مقاله پژوهشی
مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 15، شماره 8 (شماره پیاپی 67)، دی 1391، 76-68

# خواص ضد جهشی عصاره‌های اتانولی و آبی گیاه حرا بر روی باکتری جهش یافته سالمونلاتیفی موریوم TA100

**لیلا کرمی[1*]، احمد مجد[2]، صدیقه مهرابیان[2]، محمد نبیونی[3]، سعید آیریان[3]، ماندانا صالحی[1]**

1- دانشجوی دکترا زیست شناسی گیاهی-سلولی تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
2- استاد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران
3- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 90/12/6 تاریخ پذیرش: 91/4/14

**چکیده**

**زمینه و هدف:** گیاه حرا مشهور به مانگروی خاکستری، متعلق به خانواده اوسنیاسه می‌باشد که در گذشته برای درمان بیماری‌های مختلف نظیر زخم معده و پوست به کار می‌رفته است. در مطالعه حاضر فعالیت‌های ضد جهشی عصاره‌های برگ جوان و بالغ گیاه حرا بر روی باکتری جهش یافته سالمونلا تیفی موریم TA100 مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، سوش باکتری برای ژنوتیپ‌های مورد نظر بررسی شد. برگ‌ها پس از جمع‌آوری، خشک و پودر شده و عصاره‌گیری با اتانول 80 درصد و یا آب با دستگاه سوکسله انجام شد. فعال کننده متابولیکی از کبد هموژنیزه موش نر تهیه گردید و اثرضد جهشی عصاره در حضور ماده جهش زا با استفاده از تست ایمز سنجش شد.

**یافته‌ها:** تعداد کلونی‌های جهش یافته در حضور هر دو عصاره آبی و اتانولی با فعال کننده متابولیکی و بدون آن کاهش یافتند. عصاره اتانولی نسبت به عصاره آبی فعالیت ضد جهشی بالاتری را نشان داد. هیچ تفاوتی در حضور مخلوط S9 در بین سنجش‌ها دیده نشد. بالاترین (71 درصد) و پایین‌ترین (24درصد) میزان بازدارندگی بر روی باکتری جهش یافته سالمونلا تیفی موریوم به ترتیب در عصاره اتانولی برگ بالغ منطقه بردخون و عصاره آبی برگ جوان عسلویه دیده شد.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های مطالعه اخیر پیشنهاد می‌کند که عصاره برگ گیاه حرا ممکن است حاوی ترکیبات فعال زیستی بوده که موجب ممانعت از جهش در باکتری جهش یافته می‌شود و احتمالاً استرس‌های زیستی و غیر زیستی می‌توانند پتانسیل ضد جهشی عصاره‌های برگ را در بین دو ناحیه تحت تاثیر قرار دهند.

**واژگان کلیدی:** آزمون ایمز، ضد جهشی، حرا، سالمونلا تیفی موریوم

[*] **نویسنده مسئول:** تهران، دانشگاه خوارزمی، گروه زیست شناسی

Email: L.karami2@gmail.com

## مقدمه



www.SID.ir

گیاه حرا (*Avicennia marina* (Forssk.) Vireh) متعلق به خانواده اوسیناسه (Avicenniaceae) مشهور به مانگروی خاکستری یا سفید می‌باشد. مانگروها در حد فاصل خشکی و دریا و در نواحی جزر و مدی رشد می‌کنند(1). پراکنش این گیاه در ایران درحاشیه *خلیج* فارس نظیر جزیره قشم، بندر خمیر، بندر گواتر، بندر دیر و خلیج نایبند (منطقه عسلویه) می‌باشد. خلیج نایبند آخرین نقطه پراکنش این درختان درجنوب غرب آسیا محسوب می‌شود(2).

این گیاه در طب سنتی کاربرد فراوانی داشته که از جمله می‌توان به "موم" آن برای تقویت قوای جنسی و درمان دندان درد و هم‌چنین از برگ برای بهبودی بیماری‌های معده و پوست اشاره نمود(1، 3، 4).

