان‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد	۱۰
شکل ۱-۲- تخمین اندازه کالوس به روش هوکرونی برز	۳۰
شکل ۱-۳- فنل آزاد شده از ریز نمونه‌های برش خورده	۴۰
شکل ۲-۳- نمودار بررسی اثر میزان غلظت آگار 1g بر روی درصد باززایی	۴۱
شکل ۳-۳- نمودار رشد نمونه گره در محیط کشت‌های مختلف	۴۲
شکل ۴-۳- جوانه‌های رشد کرده از ریزنمونه گره	۴۳
شکل ۵-۳- جوانه‌های رشد نکرده در محیط MS	۴۳
شکل ۶-۳- انواع نوع کشت ریز نمونه برگ برای تولید کالوس	۴۵
شکل ۷-۳- قهوه‌ای شدن برگ‌های کشت داده شده بعد از گذر زمان	۴۵
شکل ۸-۳- تشکیل کالوس در ریزنمونه‌های برگگی	۴۶
شکل ۹-۳- نمودار اثر هورمون سایتوکینین در تکثیر شاخه‌ها	۴۶
شکل ۱۰-۳- بهترین محیط کشت برای رشد طولی مناسب شاخه‌ها	۴۸
شکل ۱۱-۳- ریشه‌زایی در گیاه سماق	۴۹
شکل ۱۲-۳- گلدان حاوی پرلایت و پیت موس	۵۰
شکل ۱۳-۳- محیط‌های سازگاری	۵۱
شکل ۱۴-۳- انتقال گیاهچه به خاک	۵۲
شکل ۱۵-۳- سماق مورد بررسی توسط عباس سفر نژاد و همکاران	۵۲
شکل ۱۶-۳- استخراج DNA ژنومی ۵ گیاه مادری به همراه تکرار آن‌ها	۵۳
شکل ۱۷-۳- استخراج DNA ژنومی ده گیاه حاصل از کشت بافت گیاهان مادری ۱ به همراه تکرار آن‌ها	۵۳
شکل ۱۸-۳- ژل عمودی مربوط به پرایمر M1E6	۵۴
شکل ۱۹-۳- مقایسه میزان رنگدانه‌های برگ گیاه سماق در دو فصل بهار و زمستان	۵۷
شکل ۲۰-۳- عصاره استخراج شده ترکیبات فنولی در عصاره برگگی سماق	۵۹
شکل ۲۱-۳- عصاره استخراج شده به منظور تعیین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی	۵۹

شکل ۳-۲۲- نمودار فعالیت آنتی اکسیدانی از عصاره متانولی. .... ۶۰

شکل ۳-۲۳- نمودار میزان فلاونوئید در سه طول موج و سه فصل نمونه برداری..... ۶۱

شکل ۳-۲۴- نمودار میزان آنتوسیانین در طول موج ۵۵۰ و سه فصل نمونه برداری ..... ۶۲

## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲- ترکیبات هورمونی مربوط به باززایی مستقیم ریزنمونه گره	۲۷
جدول ۲-۲- ترکیبات هورمونی مربوط به باززایی غیر مستقیم ریزنمونه برگ	۲۸
جدول ۳-۲- ترکیبات هورمونی مربوط به باززایی کالوس ریزنمونه برگ	۲۸
جدول ۴-۲- تیمارهای اعمال شده برای ریشه زایی نمونه‌های باززا شده	۲۹
جدول ۵-۲- مواد و محلول‌های استفاده شده در واکنش PCR	۳۲
جدول ۶-۲- نام و توالی آغازگرهای SRAP مورد استفاده برای تعیین تنوع سوماکلونال سماق	۳۳
جدول ۷-۲- مواد لازم جهت تهیه ژل پلی‌اکریل آمید ۸٪ غیر واسرشته ساز	۳۴
جدول ۱-۳- آغازگرهای انتخاب شده و تعداد نوع قطعات تکثیر شده توسط آغازگرها	۵۴
جدول ۲-۳- مقادیر مربوط به آنالیز داده‌های رنگدانه‌های گیاه سماق	۵۷
جدول ۳-۳- سنجش قدرت احیا کنندگی چهار غلظت مختلف عصاره متانولی گیاه سماق ایرانی	۶۰
جدول ۴-۳- غلظت محاسبه شده از فلاونوئیدها در گیاه دارویی سماق	۶۱
جدول ۵-۳- غلظت محاسبه شده از آنتوسیانین‌ها	۶۲

