

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه اراک

دانشکده علوم پایه

کارشناسی ارشد زیست شناسی (فیزیولوژی گیاهی)

مطالعه اثر تنش پراکسید هیدروژن به عنوان عامل تولیدکننده
رادیکال آزاد اکسیژن بر پاسخ دهی سلولی گیاه پریش در کشت
سلولی

پژوهشگر

راضیه کشاورز

اساتید راهنما

دکتر مجید مهدیه

دکتر محمد حسین آبنوسی

استاد مشاور

دکتر محمدرضا امیرجانی

پاییز ۱۳۹۲

هو العليم والحكيم

سپاس و ستایش خدای راجل و جلاله که آثار قدرت او بر چهره روز روشن، تابان است و انوار حکمت او در دل شب تار، درخشان. آفریدگاری که خویش را به ما شناساند و درهای علم را بر ما گشود و عمری و فرصتی عطا فرمود تا بدان، بنده ضعیف، خویش را در طریق علم و معرفت بیازماید.

بارالها!

هرگاه به فضل تو، از من، کاری کنی سرزند، تو را بر من منت است و اگر بدی مایی از من به ظهور برسد، در نتیجه

عدل تو ست و باز تو را بر من، حجت است

خدایا چنان کن که دلم به آنچه نزد تو ست مطمئن گردد و همه همت من در عبادت تو بکار افتد، مرا به کاری و ادار

که بندگان خالص خود را بدان وامی داری و هنگام غفلت عقل و خرد، دل مرا با طاعت خود در هم آمیز و بی

نیازی را بر ایمم فراهم ساز

باسپاس از سه وجود مقدس:

آنان که ناتوان شدند تا ما به توانایی برسیم...

موباشان سپید شد تا ما رو سفید شویم...

و عاشقان سوختند تا که ما بخش وجود ما و روسنگر را همان باشند...

پدرانمان

مادرانمان

استادانمان

حدوثنا مخصوص خداوندی است که عطش علم و دانش را در وجودمان به ودیعه نهاد تا ظلمت جهل و نادانی را به روشنی فحم و

کمال بیاریم

شایسته ترین مراتب پاس و قدردانی خود را به اساتید بزرگوارم جناب آقای دکتر مهدیه و جناب آقای دکتر آبنوسی تقدیم می نمایم که در تمام مراحل تحصیل اینجانب را در مسیر پروژه تحقیقاتی یاری نمودند. بی شک موفقیت در طی مسیر تحقیقاتی و به انجام رسیدن این پایان نامه مرهون تکیه بر علم و درایت خاص ایشان می باشد. با آرزوی سلامتی و توفیق روز افزون از درگاه باری تعالی برای اساتید فرزانه ام.

باسپاس فراوان از استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر امیرجانی که مشاوره این پایان نامه را به عهده گرفتند، و درس های فراوانی در عرصه علم و اخلاق از ایشان آموختم که انشاء الله توشه راه آینده من خواهد بود.

واللّٰه اعلم و الاثرین مراتب پاس را به خانواده ام تقدیم می کنم که همواره پشتیبان و پناه من در روزهای سخت و شیرین زندگی ام

بوده اند.

چکیده

مطالعه اثر تنش پراکسید هیدروژن به عنوان عامل تولیدکننده رادیکال آزاد اکسیژن بر پاسخ‌دهی سلولی گیاه پریوش در کشت سلولی