گزارشات متعددی در خصوص استفاده پزشکی از محصولات طبیعی مشتق شده از گیاهان برای درمان بیمارهای مختلف وجود دارد. کاربرد فراوان داروهای ضد سرطانی گیاهی موجب شده که علاقمندی درکشف ترکیبات فعال جدید از منابع طبیعی و مطالعه اثرات بیولوژیکی آنها افزایش یابد. امروزه استفاده تجاری از مانگروها نه تنها برای چوب و سوخت بلکه به عنوان یک منبع غنی از ترکیباتی با پتانسل درمانی بالا برای درمان بیماری‌های نظیر دیابت، آسم ، سرطان معده و ایدز فراوان می‌باشد(5، 6).

گیاه حرا دارای ترکیبات شیمیایی فراوانی نظیر استروئید، تری ترپن، ساپونین ، فلاوو نوئید، آلکا لوئید، تانن و نفتوکینون‌ها بوده که از پتانسیل بالای آنتی اکسیدانی برخوردارند(8-6). شواهد علمی نشان داده است که تحت شرایط استرس اکسیداتیو گونه‌های رادیکال آزاد اکسیژن (Reactive Oxygen Species-ROS) نظیر سوپر اکسید، هیدروکسیل و پراکسیل تولید می‌شوند. محققین براین باور هستند که تعادل بین آنتی اکسیداسیون و اکسیداسیون یک امر مهم در حفظ سلامت یک سیستم زیستی می‌باشد(9). امروزه سرطان یکی از دلایل عمده مرگ ومیر در جهان می‌باشد. انواع مختلفی از مواد جهش‌زا و سرطان‌زا در محیط وجود دارد که بیشتر آنها با تولید ROS موجب آسیب سلول‌ها از طریق ایجاد ناهنجاری‌های کروموزومی، جهش‌های ژنی و قطعات DNA تک رشته‌ای می‌شوند. با توجه به نقش ROS در ایجاد بیماری‌هایی نظیر سرطان مطالعات در زمینه شناسایی گیاهانی با پتانسیل آنتی اکسیدانی به منظور استفاده از آنها در تهیه دارو برای کاهش اثرات مخرب حاصل از رادیکال‌های آزاد اکسیژن به سیستم‌های بیولوژیکی روبه افزایش است(10، 11). هدف از انجام این تحقیق بررسی مقایسه‌ای اثرات ضد جهشی عصاره‌های اتانولی و آبی برگ جوان و بالغ گیاه حرا با مطالعه اثر آنها بر روی باکتری جهش یافته سالمونلاتیفی موریوم (*Salmonella typhimurium* TA100) با استفاده از تست ایمز در حضور و عدم حضور سیستم متابولیکی کبدی برای اولین بار در دو منطقه بردخون و عسلویه استان بوشهر می‌باشد. تست ایمز یک سنجش باکتریایی متداول برای شناسایی ترکیبات تولید کننده جهش‌های ژنی بوده و هم‌چنین ارزش پیش بینی بالایی برای تست‌های سرطان‌زایی را نشان می‌دهد. طبق اصل ایمز یک ماده با اثر جهش‌زایی می‌تواند پتانسیل القاء سرطان را داشته باشد و بر همین اساس این تست می‌تواند برای سنجش فعالیت ضد جهشی ترکیبات طبیعی بر علیه مواد جهش زا به کار رود. این سنجش به خوبی می‌تواند مواد دارای فعالیت ضد جهشی را به عنوان کاندید مناسب در تهیه داروهایی با پتانسیل ضد سرطانی، با استفاده از باکتری های جهش یافته غربالگری نماید(14-12).

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی نمونه‌های گیاهی برگ حرا (*A.marina*) از بردخون (منطقه حفاظت شده‌مند) و عسلویه (پارک ملی دریایی نایبند) جمع‌آوری شدند. در هر دو منطقه مورد بررسی ده درخت با ارتفاع و سن تقریبا یکسان انتخاب و سپس برگ‌های جوان و بالغ از روی سرشاخه‌هایی به طول 35 سانتی‌متر بریده شدند. اولین تا سومین جفت برگ بر روی سرشاخه به عنوان برگ جوان و


www.SID.ir

بقیه برگ بالغ در نظر گرفته شدند. سوش سالمونلا تیفی موریوم TA100 موتان محتاج به هیستیدین مستقیماً از پروفسور ایمز دریافت شد. مواد مورد استفاده در تست ایمز از شرکت مرک (Merck) تهیه گردید.

این پژوهش دارای مجوز کد اخلاقی با شماره 616/199 در تاریخ 89/2/3 از دانشکده علوم زیستی دانشگاه خوارزمی می‌باشد.

