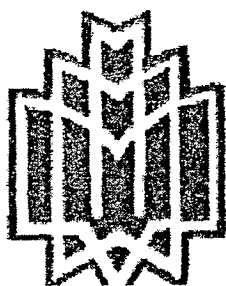


۱۲۵۷۴



دانشگاه تربیت معلم

دانشکده علوم - گروه زیست شناسی

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی

گرایش سلولی تکوینی گیاهی

عنوان

بررسی ساختار تشریحی - تکوینی ، کارپولوژیکی و خواص ضد میکروبی - آنتی اکسیدانی (ضد سرطانی) در مراحل رویشی و زایشی گیاه بارهنگ کبیر (*Plantago major* L.) در مناطق حصارک (کرج) و لنگرود (گیلان)

اساتید راهنما:

- جناب آقای دکتر احمد مجد

- سرکار خانم دکتر صدیقه مهربان

نگارش:

راضیه دانا

بهمن ۱۳۸۷

۱۲۵۷۴۶

کتابخانه و اسناد مرکز علمی پژوهشی
دانشگاه تربیت معلم

۱۳۸۸ / ۳ / ۲۴

تشکر و قدر دانی

خداوندا، تو را سپاس که مرا به آغازی در پایان و پایانی در آغاز رساندی و مرا در راهی قرار دادی که برآیندش آفرینش و ابداع فرآورده هایی است که بی واسطه با روح و جان آدمی پیوندی ناگسستی ایجاد می کند. حال که توفیق پایان این پروژه را به دست آوردم، شایسته است که از کلیه ی اساتید و دوستان گرامی که بی شائبه در طی اجرای این پروژه مرا یاری نموده و هدایت هایشان را از من دریغ نمودند قدردانی و تشکر نمایم.

سپاس و ستایش بی کران خویش را تقدیم اولین معلمان مکتب زندگیم، مادر فداکار و مهربانم و پدر بزرگوارم می نمایم که همواره الفبای بودن و زیستن را به من آموختند و دریای بی کران محبت خویش را بر من ارزانی داشتند، باشد که بتوانم قطره ای از محبت های بی دریغ شان را پاسخگو باشم.

از اساتید بزرگوار و فرزانه ام، جناب آقای دکتر احمد مجد و سرکار خانم دکتر صدیقه مهربان که بر من منت نهادند و راهنمایی این پایان نامه را تقبل نمودند و در طی مدت این پژوهش راه گشای مشکلاتم بودند و رهنمودهای علمی ایشان در طی دوره ی تحصیلی همواره شوق به فراگیری بیشتر را در من تقویت نمود، کمال تشکر را دارم.

از سرکار خانم دکتر عریان مدیر محترم گروه زیست شناسی، از جناب آقای دکتر محمد نبیونی، معاونت محترم گروه زیست شناسی، به واسطه ی فراهم نمودن امکانات آزمایشگاهی قدردانی می گردد.

از اساتید محترم، جناب آقای دکتر خاوری نژاد، جناب آقای دکتر فرخ قهرمانی نژاد، سرکار خانم دکتر فرزانه نجفی، سرکار خانم دکتر پریسا جنوبی و جناب آقای دکتر سعید آبریان، به واسطه ی زحمات و هدایت هایشان در طی دوره ی تحصیلی کارشناسی ارشد که همواره از محضرشان کسب فیض نموده، سپاسگزاری و قدر دانی می نمایم.

هم چنین مراتب سپاس قلبی خود را تقدیم اساتید محترم گروه زیست شناسی از جمله جناب آقای دکتر محمد طهماسب و سرکار خانم باهنر می نمایم که همواره در رفع برخی کمبودها ما را یاری نمودند.

از دوستان بسیار عزیزم خانم‌ها معصومه سیاه‌علی، مریم رجایی، لیلا حقیقی، معصومه زینی‌پور، سمیه
ابراهیمی، ساره رجبی و سمانه عاقلی به دلیل تمام هم‌فکری‌ها و مساعدت‌هایشان در طول انجام این کار
بسیار سپاسگزارم.

تقدیم به

پدر بزرگوار

مادر مهربانم

استاد بزرگوار و فرزانه ام

جناب آقای دکتر احمد مجد

استاد بزرگوار و مهربانم

سرکار خانم دکتر صدیقه مهربان

و همه کسانی که در جهت اعتلای ایرانی آباد کوشیده و می کوشند.

