بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه اراک

دانشکده علوم پایه

کارشناسی ارشد زیست شناسی (فیزیولوژی گیاهی)

تأثیر فلز کادمیوم بر نمایه پروتئینی، میزان کل فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و ترکیبات فنلی در کالوس گیاه پریوش

پژوهشگر

هاجر مرادی پور

اساتید راهنما

دکتر محمد حسین آبنوسی

دکتر محمدرضا امیرجانی

استاد مشاور

دکتر مجید مهدیه

زمستان ۱۳۹۲

تأثیر فلز کادمیم بر نمایه پروتئینی، میزان کل فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و ترکیبات فنلی در کالوس گیاه پریوش

توسط:

هاجر مرادی پور

پایان نامه

ارائه شده به مدیریت تحصیلات تکمیلی به عنوان بخشی از فعالیت های تحصیلی

لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته زیست شناسی-گرایش فیزیولوژی گیاهی

از

دانشگاه اراک

اراک-ایران

ارزیابی و تصویب شده توسط کمیته پایان نامه با درجه:.....

دکتر محمدحسین آبنوسی (استاد راهنما اول) ..... دانشیار

دکتر محمد رضا امیر جانی(استاد راهنما دوم) ..... استادیار

دکتر مجید مهدیه نجف آبادی (استاد مشاور) ..... استادیار

دکتر منصور قربانپور (داور) ..... استادیار

دی ماه ۱۳۹۲

الهی!

تو گفتی به حق و چه صادقانه و صمیمانه که:

ای ایمان آورندگان! یاد خدا کنید، زیاد و همیشه و هر آن و هر لحظه و تسبیح و تنزیه او کنید هر صبح و شام.

گفتنی به حق و چه بزرگانه و دلسوزانه که:

یادم کنید تا از یادتان نبرم، بخوانیدم تا دست گیرم، رو سوی من کنید تا به سویتان بیایم.

پس تو فرمان یاد خویش دادی و تو نیز وعده وفا فرمودی.

هم یاد کردن ما تو را، لطف توست و هم یاد کردن تو، ما را.

فرمودی که حضورت را در دلمان مستدام کنیم تا تو نیز از یادمان نبری.

ما عامل فرموده های توئیم، ما به یاد تو زیست می کنیم، تو نیز از ابر وعده خویش باران وفا ببار

و ما را در نظر آر.

ای مهربانترین مهربانان!

شایسته‌ترین مراتب سپاس و قدردانی خود را به اساتید بزرگوارم جناب آقای دکتر آبنوسی و جناب آقای دکتر امیرجانی تقدیم می‌نمایم که در تمام مراحل تحصیل اینجانب را در مسیر پروژه تحقیقاتی یاری نمودند. بی‌شک موفقیت در طی مسیر تحقیقاتی و به انجام رسیدن این پایان‌نامه مرهون تکیه بر علم و درایت خاص ایشان می‌باشد. با آرزوی سلامتی و توفیق روز افزون از درگاه باری‌تعالی برای اساتید فرزانه‌ام.

با سپاس فراوان از استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر مهدیه که مشاوره این پایان‌نامه را به عهده گرفتند، و درس‌های فراوانی در عرصه علم و اخلاق از ایشان آموخته‌ام که انشاءالله توشه راه آینده من خواهد بود.

والاترین مراتب سپاس را به خانواده‌ام تقدیم می‌کنم که همواره پشتیبان و پناه من در روزهای سخت و شیرین زندگی‌ام بوده‌اند.