جهت آماده سازی عصاره‌ها، ابتدا برگ‌های گیاه حرا انتخاب، خشک و با استفاده از مخلوط کن پودر گردید. برای اطمینان از هر گونه آلودگی، پودرها با استفاده از تکنیک تندالیزاسیون استریل شدند. در این تکنیک پودر برگ جوان و بالغ در شیشه‌های اتوکلاو شده و کاملاً استریل ریخته شده و به مدت 1 ساعت در بن ماری با دمای 80 درجه سانتی‌گراد گذاشته و سپس به دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت منتقل و این عمل 3 بار تکرار شد. پودرهای سترون شده برای انجام آزمایش‌های بعدی در یخچال نگهداری شدند. به منظور تهیه عصاره‌های اتانولی و آبی، 10 گرم از پودر به ترتیب در اتانول 80 درصد و آب حل و استخراج با استفاده از دستگاه Soxhlet ( صنایع آزمایشگاهی بخشی در ایران) انجام شد. سپس عصاره‌ها صاف و توسط دستگاه Rotary evaporator (ساخت شرکت Heidolf ,آمریکا) تحت فشار پائین تغلیظ و سپس خشک شدند. در این دستگاه حلال با حرارت ملایم به طور سریع تبخیر شده و آسیب کمتری به مواد حل شده وارد می‌شود. رسوب‌های به دست آمده در دمای20- درجه سانتی‌گراد به منظور انجام آزمایش‌های ضد جهشی ذخیره شدند. برای انجام تست ایمز رسوب در اتانول 80 درصد و آب مقطر استریل به ترتیب برای عصاره‌های اتانولی و آبی با غلظت 100 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حل شد. لازم به ذکر است که عصاره‌ها باید تازه تهیه شوند.

## آماده سازی سوش باکتری

قبل از انجام سنجش ضد جهشی، جهش باکتری سالمونلاتیفی موریوم TA 100 تایید شد. برای انجام تست‌های تایید سوش از کشت تازه شبانه باکتری در نوترینت براث استفاده شد. بعد از گذشت 24 ساعت از انکوباسیون 0/1 میلی لیتر از محیط کشت شبانه باکتری به 2 میلی‌لیتر تاپ آگار اضافه و بر روی محیط نوترینت آگار رشد داده شد. سپس ژنوتیپ باکتری برای نیازمندی به هیستیدین، rfa، حساسیت به UV (جهش uvrB) و وجود R factor plasmid بر اساس روش مارون و ایمز چک شد(15). باکتری‌ها در دمای 80- درجه سانتی‌گراد ذخیره بودند. این نژاد، یک نژاد وابسته به اسید آمینه بوده و درغیاب منبع خارجی هیستیدین، سلول‌ها قادر به رشد به شکل کلونی نمی‌باشند. وجود جهش uvrB باعث حساسیت باکتری به نور UV شده و جهش rfa تغییراتی را در دیواره سلول باکتری ایجاد می‌نماید به طوری که باکتری به انواع مشخصی از مواد شیمیایی قابل نفوذ می‌شود. تشخیص این جهش با استفاده از حساسیت به کریستال ویوله انجام می‌شود. وجود R factor plasmid در این نژاد مقاومت آن را نسبت به آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین نشان می‌دهد(13، 14).

## آماده سازی مخلوط متابولیکی فعال S9

این مخلوط از کبد موش نر تهیه شد. برای انجام این کار به مدت 24 ساعت قبل از کشته شدن موش‌ها، به آنها گرسنگی داده، به طوری که میزان آنزیم‌های کبدی و فعالیت آنها افزایش یابد. بافت‌های کبدی پس از شستشو با محلول کلرید سدیم 0/15 مولار هموژن گردیده و سپس به مدت 10 دقیقه با دور 9000 دور در دقیقه در دمای 4 درجه سانتریفوژ شدند. محلول شیری رنگ رویی حاوی S9 جدا فیلتر شده و با کوفاکتورهای NADP و گلوکز 6 فسفات مخلوط شد. بخش S9 در80 - درجه ذخیره و برای انجام آزمایشات ضد جهشی مورد استفاده قرار گرفت. بسیاری از مواد در شکل اصلی خود جهش‌زا (یا سرطان‌زا) نبوده ولی می‌توانند پتانسیل تبدیل به ترکیبات جهش‌زا را با استفاده از متابوسیم کبدی داشته باشند. از آنجایی که پتانسیل متابولیکی باکتری‌ها با پستانداران مشابه نبوده، لذا استفاده از عصاره آنزیم‌های کبدی (S9) برای تحریک متابولیکی تغییر و تبدیل یک ماده شیمیایی و تست آن


Archive of SID
www.SID.ir

ضرورت دارد. استفاده از مخلوط S9 این امکان را به محقق می‌دهد که فعالیت جهش‌زایی یک ماده شیمیایی را بعد از متابولیزه شدن نیز تعیین کند(15-13).