عناوین

فصل اول

- ۱-مقدمه..... ۱
- ۱-۱-معرفی گیاه بارهنگ کبیر *Plantago major L*..... ۲
- ۱-۱-۱- رده بندی گیاه..... ۳
- ۱-۱-۲- معرفی گیاهان خانواده بارهنگ..... ۳
- ۱-۱-۳- گیاهان مهم تیره بارهنگ..... ۴
- ۱-۱-۴- جنس بارهنگ..... ۴
- ۱-۱-۵- بررسی جنس و گونه در ایران..... ۴
- ۱-۲- اختصاصات *P.major L*..... ۴
- ۱-۳- منشأ بارهنگ..... ۵
- ۱-۴- خواص دارویی (استفاده در طب سنتی)..... ۶
- ۱-۵- گروه های اصلی ترکیبات ضد میکروبی گیاهان..... ۶
- ۱-۵-۱- ترکیبات فنلی و پلی فنل ها (phenolics & polyphenols)..... ۶
- ۱-۵-۲- ترپنوئیدها و روغن های اسانسی..... ۸
- ۱-۵-۳- آلکالوئیدها..... ۸
- ۱-۵-۴- لکتین ها و پروتئین ها..... ۹
- ۱-۶- برخی ترکیبات آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی گیاهان..... ۹
- ۱-۷- انتخاب ماده گیاهی و نوع حلال..... ۱۰
- ۱-۸- ترکیبات شیمیایی بارهنگ..... ۱۰
- ۱-۸-۱- کربوهیدرات ها..... ۱۱
- ۱-۸-۲- لیپیدها..... ۱۲
- ۱-۸-۳- آلکالوئیدها..... ۱۲
- ۱-۸-۴- مشتقات کافئیک اسید..... ۱۲
- ۱-۸-۴-۱- آسیب اکسیداتیو..... ۱۲
- ۱-۸-۵- فلاونوئیدها..... ۱۳
- ۱-۸-۶- گلیکوزیدهای ایریدوئید (Iridoid)..... ۱۳
- ۱-۸-۷- ترپنوئیدها..... ۱۳
- ۱-۸-۸- گلوکوزینولات ها..... ۱۴
- ۱-۸-۹- ویتامین ها..... ۱۴
- ۱-۹- سمیت..... ۱۴
- ۱-۱۰- ویژگی میکروارگانسیم های مورد مطالعه..... ۱۴
- ۱-۱۱- بررسی الگوهای آب و هوایی دو منطقه لنگرود و حصارک..... ۱۵

فصل دوم: مواد و روش‌ها

- ۱۷-۱-۲- گیاه مورد استفاده در این پژوهش..... ۱۷
- ۱۷-۲-۲- مواد شیمیایی..... ۱۷
- ۱۷-۳-۲- وسایل و تجهیزات مورد نیاز..... ۱۷
- ۱۷-۴-۲- روش‌های بافت‌شناختی..... ۱۷
- ۱۸-۱-۴-۲- تهیه برش‌های دستی برای مشاهدات میکروسکوپی..... ۱۸
- ۱۹-۲-۴-۲- مواد و محلول‌های مورد نیاز برای برش‌های دستی..... ۱۹
- ۱۹-۳-۴-۲- روش مطالعه بشره (Epiderm)..... ۱۹
- ۱۹-۴-۴-۲- بررسی مراحل تکوین اندام‌های زایشی و رأس ریشه..... ۱۹
- ۲۰-۱-۴-۴-۲- روش تهیه برش‌های میکروتومی..... ۲۰
- ۲۳-۲-۴-۴-۲- مواد و محلول‌های مورد نیاز..... ۲۳
- ۲۴-۵-۲- بررسی فعالیت ضد میکروبی..... ۲۴
- ۲۴-۱-۵-۲- روش تهیه پودر اندام‌های مختلف گیاه..... ۲۴
- ۲۴-۲-۵-۲- روش سترون کردن پودرهای گیاهی..... ۲۴
- ۲۴-۳-۵-۲- روش تهیه عصاره‌های متانولی و اتانولی..... ۲۴
- ۲۴-۴-۵-۲- روش تهیه عصاره آبی..... ۲۴
- ۲۴-۵-۵-۲- روش تهیه محیط‌های کشت مناسب برای بررسی فعالیت ضد میکروبی..... ۲۴
- ۲۵-۶-۵-۲- باکتری‌های مورد بررسی..... ۲۵
- ۲۵-۷-۵-۲- تهیه استاندارد مک‌فارلند (Macfarland)..... ۲۵
- ۲۵-۸-۵-۲- روش بررسی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی مورد آزمایش..... ۲۵
- ۲۶-۹-۵-۲- تعیین حداقل غلظت بازدارنده رشد..... ۲۶
- ۲۶-۱۰-۵-۲- بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره‌های مورد مطالعه..... ۲۶
- ۲۶-۶-۲- بررسی فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی گیاه بارهنگ کبیر..... ۲۶
- ۲۶-۱-۶-۲- محیط‌های کشت مورد نیاز..... ۲۶
- ۲۷-۲-۶-۲- نمک (50x) Vogel-Bonner..... ۲۷
- ۲۷-۳-۶-۲- محلول هیستیدین - بیوتین..... ۲۷
- ۲۷-۴-۶-۲- تأیید جهش سویه TA100..... ۲۷
- ۲۸-۵-۶-۲- تهیه S9..... ۲۸
- ۲۸-۶-۶-۲- برآورد اثر ضد جهشی عصاره متانولی ریشه، گل آذین و برگ..... ۲۸
- ۲۹-۷-۶-۲- برآورد اثر ضد سرطانی عصاره‌ها..... ۲۹
- ۲۹-۸-۶-۲- محاسبه درصد بازدارندگی جهش توسط عصاره‌ها..... ۲۹
- ۲۹-۷-۲- روش مطالعه‌ی کروموزوم‌ها (کاریلوژی)..... ۲۹
- ۲۹-۱-۷-۲- روش تهیه مریستم ریشه..... ۲۹
- ۳۰-۲-۷-۲- آماده‌سازی نمونه‌ها برای مشاهده میکروسکوپی کروموزوم‌ها..... ۳۰