چکیده

تأثیر فلز کادمیوم بر نمایه پروتئینی، میزان کل فلاونوئیدها، آلکالوئیدها و ترکیبات فنلی در کالوس گیاه پریوش

مقدمه: پریوش (*Catharanthus roseus*) گیاهی است دارویی، که به دلیل وجود ترکیبات دارویی و آلکالوئیدها مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به اینکه نیترات کادمیوم منجر به تنش اکسیداتیوی می‌شود. لذا در این تحقیق اثر نیترات کادمیوم 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 واکشت و از کالوس‌های واکشت دوم برای تهیه کشت سوسپانسیون سلولی استفاده شد. برای سنجش توانایی زیستی، سلول‌ها با دوزهای مختلف نیترات کادمیوم (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ میلی مولار) 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 رنگ آمیزی هوخست و آکریدین‌اورنژ، تغییرات پروفایل پروتئینی توسط روش SDS-PAGE، و هم‌چنین تغییر در محتوی پرولین، پروتئین کل، مالون دی آلدئید، ترکیبات فنلی، فلاونوئید کل و آلکالوئید کل توسط روش‌های بیوشیمیائی بررسی شد. ضمنا فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نیز اندازه گیری و داده‌ها توسط روش آماری آنالیز و ($p<0.05$) به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. **نتایج:** مقایسه داده های بدست آمده از رنگ آمیزی تریپان بلو و رنگ سنجی MTT نشان دهنده تفاوت معنی دار ($p<0.05$) میانگین توانایی زیستی این سلول‌ها به صورت وابسته به دوز در مقایسه با گروه کنترل بود. نیترات کادمیوم 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 مالون دی‌آلدئید 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 الذکر، پروفیل پروتئینی در بافت کالوس تیمار شده نیز در مقایسه با کنترل دستخوش تغییراتی از جمله افزایش بیان باند پلی‌پپیتیدی ۱۰۳ کیلو دالتون و ظهور باند ۱۱۶ کیلودالتونی شد. **نتیجه گیری:** تنش اکسیداتیو ناشی از حضور نیترات کادمیوم موجب تغییر در مورفولوژی و کاهش قدرت زیستی سلول‌ها شد. علاوه بر این تنش نیترات کادمیوم همراه با پاسخ شیمیائی سلول در جهت کاهش اثر اکسیداتیو نیترات کادمیوم بود. نکته قابل توجه در این پژوهش افزایش غلظت متابولیت‌های ثانویه در اثر تیمار با نیترات کادمیوم بود، که احتمالا می‌توان از این اثر در جهت تولید بیشتر این ترکیبات در کالوس گیاه پریوش استفاده کرد، البته از طرف این تیم تحقیقاتی، تحقیقات بیشتر در این زمینه پیشنهاد می‌گردد.

کلمات کلیدی: گیاه پریوش، کشت سلولی، نیترات کادمیوم، قابلیت حیات و مورفولوژی سلولی، متابولیت‌های ثانویه