**تست ضد جهشی**

این تست براساس دستور العمل تغییر یافته‌ای از تست ایمز با استفاده از باکتری جهش یافته سالمونلاتیفی موریوم TA100 با سیستم متابوکیی فعال S9 و بدون آن انجام شد(15). دستور العمل بررسی اثر ممانعتی عصاره‌های برگ حرا بر روی سدیم آزید القاء کننده جهش‌زایی به شرح زیر می‌باشد:

روز قبل از انجام تست، کشت ذخیره منجمد باکتری درمحیط نوترینت براث به مدت 16-12 ساعت به منظور ایجاد کشت تازه شبانه باکتری رشد داده شد. به طور خلاصه 0/1 میلی‌لیتر از ماده جهش‌زا (آزیدسدیم) ، 0/1 میلی‌لیتر عصاره، 0/1 میلی‌لیتر کشت تازه شبانه سالموتیفی موریوم و 0/1 میلی‌لیتر از محلول 0/5 میلی مولار هیستیدین- بیوتین به 2 میلی‌لیتر محلول تاپ آگار (50 گرم بر لیتر آگار + 50 گرم بر لیتر کلرید سدیم) اضافه و به خوبی مخلوط شدند. سپس مخلوط بر روی محیط گلوکز آگار حداقل (گلوکز 40 درصد) گسترده و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به مدت 48 ساعت انکوبه شد و سپس تعداد کلنی‌های برگشتی شمارش شدند. برای انجام کشت‌های کنترل منفی و مثبت به ترتیب آب مقطر استریل و ماده آزید سدیم به تاپ آگار حاوی باکتری و هیستیدین – بیوتین اضافه و سپس انکوباسیون در دمای 37 درجه سانتی‌گراد و به مدت 48 ساعت انجام گردید. ضرورت انجام کنترل منفی در این تست به منظور نشان دادن تعداد باکتری‌هایی با جهش برگشتی خود به خودی می‌باشد. تمام آزمایش‌ها با سه بار تکرار انجام شد. به منظور بررسی اثر سیستم متابولیکی فعال S9 بر روی خاصیت ضد جهشی عصاره‌ها، آزمایش‌ها با اضافه کردن 0/1 میلی‌لیتر از محلول S9 به محتویات لوله تاپ آگار انجام شد. کلیه مراحل مورد بررسی به همان ترتیب ذکر شده در تست ضد جهشی می‌باشد. میزان درصد بازدارندگی از جهش با استفاده از فرمول ارائه شده توسط آنگ و همکاران درسال 1986 محاسبه گردید(16):

درصد میزان بازدارندگی = $1-(T/M)\times 100$

در این فرمول T، تعداد کلنی‌های برگشتی در حضور عامل جهش‌زا و عصاره گیاهی بوده و M تعداد کلنی‌های برگشتی در پلیت کنترل مثبت می‌باشد. در این بررسی اثر ضد جهشی عصاره‌ها با سه میزان ضعیف، متوسط و قوی به ترتیب با ارزش کمتر از 25 درصد، بین 25 تا 40 درصد و بالاتر از 40 درصد در نظر گرفته شد. برای انجام آنالیزآماری از نرم افزار In Stat 3 استفاده گردید و برای مقایسه گروه‌های مختلف آنالیز واریانس یک طرفه آزمون Tukey- Kramer Multiple comparisons Test به کار رفت و سطح معنی‌داری کمتر از 0/05 در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها**

جداول 1 و 2 به ترتیب اثر ضد جهشی عصاره‌های اتانولی و آبی برگ جوان و بالغ گیاه حرا را با توجه به تعداد کلنی‌های برگشتی در پلیت درحضور و عدم حضور سیستم متابولیکی فعال S9 در عسلویه و بردخون نشان می‌دهد. نتایج به خوبی نشان می‌دهند که در هر دو منطقه عصاره‌های برگ‌ها دارای اثر ضد جهشی بر سدیم آزید بوده و در مقایسه با کنترل مثبت تفاوت معنی‌دار مشاهده شد($p<0/001$). هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در میزان بازدارندگی از جهش‌زایی عصاره‌های اتانولی وآبی در بود و نبود S9 در مناطق مورد پژوهش دیده نشد.