۳۱.....	۸-۲- روش محاسبات آماری
فصل سوم: نتایج	
۳۲.....	۱-۳- بررسی ساختار تشریحی اندام‌های رویشی
۳۲.....	۱-۱-۳- بررسی ساختار تشریحی ریشه در برش عرضی
۳۲.....	۲-۱-۳- بررسی ساختار ریشه در برش طولی
۳۴.....	۳-۱-۳- بررسی ساختار تشریحی ساقه‌ی گل زا (محور گل‌آذین)
۳۵.....	۴-۱-۳- بررسی ساختار تشریحی پهنک برگ
۳۵.....	۵-۱-۳- بررسی ساختار تشریحی دم‌برگ
۳۶.....	۲-۳- بررسی هیستولوژیک مرستم‌های انتهایی و اندام‌های گل
۳۶.....	۱-۲-۳- ساختمان سیتولوژیکی مرستم رأس ساقه
۳۷.....	۲-۲-۳- بررسی برش طولی رأس گل‌دهنده‌ی مرستم ساقه
۳۷.....	۳-۲-۳- تکوین گل
۳۸.....	۴-۲-۳- تکوین بساک
۴۱.....	۵-۲-۳- نمو دانه‌گرده
۴۳.....	۶-۲-۳- بروز نابه‌جای پرچم در محل گلبرگ
۴۴.....	۷-۲-۳- تکوین مادگی
۴۶.....	۸-۲-۳- تکوین تخمک
۴۶.....	۹-۲-۳- نمو کیسه رویانی (embryo sac)
۴۶.....	۱۰-۲-۳- نمو آندوسپرم و رویان
۵۰.....	۳-۳- بررسی نوع روزنه‌ای
۵۰.....	۴-۳- نتایج کاربولوژی ریشه (شمارش کروموزومی)
۵۱.....	۵-۳- نتایج تأیید سوش باکتری TA100
۵۱.....	۶-۳- تعیین غلظت عصاره‌ها
۵۲.....	۷-۳- نتایج بررسی اثر ضدجهشی بارهنگ کبیر در حضور S9 و بدون S9 با استفاده از سالمونلا تیفی‌موریوم در دو منطقه لنگرود و حصارک
۵۲.....	۱-۷-۳- نتایج بررسی اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره‌های گل‌آذین‌ها، برگ‌ها و ریشه‌های گیاهان منطقه لنگرود
۵۲.....	۲-۷-۳- نتایج بررسی اثر ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره‌های گل‌آذین‌ها، برگ‌ها و ریشه‌های گیاهان منطقه حصارک
۵۶.....	۳-۷-۳- مقایسه فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی عصاره‌های گل‌آذین‌ها، برگ‌ها و ریشه‌های گیاهان بارهنگ کبیر در دو منطقه لنگرود و حصارک
۵۹.....	۸-۳- نتایج اثر ضد میکروبی بارهنگ کبیر
۶۰.....	۱-۸-۳- نتایج اثر ضد میکروبی عصاره‌های برگ‌های بارهنگ کبیر (لنگرود)
۶۳.....	۲-۸-۳- نتایج اثر ضد میکروبی عصاره‌های ریشه‌های بارهنگ کبیر (لنگرود)

۳-۸-۳- نتایج اثر ضدباکتریایی عصاره‌های گل آذین‌های بارهنگ کبیر(لنگرود)..... ۶۸

۳-۸-۴- نتایج اثر ضدباکتریایی عصاره‌های برگ‌های بارهنگ کبیر (حصارک)..... ۷۱

۳-۸-۵- نتایج اثر ضدباکتریایی عصاره‌های ریشه‌های بارهنگ کبیر (حصارک)..... ۷۳

۳-۸-۶- نتایج اثر ضدباکتریایی عصاره‌های گل آذین‌های بارهنگ کبیر(حصارک)..... ۷۷

۳-۸-۷- نتایج اثر ضدقارچی عصاره بخش‌های مختلف بارهنگ کبیر در مناطق حصارک و لنگرود..... ۸۱

۳-۸-۸- مقایسه عملکرد منطقه‌ای بر خاصیت ضد باکتریایی بارهنگ کبیر در مناطق لنگرود و حصارک..... ۸۱

۳-۸-۹- مقایسه اثر ضدباکتریایی بخش‌های مختلف بارهنگ کبیر..... ۸۲

۳-۸-۱۰- مقایسه اثر ضدباکتریایی عصاره‌های متانولی، اتانولی و آبی بارهنگ کبیر..... ۸۳