مقدمه: پریوش (*Catharanthus roseus*) گیاهی است دارویی، که به دلیل وجود ترکیبات دارویی و آلکالوئیدها مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به اینکه پراکسید هیدروژن نقش اساسی در تنظیم بیان ژن دارد، لذا در این تحقیق اثر پراکسید هیدروژن بر پاسخ سلولی گیاه پریوش در کشت سلولی و کالوس این گیاه مورد بررسی قرار گرفت. **مواد و روش‌ها:** بذر گیاه پریوش در گلدان حاوی پرلیت کشت و به منظور القا کالوس، برگ‌ها در شرایط استریل بر روی محیط کشت جامد MS قرار داده شدند. کالوس‌ها بعد از سه هفته واگشت و از کالوس‌های واگشت دوم برای تهیه کشت سوسپانسیون سلولی استفاده شد. برای سنجش توانایی زیستی، سلول‌ها با غلظت‌های مختلف پراکسید هیدروژن (۰، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ میکرومولار) برای مدت ۱، ۳ و ۶ روز تیمار و از دو روش تریپان بلو و MTT استفاده شد. تغییرات مورفولوژیکی ایجاد شده در هسته و سیتوپلاسم با روش‌های رنگ‌آمیزی هوخست و آکریدین اورنژ، تغییرات پروفیل پروتئینی توسط روش SDS-PAGE، و همچنین تغییر در محتوی پرولین، پروتئین کل، مالون‌دی‌آلدئید، ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل و آلکالوئید کل توسط روش‌های بیوشیمیایی بررسی شد. ضمناً فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نیز اندازه‌گیری و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و با استفاده از روش Anova و تست دانکن آنالیز شد و ($p < 0.05$) به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. **نتایج:** نتایج بدست آمده نشان داد که در توانایی زیستی سلول‌های تیمار شده کاهش معنی‌داری به صورت وابسته به غلظت و زمان در مقایسه با کنترل مشاهده شد. البته برخی از غلظت‌ها به دلیل نزدیکی با یکدیگر تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند لذا برای انجام آزمون‌های بعدی تنها سه دوز ۱، ۵ و ۱۰ میکرومولار و زمان ۶ روز که در این پژوهش بیشترین زمان برای القاء صدمات سلولی بود انتخاب شد. پراکسید هیدروژن موجب تغییر معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و متابولیت‌های ثانویه‌ای همچون فنل، فلاونوئید و آلکالوئید کل شد و توان آنتی‌اکسیدانی بر اساس احیاء آهن، نیز با افزایش مواجه بود. همچنین غلظت مالون‌دی‌آلدئید ناشی از پراکسیداسیون لیپیدها در کالوس‌های تیمار شده در مقایسه با کنترل، نیز افزایش معنی‌دار ($P \leq 0.05$) نشان داد. علاوه بر نتایج فوق، پروفیل پروتئینی در بافت کالوس تیمار شده نیز در مقایسه با کنترل دستخوش تغییراتی از جمله افزایش بیان باند پلی‌پپتیدی ۵۳ کیلو دالتون و ظهور باند ۸۵ و ۱۱۱ کیلو دالتونی شد. **نتیجه‌گیری:** تنش اکسیداتیو ناشی از حضور پراکسید هیدروژن موجب تغییر در مورفولوژی و کاهش قدرت زیستی سلول‌ها شد. علاوه بر این تنش پراکسید هیدروژن همراه با پاسخ شیمیایی سلول در جهت کاهش اثر اکسیداتیو پراکسید هیدروژن بود. نکته قابل توجه افزایش غلظت متابولیت‌های ثانویه در اثر تیمار با پراکسید هیدروژن بود که می‌تواند در آینده در جهت تولید بیشتر این ترکیبات به کار گرفته شود، البته آزمایشات و تحقیقات بیشتر در این زمینه پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: پراکسید هیدروژن، قابلیت حیات و مورفولوژی سلولی، کشت سلولی، گیاه پریوش، متابولیت‌های ثانویه

فهرست مطالب

عنوان.....	صفحه.....
فصل اول	
کلیات و اهداف	۱
۱-۱- گیاه پریش	۱
۱-۱-۱- ویژگی‌های سیستماتیک و مورفولوژیکی گیاه پریش	۱
۲-۱-۱- ویژگی‌های اکولوژیکی و پراکنش جغرافیایی	۲
۳-۱-۱- ارزش دارویی و اقتصادی گیاه پریش	۲
۲-۱- تنش اکسیداتیو در گیاهان	۳
۱-۲-۱- فاکتورهای ایجادکننده تنش اکسیداتیو	۳
۲-۲-۱- مکان‌های تولید ROS در گیاهان	۴
۳-۲-۱- اثرات مخرب ROS در گیاهان	۴
۴-۲-۱- تنظیم غلظت ROS در سلول‌های گیاهی	۵
۵-۲-۱- مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی	۵
۱-۵-۲-۱- سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی	۵
۲-۵-۲-۱- سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانت‌های غیرآنزیمی	۷
۳-۱- متابولیت‌های ثانویه گیاهی	۹
۱-۳-۱- آلکالوئیدها	۱۰
۲-۳-۱- فنل‌ها	۱۰
۱-۲-۳-۱- فلاونوئیدها	۱۱
۴-۱- کشت سلولی و تولید متابولیت‌های ثانویه	۱۱
۵-۱- تنش و تولید متابولیت ثانویه در گیاه پریش	۱۳
۱-۵-۱- تنش فلزات سنگین	۱۳