سنجش عصاره‌های اتانولی با آبی در برگ جوان، تفاوت معنی‌داری را در منطقه بردخون($p<0/01$) و عسلویه ($p<0/001$) نشان داد. هم‌چنین در برگ‌های بالغ نیز سطح اختلاف معنی داری مشاهده شد($p<0/001$). مقایسه میزان ممانعت از جهش‌زایی عصاره‌ها در بین دو منطقه بردخون و عسلویه نشان داد که تنها یک رابطه معنی‌داری در بین عصاره‌های اتانولی برگ مسن وجود دارد($p<0/001$).



Archive of SID
www.SID.ir

**جدول 1. نتایج بررسی اثر ضد جهشی عصاره های برگ گیاه *A.marina* با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA 100 ، S9- (بدون S9 ) ،S9 +(حضور S9) درمنطقه بردخون**

| عصاره ها | میانگین تعداد کلنی های برگشتی S9- | درصد مهار جهش | میانگین تعداد کلنی های برگشتی S9+ | درصد مهار جهش |
|---|---|---|---|---|
| شاهد منفی | 24±1 | - | 24±1 | - |
| شاهد مثبت | 125±7 | - | 125±7 | - |
| اتانولی برگ جوان | 65±2 | 48 | 68±4 | 45 |
| اتانولی برگ مسن | 39±3 | 68 | 36±2 | 71 |
| آبی برگ جوان | 81±2 | 35 | 90±1 | 28 |
| آبی برگ مسن | 76±5 | 36 | 78±3 | 37 |

**جدول 2. نتایج بررسی اثر ضد جهشی عصاره های برگ گیاه *A.marina* با استفاده از سالمونلا تیفی موریوم TA100، S9 –(بدون S9) ، S9+(حضورS9 ) درمنطقه عسلویه**

| عصاره ها | میانگین تعداد کلنی های برگشتی S9- | درصد مهار جهش | میانگین تعداد کلنی های برگشتی S9+ | درصد مهار جهش |
|---|---|---|---|---|
| شاهد منفی | 24±1 | - | 24±1 | - |
| شاهد مثبت | 125±7 | - | 125±7 | - |
| اتانولی برگ جوان | 63±3 | 49 | 60±2 | 52 |
| اتانولی برگ مسن | 56±2 | 56 | 52±2 | 58 |
| آبی برگ جوان | 92±1 | 26 | 94±3 | 24 |
| آبی برگ مسن | 86±4 | 31 | 89±3 | 29 |

## بحث

مانگروها یک منبع غنی از ترکیبات آنتی اکسیدان طبیعی با پتانسیل درمانی بالا بوده، به طوری که از دیرباز تاکنون به طور گسترده‌ای در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. پلی فنل‌ها با پتانسیل آنتی اکسیدانی بالا و توانایی جاروکننده رادیکال‌های آزاد اکسیژن به مقدار فراوان در مانگروها بالاخص گیاه *A.marina* یافت می‌شوند(17). ترکیبات دارای فعالیت آنتی اکسیدانی با جارو کردن رادیکال‌های آزاد و یا القاء آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث جلوگیری از جهش و سرطان می‌شوند(18). در این پژوهش فعالیت ضد جهشی عصاره‌های برگ گیاه حرا با استفاده از تست ایمز در دو منطقه بردخون و عسلویه از استان بوشهر سنجش شد. با توجه به زیستگاه خاص گیاه حرا امکان رشد بذرهای آن در شرایط آزمایشگاهی به منظور بررسی دقیق‌تر اثرات آلاینده‌ها بر روی گیاه و خواص ضد جهشی آنها وجود نداشت و لذا با توجه به بررسی‌های انجام شده، آزمایشات بر روی نمونه‌های گیاهی جنگل‌های حرا واقع در منطقه بردخون (سالم) و عسلویه (آلوده) انجام شد. گیاهان حرا واقع در منطقه بردخون در یک زیستگاه بکر، ظاهراً فاقد هرگونه آلودگی، تنش زیستی و غیر زیستی قرار دارند. عسلویه منطقه‌ای صنعتی با فعالیت فراوان کارخانجات پتروشیمی و گاز می‌باشد. در چنین مناطقی معمولاً آلاینده‌های جوی مختلف وجود دارد که می‌توانند موجب آلودگی محیط زیست شده و تغییراتی را در اکوسیستم‌های مجاور ایجاد کنند. یکی از اکوسیستم‌های زیبا و بی‌نظیر در منطقه عسلویه جنگل‌های مانگرو خلیج نایبند با تنها گونه حرا بوده که در دهه گذشته و در حال حاضر تحت شرایط نامساعد منطقه متحمل تغییرات گسترده‌ای شده است. گیاهان واقع در منطقه آلوده به علت وجود آلاینده‌ها تحت استرس اکسیداتیو می‌باشند. در این شرایط یکی از پاسخ‌های گیاهان افزایش میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدانت جهت کاهش آسیب‌های وارده حاصل از تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد.