## فصل اول

### مقدمه و بررسی منابع

#### ۱-۱- اهداف و اهمیت پژوهش

پوشش گیاهی به روش‌های مختلفی می‌تواند در کنترل فرسایش خاک توسط آب و باد مؤثر باشد. برگ‌ها و ساقه‌های گیاه قسمتی از انرژی فرسایش آب و باد را جذب کرده و باعث کاهش فرسایش سطحی خاک می‌گردند و ریشه‌های گیاه نیز باعث افزایش مقاومت مکانیکی خاک می‌شوند [۱۶]. با توجه به اینکه قسمت اعظم کشور ما دارای آب و هوای خشک و نیمه خشک می‌باشد (حدود ۸۰ درصد)، از این‌رو در انتخاب گونه‌های مناسب برای جنگل کاری و فضای سبز، با توجه به مشکل کم آبی، با محدودیت زیادی روبرو است. یکی از گونه‌هایی که در اکثر مناطق کوهستانی خشک و نیمه خشک ایران بصورت بومی وجود دارد، سماق با نام علمی *Rhus coriaria* L. متعلق به خانواده پسته<sup>۱</sup> می‌باشد [۱۰ و ۱۸]. گونه سماق به دلیل نیازهای رویشگاهی اندک، امکان استقرار در مناطق با شیب‌های تند و خاک کم عمق را دارد [۲۸]. سماق قادر به تولید ترکیبات مختلف است که برای حفاظت خود در برابر انواع مختلف پاتوژن‌ها استفاده می‌کند. به همین دلیل عصاره سماق فعالیت نسبتاً بالایی در برابر تمام باکتری‌ها و قارچ‌ها نشان داده و میوه‌های رسیده اثر ضد میکروبی بیشتری دارند [۹۶ و ۱۴۰] که بیشتر اثرات ضد میکروبی آن علیه باکتری‌های گرم مثبت است. از این گیاه به عنوان ماده ضد عفونی کننده، ضد اسپاسم، ضد ویروس، قابض، ضد درد، ضد التهاب، کاهش تب، درمان درماتیت، ضد اسهال، ضد

---

<sup>۱</sup> - Anacardiaceae

مالاریا، بند آورنده خون، سیتوتوکسیک<sup>۱</sup> (از بین بردن سلول‌های سرطانی) و هیپوگلیسمیک<sup>۲</sup> (کاهش قند خون در بیماران دیابتی)، کاهش درد روده و معده استفاده می‌شود [۱۳۱، ۳۲، ۲۸، ۱۳۹ و ۱۴۰]. سماق در لیست گیاهان در آستانه‌ی انقراض در ایالات متحده آمریکا است [۱۶۴]. استفاده از روش‌های بیوتکنولوژی به منظور تکثیر و افزایش توان ژنتیکی گیاهان دارویی و همچنین شناسایی سریع‌تر و دقیق‌تر ژنوتیپ‌هایی که فرآورده بیشتری تولید می‌کنند، می‌تواند بسیار مفید و از لحاظ تجاری سودآور باشد [۱۵۸ و ۱۶۹]. روش‌های بیوتکنولوژی برای انتخاب و تکثیر و حفظ ژنوتیپ‌های بحرانی گیاهان دارویی مهم هستند [۱۶۹]. یکی از این روش‌های بیوتکنولوژی استفاده از کشت بافت<sup>۳</sup> است. در تکثیر گیاه حفظ یکپارچگی ژنتیکی با توجه به گیاه مادری از جنبه‌های زیادی بسیار مهم است. با این حال در شرایط آزمایشگاهی القاء تنوع ژنتیکی یعنی تنوع سوماکلونال می‌توان را مشاهده کرد. بررسی تنوع سوماکلونال مربوط به برنامه‌های کاربردی مانند تکثیر گیاه در آزمایشگاه، انتقال گیاه و بررسی در شبیه‌سازی تمام یوکاریوت‌ها است. علاوه بر این، تنوع سوماکلونال احتمالاً بازتابی از پاسخ به تنش سلولی در دیگر شرایط نیز هست. بنابراین درک مکانیسم از کشت بافت در تعریف عمل مکانیسم سلولی موجود در روند تکامل و در روشن ساختن مکانیسم پاسخ گیاهان به تنش‌ها مفید خواهد بود [۹۰]. اخیراً چند نشانگر با موفقیت برای ارزیابی ثبات یا بی‌ثباتی ژنومی در گیاهان باززا شده به کار گرفته می‌شود [۸۹]. از سوی دیگر گیاهان یکی از منابع مهم ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. وجود این ترکیبات غنی در گیاهان باعث حفاظت سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود؛ درحالی‌که آنتی‌اکسیدان‌های سنتز شده به صورت شیمیایی بسیار سمی و مصرف آن‌ها دارای اثرات جانبی فراوان می‌باشد [۶۵]. خصوصیت آنتی‌اکسیدانی در بسیاری از گونه‌های سماق در تعویق فرآیند پراکسیداسیون لیپید در روغن و غذاهای چرب نقش دارد [۵۵] که با مهار آنزیم آلفا آمیلاز باعث کاهش سطح قند خون می‌شود، بنابراین برای بیماران دیابتی توصیه می‌شود [۲، ۷۵ و ۹۶]. به همین منظور در این پژوهش اندازه‌گیری میزان ترکیبات کلروفیل، کارتنوئید، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار آنتوسیانین و فلاونوئید موجود در گیاه سماق مورد مطالعه قرار گرفت.