۱۴	۱-۵-۲- تنش خشکی و کم آبی
۱۴	۱-۵-۳- هورمون‌ها
۱۴	۱-۶- تنش پراکسید هیدروژن
۱۵	۱-۷-۱- منابع اصلی تولیدکننده پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی
۱۶	۱-۷-۲- نقش پراکسید هیدروژن در پاسخ گیاه به تنش‌ها
۱۷	۱-۷-۳- انتقال سیگنال توسط پراکسید هیدروژن
۱۸	۱-۷-۴- تاثیر پراکسید هیدروژن بر پروتئین‌ها و آنزیم‌ها
۱۹	۱-۷-۶- نقش پراکسید هیدروژن در بیان ژن‌های دفاعی
۱۹	۱-۷-۷- نقش پراکسید هیدروژن در سنتز متابولیت‌های ثانویه در گیاه پریش
۲۰	۱-۸- مروری بر مطالعات گذشته
۲۲	۱-۹- اهداف پایان‌نامه
	فصل دوم
۲۵	مواد و روش‌ها
۲۵	۱-۲- مواد گیاهی و شرایط کشت
۲۵	۲-۱-۱- تهیه بذر
۲۵	۲-۱-۲- کشت بذر
۲۶	۲-۱-۳- القا کالوس
۲۷	۲-۱-۴- کشت سوسپانسیون سلولی
۲۸	۲-۱-۴-۱- تیمار کشت سوسپانسیون سلولی
۲۹	۲-۱-۴-۲- بررسی توان زیستی سلول‌ها
۳۰	۲-۱-۵- بررسی تغییرات مورفولوژیکی با استفاده از رنگ‌آمیزی فلورسانس
۳۱	۲-۱-۶- تیمار کشت کالوس
۳۱	۲-۲- اندازه‌گیری تست‌های بیوشیمیایی

۳۱	۱-۲-۲- بررسی نمایه پروتئین‌ها با روش SDS-PAGE
۳۳	۲-۲-۲- اندازه‌گیری میزان اسید آمینه پرولین
۳۴	۳-۲-۲- تعیین میزان پراکسیداسیون لیپید
۳۵	۴-۲-۲- سنجش و اندازه‌گیری پروتئین
۳۶	۵-۲-۲- اندازه‌گیری آنزیم‌های اکسیدانی
۳۸	۶-۲-۲- سنجش محتوی پراکسید هیدروژن
۳۸	۷-۲-۲- اندازه‌گیری آلکالوئید کل
۴۰	۸-۲-۲- اندازه‌گیری فلاونوئید کل
۴۰	۹-۲-۲- اندازه‌گیری میزان فنل کل
۴۱	۱۰-۲-۲- اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدان کل
۴۲	۳-۲- آنالیز نتایج

فصل سوم

۴۴	نتایج
۴۴	۱-۳- رشد و تکثیر سلول‌های کالوس
۴۵	۲-۳- اثر پراکسید هیدروژن بر توانایی زیستی سلول‌های کالوس
۵۰	۳-۳- انتخاب غلظت برای ادامه مطالعه
۵۱	۴-۳- بررسی مورفولوژی سلول‌های تیمار شده
۵۴	۵-۳- بررسی تغییرات پروفیل پروتئینی
۵۶	۶-۳- اثر پراکسید هیدروژن بر تغییرات بیوشیمیایی
۵۶	۱-۶-۳- اثر پراکسید هیدروژن بر محتوی پرولین کالوس گیاه پرپوش
۵۶	۲-۶-۳- اثر پراکسید هیدروژن بر مقدار مالون‌دی‌آلدئید کالوس برگ گیاه پرپوش
۵۶	۳-۶-۳- اثر پراکسید هیدروژن بر مقدار پروتئین کل
۵۷	۴-۶-۳- اثر پراکسید هیدروژن بر فعالیت آنزیم‌ها