در این پژوهش در هر دو منطقه مورد بررسی، عصاره‌های اتانولی پتانسیل قوی ضد جهشی را نسبت به عصاره‌های آبی از خود نشان دادند. میزان متوسط ممانعت از


Archive of SID
www.SID.ir

جهش‌زایی سدیم آزید توسط عصاره‌های آبی احتمالاً به دلیل استخراج کمتر ترکیبات فعال زیستی از طریق حلال آبی می‌باشد.

عصاره اتانولی و آبی برگ‌های جوان و بالغ در حضور سیستم فعال متابولیکی S9 و در عدم حضور آن تقریباً فعالیت ضد جهشی مشابهی را در هر دو منطقه مورد بررسی از خود نشان دادند. از آنجایی که هدف از استفاده مخلوط S9 فعال نمودن ماهیت عملکردی یک ماده شیمیایی بعد از متابولیز شدن می‌باشد، لذا میزان مشابه فعالیت عصاره‌ها نشان دهنده وجود بالقوه ترکیبات فعال زیستی با پتانسیل ضد جهشی در آنها می‌باشد(14).

در منطقه بردخون فعالیت ضد جهشی عصاره اتانولی برگ بالغ در مقایسه با برگ جوان بیشتر بود در حالی که در منطقه عسلویه تفاوت معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد. علت این امر می‌تواند به دلیل تنوع ترکیبات فعال زیستی و یا فعالیت بیشتر آنها در برگ بالغ منطقه بردخون نسبت به برگ جوان باشد. از آنجای که پتانسیل آسیب‌پذیری برگ جوان نسبت به بالغ بیشتر می‌باشد، احتمالاً در منطقه عسلویه استرس‌های زیستی و غیر زیستی، با تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاه موجب افزایش فعالیت ضد جهشی عصاره برگ جوان شده به طوری که هیچ تفاوت معنی‌داری را با برگ های مسن نشان نمی‌دهد.

مطالعات انجام شده بر روی اثر افزایش دی اکسید کربن بر گیاهان مختلف و مانگروی قرمز (*Rhizophora mangle*) نشان می‌دهد که به طور کلی افزایش دی اکسید کربن موجب تغییر پروسه‌های تکوین گیاه شده ولی دامنه تغییرات در برگ‌های جوان بیشتر از برگ‌های بالغ می‌باشد(19).

مقایسه میزان بازدارندگی جهش‌زایی عصاره‌های اتانولی و آبی برگ‌ها، فعالیت بالای ضد جهشی عصاره اتانولی برگ مسن منطقه بردخون را نسبت به عسلویه نشان می‌دهد. در منطقه عسلویه به علت شرایط محیط زیستی متفاوت، استرس اکسیداتیو و پاسخ گیاه در جهت تعادل بین سیستم آنتی اکسیداسیون و اکسیداسیون، احتمالاً بین ماهیت شیمیایی ترکیبات موثره عصاره و پاسخ آنتی اکسیدانی آنها تغییر ایجاد شده است به طوری که نمی‌توان یک رابطه منطقی بین فعالیت زیستی و آنتی اکسیدانی تعریف نمود(17). علاوه بر این شاید به علت پاسخ متفاوت پلی فنل‌های گیاه حرا در این منطقه بوده که خود به تعداد گروه‌های فنلی وابسته می‌باشد(20).