۳-۸-۱۱- نتایج تعیین MIC..... ۸۴

فصل چهارم: بحث و تفسیر

۴-۱- ساختار تشریحی اندام‌های رویشی..... ۸۵

۴-۱-۱- ریشه..... ۸۵

۴-۱-۲- ساقه گل‌زا (محور گل آذین)..... ۸۶

۴-۱-۳- تکوین پهنک برگ..... ۸۶

۴-۱-۴- دم‌برگ..... ۸۷

۴-۲- مریستم‌های انتهایی و اندام‌های گل..... ۸۸

۴-۲-۱- مریستم رأس ساقه..... ۸۸

۴-۲-۲- نمو گل آذین..... ۸۸

۴-۲-۳- تکوین گل..... ۸۹

۴-۲-۴- تکوین بساک..... ۹۰

۴-۲-۵- بروز نابه‌جای پرچم در محل گلبرگ..... ۹۲

۴-۲-۶- تکوین مادگی..... ۹۲

۴-۲-۷- تکوین تخمک..... ۹۳

۴-۲-۸- نمو کیسه رویانی..... ۹۳

۴-۲-۹- نمو رویان و آندوسپرم..... ۹۴

۴-۲-۱۰- روزنه..... ۹۶

۴-۳- کاریولوژی..... ۹۶

۴-۴- فعالیت ضدجهشی و ضدسرطانی بارهنگ کبیر..... ۹۷

۴-۵- فعالیت ضد میکروبی..... ۱۰۳

پیشنهادات..... ۱۰۹

منابع..... ۱۱۰

چکیده

در این پژوهش ساختار تشریحی اندام های رویشی، زایشی و مراحل تکوین دانه گرده، تخمک و رویان بارهنگ کبیر با استفاده از روش های متداول سلول، بافت شناسی و با به کار گیری میکروسکوپ نوری بررسی شد. مشاهدات میکروسکوپی اندام های رویشی، ساختار متداول در گیاهان دو لپه را نشان داد. ساختار ریشه دارای ۴ دسته آوندی است. استوانه آوندی ساقه، توسط استوانه‌ای از فیبر اسکلرانشیمی احاطه شده است. در برگ ساختار مزوفیل ناهمگن است. روزنه‌ها در برگ بارهنگ کبیر از نوع ناجور سلولی (آنیزوسیتیک) می‌باشند.

در برش‌های طولی متعدد که از انتهای ریشه بارهنگ کبیر گرفته و بررسی شدند همسو با گزارش‌های بووا و همکارانش (۵۳-۱۹۵۰)، سه سلول یا سه دسته سلول بنیادی مشاهده نشد.

در مشاهدات میکروسکوپی اندام های زایشی، در بساک های بسیار جوان سلول‌های مادر گرده و سپس در مراحل تکوینی پیشرفته‌تر، تترادها، میکروسپورهای یک هسته‌ای و دانه‌های گرده یک و سپس دو هسته‌ای تشخیص داده شدند. در برش عرضی گل، بروز نابه‌جای پرچم در محل گلبرگ مشاهده گردید. تخمدان شامل دو برچه است. تخمک ها در طی مراحل تکوین متمایز شده، یک پوسته، بافت خورش، کیسه رویانی و سپس رویان کروی، قلبی و اژدری قابل تشخیص می‌گردند.

کاربولوژی ریشه بارهنگ کبیر با استفاده از رنگ آمیزی استواورسئین، وجود ۱۲ کروموزوم ($2n=12$) را در گیاهان هر دو منطقه لنگرود و حصارک نشان داد.

به منظور بررسی خاصیت آنتی‌سپتیک، ضد جهشی و ضد سرطانی بارهنگ کبیر، در فصل پاییز بخش‌های مختلف گیاه در مناطق لنگرود (گیلان) و حصارک (کرج) جمع‌آوری شدند. عصاره های متانولی، اتانولی (۸۰٪) و آبی اندام های مختلف بارهنگ کبیر به منظور بررسی اثر ضد میکروبی و عصاره متانولی برای بررسی اثر ضد جهشی و ضد سرطانی مورد مطالعه قرار گرفتند. بررسی اثر ضد میکروبی و ضد قارچی بارهنگ کبیر با استفاده از روش انتشار و سنجش قطر هاله عدم رشد انجام شد. از دیسک جنتامایسین و نیستاتین به عنوان کنترل مثبت به ترتیب برای بررسی فعالیت ضدباکتریایی و ضد قارچی استفاده گردید.

همه‌ی عصاره‌ها به جز عصاره آبی ریشه‌ها و گل‌آذین‌ها بر *S.aureus* اثر آنتی‌سپتیک‌ی داشتند. عصاره متانولی برگ‌ها بیشترین اثر ضد باکتریایی را بر رشد *S.aureus* نشان داد. در بین عصاره‌ها، عصاره متانولی و اتانولی ریشه‌های گیاهان منطقه لنگرود و حصارک بر *B.cereus* و *E.coli* اثر ضد میکروبی ضعیفی در مقایسه با کنترل مثبت نشان دادند. *E.coli* و *B.cereus* به عصاره آبی بخش‌های مختلف گیاه مقاوم بودند. عصاره‌ها اثر آنتی‌سپتیک‌ی بر قارچ *C.albicans* نداشتند. بررسی فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی بارهنگ کبیر با بهره‌گیری از آزمون Ames و نیز استفاده از سویه سالمونلا تیفی موریوم TA100 که مستقیماً از پروفیسور ایمز دریافت گردیده بود، انجام شد.

در این پژوهش اثر ضد جهشی (بدون S9) و ضد سرطانی (در حضور S9) عصاره‌های متانولی بخش‌های رویشی و زایشی که از طریق شمارش کلنی‌های برگشتی در مقایسه با شاهد مثبت حاصل می‌شود، به اثبات رسید و سنجیده شد.

عصاره‌ی گل‌آذین‌ها و برگ‌های بارهنگ کبیر در هر دو منطقه لنگرود و حصارک در حضور S9 و بدون S9، توانی بیش از ۴۰٪ برای مهار جهش‌ها از خود نشان دادند، در حالی که عصاره‌ی ریشه‌ها با توان ۳۵ تا ۴۰٪ قدرت کمتری را برای مهار جهش‌ها نشان دادند. در مقایسه دو منطقه، عصاره متانولی برگ‌های گیاهان منطقه حصارک نسبت به برگ گیاهان منطقه لنگرود توان مهار جهش بالاتری نشان داد. تحلیل آماری نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌دار بین استفاده از عصاره‌ها در غیاب S9 و در حضور S9 وجود ندارد و بارهنگ کبیر دارای فعالیت ضد جهشی و ضد سرطانی تقریباً یکسانی است.

واژگان کلیدی: بارهنگ کبیر، خاصیت ضد میکروبی، تست ایمز، خاصیت ضد سرطانی، کاربولوژی.