- ۵۹-۶-۳ اثر پراکسید هیدروژن بر محتوی پراکسید هیدروژن درون سلولی کالوس گیاه پرپوش ۵۹
- ۶۰-۶-۳ اثر پراکسید هیدروژن بر آلکالوئید کل کالوس گیاه پرپوش ۶۰
- ۶۱-۶-۳ اثر پراکسید هیدروژن بر محتوی فلاونوئید کالوس گیاه پرپوش ۶۱
- ۶۱-۶-۳ اثر پراکسید هیدروژن بر محتوی فنل کالوس گیاه پرپوش ۶۱
- ۶۱-۶-۳ اثر پراکسید هیدروژن بر توان آنتی اکسیدانی بر اساس احیاء آهن کالوس گیاه پرپوش ۶۱

فصل چهارم

- ۶۴..... بحث و نتیجه گیری نهایی ۶۴
- ۱-۴- پراکسید هیدروژن با الگوی وابسته به غلظت و زمان باعث کاهش قدرت زیست سلول های کالوس گیاه پرپوش شد (انتخاب غلظت) ۶۴
- ۲-۴- پراکسید هیدروژن باعث ایجاد تغییرات مورفولوژیکی سلوهای تحت تیمار شد ۶۵
- ۳-۴- پراکسید هیدروژن باعث تغییر در پروفایل پروتئینی کالوس گیاه پرپوش شد ۶۶
- ۴-۴- پراکسید هیدروژن موجب بروز تغییرات بیوشیمیایی در کالوس گیاه پرپوش شد ۶۶
- ۱-۴-۴- پراکسید هیدروژن موجب تغییر در محتوی پرولین، مالون دی آلونید و پروتئین گردید ۶۶
- ۲-۴-۴- پراکسید هیدروژن موجب تغییر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در کالوس گیاه پرپوش ۶۸
- ۲-۴-۴- پراکسید هیدروژن خارجی موجب تغییر در محتوی پراکسید هیدروژن داخل سلولی شد ۷۱
- ۲-۴-۴- پراکسید هیدروژن موجب تغییر در محتوی آلکالوئید کل، فلاونوئید و فنل کل شد ۷۲
- ۲-۴-۴- پراکسید هیدروژن موجب تغییر در توان آنتی اکسیدانی کل در کالوس گیاه پرپوش شد ۷۳
- ۷۳..... ۸- نتیجه گیری کلی ۷۳
- ۷۴..... پیشنهاداتها ۷۴
- ۷۵..... پیوستها ۷۵
- ۹۲..... منابع ۹۲
- ۱۰۱..... چکیده انگلیسی ۱۰۱

پیوست

- پیوست ۱- محیط کشت هوگلند ۷۶
- پیوست ۲- محیط کشت MS ۷۷
- پیوست ۳- محلول سوسپانسیون ۷۸
- پیوست ۴- ساخت محلول های تیمار پراکسید هیدروژن ۷۸
- پیوست ۵- نحوه شمارش سلول ۷۹
- پیوست ۶- تهیه ی فسفات بافر سالین⁻ PBS ۷۹
- پیوست ۷- روش تهیه محلول تریپان بلو ۰/۴ درصد ۸۰
- پیوست ۸- روش تهیه محلول MTT ۸۰
- پیوست ۹- محلول لآوری ۸۰
- پیوست ۱۰- بافر نمونه (5X) الکتروفورز ۸۰
- پیوست ۱۱- ترکیبات ژل جدا کننده و متراکم کننده ۸۰
- پیوست ۱۲- محلول رنگ کوماسی بلو ۸۱
- پیوست ۱۳- محلول رنگبر ۸۱
- پیوست ۱۴- محلول اسیدسولفوسالسیلیک ۰/۳٪ ۸۱
- پیوست ۱۵- معرف نین هیدرین ۸۱
- پیوست ۱۶- منحنی استاندارد پرولین ۸۲
- پیوست ۱۷- محلول تری کلرواستیک اسید ۰/۱٪ ۸۲
- پیوست ۱۸- محلول تری کلرواستیک اسید ۰/۲٪ حاوی تیوباربیتیک اسید ۰/۵٪ ۸۲
- پیوست ۱۹- معرف فولین سیوکالتیو ۸۳
- پیوست ۲۰- منحنی استاندارد پروتئین ۸۳
- پیوست ۲۱- محلول BSA (استاندارد لآوری) ۸۳
- پیوست ۲۲- مواد مورد نیاز جهت اندازه گیری پروتئین کل ۸۳

