همایش ملی محیط زیست و تولیدات گیاهی
۱۵ و ۱۶ مهر ۱۳۹۱
واحد دامغان

به کارگیری کشت بافت برای حفظ ذخایر ژنتیکی گیاهان دارویی

ارمغان عابدزاده نیشابوری[*1] ، آیت ا... رضایی[2]
۱ – دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان
۲ – دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران
armaghan.abedzadeh@yahoo.com

چکیده

لازمه حفظ و حراست از گیاهان و پوشش گیاهی، جمع آوری و شناسایی گیاهان و بررسی عوامل مختلف، موثر در جلوگیری از انقراض گیاهان دارویی است. نابودی هر گونه گیاهی به منزله نابودی تعداد زیادی از ژنهای مختلف و ساقط شدن آنها از توانمندیهای موجود میباشد. امروزه با برداشت مستقیم و بیش از اندازه، چرای بی رویه و تبدیل مراتع و جنگلها به اراضی زراعی، گونه های گیاهان دارویی شدیدا در حال کاهش و تخریب است و حفظ آنها مدیریت ویژه ای را طلب می کند. از اواخر قرن نوزدهم به لحاظ پیشرفتهای روز افزون در علوم، اولین استخراج مواد شیمیایی بمنظور استفادههای داروئی انجام گرفت، داروهای شیمیائی به علت مقرون بصرفه بودن و تأثیر مشخص آنها بر بیماریها مطمئنتر تشخیص داده شدند از آن پس هزاران دارو برای درمان بیماریها مورد استفاده انسان قرار گرفت. تاثیر زیانبار مواد شیمیایی بر سلامتی انسان و عوارض جانبی داروهای شیمیایی در درمان بیماریهای مختلف، توجه جهانی را به داروهای گیاهی و گیاهان دارویی در سطح وسیعی معطوف نمود. استفاده از تکنیک کشت بافت و باززائی گیاهان داروئی در محیط درون شیشه ای به عنوان یکی از این ابزارها توانسته است گیاهان داروئی با اهمیت و با کیفیت را در حد گسترده ای تکثیر نماید که میزان تکثیر در مقایسه با متدهای سنتی تکثیر رویشی، فوق العاده بالا می باشد. امروزه در دنیا گیاهان دارویی را به عنوان مهمترین منبع دارویی نجات دهنده جان بشر می شناسند و به ارزش آنها واقف میباشند.

کلمات کلیدی: کشت بافت، گیاهان دارویی، ذخایر ژنتیکی

مقدمه

تنوع زیستی به معنای گوناگونی موجودات زنده اعم ازانواع گیاهان و جانوران کوچک و بزرگ تا قارچ ها، جلبک ها و سایر موجودات ذر ه بینی است. طبق آمار موجود سالانه حدود 30000 گونه موجود زنده برای همیشه از بین می روند و بیش از 5400 گونه از جانوران و 5700 گونه گیاهی در شرایط بحرانی و در معرض خطر انقراض هستند که تا پایان قرن حاضر نیمی از گونه های موجودات زنده، یعنی نیمی از تنوع زیستی زمین را از دست خواهیم داد و این امر در کشورهای جهان سوم با سرعت بیشتری در حال وقوع است. طبق آمار موجود در کشور ایران ۵،۵ درصد از گونه های گیاهی (٤٥٤ گونه) در حال انقراض می باشند که این میزان، 550 برابر مقدار پیش بینی شده توسط اتحادیه بین المللی حفاظت از طبیعت (IUCN) International Union for

Conservation of Nature and Natural Resources در سال ۲۰۰۰ است (Jalili & Jamzad.1999).

بنابراین با توجه به آثار و عواقب بسیار زیاد کاهش تنوع زیستی در پیشرفت کشاورزی، صنعتی، دارویی و غیره و با توجه به اینکه هیچ فناوری توانایی بازآفرینی و احیاء اکوسیستم های بزرگ، گونه ها و ژنهایی را که از دست رفته اند را ندارد (Anonymus., 1998) پرداختن به ذخائر توارثی از اهمیت خاصی برخوردار است.

امروزه در اکثر نقاط جهان گیاهان داروئی را به عنوان مهمترین منبع داروئی نجات دهنده جان بشر می شناسند و به ارزش آنها واقف می باشند. در ارتباط با گیاهان داروئی سه مقوله بسیار مهم یعنی انتخاب، تکثیر و حفظ ژنوتیپ های مهم از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشند، که بیوتکنولوژی به عنوان یک ابزار در این راستا بکار گرفته می شود. گیاهان تکثیر شده از طریق کشت های عاری از بیماری و از لحاظ ژنتیکی و کیفی یکنواخت می باشند . نگهداری کشت سلول یا بافت گیاهی به روش انجماد در نیتروژن مایع، یک روش مناسب جهت حفظ گیاهان دارویی در معرض انقراض می باشد. گیاهان دارویی یکی از مهمترین منابع دارویی می باشند که از هزاران سال پیش کاربرد داشته اند. سازمان بهداشت جهانی تخمین زده است که بیش از 80 % از مردم به صورت سنتی و یا مدرن از گیاهان دارویی استفاده می کنند. به علاوه برخی از داروهای شیمیایی نیز با الگوبرداری از مواد گیاهی ساخته شده اند (Tripathi and Tripathi, 2003).