فهرست مطالب

عنوان ..... صفحه

فصل اول

کلیات و اهداف ۲

۱-۱- گیاه پریوش ۲

۱-۱-۱-خصوصیات سیستماتیکی و مورفولوژیکی گیاه پریوش ۲

۱-۱-۲- ویژگی های اکولوژیکی و پراکنش جغرافیایی ۴

۱-۱-۳- اهمیت داروئی و اقتصادی گیاه پریوش ۵

۱-۲- تنش اکسیداتیو در گیاهان ۶

۱-۲-۱- فاکتورهای ایجاد کننده تنش اکسیداتیو ۷

۱-۲-۲- مکان‌های تولید ROS در گیاهان ۷

۱-۲-۳- اثرات مخرب ROS در گیاهان ۷

۱-۳-فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۸

۱-۳-۱- مکانیسم‌های دفاعی آنتی اکسیدانت‌های پالایشگر ROS ۸

۱-۳-۲- آنتی اکسیدانت‌های آنزیمی ۹

الف)- آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) ۹

ب- آنزیم کاتالاز (CAT) ۱۰

ج- آنزیم پراکسیداز (POX) ۱۰

۱-۳-۳- آنتی اکسیدانت‌های غیر آنزیمی ۱۰

الف- پرولین ۱۰

۱-۳- ۴-متابولیت‌های ثانویه گیاهی ۱۱

الف- آلکالوئیدها ۱۳

ب- ترکیبات فنلی ۱۴

پ- فلاونوئیدها ۱۵

۱-۴- عوامل موثر بر تولید متابولیت‌های ثانویه ۱۵
- تنش خشکی و کم آبی ۱۶
- هورمون‌ها ۱۶
- تنش پراکسید هیدروژن ۱۷
- تنش فلزات سنگین ۱۷
۱-۵- فلزات سنگین ۱۸
۱-۵-۱- آلودگی عناصر سنگین در محیط زیست. ۱۸
۱-۵-۲- تولید انواع اکسیژن واکنش‌گر در تنش عناصر سنگین. ۱۹
۱-۵-۳- علل ایجاد انواع اکسیژن واکنش‌گر در تنش عناصر سنگین ۱۹
۱-۶- تاثیر عناصر سنگین بر گیاهان ۲۰
۱-۶-۱- مکانیسم سمیت عناصر سنگین بر گیاهان ۲۰
۱-۶-۱-۱- تاثیر عناصر سنگین بر مورفولوژی و آناتومی برگ ۲۰
۱-۶-۲- تاثیر عناصر سنگین بر خصوصیات فتوشیمیایی ۲۱
۱-۶-۲-۱- تاثیر عناصر سنگین بر پروتئین‌ها ۲۱
۱-۶-۲-۲- تاثیر عناصر سنگین بر میزان آلکالوئیدها ۲۱
۱-۶-۲-۳- تاثیر عناصر سنگین بر پرولین ۲۱
۱-۷- عنصر کادمیوم ۲۲
۱-۷-۱- ویژگی‌های کادمیوم ۲۲
۱-۷-۲- پراکنش کادمیوم ۲۳
۱-۷-۳- تاثیر کادمیوم بر روی مورفولوژی و آناتومی گیاه ۲۳
۱-۷-۴- تاثیر کادمیوم بر متابولیت‌های ثانویه ۲۴
۱-۸- مروری بر مطالعات گذشته ۲۴
۱-۹- اهداف تحقیق ۲۵

فصل دوم

مواد و روش‌ها ۲۸
۲-۱- مواد گیاهی و شرایط کشت ۲۸
۲-۱-۱- تهیه بذر ۲۸
۲-۱-۲- کشت بذر ۲۸
۲-۱-۳- القا کالوس ۲۹
۲-۱-۴- کشت سوسپانسیون سلولی ۳۱
۲-۱-۴-۱- تیمار کشت سوسپانسیون سلولی ۳۱
۲-۱-۴-۲- بررسی توان زیستی سلول‌ها (دوز فایندینگ) ۳۲
الف) بررسی توان زیستی سلول‌ها با روش تریپان بلو ۳۲
ب) بررسی توان زیستی سلول‌ها بر پایه‌ی رنگ سنجی MTT ۳۳
۲-۱-۵- بررسی تغییرات مورفولوژیکی با استفاده از رنگ آمیزی فلورسانس ۳۴
الف) رنگ آمیزی هسته با رنگ فلورسنت هوخست ۳۴
ب) رنگ آمیزی سیتوپلاسم با رنگ فلورسنس اکریدین اورانژ ۳۴
۲-۱-۶- تیمار کشت کالوس ۳۵
۲-۲- اندازه گیری تست‌های بیوشیمیایی ۳۶
۲-۲-۱- بررسی نمایه پروتئین‌ها با روش SDS-PAGE ۳۶
۲-۲-۲- اندازه گیری میزان اسید آمینه پرولین ۳۸
۲-۲-۳- تعیین میزان پراکسیداسیون لیپید ۳۹
۲-۲-۴- سنجش و اندازه‌گیری پروتئین ۴۰
۲-۲-۵- اندازه‌گیری آنزیم‌های اکسیدانی ۴۰
۲-۲-۶- سنجش محتوی پراکسید هیدروژن ۴۳
۲-۲-۷- اندازه‌گیری آلکالوئید کل ۴۳
۲-۲-۸- اندازه‌گیری فلاونوئید کل ۴۵

۲-۲-۹- اندازه‌گیری میزان فنل کل ۴۶
۲-۲-۱۰- اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدان کل ۴۶
۲-۳- آنالیز نتایج ۴۷