- پیوست ۲۳- تهیه بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی مولار ۸۴
- پیوست ۲۴- بافر سدیم فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار ۸۴
- پیوست ۲۵- محلول واکنش سوپراکسید دیسموتاز ۸۴
- پیوست ۲۶- بافر پتاسیم فسفات ۲۵ میلی مولار ۸۴
- پیوست ۲۷- محلول گایاکول ۱۸ میلی مولار ۸۵
- پیوست ۲۸- محلول H_2O_2 ۸۵
- پیوست ۲۹- منحنی استاندارد پراکسید هیدروژن ۸۵
- پیوست ۳۰- محلول اسید سولفوریک ۵ % ۸۵
- پیوست ۳۱- معرف دراژندورف (DR) ۸۵
- پیوست ۳۲- محلول دی سدیم دی سولفید ۱ % ۸۵
- پیوست ۳۳- محلول تیوره ۳ % ۸۶
- پیوست ۳۴- منحنی استاندارد آلکالوئید ۸۶
- پیوست ۳۵- محلول نترات سدیم ۵ % ۸۶
- پیوست ۳۶- محلول کلرید آلومینیوم ۱۰ % ۸۶
- پیوست ۳۷- منحنی استاندارد کاتچین ۸۷
- پیوست ۳۸- محلول سدیم کربنات ۰.۱ % ۸۷
- پیوست ۳۹- منحنی استاندارد گالیک اسید ۸۷
- پیوست ۴۰- محلول واکنش FRAP ۸۸
- پیوست ۴۱- منحنی استاندارد FRAP ۸۸
- پیوست ۴۲- جدول آنالیز واریانس درصد توانایی زیستی به روش رنگ آمیزی تریپان بلو ۸۹
- پیوست ۴۳- جدول آنالیز واریانس تعداد سلول های زنده کالوس به روش MTT ۸۹
- پیوست ۴۴- جدول آنالیز واریانس اثر تیمار پراکسید هیدروژن بر قطر هسته ۸۹

- پیوست ۴۵- جدول آنالیز واریانس پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و پروتئین ۹۰
- پیوست ۴۶- جدول آنالیز واریانس آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز ۹۰
- پیوست ۴۷- جدول آنالیز واریانس پراکسید هیدروژن درون سلولی، آلکالوئید، فلاونوئید، فنل ۹۰
- پیوست ۵۲- منحنی استاندارد MTT ۹۰

فهرست اشکال

- شکل ۱-۱- مسیر احیاء اکسیژن ۴
- شکل ۲-۱- حذف پراکسید هیدروژن توسط آسکوربیک اسید ۸
- شکل ۳-۱- اکسیداسیون پراکسید هیدروژن توسط گلوکاتینون ۹
- شکل ۴-۱- فرمول ساختاری پراکسید هیدروژن ۱۵
- شکل ۵-۱- تولید پراکسید هیدروژن با دریافت الکترون توسط مولکول اکسیژن ۱۵
- شکل ۶-۱- اکسیداسیون سوپسترا و تولید پراکسید هیدروژن ۱۶
- شکل ۷-۱- تولید پراکسید هیدروژن در سلول گیاهی ۱۶
- شکل ۸-۱- نقش مرکزی پراکسید هیدروژن در پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی ۱۸
- شکل ۹-۱- تنظیم رونویسی ژن توسط پراکسید هیدروژن ۲۰
- شکل ۱-۲- کشت گلدانی گیاه پرپوش در گلخانه ۲۴
- شکل ۲-۲- هود لامینار و وسایل مربوطه برای تهیه کالوس گیاه پرپوش ۲۴
- شکل ۳-۲- ظرف کشت حاوی کالوس‌های تهیه شده ۲۷
- شکل ۴-۲- انجام کشت سوسپانسیون سلولی ۲۸
- شکل ۵-۲- آماده‌سازی سلول‌ها برای انجام آزمایش ۲۹
- شکل ۶-۲- ساختار مولکولی هورمونت و آکریلین‌اورنژ ۳۱
- شکل ۱-۳- مراحل رشد سلول‌های کالوس طی واکشت‌های مختلف ۴۵
- شکل ۲-۳- سلول‌های رنگ‌آمیزی شده با رنگ فلوروسنت هورمونت ۵۲

شکل ۳-۳- سلول‌های رنگ‌آمیزی شده با رنگ فلوروسنت آکریدین اورنژ. ۵۳.....

شکل ۴-۳: باندهای پروتئینی حاصله روی ژل الکتروفورزیس (SDS-PAGE 12%). ۵۵.....