#### ۱-۲- گیاه‌شناسی و تاکسونومی سماق

گونه سماق *R. coriaria* L. درختچه‌ای از راسته افراها<sup>۴</sup> (ناترک سانان) که شامل بیش از ۲۵۰ گونه خاص از گیاهان گلدار در خانواده Anacardiaceae می‌باشد [۱۳۷]. گیاه چند ساله کوهستانی و

<sup>۱</sup>- Cytotoxic

<sup>۲</sup>- Hypoglycemic

<sup>۳</sup>- Tissue culture

<sup>۴</sup>- Sapindales



دگرگرفته‌افشان با میوه خوشه‌ای می‌باشد. ارتفاع آن ۱ تا ۵ متر و دارای برگ‌هایی مرکب از ۹ تا ۱۵ برگچه‌ی، پوشیده از کرک و دندانه‌دار است [۱۴]. در موارد اندکی پایه‌های درخت آن با ارتفاع ۸-۶ نیز مشاهده شده است [۴۷]. این گیاه برگ‌هایی ساده یا مرکب و گل‌هایی منظم، یک پایه و پلی گام دارد. کاسه و جام گل آنها هر یک از ۵ قطعه (به ندرت ۳ یا ۴) سبز رنگ تشکیل می‌یابد ولی در بین آنها انواع فاقد کاسه یا جام نیز دیده می‌شود. میوه این گیاه در انواع مختلف آن‌ها به اشکال خشک، بالدار و یا شفت مانند<sup>۱</sup> و ناشکوف<sup>۲</sup> است. اولین میوه‌های آن ۳-۴ سال پس از جوانه‌زنی ظاهر می‌شود [۱۲۲]. گل‌های گیاه به صورت خوشه‌های مجتمع در انتهای ساقه‌ی اصلی بوده، تبدیل به میوه‌های نسبتاً کروی و کوچک می‌شوند. میوه‌های رسیده گیاه، قرمز متمایل به قهوه‌ای هستند و میوه‌های نرسیده، سبز رنگ و سمی می‌باشند. برگ‌های سماق در سطح بالایی سبز تیره و سطح زیرین آن روشن است و در پاییز به قرمز متمایل می‌شوند و این ویژگی از اختصاصات گیاه است (شکل ۱-۱). قسمت مورد استفاده در طب سنتی و آشپزی، پوسته‌های پیاله‌ای شکل ریز، قرمز رنگ و ترش مزه سطح میوه گیاه است [۱۴].



شکل ۱-۱- تصویر سماق در زمانی که میوه‌ها و برگ‌ها به سمت قرمز شدن هستند

جنس *Rhus* بصورت درخت‌های کوچک یا درختچه‌ای می‌باشد که دامنه پراکنش آن در کشورهای مدیترانه‌ای از جزایر قناری در جنوب اروپا و جنوب غربی آسیا تا تاجیکستان در آسیای مرکزی می‌رسد [۱۳۱]. سماق یک گیاه بومی ایران است که دامنه پراکنش وسیعی در ایران دارد [۴۳].

<sup>۱</sup>- Drupace

<sup>۲</sup>- Indehiscent

این گونه در ایران در مناطق استپی رشته کوه‌های البرز و زاگرس در آذربایجان (تبریز)، تهران (تجریش، دربند و کرج)، قزوین، قم و همدان (گنجنامه‌ی همدان)، خراسان، فارس و دامنه‌های جنوبی رشته کوه البرز، در دره‌های کرج و هراز، بین ارتفاع ۱۷۰۰-۱۰۰۰ متر و در ارتفاعات شیراز تا ۲۳۰۰ متر ارتفاع از سطح دریا نیز گزارش شده است. این گونه در استان ایلام نیز صرفاً در یک نقطه با ارتفاع ۱۸۰۰-۱۷۰۰ از سطح دریا و با وسعت محدود ۲/۷ هکتار در حاشیه شمالی منطقه حفاظت شده مأنشت و قلارنگ در شمال شهر ایلام یافت می‌شود (شکل ۱-۲).