فصل سوم

نتایج ۵۰
۳-۱- رشد و تکثیر سلول‌های کالوس ۵۰
۳-۲- اثر نیترات کادمیوم بر توانایی زیستی سلول‌های کالوس (دوز فایندینگ) ۵۲
۳-۲-۱- توانایی زیستی سلول‌ها بر پایه جذب تریپان بلو ۵۲
۳-۲-۲- بررسی حیات سلول بر پایه‌ی رنگ سنجی MTT ۵۳
۳-۳- انتخاب دوز موثر برای ادامه مطالعه ۵۵
۳-۴- بررسی مورفولوژی سلول‌های تیمار شده ۵۶
۳-۵- بررسی تغییرات پروفیل پروتئینی ۶۰
۳-۶- اثر نیترات کادمیوم بر تغییرات بیوشیمیایی ۶۲
۳-۶-۱- اثر نیترات کادمیوم بر محتوی پرولین کالوس گیاه پریوش ۶۲
۳-۶-۲- اثر نیترات کادمیوم بر مقدار مالون دی آلدئید کالوس ۶۲
۳-۶-۳- اثر نیترات کادمیوم بر مقدار پروتئین کل ۶۲
۳-۶-۴- اثر نیترات کادمیوم بر فعالیت آنزیم‌ها ۶۳
۳-۶-۵- اثر نیترات کادمیوم بر محتوی پراکسید هیدروژن درون سلولی ۶۵
۳-۶-۶- اثر نیترات کادمیوم بر آلکالوئید کل کالوس گیاه پریوش ۶۶
۳-۶-۷- اثرنیترات کادمیوم بر محتوی فلاونوئید کالوس گیاه پریوش ۶۷
۳-۶-۸- اثرنیترات کادمیوم بر محتوی فنل کالوس گیاه پریوش ۶۷
۳-۶-۹- اثر نیترات کادمیوم برتوان آنتی‌اکسیدانی بر اساس احیاء آهن ۶۷

فصل چهارم

۴-۱- بحث و نتیجه گیری ۷۰

۴-۲- پیشنهادات ۸۲

پیوست‌ها ۸۳

منابع ۱۱۰

پیوست

پیوست۱- محیط کشت هوگلند..... ۸۴

پیوست۲- محیط کشت MS..... ۸۵

پیوست۳- محلول سوسپانسیون..... ۸۶

پیوست۴- ساخت محلول‌های تیمار نیترات کادمیوم ۸۸

پیوست۵- تهیه‌ی فسفات بافر سالین PBS ۸۶

پیوست۶- روش تهیه محلول تریپان بلو۰/۴درصد ۸۷

پیوست۷- روش تهیه محلول MTT ۸۷

پیوست۸- محلول لاوری ۸۷

پیوست۹- بافر نمونه (5x) الکتروفورز ۸۸

پیوست۱۰- ترکیبات ژل جدا کننده و متراکم کننده ۸۸

پیوست۱۱- محلول رنگ کوماسی بلو ۸۹

پیوست۱۲- محلول رنگبر ۸۹

پیوست۱۳- محلول اسید سولفوسالسیلیک ۳٪..... ۸۹

پیوست۱۴- معرف نین هیدرین ۸۹

پیوست۱۵- منحنی استاندارد پرولین ۹۰

پیوست۱۶- محلول تری کلرواستیک‌اسید ۰/۱٪..... ۹۰

پیوست۱۷- محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰٪ حاوی تیوباربیوتیک اسید ۹۱