فهرست جداول

جدول ۱-۲ ترکیبات مورد استفاده در ژل الکتروفورز SDS-PAGE ۳۲.....

جدول ۱-۳- مقایسه میانگین درصد توانایی زیستی سلول‌های کالوس به روش رنگ‌آمیزی تریپان بلو

۴۶..... (one way ANOVA, Duncan test)

جدول ۲-۳- مقایسه میانگین تعداد سلول‌های زنده به روش MTT (one way ANOVA, Duncan test) ۴۹۰.

جدول ۳-۳- مقایسه میانگین محتوی پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و پروتئین کل ۵۷.....

جدول ۴-۳: مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ۵۹.....

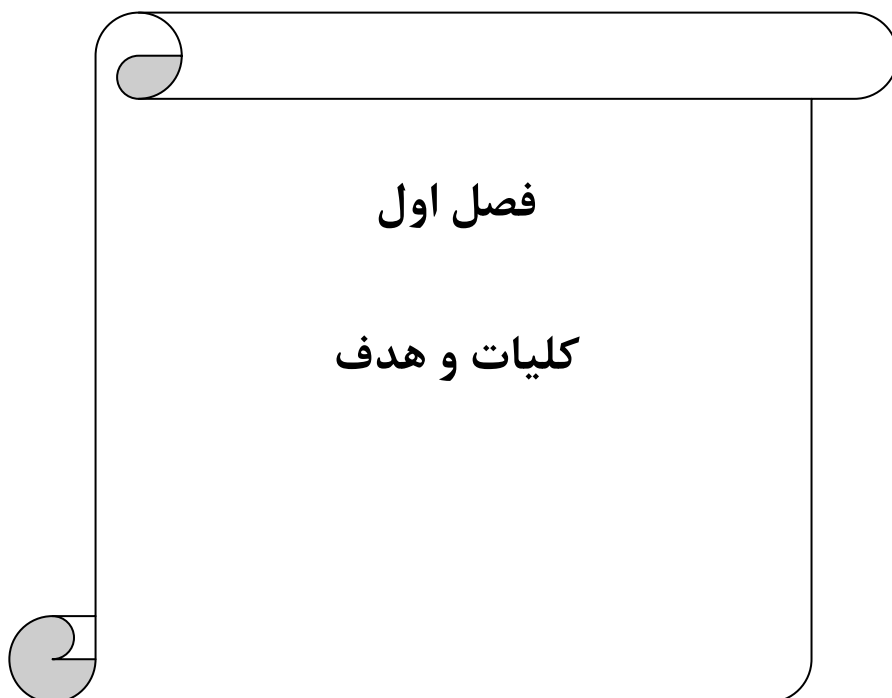
جدول ۵-۳- مقایسه میانگین محتوی آلکالوئید کل، فلاونوئید و فنل کل ۶۲.....

فهرست نمودار

نمودار ۱-۳- مقایسه میانگین قطر هسته (μM) کالوس گیاه پرپوش، شش روز پس از تیمار ۵۱.....

نمودار ۲-۳- مقایسه میانگین پراکسید هیدروژن درون سلولی ۶۰.....

Ascorbate peroxidase	APX
2,4-Dichloro-phenoxy acetic acid	2,4-D
Catalase.....	CAT
Hypersensitive response	HR
Hydrogen peroxide.....	H ₂ O ₂
Nitro Blue Tetrazolium.....	NBT
Malondialdehyde.....	MDA
Murashige and Skoog.....	MS
Peroxidase.....	POX
Programmed cell death.....	PCD
Prolin dehydrogenase	PDH
Reactive oxygen species	ROS
Superoxide dismutase.....	SOD
Guaiacol peroxidase	GPX
Abscisic acid.....	ABA
Superoxide radical.....	O ₂ ⁻
Monodehydroascorbate reductase.....	MDHAR
Monodehydroascorbate	MDHA
Ascorbate peroxidase	ASA
Singlet oxygen.....	¹ O ₂
Hydrogen peroxide.....	H ₂ O ₂
Ferric Reducing Antioxidant Power.....	FRAP
Bovine serum albumin.....	BSA
Murashige and Skoog.....	MS
Dimethyl sulfoxid.....	DMSO
Phosphate buffered saline.....	PBS
Sodium dodesyle sulfate- polyacrylamide gel electrophoresis	SDS-PAGE



