

چکیده

پروانش (*Catharanthus roseus*) یکی از مهمترین گیاهان دارویی و از خانواده آپوسیاناسه بوده که قادر به تولید آلکالوئیدهای ایندولی بسیار ارزشمندی همچون وینکریستین و وینبلاستین می باشد. مطالبات روزافزون این ترکیبات به عنوان عامل ضدسرطان خون سبب اهمیت فوق العاده آن شده است. با کشت ریشه مویین که نتیجه تراریزش باکتری *Agrobacterium rhizogenes* است، می توان در زمان کوتاهی به حجم قابل توجهی از ریشه های توسعه یافته به عنوان منبع متابولیت های ثانویه دست یافت. این مطالعه با هدف بررسی عوامل موثر در تولید، حفظ، استقرار و رشد ریشه های مویین گیاه پروانش به منظور افزایش تولید وینکریستین صورت گرفته است. چهار سویه باکتری 2659, 10266, 15834, A4 و سه ریزنمونه برگ گیاهچه گلدانی، برگ و ساقه گیاهچه این ویترو در میزان تراریزش بررسی شدند. بهترین سویه و ریزنمونه انتخاب و ادامه بررسی ها نظیر تاثیر محیط کشت باکتری و محیط هم کشتی بر روی آن ها انجام شد. تایید تراریختی با آغازگرهای ژن *rolC* و ژن *vir* انجام شد. ریشه های تراریخته انتخابی در سه شرایط محیط جامد، محیط مایع با شیکر و محیط مایع بدون شیکر کشت شدند. برای بررسی افزایش میزان وینکریستین از HPLC استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان تولید کالوس و ریشه مویین در سویه ی 10266 و ریزنمونه ی برگ این ویترو بود. محیط هم کشتی 1/2B5 برای افزایش درصد ظهور ریشه های مویین مناسب تر بود. همچنین رشد باکتری در محیط کشت YMB+MS، تاثیر بهتری در ظهور ریشه های مویین داشت. بعلاوه ریشه های مویین از رشد خوبی در محیط مایع بدون حرکت برخوردار بودند. نتایج HPLC نشان داد که وینکریستین ریشه های مویین دو و نیم برابر ریشه طبیعی و یک و نیم برابر اندام هوایی گیاه نرمال بود. در مجموع نتایج تحقیق حاضر نشان داد که سویه باکتری، نوع ریزنمونه و محیط کشت می توانند بر تولید ریشه های مویین تاثیر گذار باشند که در صورت بهینه سازی شرایط می توان به افزایش ماده موثره ی وینکریستین دست یافت.

کلید واژه ها: ریشه مویین، سویه باکتری، محیط هم کشتی، وینکریستین، HPLC

سپاسگزاری

بیکران عشق و سپاسم را تقدیم به دو موهبت الهی، پدر و مادرم، میکنم که برای تشکر از آنها هیچ قدری نمی‌یابم. همچنین از تمامی اعضای خانواده‌ام بابت تمامی همراهی‌ها و مهربانی‌هایشان سپاسگذارم. از استادان راهنمای ارجمندم جناب آقاد دکتر مرعشی و سرکار خانم دکتر مشتاقی به سبب همراهی‌های بی دریغشان نهایت امتنان را دارم.

از استادان مشاور فرهیخته‌ام جناب آقای دکتر باقری و جناب آقای مهندس شریفی که در محضرشان کسب فیض نمودم نهایت سپاس را دارم.

از داوران بزرگوار جناب آقای دکتر شهریار و جناب آقای دکتر میرشمسی که با وجود مشغله کاری دآوری این پایان‌نامه را بر عهده گرفتند، سپاسگذارم.

از سایر استادان گرانقدر گروه بیوتکنولوژی که همواره افتخار شاگردیشان را خواهم داشت متشکرم.

از مسئولین محترم آزمایشگاه کشت بافت جهاد دانشگاهی مشهد به خاطر در اختیار گذاشتن بخش زیادی از امکانات لازم برای انجام آزمایشات این پایان‌نامه و همکاری صمیمانه‌شان، بسیار قدردانی می‌کنم.

از تمامی دانشجویان کارشناسی ارشد و دکتری بیوتکنولوژی دانشکده کشاورزی سپاسگذارم.

تقدیم به

پدر و مادرم

که هرچه دارم از آنها دارم،

برادرم و خواهرانم

که نعمتهای زیبای زندگیم هستند.