پیوست۱۸- معرف فولین سیوکالتیو ۹۱
پیوست۱۹- منحنی استاندارد پروتئین ۹۱
پیوست۲۰- محلول BSA (استانداردلاوری) ۹۲
پیوست۲۱-مواد مورد نیاز جهت اندازه گیری پروتئین کل..... ۹۲
پیوست۲۲- تهیه بافر پتاسیم فسفات۱۰۰ میلی مولار ۹۳
پیوست۲۳- بافر سدیم فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار ۹۳
پیوست۲۴- محلول واکنش سوپراکسیددیسموتاز ۹۳
پیوست۲۵- بافر پتاسیم فسفات۲۵ میلی‌مولار ۹۴
پیوست۲۶-محلول گایاکول۱۸میلی‌مولار ۹۴
پیوست۲۷- محلول H_2O_2 ..... ۹۴
پیوست۲۸- منحنی استاندارد پراکسید هیدروژن ۹۴
پیوست۲۹- محلول اسیدسولفوریک ۵% ۹۵
پیوست۳۰- معرفدراژندورف (DR) ۹۵
پیوست۳۱- محلول دی‌سدیم سولفید ۱% ۹۵
پیوست۳۲- محلول تیوره ۳% ۹۵
پیوست۳۳- منحنی استاندارد آلکالوئید ۹۵
پیوست۳۴- محلول نیترات سدیم ۵% ۹۶
پیوست۳۵- محلول کلریدآلومینیوم ۱۰% ۹۶
پیوست۳۶- منحنی استاندارد کاتچین ۹۷
پیوست۳۷- محلول سدیم کربنات ۱٪ ۹۷
. پیوست۳۸- منحنی استاندارد گالیک اسید ۹۸
پیوست۳۹- محلول واکنش FRAP ۹۸
پیوست۴۰- منحنی استاندارد FRAP ۹۹
پیوست۴۱- مجموع داده های به دست آمده از تست تریپان بلو ۱۰۱

پیوست۴۲- مجموع داده‌های به دست آمده از تست MTT ۱۰۲

پیوست۴۳- جدول آنالیز واریانس درصد توانایی زیستی با رنگ آمیزی تریپان بلو ۱۰۳

پیوست۴۴- جدول آنالیز واریانس تعداد سلول‌های زنده کالوس به روشMTT ۱۰۳

پیوست۴۵- مجموع داده های بدست آمده از پرولین ، مالون دی آلدئید وپروتئین ۱۰۴

پیوست۴۶- جدول آنالیز واریانس پرولین،مالون دی آلدئید و پروتئین شش.....۱۰۴

پیوست۴۷- مجموع داده های بدست آمده از سوپراکسید دیسموتاز،کاتالاز وپراکسیداز ۱۰۵

پیوست ۴۸- جدول آنالیز واریانس آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز،کاتالاز و پراکسیداز ۱۰۵

پیوست۴۹- مجموع داده‌های آلکالوئید، فلاونوئید ،فنل وآنتی‌اکسیدان کل ۱۰۶

پیوست۵۰- جدول آنالیز واریانس پراکسید هیدروژن ، آلکالوئید، فلاونوئید، فنل ۱۰۶

پیوست۵۱- مجموع داده‌های محتوی پراکسید هیدروژن درون سلولی ۱۰۷

پیوست۵۲- جدول آنالیز دوطرفه سلول‌های زنده کالوس گیاه پریوش به روش تریپان بلو ۱۰۸

پیوست۵۳- جدول آنالیز دوطرفه سلول‌های زنده کالوس گیاه پریوش به روش MTT ۱۰۹

فهرست اشکال

شکل ۱-۱- مسیر احیاء اکسیژن..... ۶

شکل۱-۲- فرمول ساختاری پراکسید هیدروژن.....۱۷

شکل۲-۱- کشت گلدانی گیاه پریوش در گلخانه ۲۹

شکل۲-۲- هود لامینار و وسایل مربوطه برای تهیه کالوس گیاه پریوش ۳۰

شکل۲-۳- ظرف کشت حاوی کالوس‌های تهیه شده.....۳۰

شکل۲-۴- انجام کشت سوسپانسیون سلولی ۳۱

شکل۲-۵- آماده سازی سلول‌ها برای انجام آزمایش.....۳۳

شکل۲-۶- دستگاه ELISA-reader ۳۴

شکل۲-۷- ساختار مولکولی هوخست و آکریدین اورنژ ۳۵

شکل۲-۸- دستگاه الکتروفوز مینی ساخت شرکت Bio-Rad کشور آمریکا ۳۶

شکل۳-۱- مراحل رشد سلول‌های کالوس طی واکشت‌های مختلف ۵۱
شکل۳-۲- سلول‌های رنگ آمیزی شده با رنگ فلوروسنت هوخست ۵۸
شکل۳-۳- سلول‌های رنگ آمیزی شده با رنگ فلوروسنت آکریدین اورنژ. ۵۹
شکل۳-۴- باندهای پروتئینی حاصله روی ژل الکتروفورزیس (SDS-PAGE 12%). ۶۱