ایتیگووا و همکاران در سال 2001 با مطالعه نفتوکینون‌های جدا شده از گیاه *A.marina* گزارش کردند که این ترکیبات اثر بازدارندگی قابل توجهی بر روی تومور پوستی موش داشته در حالی که هیچ گونه فعالیت آنتی اکسیدانی را بیان ننمودند(6). در بررسی دیگری توسط ایتو و همکاران بر روی گیاه *A. alba* از خانواده Avicenniaceae ، پتانسیل آنتی اکسیدانی برگ گیاه را به علت وجود فلاوونوئیدها و نفتوکینون‌ها عنوان نمودند(21). به نظر می‌رسد که پلی فنل‌های موجود در گیاه حرا واقع در منطقه عسلویه بیشتر نقش حفاظت در برابر تنش‌های اکسیداتیو را بر عهده دارند. زیرا ترکیبات فنلی به علت وجود گروه‌های هیدروکسیل مستقیما نقش آنتی اکسیدانی داشته و به عنوان دهنده هیدروژن عمل می‌کنند. مطالعات متعدد نقش حفاظتی پلی فنل‌ها، به ویژه فلاوونوئیدها را در مانگروها در برابر اشعه زیانبار uv نشان می‌دهند(22).

مطالعات فیتوشیمیایی انجام شده بر روی عصاره برگ *A.marina* وجود متابولیت‌های ثانویه نظیر آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، تری ترپن‌ها، استروئیدها، نفتوکینون‌ها و گلوکوزیدها را گزارش کرده که احتمالاً انتظار می‌رود این ترکیبات با فعالیت زیستی خود موجب عملکرد ضد جهشی عصاره شوند(7). با وجود ترکیبات شیمیایی فعال زیستی و پتانسیل ضد جهشی آشکار شده در تست ایمز به نظر می‌رسد که می‌توان به طور ایمن از برگ گیاه حرا برای درمان بیماری‌های مختلف استفاده کرد. مطالعات توکسیکولوژی انجام شده بر روی موش، هیچ‌گونه اثرات منفی استفاده از عصاره برگ را گزارش ننموده‌اند(23).

Archive of SID


www.SID.ir

## نتیجه گیری

در این مطالعه عصاره اتانولی و آبی برگ‌های جوان و بالغ گیاه حرا، پتانسیل ضد جهشی در برابر باکتری جهش یافته سالمونلا تیفی موریوم از خود نشان می‌دهند. فعالیت ضد جهشی عصاره‌های اتانولی قوی می‌باشد در حالی که عصاره‌های آبی دارای فعالیت ضعیف تا متوسط بوده که خود نشان دهنده استخراج بهتر مواد موثره برگ در حلال اتانول می‌باشد. مشاهده فعالیت ضد جهشی بالاتر عصاره‌های برگی در منطقه سالم بردخون نسبت به منطقه عسلویه نشان می‌دهد که با تغییر شرایط محیط زیستی ترکیبات موثر گیاهی دستخوش تغییر می‌شوند. با توجه به کم هزینه بودن تست ایمز به نظر می‌رسد که این آزمون یک روش سریع برای شناسایی موادی با خاصیت ضد جهشی باشد ولی با توجه به اثرات مختلف یک ماده و تغییر و تبدیلات شیمیایی آن در سیستم زند، لازم است که مطالعه در این زمینه به طور گسترده ادامه یافته و ابتدا آنالیز فیتوشیمیایی بر روی عصاره این گیاه در ایران انجام و سپس با آزمون‌های مختلف، گزینش دقیقی جهت استفاده از ترکیبات آن در ساخت داروهای ضد سرطانی به عمل آید. هم‌چنین با توجه به روند رو به رشد استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماری‌های مختلف تلاش هر چه بیشتر در زمینه حفظ و حراست اکوسیستم بی‌نظیر جنگل‌های حرا به منظور استفاده از این گنجینه دارویی برای حال و آینده صورت گیرد.

## تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت بخش زیست شناسی دانشگاه خوارزمی (تربیت معلم تهران) انجام شده و قسمتی از نتایج رساله دکترا لیلا کرمی، دانشجوی رشته زیست شناسی گیاهی، گرایش سلولی- تکوینی بوده که این طرح در تاریخ 89/11/11 با شماره 616/1069 به تصویب رسیده است. نویسندگان از مدیریت محترم اداره کل حفاظت محیط زیست استان بوشهر، کارکنان منطقه حفاظت شده‌مند و پارک ملی دریایی نایبند سپاس و قدردانی فراوان دارند.

## منابع

1. Kathiresan K, Bingham BL. Biology of mangroves and mangrove ecosystems. Advances in marine biology. 2001; 40:81-251.
2. Safyari S. Mangrove forests. Research institute of forests and rangelands 2003; 314.[persian]
3. Ghonemi A. *Avicennia marina*. In Encyclopedia of the Medicinal Plants of the United Arab Emirates, UAE University, Al-Ain 1993; 521–524.Available from: http://en.wikipedia.org/wiki/Avicennia_marina.
4. Bandaranayake W. Traditional and medicinal uses of mangroves. Mangroves and salt marshes. 1998; 2(3):133-48.
5. Premanathan M, Kathiresan K, Yamamoto N, Nakashima H. In vitro anti-human immunodeficiency virus activity of polysaccharide from Rhizophora mucronata Poir. Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 1999; 63(7):1187-91.
6. Itoigawa M, Ito C, Tan HTW, Okuda M, Tokuda H, Nishino H, et al. Cancer chemopreventive activity of naphthoquinones and their analogs from Avicennia plants. Cancer letters. 2001; 174(2):135-9.
7. Zhu F, Chen X, Yuan Y, Huang M, Sun H, Xiang W. The chemical investigations of the mangrove plant Avicennia marina and its endophytes. Open Natural Products Journal. 2009; 2: 24-32.
8. Khafagi I, Gab-Alla A, Salama W, Fouda M. Biological activities and phytochemical constituents of the gray mangrove Avicennia marina (Forssk.) Vierh. Egyptian J Biol. 2003; 5: 62-9.
9. Davies KJA. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. IUBMB life. 2000; 50(4-5):279-89.
10. Muller P, Wallin H, Knudsen LE. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. Chemico-Biological Interactions. 1996; 102(1):17-36.
11. Rueff J, Bras A, Cristovao L, Mexia J, Sáda Costa M, Pires V. DNA strand breaks and

Archive of SID


www.SID.ir

sup 60 Co radiation. Mutation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 1993; 289(2):197-204.
12. McCann J, Ames BN. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals: discussion. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1976; 73(3): 950-4.
13. Ames B, McCann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmo-nella/mammalian microsome mutagenicity test. Mutat Res1976; 31: 347-49.
14. Ames BN, Durston WE, Yamasaki E, Lee FD. Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1973; 70(8):2281-5.
15. Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects. 1983; 113(3):173-215.
16. Ong T, Whong WZ, Stewart J, Brockman HE. Chlorophyllin: a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixtures. Mutation Research Letters. 1986; 173(2): 111-5.
17. Agoramoorthy G, Chen FA, Venkatesalu V, Kuo DH, Shea PC. Evaluation of antioxidant chromosomal aberrations induced by H2O2 and polyphenols from selected mangrove plants of India. Asian J Chem. 2008; 20(2):1311-22.
18. Abeysinghe P, Pathirana R, Wanigatunge R. Evaluation of antibacterial activity of different mangrove plant extracts. Ruhuna journal of science. 2012; 1(1):104-12.
19. Farnsworth E, Ellison A, Gong W. Elevated CO 2 alters anatomy, physiology, growth, and reproduction of red mangrove (Rhizophora mangle L.). Oecologia. 1996;108(4):599-609.
20. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. Methods in enzymology. 1999; 299:152-78.
21. Ito C, Katsuno S, Kondo Y, Tan H, Furukawa H. Chemical Consituents of Avicennia alba. Isolation and Structural Elucidation of New Naphthoquinones and Their Analogues. Chemical and Pharmaceutical Bulletin -Tokyo. 2000; 48(3):339-43.
22. Agati G, Matteini P, Goti A, Tattini M. Chloroplast-located flavonoids can scavenge singlet oxygen. New Phytologist. 2007; 174(1): 77-89.
23. Ali B, Bashir A. Toxicological studies on the leaves of Avicennia marina (mangrove) in rats. Journal of Applied Toxicology. 1998; 18(2): 111-6.

Archive of SID


www.SID.ir