

چکیده

پروانش (*Catharanthus roseus*) یکی از مهمترین گیاهان دارویی و از خانواده آپوسیاناسه بوده که قادر به تولید آلkalوئیدهای ایندولی بسیار ارزشمندی همچون وینکریستین و وینبلاستین می‌باشد. 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، می‌توان در زمان کوتاهی به حجم قابل توجهی از ریشه‌های توسعه یافته به عنوان منبع متابولیت‌های ثانویه دست یافت. این مطالعه با هدف بررسی عوامل موثر در تولید، حفظ، استقرار و رشد ریشه‌های مویین گیاه پروانش به منظور افزایش تولید وینکریستین صورت گرفته است. چهار سویه باکتری 15834, 10266, 2659 و سه ریزنمونه برگ گیاهچه گلداری، برگ و ساقه گیاهچه این ویترو در میزان تراریزش بررسی شدند. بهترین سویه و ریزنمونه انتخاب و ادامه بررسی‌ها نظیر تاثیر محیط کشت باکتری و محیط همکشتی بر روی آن‌ها انجام شد. تایید تراریختی با آغازگرهای ژن *rolC* و ژن *vir* انجام شد. ریشه‌های 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 10266 و ریزنمونه برگ این‌ویترو بود. محیط همکشتی $B5\frac{1}{2}$ برای افزایش درصد ظهور ریشه‌های مویین مناسب‌تر بود. همچنین رشد باکتری در محیط کشت YMB+MS، تاثیر بهتری در ظهور ریشه‌های مویین داشت. بعلاوه ریشه‌های مویین از رشد خوبی در محیط مایع بدون حرکت برخوردار بودند. نتایج HPLC نشان داد که وینکریستین ریشه‌های 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 می‌توانند بر تولید ریشه‌های مویین تاثیر گذار باشند که در صورت بهینه سازی شرایط می‌توان به افزایش ماده موثره‌ی وینکریستین دست یافت.

کلید واژه‌ها: ریشه مویین، سویه باکتری، محیط همکشتی، 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 باست تمامی همراهی‌ها و مهربانی‌هایشان سپاسگذارم. از استادان راهنمای ارجمند 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 شهریاری و جناب آقای دکتر میرشمی که با وجود مشغله کاری داوری این پایان‌نامه را بر عهده گرفتند، سپاسگزارم.

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

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.