فصل اول

کلیات و اهداف

۱-۱- گیاه پریوش (*Catharanthus roseus*)

۱-۱-۱- ویژگی‌های سیستماتیکی و مورفولوژیکی

رده: Gentianales

راسته: Gentianales

خانواده: Apocynaceae

جنس: *Catharanthus*

گونه: *roseus*

جنس *Catharanthus* از خانواده Apocynaceae (خرزهره) دارای ۸ گونه مختلف است؛ که از این ۸ گونه، گونه *Catharanthus pusillus* بومی هند و بقیه بومی ماداگاسکار می‌باشند. عدد کروموزومی در همه گونه‌ها $2n = 16$ است. گیاه *Catharanthus roseus* با نام انگلیسی Periwinkel یک گونه‌ی شناخته شده از این جنس است. نام فارسی آن پروانش یا پریوش می‌باشد. این گیاه دارای سه واریته شامل آلبا (*var. alba*) با گل سفید، روزئوس (*var. roseus*) با گل صورتی و آسیلاتا (*var. acillata*) با گل‌های سفید و لکه‌های ارغوانی در مرکز می‌باشد (۱).

گیاه پریوش، گیاهی بوته‌ای یا علفی با ریشه‌ای به طول ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متر، دارای ساقه‌ای استوانه‌ای و مستقیم که قسمت فوقانی آن انشعابات بیشتری دارد. برگ‌های صاف، براق و تخم‌مرغی شکل تا مستطیلی به طول ۲/۵ تا ۹ سانتیمتر و پهنای ۱ تا ۳/۵ سانتی‌متر، با رگبرگ کم رنگ و دمبرگ کوتاه به اندازه ۱ تا ۱/۸ سانتی‌متر، آرایش برگی متقابل، با گل‌های سفید و صورتی پنج گلبرگی و میوه استوانه‌ای شکل که دانه‌های سیاه رنگ در داخل آن قرار گرفته‌اند. میوه‌ها پس از رسیدن با یک شکاف طولی باز شده و بذرها در داخل آن بیرون می‌ریزد. ارتفاع گیاه بالغ بر ۳۰ سانتی‌متر تا ۱ متر متغیر و قطر تاج آن ۰/۴ متر است (۱).

۱-۱-۲- ویژگی‌های اکولوژیکی و پراکنش جغرافیایی

گیاه پریوش در اوایل بهار کشت می‌شود و زمان گلدهی آن از اواخر بهار تا اواخر تابستان می‌باشد. تکثیر آن از طریق بذر صورت می‌گیرد. پریوش تنها گونه منحصر به فرد از خانواده آپوسیناسه می‌باشد که هر دو نوع گرده‌افشانی مستقیم و غیرمستقیم را انجام می‌دهد. پریوش گیاهی آفتاب‌پسند می‌باشد اما در محیط‌هایی با سایه کم هم بخوبی رشد می‌کند که در بسیاری از باغچه‌های خانگی نیز یافت می‌شود و در محیط‌های گرم و نواحی گرمسیری با دما بالاتر از ۷-۵ درجه سانتی‌گراد، نگهداری و کشت می‌شود. گیاه پریوش در مناطق گرمسیری کشور، گیاهی درختچه‌ای چند ساله و در مناطق سردسیری گیاهی یک ساله است. موطن اصلی آن مناطق حاره‌ای و گرمسیری، جنوب هند، اندونزی و ماداگاسکار می‌باشد ولی در کشورهای آمریکا، آلمان، مجارستان، ایتالیا، انگلستان، هندوستان، روسیه و فلسطین در سطوح وسیع کشت می‌شود (۱).

۱-۱-۳- ارزش دارویی و اقتصادی گیاه پریوش

گیاه پریوش یکی از مهمترین گیاهان دارویی است که در مزارع مناطق گرمسیری به عنوان منبعی غنی از ترکیبات شیمیایی آلکالوئیدی کشت می‌شود (۲). تمام بخش‌های این گیاه حتی دانه دارای آلکالوئید است. حدود ۱۳۰ نوع ایندول آلکالوئید ترپنوئیدی (TIAS) از قبیل سکولوگانین، تریپتامین، سرپنتین، کاتارانتین، آجمالیسین، وین‌بلاستین، وین‌کریستین، وین‌دولین در گیاه پریوش شناخته شده