شکل ۱-۲- مناطق پراکنش گیاه سماق در کشور ایران

از آنجا که گونه سماق دارای نیازهای رویشگاهی اندکی است که مقاومت بسیار زیادی در برابر خشکی دارد [۲۹]، لذا امکان استقرار در مناطق با شیب‌های تند و خاک کم عمیق را داشته است. از سوی دیگر به لحاظ زیست محیطی در حفظ آب، حفاظت خاک، جلوگیری از فرسایش خاک، حفظ غنای زیستی، تلطیف آب و هوای منطقه، اهمیت رویشگاه‌ها به عنوان مأمن و مأوای حیات وحش و مقاومت بالای آن در تحمل خشکی و سایر شرایط نامناسب محیطی نقش حائز اهمیتی داشته باشد، بنابراین حفظ و توسعه آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۲۷ و ۹]. جهت‌های جغرافیایی روی ویژگی‌های رویشی سماق اثر می‌گذارد. در نیمکره شمالی شیب‌های رو به جنوب شش برابر بیشتر از شیب‌های رو به شمال نور خورشید دریافت می‌کنند، بنابراین محیط گرم‌تر، خشک‌تر و میکروکلیمای متغیرتری نسبت به شیب‌های مرطوب رو به شمال دارند [۴۳]. در کل، سماق می‌تواند در نواحی پایدار غیرکشاورزی رشد کند و گونه‌های مختلفی از آن با استفاده از کشت‌های بومی برای اهداف پزشکی و غیره مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۱۴۰].

### ۳-۱- خواص دارویی سماق

سماق به طور عمومی به عنوان یک چاشنی غذا از طریق آسیاب کردن میوه‌های خشک شده به وسیله نمک، استفاده می‌شود، و همچنین به طور گسترده به عنوان یک گیاه طبی در مناطق مدیترانه و خاورمیانه، بخصوص برای معالجه جراحات به کار برده می‌شود. در طب سنتی ایرانی، باور شده است که سماق اثرات حفاظت عروقی<sup>۱</sup> دارد و در تعدادی از غذاهای ایرانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. سماق به خاطر تانن و رنگ از قرن سوم میلادی کشت می‌شده است. سماق یک منبع غنی از تانن‌های هیدرولیز کننده<sup>۲</sup> است. تانن و مشتقات آن آنتی‌اکسیدان‌های نیرومندی هستند. همچنین در شرایط آزمایشگاهی و موجود زنده نشان داده شده است که تانن‌ها خاصیت‌های ضدسرطانی<sup>۳</sup> از خود بروز می‌دهند، همانند القای ممانعت چرخه سلولی و آپتوزیس<sup>۴</sup> در گیاهان به علاوه جلوگیری از تشکیل و رشد تومور که در حیوانات دیده می‌شوند [۱۳۷]. برگ‌های خشک شده آن دارای تانن به میزان ۱۳ تا ۲۷ درصد و حتی بیشتر است. مصرف طولانی مدت سماق موجب کاهش میزان کلسترول، تری‌گلیسرید، LDL-C و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود [۱۵۱]. در طب سنتی سماق به خاطر قابض بودن برای بند آوردن خونریزی‌ها و رفع اسهال خونی و جلوگیری از اختلاط خونی ریه همراه با سرفه، در درمان سل مخصوصاً در فرم‌های حاد آن، جهت خنثی نمودن یا رسوب دادن سمومی که در بافت‌ها به وجود می‌آید، مصرف می‌شود و در طب سنتی ایرانی، سماق به عنوان یک ماده پیشگیری کننده از بیماری‌های قلبی مورد توجه قرار دارد. سماق در دامپزشکی نیز کاربرد دارد [۱۲].