فهرست جداول

جدول۲-۱- ترکیبات مورد استفاده در ژل الکتروفورز SDS-PAGE ۳۷
جدول۳-۱- مقایسه میانگین درصد توانایی زیستی سلول‌های کالوس به روش تریپان بلو..... ۵۳
جدول۳-۲- مقایسه میانگین تعداد سلول‌های زنده به روش (MTT) ۵۵
جدول۳-۳- مقایسه میانگین اندازه قطر هسته با رنگ فلوروسنت هوخست..... ۵۷
جدول۳-۵- مقایسه میانگین محتوی پرولین، مالون دی آلدئید و و پروتئین کل..... ۶۳
جدول۳-۶: مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های..... ۶۵
جدول۳-۷- مقایسه میانگین پراکسید هیدروژن درون سلولی ۶۸
جدول۳-۸- مقایسه میانگین محتوی آلکالوئید، فلاونوئید و فنل کل ۶۸

فهرست علائم اختصاری

Terpenoid indole alkaloids..... TIA_s
Reactive oxygen species..... **ROS**
Superoxide radical..... $O_2^{\cdot-}$
Hydrogen peroxide **H2O2**
Hydroxyl radical..... HO^-
Program Cell Death..... **PCD**
Superoxide dismutase..... **SOD**
Catalase..... **CAT**
Peroxidase..... **POX**
MTT ..... **[-5/4dimethyl thiazol-2-y1-]-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide**
PBS..... **phosphate buffered saline**

dimethyl sulfoxid..... DMSO

Orange akrydyn..... OA

Sodium dodesyle solfate- polyacrylamide gel electrophoresis..... SDS-PAGE

Amunium per sulphate..... APS

Tetra methyle-ethylen-dy-amide..... TEMED

2,4-Dichloro-phenoxy acetic acid 2,4-D

Murashinge and Skoog..... MS

Hydrogen peroxide H2O2

Nitro Blue Tetrazolium .....NBT

Malondialdehyde..... MDA

Triphenyltetrazolium chloride .....TPTZ

Guaiacol peroxidase.....GPX

Ascorbate peroxidase.....APX

Frrric Reducing Antioxidant Power..... FRAP

Bovine serum albumin..... BSA

Kinetine.....Kin

Indole acetice acid.....IAA

فصل اول

کلیات و هدف

فصل اول

کلیات و اهداف

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

۱-۱-۱- خصوصیات سیستماتیکی و مورفولوژیکی گیاه پریوش:

جنس کاتارانتوس متعلق به خانواده آپوسیناسه (خرزهره) می‌باشد. این جنس شامل ۸ گونه و ۵۰ کولتیوار مختلف است که از این ۸ گونه، گونه *Catharanthus pusillus*, بومی هند می‌باشد و بقیه بومی ماداگاسکار (شرق و جنوب شرق ماداگاسکار) هستند. عدد کروموزومی همه گونه‌های کاتارانتوس 2n=16 است. این گونه‌ها عبارتند از: (۱، ۲)

Catharanthus coriaceus Markgr. Madagascar
Catharanthus lanceus (Bojer ex A.DC.) Pichon. Madagascar
Catharanthus ovalis Markgr. Madagascar
Catharanthus pusillus (Murray) G.Don. Indian subcontinent
Catharanthus roseus (L.) G.Don. Madagascar
Catharanthus scitulus (Pichon) Pichon. Madagascar
Catharanthus trichophyllus (Baker) Pichon. Madagascar
Catharanthus longifolius (Pichon) Pichon. Madagascar

این گونه‌ها بیشر به‌عنوان گیاهان زینتی شناخته شده‌اند، ولی گونه‌های *C. roseus*، *C.trichophyllus* علاوه بر کولتیوارهای زینتی به عنوان گیاهان داروئی شناخته شده‌اند (۳).