فصل اول: مقدمه

گیاهان از ابتدای تاریخ به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع غذایی و دارویی به شمار می‌رفته‌اند. تاریخ پیشینیان نشان می‌دهد که هندی‌ها از ۳۰۰۰ سال قبل از میلاد و چینی‌ها از ۴۰۰۰ سال پیش بر اساس عقایدشان از گیاهان در درمان بیماری‌های مختلف استفاده می‌کردند. از دیدگاه هندوها بدن انسان ترکیبی از خاک، آب، هوا، آتش و فضا است و برهم‌کنش این ترکیبات سه نیرو، هفت بافت و سه محصول زاید را تشکیل می‌دهد. علت بیماری عدم تعادل سه نیرو است. تشخیص بیماری نیز بر اساس یافته‌های فیزیکی، نبض، ادرار و ارزیابی جنبه‌های فیزیکی و روانی شرایط است. درمان نیز متناسب با این یافته‌ها با استفاده از گیاهان انجام می‌شود. اما چینی‌ها درمان را مخلوطی از گیاهان، پیام‌ها و طب سوزنی می‌دانند (Bedi & Shefelt, 2002). بابلی‌ها و مصریان قدیم نیز ۵۵۰ سال قبل از میلاد مسیح از اثرات دارویی تعدادی از گیاهان آگاه بوده‌اند. در طول تاریخ دانشمندان صاحب نام بسیاری چون ارسطو، بقراط، جالینوس و غیره خدمات شایان توجهی به علم پزشکی و داروسازی نموده‌اند. سرزمین ایران نیز دارای فرهنگ پزشکی و درمانی بسیار غنی بوده و دانشمندانی چون ابوعلی سینا، زکریای رازی و غیره قرن‌های متمادی علوم پزشکی و دارویی جهان را مورد تأثیر قرار داده و آثار آن‌ها مورد تدریس و تحقیق در بزرگ‌ترین مراکز علمی جهان بوده است (رئیس‌نیا، ۱۳۸۵). امروزه علی‌رغم اثر بخشی مطلوب داروهای شیمیایی مسأله مقاومت باکتری‌ها علیه داروها و بروز عوارض جانبی و حساسیت‌های خطرناک به صورت جدی در جوامع پزشکی مطرح می‌باشد و تحقیقات فراوانی در سراسر دنیا برای به دست آوردن داروهایی با اثر بخشی کافی در دستور کار مراکز تحقیقاتی می‌باشد (زرگری، ۱۳۷۵). در سال‌های اخیر به علت مقاومت باکتری‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های رایج و ایجاد مشکل اساسی در زمینه درمان عفونت‌های باکتریایی، تحقیقات گسترده‌ای به منظور شناخت دسته جدیدی از ترکیبات ضد میکروبی در حال انجام است (Hetland et al., 2000). سرطان نیز بعد از بیماری‌های قلبی، دومین عامل مرگ و میر در جهان محسوب می‌شود و سالانه حدود ۶۰۰۰ نفر در جهان به آن مبتلا می‌شوند. استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان عوامل ضد سرطانی برای اولین بار توسط Hartwell و همکارانش در اواخر دهه ۱۹۶۰ انجام شد. آن‌ها از Podophyllotoxin و مشتقات آن به عنوان عوامل ضد سرطانی استفاده

کردند (Hartwell, 1982). در این راستا اثرات ضد میکروبی و ضد سرطانی عصاره‌های مختلف گیاهی از طرف محققین مجدداً مورد توجه قرار گرفته است. هم چنین به علت علاقه وافر مردم و مصرف روزافزون داروهای گیاهی و اهمیتی که این بخش از منابع طبیعی ایران از نظر اقتصادی و درمانی دارد، ضرورت تحقیق در زمینه اثرات درمانی گیاهان دارویی آشکار است.

گیاه بارهنگ کبیر با نام علمی *Plantago major* L. از خانواده‌ی Plantaginaceae، همه‌ی بخش‌های آن (ریشه، ساقه و دانه) دارای مصارف دارویی است از جمله: درمان بیماری‌های پوستی، اندام‌های تنفسی، اندام‌های گوارشی، گردش خون، پیشگیری از سرطان، درمان زخم و عفونت‌ها (Samuelsen, 2000 ; Chiang et al., 2002). با توجه به بررسی‌های مرجع شناسی انجام شده، پژوهش همه جانبه‌ای در مورد گیاه دارویی و ارزشمند بارهنگ کبیر در کشور انجام نشده است، پژوهش حاضر با اهداف زیر تدوین و انجام شده است:

۱- بررسی ساختار تشریحی و تکوینی به کمک روش‌های سلول - بافت شناسی که مکمل آگاهی‌های ریخت شناسی است.

۲- با توجه به خواص دارویی وسیع گیاه بارهنگ کبیر، بررسی اثرات ضد میکروبی و ضد سرطانی این گیاه به عنوان بخشی از کاربردهای آن از اهداف این پژوهش است.

۳- شمارش کروموزوم‌های بارهنگ کبیر به روش اسکواش (Squash) و آگاهی از تغییرات احتمالی آن در شرایط محیطی.

۱-۱- معرفی گیاه بارهنگ کبیر *Plantago major* L.