آنالیزهای شیمیایی نشان داده‌اند که میوه سماق بالغ بر ۱۳۰ ترکیب مختلف دارد که عمده آن‌ها عبارتند از: ترپن‌های کربنی<sup>۵</sup>، ترپن‌های اکسیژنه<sup>۶</sup>، استن‌فانزویل هگزاهیدروفانزویل و استنو آلدئیدهای آلیفاتیک<sup>۷</sup>. مطالعات کروماتوگرافی نیز نشان داده است که برگ سماق محتوی ۱۵ تا ۲۰ درصد ترکیبات پلی‌فنولی می‌باشد که اکثر آن‌ها تانن‌های هیدرولیز شونده هستند و دارای کوئرستین<sup>۸</sup>، میریستین<sup>۹</sup>، آنتوسیانین‌ها (Delphinidin, Myrtillin, Chrysanthemine) و اسیدهای آلی (اسید مالیک،

<sup>۱</sup>- atheroprotective

<sup>۲</sup>- hydrolysable

<sup>۳</sup>- anticarcinogenic

<sup>۴</sup>- apoptosis

<sup>۵</sup>- Terpene carbon

<sup>۶</sup>- Terpene oxygenated

<sup>۷</sup>- Steno aliphatic aldehydes

<sup>۸</sup>- quercitrin

<sup>۹</sup>- Myricetin

سیتریک، فوماریک و تارتاریک) می‌باشد [۱۰۹]. تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد تاکنون موجود در میوه سماق نقش آنتی‌اکسیدانی داشته و نه تنها پیشگیری کننده سرطان است، بلکه ضد تومورهای سرطانی نیز می‌باشد [۱۳۰ و ۱۳۴]. در تحقیقاتی عصاره متانولی برگ‌های *R. coriaria* بر تعدادی از سویه‌های استاندارد و کلینیکی گرم مثبت و گرم منفی مورد ارزیابی قرار گرفت. که در نتیجه آن، اثرات ضد میکروبی سماق روی باکتری *Klebsilla pneumonia* را قوی‌تر از آموکسی سیلین<sup>۱</sup> و بر روی باکتری *Staphylococcus epidermidis*، قوی‌تر از اریترومايسين<sup>۲</sup> و کلوک سیلین<sup>۳</sup> برآورد نمودند. علاوه بر خواص دارویی ذکر شده، در سال‌های اخیر ترکیبات بسیار زیادی از این گیاه تهیه شده است که این امر خود بیشتر به اهمیت این گیاه دارویی می‌افزاید [۲۹].

#### ۱-۴- ترکیبات گیاهی موجود در سماق

امروزه توجه خاصی نسبت به استفاده از ترکیبات طبیعی و به خصوص ترکیبات گیاهی در درمان بیماری‌ها معطوف شده است.

##### ۱-۴-۱- آنتی‌اکسیدان‌ها

مصرف چربی‌های غیر اشباع به ویژه اسید چرب ۳-O که دارای حلقه‌های اشباع نشده می‌باشد، برای سلامتی مفید است. با این حال این چربی‌ها به اکسیداسیون حساس هستند که این واکنش در آن‌ها باعث از دست دادن مواد مغذی و طعم نامطلوب و شکل‌گیری محصولات سمی می‌شود. اکسیداسیون چربی می‌تواند توسط انواع تکنولوژی آنتی‌اکسیدان مانند کنترل بسترهای اکسیداسیون، کنترل پراکسیدها و اضافه شدن آنتی‌اکسیدان انجام شود. اثر آنتی‌اکسیدان‌ها بستگی به عوامل مختلف از جمله قطبیت آنتی‌اکسیدان‌ها، بستر چربی، pH، دما، غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها و خواص فیزیکی مواد غذایی بستگی دارد؛ چرا که توانایی آنتی‌اکسیدان در مهار اکسیداسیون چربی با تغییرات بزرگ در فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها را می‌توان در سیستم‌های غذایی مختلف دیده شود. به واقع، برخی از آنتی‌اکسیدان تأخیر اکسیداسیون چربی را به خوبی انجام می‌دهند [۵۷].

آنتی‌اکسیدان‌ها، ویتامین‌ها، املاح معدنی و آنزیم‌هایی هستند که سلول‌ها و بافت‌های بدن را در برابر اثرات ملکول‌های سمی رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند که شامل دو نوع سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی است [۱۱۷].

بسیاری از گیاهان دارویی حاوی مقادیر زیادی از آنتی‌اکسیدان‌ها مانند پلی‌فنول‌ها هستند که می‌تواند نقش مهمی در جذب و خنثی سازی رادیکال‌های آزاد، یا تجزیه پراکسیدها داشته باشند. بنابراین،

<sup>۱</sup>- Amoxicillin

<sup>۲</sup>- Erythromycin

<sup>۳</sup>- Kloccillin