گیاه *Catharanthus roseus* با نام انگلیسی *Periwinkel* یک گونه‌ی شناخته شده از این جنس است. نام فارسی آن پروانش یا پریوش (در مازندران به این نام معروف است) می‌باشد. خصوصیات آن از نظر رده بندی گیاهان بدین گونه است:

رده:Magnoliophyta–Dicotyledons

زیر رده:Asteridae

راسته:Gentianales

خانواده:Apocynaceae-Dogbane family

جنس:Catharanthus G.Don-Periwinkle

گونه:roseus

رنگ گل گیاه پریوش بر حسب ارقام مختلف متفاوت است و به رنگ‌های سفید، صورتی، ارغوانی می‌باشد، که در انتهای ساقه اصلی و فرعی بوجود می‌آیند. گیاه پریوش سه واریته دارد که عبارتنداز:

الف: آلبا (var. alba) با گل‌های سفید

ب: روزئوس (var . roseus) با گل‌های صورتی

ج: آسیلاتا (var . acillata) با گل‌های سفید که وسط آنها لکه‌های ارغوانی دیده می‌شود.

طول ریشه اصلی گیاه پریوش ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متر است که دارای انشعابات کمی می‌باشد. این گیاه دارای ساقه‌هایی استوانه‌ای و مستقیم به رنگ سبز است که قسمت فوقانی آن انشعابات بیشتری دارد. برگ‌های آن ساده، براق ، چرمی، تخم مرغی شکل و متقابل است و دمبرگ کوتاهی دارد. میوه استوانه‌ای شکل و دانه‌های سیاه رنگ در داخل آن قرار گرفته‌اند. میوه‌ها پس از رسیدن با یک شکاف طولی باز شده و بذرهای داخل آن بیرون می‌ریزد. ارتفاع گیاه بالغ از ۳۰ سانتی متر تا ۱ متر متغیر و قطر تاج آن ۰/۴ متر است (۴).

۱-۱-۲. ویژگی‌های اکولوژیکی و پراکنش جغرافیایی

زمان کاشت گیاه پریوش اوایل بهار است. ارتفاع بوته آن ۳۰ تا ۵۰ سانتی متر و زمان گلدهی آن از اواخر بهار (خرداد ماه) تا اواخر تابستان (قبل از فصل سرما) است. این گیاه در شرایط آفتاب‌گیر (گرما و نور زیاد) رشد بهتری دارد. رشد گیاه در ۱۰ درجه سانتی گراد متوقف شده و در صفر درجه گیاه می‌میرد. بافت خاک باید از نوع سبک و شنی و حاوی مقدار مناسب عناصر غذایی باشد. این گیاه به گرما و کم آبی مقاوم است. گیاه پریوش را با هر گیاهی می‌توان به تناوب کشت کرد، ولی بهتر است این عمل با گیاه وجینی انجام گیرد. تناوب کشت با گیاهان خانواده بادمجان توصیه نمی‌شود. زیرا این گیاه به سهولت به بیماری‌های ویروسی مبتلا می‌شود و گیاه پریوش به اکثر علف‌کش‌ها حساس است. افزودن ۴۰ تا ۵۰ میلی گرم در هکتار ازت و ۶۰ تا ۸۰ کیلوگرم در هکتار اکسید فسفر و ۴۰ تا ۶۰ کیلوگرم در هکتار اکسید پتاس در فصل پاییز به خاک سبب تسریع در رویش و افزایش عملکرد می‌شود (۵). تکثیر گیاه پریوش از طریق بذر و یا قلمه‌زنی امکان‌پذیر است، و به شرایط غرقابی حساس می‌باشد. بذرها تا زمان جوانه‌زنی در تاریکی قرار داده می‌شوند. برای نگهداری بیشتر بذرها، می‌توان آن‌ها را خشک کرده و پس از بسته‌بندی در دمای زیر صفر قرار داد.