نام فارسی: بارهنگ کبیر، رمحاج ولک (Remhadje vank در گیلان)

نام عربی: لسان الحمل، لسان حمد

نام انگلیسی: Plantain , Greet- Waybread , Common Plantain

نام آلمانی: Roter- Wogerich

نام فرانسه: Grand – Plantain (زرگری، ۱۳۷۵)

Plantago major L. در جنس *Plantago* قرار دارد. *Plantago* از ریشه لاتین *Planta* به معنی

کف پا (sole of the foot) است. نروژی ها و سوئدی ها *P. major* را Groblad می نامند به معنی برگ های شفا بخش (Tutel, 2005).

۱-۱-۱- رده بندی گیاه

بر اساس رده بندی Cronquist سال ۱۹۶۸ :

سلسله: Plantae

شاخه: Magnoliophyta

رده: Magnoliopsida

راسته: Lamiales

خانواده: Plantaginaceae

جنس: *Plantago*

گونه: *major*

نام دو اسمی: *Plantago major* L.

۱-۲- معرفی گیاهان خانواده بارهنگ (تعداد جنس و گونه و اختصاصات کلی خانواده بارهنگ)

خانواده Plantaginaceae در سراسر جهان پراکنش داشته و دارای سه جنس (*Bougueria*, *Littorella*, *Plantago*) و ۲۷۵ گونه است که در زیستگاه های متنوع دیده می شوند (Shehata, 2006).

گیاهان این خانواده علفی یا بوته ای کوتاه، خاکزی، برگ های ساده، معمولاً طوقه ای، گاهی ساقه ای، برگ های متقابل یا متناوب، برگ های متناوب ساقه آغوش، بدون گوشوارک. گل آذین سنبله، کشیده یا کوتاه، گل ها منظم، معمولاً هرمافرودیت به ندرت تک جنسی، منظم دارای برگه، کاسبرگ ها ۴ عدد، دارای ۴ و به ندرت ۲ لب، در حالت میوه پایا، جام گل پیوسته گلبرگ و غشایی، نافه دارای ۴ پرچم مساوی با میله بلند و بساک قابل رؤیت بیرون زده از جام گل، تخمدان فوقانی شامل دو برچه، دارای ۲-۱ خانه، دارای تخمکی نیمه واژگون با تمکن محوری یا قاعده ای، میوه کپسول شکوفا با شکاف عرضی، دانه یک تا تعداد زیاد در هر خانه که در آب تولید لعاب می کند و دارای آلبومن سلولی است (مظفریان،

۱۳۷۳؛ قربانی، ۱۳۷۴؛ قهرمان، ۱۳۷۳). در بارهنگ ها گرده افشانی به وسیله باد انجام می‌شود و این امر نشان دهنده حالت قهقرایی در این تیره از گروه پیوسته گلبرگان است (قهرمان، ۱۳۷۳).

۱-۱-۳- گیاهان مهم تیره بارهنگ

گونه های اصلی این خانواده که مورد بهره برداری قرار دارند عبارتند از :

P. lanceolata , *P. major* , *P. ovata* و *P. media* که دارای مصارف درمانی مشابه هستند.

ریشه، برگ و دانه این گیاهان به عنوان تصفیه کننده خون، آرام بخش، رفع اسهال های ساده، درمان

زخم و گزیدگی حیوانات و درمان عفونت ها استفاده می‌شود (زرگری، ۱۳۷۵).

۱-۱-۴- جنس بارهنگ

گیاهانی علفی، همیشگی و پایا هستند. برگ های آنها به طور طوقه ای و فشرده قرار گرفته و معمولاً فاقد ساقه برگ دار هستند. برگ ها به شکل های متفاوت، از خطی باریک تا تقریباً مدور خنجری با کناره های صاف تا کمی دنداندار دیده می‌شوند. گل ها نر- ماده و مجتمع در سنبله های دراز استوانه ای، برگ ها پهن تر از کاسبرگ ها یا کوچکتر از آنها، کاسه دارای ۴ قطعه، جام فلسی شکل و غشایی، تقریباً شامل قطعات نامسمان، پرچم ها ۴ عدد، تخمدان فوقانی و دو خانه و در هر خانه یک یا چند تخمک، خامه منفرد و طویل، کلاله ساده، میوه کپسول با شکاف عرضی باز می‌شود (مظفریان، ۱۳۷۳؛ قهرمان، ۱۳۷۳).

۱-۱-۵- بررسی جنس و گونه در ایران

خانواده Plantaginaceae در ایران تنها یک جنس *Plantago* دارد که خود دارای ۲۲ گونه گیاه علفی یک ساله و چند ساله است که همگی با نام بارهنگ شناخته می‌شوند و گونه های *P. boissieri* , *P. sharifii* , *P. evacina* و *P. stocksii* انحصاری ایران و دیگر گونه های آن علاوه بر ایران در افغانستان، پاکستان، آسیای مرکزی، هیمالیا، تبت، الجزایر، تونس، مصر و عربستان، فلسطین، مناطق مدیترانه ای، شبه جزیره بالکان، جزیره اژه و آناتولی می‌رویند (مظفریان، ۱۳۸۵).

۱-۲- اختصاصات *P. major* L.

