فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول ۱

مقدمه ۱

فصل دوم ۵

بررسی منابع ۵

۲-۱- اهمیت گیاهان دارویی ۵

۲-۲- متابولیت‌های ثانویه گیاهی و انواع آن ٦

۲-۲-۱ اهمیت دارویی متابولیت‌های ثانویه ۸

۲-۲-۲- انتقال، ذخیره و گردش مجدد متابولیت‌های ثانویه ۸

۲-۳- طبقه‌بندی متابولیت‌های ثانویه گیاهی ۹

۲-۳-۱- ترپنوئیدها ۹

۲-۳-۲- فنول‌های گیاهی ۱۰

۲-۳-۳- آلکالوئیدها ۱۰

۲-۳-۳-۱- آلکالوئیدهای ایندولی ۱۲

۲-٤- پروانش به عنوان یک گیاه دارویی مهم ۱۳

۲-۵- کشت بافت به عنوان ابزار مناسب برای تولید متابولیت‌های ثانویه ۱۵

۲-٦- سیستم های کشت بافت‌های گیاهی ۱٦

۲-٦-۱- کشت ریشه‌های مویین ۱٦

۲-٦-۱-۱- پیشینه تاریخی ریشه‌های مویین ۱۷

۲-٦-۱-۲- ویژگی ریشه‌های مویین ۱۸

۲-۷- ساز و کار اگروباکتریوم رایزوژنز در تولید ریشه‌های مویین ۱۹

۲-۷-۱- دامنه میزبانی آگروباکتریوم ۲۰

۲-۸-۲- تلقیح ریزنمونه‌ها با اگروباکتریوم ۲۱

۲-۷-۲-۱- روش دیسک برگی ۲۲

۲-۷-۲-۲- روش ریزتزریقی ۲۲

۲-۸- روش‌های تایید تراریختگی ۲۳

۲-۸-۱- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۲۳

۲-۸-۲- هیبریداسیون سادرن ۲٤
۲-۹- اندازه‌گیری میزان متابولیت‌ها با روش HPLC ۲٤
فصل سوم ۲۷
مواد و روش‌ها ۲۷
۳-۱-تهیه ریز نمونه ۲۷
۳-۱-۱- مواد گیاهی و تولید گیاهچه استریل ۲۷
۳-۲-آماده سازی..... ۲۸
۳-۲-۱- آماده سازی ریزنمونه‌ها برای هم‌کشتی ۲۸
۳-۲-۲- اضافه کردن استوسیرینگون و در نظر گرفتن O.D..... ۲۸
۳ -۳- نژاد باکتریایی ۲۹
۳-٤- تایید پلاسمید ۲۹
۳-٤-۱- مراحل استخراج DNAی پلاسمید به روش Miniprep ۲۹
۳-٤-۲- انجام واکنش PCR با آغازگرهای *rol*C ۳۱
۳-۵- آماده سازی کشت باکتری جهت تلقیح ۳۲
۳-٦- هم‌کشتی ۳۳
۳-۷- ظهور ریشه های مویین ۳٤
۳-۸- استقرار، رشد و حفظ مورفولوژی ریشه‌های مویین ۳٤
۳-۹- تایید تراریختگی ریشه‌ها با استفاده از آزمون PCR ۳٤
۳-۹- اثبات عدم آلودگی ریشه‌ها با استفاده از آزمون PCR ۳٦
۳-۱۰- استخراج آلکالوئید از نمونه‌ها و شاهد ۳۷
۳-۱۱- اندازه‌گیری وینکریستین توسط HPLC ۳۷
فصل چهارم ۳۹
نتایج و بحث ۳۹
٤-۱- جوانه‌زنی بذور ۳۹
٤-۲- ریزنمونه مناسب برای تلقیح و ضدعفونی ۳۹
٤-۲-۱- سن ریزنمونه برای تلقیح ٤۹
٤-۲-۲-تاثیر نوع ریزنمونه بر ظهور ریشه‌های مویین ٤۰
٤-۳- تاثیر سویه باکتری بر ظهور ریشه مویین ٤۱

٤-٣-١ اثر متقابل سویه باکتری و ریزنمونه بر ظهور ریشه مویین ٤٢
٤-٣-١-١- تولید کالوس ٤٣
٤-٣-١-٢- تولید ریشه مویین ٤٣
٤-٤- شرایط آماده‌سازی ریزنمونه ٤٤
٤-٥- تعیین محیط هم‌کشتی مناسب ٤٤
٤-٦- بهبود شرایط بیماری‌زایی باکتری ٤٦
٤-٦- محیط کشت مناسب باکتری ٤٦
٤-٧- تولید ریشه‌های مویین تراریخته از سویه **10266** و مورفولوژی آن‌ها ٤٧
٤-٧-١- رابطه شرایط مختلف محیط کشت و رشد ریشه‌های مویین. ٤٨
٤-٧-٢- رابطه **pH** محیط کشت بر رشد و مورفولوژی ریشه‌های مویین ٥٠
٤-٧-٣- رابطه اینوکلوم اولیه ریشه‌های مویین و رشد آن‌ها. ٥٠
٤-٨- استخراج **DNA**ی پلاسمید ٥٢
٤-٨- استخراج **DNA**ی ژنومی از ریشه‌های مویین و ریشه‌ی نرمال ٥٣
٤-١٠- تایید تراریزش ریشه‌ها با آزمون **PCR** ٥٤
٤-١١- مقایسه مقدار وینکریستین ریشه‌های مویین با ریشه نرمال و اندام هوایی ٥٦
فصل پنجم ٦٣
نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادات ٦٣
فصل ششم ٦٥
منابع ٦٥
پیوست ٧٢