مقدار چربی بذر گیاه پریوش حدود ۳۴/۴٪ و مقدار پروتئین آن ۱۹/۴٪ می‌باشد. گیاه پریوش در مناطق گرمسیری کشور، گیاهی درختچه‌ای چندساله و در مناطق سردسیری گیاهی یک‌ساله 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.

گل‌های این گیاه که از پنج گلبرگ تشکیل شده‌اند، قادر به خود گرده‌افشانی و نیز سازش با گرده‌افشانی توسط حشرات هستند. به‌علاوه مشاهده شده بذر گیاه پریوش توسط مورچه‌ها مورد تخریب قرار می‌گیرد. حساسیت بالای گیاه پریوش به شرایط نامساعد محیطی موجب شده تا این گیاه قادر به رشد طبیعی در بسیاری از نقاط دنیا نباشد. ابتدا بیشتر دو رنگ صورتی و قرمز کشت می‌شد ولی امروزه گل‌های صورتی و سفید آن به دلیل اهداف دارویی در اکثر نقاط دنیا پرورش داده می‌شود (۶، ۴).

۱-۱-۳- اهمیت داروئی و اقتصادی گیاه پریوش

گیاهان دارویی با تولید متابولیت‌های ثانویه می‌توانند عوارض جانبی مختلف ناشی از شیمی درمانی را به حداقل برسانند و هم‌چنین در عمر طولانی و رسیدن به سلامت عمومی مفید باشند (۷). گیاه پریوش یک گیاه دارویی مهم است، که به طور عمده برای بدست آوردن آلکالوئیدهایی مانند وین بلاستین و وین کریستین که فعالیت‌های ضد سرطانی دارند کشت می‌شوند (۸). ترکیبات این گیاه علاوه بر فعالیت ضد سرطانی دارای فعالیت ضد میکروبی، ضد قارچی، ضد دیابت، و ضد ویروس می‌باشد. گیاه پریوش علاوه بر ۱۳۰ نوع آلکالوئید هم چنین حاوی ترکیبات فنلی مانند: تانن، ساپونین، فلاونوئیدها، ایزوفلاونوئیدها و ترپنوئیدها می‌باشد (۹). اثرات داروئی برخی از ترکیبات موجود در گیاه پریوش در زیر توضیح داده شده است.

۱. وین کریستین، این ترکیبات به دیمرهای توبولین متصل شده و از اجتماع ساختارهای میکروتوبولی ممانعت کرده که در نهایت منجر به تخریب آرایش میکروتوبول‌های میتوزی در مرحله متافازی می‌شود. بنابراین آلکالوئیدهای وین کریستین روی سرعت تقسیم انواعی از سلول‌ها از جمله سلول‌های سرطانی، سلول‌های اپیتلیال روده و مغز استخوان تاثیر می‌گذارند (۱۰).

۲. وین بلاستین، این ترکیبات همانند وین کریستین ترکیبات ضد میکروتوبولی می‌باشد که برای درمان انواع خاصی از سرطان‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱).

۳. آلکالوئید یوهیمبین، نیز در گیاه پریوش یافت می‌شود که داروی محرک و تقویت کننده غرایز جنسی می‌باشد (۷).

۴. فلاونوئیدها، یک گروه از ترکیبات پلی‌فنولیک می‌باشند که، فعالیت آنتی اکسیدانی داشته و خطر ابتلا به بسیاری از بیماری‌ها را کاهش می‌دهند این ترکیبات با جلوگیری از فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن از پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری می‌کنند. علاوه بر این، فلاونوئیدها نقش بازدارندگی در مراحل مختلف رشد و توسعه تومور، اثرات ضد التهاب، فعالیت‌های ضد انگل، ضد باکتری، ضد ویروس و ضد قارچی را دارند (۱۲).

۵. ایزوفلاونوئیدها یک نوع فیتواستروژن می‌باشند که اغلب در حبوبات وجود دارند، اما این ترکیبات در خانواده آپوسیناسه نیز گزارش شده‌اند و برای برهمکنش‌های گیاه-میکروب ضروری هستند. مطالعات بر روی انسان‌ها،