گیاه همیشگی با ارتفاع ۳۰-۱۵ سانتی متر است. اندازه آن متغیر و به زیستگاه رشدی آن بستگی

دارد. زیستگاه آن از سواحل دریا تا ارتفاع ۳۵۰۰ متری از سطح دریا می‌باشد. رشد برگ به صورت طوقه یا روزت، شکل برگ‌ها تخم مرغی تا بیضی با رگبندی موازی است. تعداد رگبرگ‌ها بین ۵-۹ و برگ‌ها بدون کرک یا کرک‌دار، کامل یا حاشیه دندانه‌ای نامنظم دارند. گل‌ها کوچک، قهوه‌ای - سبز، روی سنبله‌های بدون انشعاب قرار دارند و به وسیله باد گرده افشانی می‌شوند و تعداد زیادی دانه حدود بیش از ۲۰۰۰ دانه به ازای هر گیاه تولید می‌کنند. دانه‌ها کاملاً کوچک با شکل تخم مرغی (۱/۵-۱/۸ mm) × (۰/۴-۰/۸) و اندکی مزه تلخ دارند. آندوسپرم دانه بخش بزرگی از دانه را در بر می‌گیرد و جنین دانه را به طور کامل احاطه می‌کند. دانه‌ها در کپسول قرار دارند (۱۶-۸ دانه به ازای هر کپسول) و در شرایط مرطوب به علت جذب آب و تورم پلی‌ساکاریدهای حاضر در پوشش دانه چسبنده می‌شوند. در این شرایط دانه‌ها به انسان و جانوران چسبیده و بدان وسیله انتشار می‌یابند (Samuelsen, 2000).

۱-۳- منشأ بارهنگ

بر اساس تحقیقات انجام شده روی دانه‌های گرده *P. major* حدود ۴۰۰۰ سال پیش از اروپا به سایر نقاط جهان گسترش یافت. هندی‌ها آن را ردپای انسان سفید (White man's footprint) نامیدند، زیرا در هر جایی که اروپایی‌ها بودند حضور داشت.

P. major گیاهی است که برخی از مردم آن را به عنوان علف هرز می‌شناسند اما گیاه دارویی قدیمی است که قرن‌هاست شناخته شده و استفاده‌های درمانی دارد. به عنوان مثال استفاده سنتی آن در درمان زخم، کاملاً قدیمی است و به وسیله فیزیکی‌دان یونانی به نام Dioscorides در کتاب De materia medica در قرن اول میلادی شرح داده شده است و برگ‌های آن برای درمان گزیدن سگ تجویز می‌شده است.

بررسی‌های Volsug Saga نشان داد که اسکاندیناوی‌های قرن ۱۰-۸ میلادی، برگ‌های *P. major* را در درمان زخم‌ها استفاده می‌کردند.

P. major در قرن ۱۳-۱۲ توسط نویسندگان اسلامی از جمله Ibn E1 Britha شرح داده شده که برگرفته از طب یونانی است.

Herrick Harpastreng (1244) از دانمارک در کتاب Liber Harbarum نوشت که *P. major* هر

زخمی را درمان می‌کند. مخلوط آن با عسل برای درمان زخم‌ها توصیه می‌شود. جوشانده آن با کره (روغن) و سپس خوردن آن، می‌تواند هر اندامی را در بدن انسان بهبود بخشد. *P. major* در زمان شکسپیر نیز به طور رایج استفاده می‌شد (Samuelsen, 2000).

۱-۴- خواص دارویی (استفاده در طب سنتی)

بیشتر مطالعات اخیر روی *P. major* براساس قوم‌ها و نژادها نشان دادند که در برخی از کشورهای جهان در درمان تعدادی بیماری‌ها از جمله موارد زیر به کار می‌رود: بیماری‌های پوستی، بیماری‌های عفونی، مشکلات مرتبط با اندام‌های گوارشی، اندام‌های تنفسی، تولید مثل، گردش خون، ضد توموری، ضد میکروبی، تسکین درد، کاهش تب، درمان مارگزیدگی، ضد ویروسی، دم کرده‌ی برگ‌ها به عنوان تصفیه کننده خون، ادرار آور، محرک صفرا (Samuelsen, 2000; Lezama et al., 2006; McCutcheon et al., 1995).

۱-۵- گروه‌های اصلی ترکیبات ضد میکروبی گیاهان

گیاهان توانایی نامحدود برای سنتز ترکیبات آروماتیک دارند، بیشتر این مواد از ترکیبات فنلی و یا مشتقات آنها می‌باشند. این ترکیبات متابولیت‌های ثانویه گیاهان هستند و تولید آن‌ها در گیاهان به عنوان مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر حملات میکروارگانیسم‌ها، حشرات و گیاهخواران می‌باشد. برخی از این ترکیبات از قبیل ترپنوئیدها مسئول رایحه گیاه، برخی دیگر از قبیل کینون‌ها و تانن‌ها مسئول ایجاد رنگدانه می‌باشند. برخی نیز عامل طعم مخصوص گیاه می‌باشند (به عنوان مثال ترپنوئید کاپسیاسین در فلفل) (میر حیدر، ۱۳۷۴).

◀ ترکیبات فیتوشیمیایی با خاصیت ضد میکروبی به چند گروه تقسیم شده‌اند که در زیر شرح داده می‌شوند:

۱-۵-۱- ترکیبات فنلی و پلی فنل‌ها (phenolics & polyphenols)

۱-۱-۵-۱- فنل‌های ساده و فنولیک اسیدها

برخی از ساده‌ترین ترکیبات شیمیایی با فعالیت زیستی مهم در گیاهان از استخلاف ساده حلقه فنلی بدست می‌آیند. سینامیک اسید و کافئیک اسید نمایندگان گروه بزرگی از ترکیبات مشتق از ماده‌ی فنیل

پروپان می‌باشند که در بالاترین سطح اکسیداسیون قرار گرفته‌اند (Cowan, 1999; Samy & Goplarishnakone, 2008; Scalbert, 1991; Tsuchiya et al., 1994).

Tarragon و آویشن (Thyme) از گیاهانی هستند که حاوی ترکیبات مشتق از فنیل پروپان (کافنیک اسید) بوده و علیه ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها مؤثر می‌باشند (Cowan, 1999). مکانیسمی که مسئول سمیت فنل‌ها علیه میکروارگانیسم‌ها می‌باشد احتمالاً شامل مهار آنزیمی ترکیبات اکسید شده و یا از طریق واکنش با گروه‌های سولفیدریل و یا یک واکنش غیراختصاصی با پروتئین‌ها می‌باشد (Cowan, 1999; Samy & Goplarishnakone, 2008).

۱-۵-۱-۲- کینون‌ها (Quinones)

کینون‌ها حلقه‌های آروماتیک با دو استخلاف ستنی می‌باشند و مسئول تیره شدن میوه‌ها و سبزیجات در اثر بریدگی یا زخم هستند و به عنوان ترکیبات حدواسط در مسیر سنتز ملانین پوست انسان نقش دارند.

مطالعات انجام شده میزان بالای پتانسیل ضد میکروبی کینون‌ها را نشان داده است. هدف‌های احتمالی کینون‌ها در سلول‌های میکروبی آدهسین‌های سطحی، پلی‌پپتیدهای دیواره سلولی و آنزیم‌های متصل به غشا می‌باشند. کینون‌ها هم‌چنین می‌توانند سوبسترای آنزیم‌ها را برای میکروارگانیسم‌ها غیر قابل دسترس نمایند.

۱-۵-۱-۳- فلاونوئیدها

ترکیبات هیدروکسیله فنلی هستند که به صورت یک گروه $C_3 - C_6$ متصل به یک حلقه آروماتیک دیده می‌شوند. طبق بررسی‌های انجام شده این ترکیبات توسط گیاهان در پاسخ به عفونت‌های میکروبی ساخته می‌شوند. فعالیت آنها احتمالاً به علت اتصالشان به پروتئین‌های خارج سلولی و محلول و اتصال به دیواره‌ی سلولی باکتری همانند مکانیسم عملکرد کینون‌ها می‌باشد. فلاونوئیدهایی که حالت چربی دوستی بیشتری دارند می‌توانند موجب متلاشی شدن غشاهای میکروبی شوند (Cowan, 1999).

۱-۵-۱-۴- تانن‌ها (Tannins)

تانن نام عمومی برای گروه بزرگی از فنل‌های پلی‌مریک می‌باشد که وزن مولکولی آنها از ۵۰۰ تا

۳۰۰۰ متغیر می‌باشد. این گروه از ترکیبات در سال‌های اخیر مورد توجه فراوانی قرار گرفته‌اند و چنین به نظر می‌رسد که استفاده از نوشیدنی‌های حاوی تانن مثل چای سبز در معالجه و جلوگیری از ایجاد بسیاری از بیماری‌ها مؤثر باشد (Serafini et al., 1999; Mehrabian, 2007). با توجه به اتصال تانن به پروتئین‌ها از طریق باندهای هیدروژنی و آب‌گریز، فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات همانند آنچه در بخش مربوط به کینون‌ها ذکر شد مربوط به توانایی آنها در غیر فعال کردن آدهسین‌ها، آنزیم‌ها و پروتئین‌های انتقال‌دهنده غشاء سلول می‌باشد (Cowan, 1999, Samy & Goplarishnakone, 2008).

۱-۵-۱-۵- کومارین‌ها (Coumarins)

کومارین‌ها ترکیبات فنلی می‌باشند که از الحاق بنزن و α -پیرون تشکیل می‌شوند. مطالعات Thornes وجود خواص ضدباکتریایی کومارین‌ها را علیه کاندیدا آلبیکانس نشان داد. مکانیسم عمل ضد میکروبی کومارین‌ها در حال تحقیق است (Samy & Goplarishnakone, 2008).

۱-۵-۲- ترپنوئیدها و اسانس‌ها

اسانس‌های گیاهی، متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که غنی از ترکیبات با هسته‌ی مرکزی ایزوپرنی می‌باشند. این ترکیبات با نام عمومی ترپن‌ها خوانده می‌شوند (Cowan, 1999) که ساختار شیمیایی عمومی آنها $C_{10}H_{16}$ می‌باشد (رئیس‌نیا، ۱۳۸۵) و به صورت دی‌ترپن، تری‌ترپن و تتراترپن‌ها دیده می‌شوند. هنگامی که این ترکیبات حاوی عناصر دیگری (معمولاً اکسیژن) باشند، ترپنوئید نامیده می‌شوند. ترپنوئیدها از واحدهای استات ساخته می‌شوند و دارای مبدأ مشترکی با اسیدهای چرب می‌باشند. تفاوت آنها با اسیدهای چرب در انشعابات فراوان و حلقوی بودن آنها می‌باشد. فعالیت مهارکنندگی ترپنوئیدها علیه باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها مورد شناسایی قرار گرفته است اما مکانیسم عملکرد آنها به طور کامل شناخته نشده است (Cowan, 1999; Hounsoume et al., 2008).

۱-۵-۳- آلکالوئیدها

آلکالوئیدها ترکیبات ازت‌دار و ناجورحلقه هستند. اولین مثالی که از آلکالوئیدهای مفید پزشکی می‌توان نام برد مرفین می‌باشد که در سال ۱۸۰۵ از گیاه *Papaver somniferum* استخراج شد. هروئین و