روش های حفظ ذخایر ژنتیکی گیاهی به دو دسته اصلی روشهای سنتی و درون شیشه های دسته بندی می شوند. در روش سنتی، رشد و تکثیر گیاه در شرایط محیطی طبیعی خودش صورت می گیرد و مشکلات اصلی کاربرد این روش را می توان به صورت زیر خلاصه نمود (Benson, E., 1999).

۱. عدم امکان حفظ ثبات ژنتیکی در روش تکثیر جنسی (تولید بذر) به خصوص در مورد گیاهان دگر گشن.

۲. مواجهه گیاهان با عوامل محیطی مخرب زنده و غیر زنده و در نتیجه امکان از بین رفتن ژرم پلاسم گیاهی.

۳. عدم قابلیت ماندگاری و انبارداری مناسب در مورد بافت های ریکالسیترنت که حاصل آن نیاز به تکرار دفعات تکثیر و لذا بالارفتن هزینه نگهداری و نیز خطر ناشی از دو بند قبلی خواهد بود.

کشت سلول، بافت ها و اندام های گیاهی امکان تکثیر انبوه و سریع گیاهان و تولید متابولیتهای ثانویه را در شرایط in vitro فراهم می سازد. با استفاده از کشت *in vitro* گیاه، علاوه بر دسترسی به منبع اولیه دارو در شرایط کنترل شده ومستقل از محیط، افزایش تولید ترکیبات نسبت به گیاه و تولید ترکیبات جدید نیز امکان پذیر می گردد (Bourgaud et al., 2002).

کشت بافت گیاهی در زمینه گیاهان دارویی کاربردهای متعددی دارد که مهمترین آنها عبارتند از :تکثیر انبوه و سریع گیاهان دارویی یکنواخت از لحاظ محتوای ژنتیکی و کیفی، حفظ گونه های گیاهی در حال انقراض از طریق نگهداری در شرایط انجماد (Cryopreservation) و تولید متابولیتهای ثانویه در شرایط *in vitro* از طریق کشت سوسپانسیون سلولی و کشت اندام (Mulabagal and Tsay, 2004; Tripathi and Tripathi ۲۰۰۳)

.

تاکنون ۱۵۶ نوع گیاه زینتی از طریق کشت بافت در آزمایشگاه های مختلف دنیا تولید و تکثیر شده اند (Rout *et al.*, 2006).

بطور کلی کشت سلول، بافت و اندام های گیاهی برای سه هدف عمده انجام می گیرد:

الف) سالم سازی و تکثیر در سطح انبوه

ب) نگهداری ژرم پلاسم

ج) تهیه مواد آزمایشی مورد نیاز جهت برنامه های اصلاحی(Dumet, D., and Benson, E. E. 2000).

ابداع رو شهای درون شیشه ای به دو بخش میان مدت و بلند مدت قابل تقسیم بندی است. در روش میان مدت، گیاه درون شیشه در شرایط محیطی کنترل شده رشد می یابد .در این روش با ایجاد تغییراتی در شرایط محیطی یا اجزای محیط کشت، رشد گیاه درون شیشه کند می شود تا دفعات مورد نیاز برای تکثیر آن کاهش یابد .اما مشکل اصلی این روش نیاز به تجهیزات و امکانات قابل توجه برای کنترل شرایط محیطی مورد نیاز گیاه می باشد که به خصوص در هنگام بالا بودن حجم ژرم پلاسم مورد نگهداری، با افزایش میزان نیاز به هزینه (برای تجهیزات) و نیروی انسانی (برای تکثیر) مشکل ساز خواهد بود.

برای حل این مشکل روش بلند مدت ابداع گردید .در این روش از ازت مایع (دمای - 196 درجه سانتیگراد) برای نگهداری ژرم پلاسم استفاده می شود .در این دما جنبش مولکولی فوق العاده کند می شود و لذا تغییرات متابولیکی سلول به طور عمده متوقف می گردد. بنابراین در این شرایط امکان نگهداری طولانی مدت ژرم پلاسم وجود خواهد داشت (Grout, B., 1995).

نگهداری در شرایط انجماد، یک تکنیک مفید جهت حفظ کشت های سلولی در شرایط آزمایشگاهی است. در این روش فرآیند تقسیم سلولی و سایر فرآیندهای متابولیکی و بیوشیمیایی متوقف می شود و در نتیجه می توان بافت یا سلول گیاهی را مدت زمان بیشتری نگهداری و حفظ نمود. با توجه به امکان باززایی گیاه کامل از کشت های نگهداری شده در سرما، این تکنیک می تواند روشی مفید جهت حفاظت از گیاهان دارویی در معرض انقراض باشد. روش نگهداری در شرایط انجماد، روشی مؤثر جهت نگهداری کشت های سلولی گیاهان دارویی تولید کننده آلکالوئید می باشد (Urbanova et al., 2006).

نتایج و بحث

فناوری زیستی قادر است کارآیی گیاهان دارویی را جهت تولید دارو افزایش دهد .کشت سلول، بافت ها و اندام های گیاهی امکان تولید سریع و انبوه ژنوتیپ های مطلوب با محتوای ژنتیکی یکسان و کیفیت یکنواخت، در زمان کوتاه تر و فضای محدود فراهم می سازد. از نظر عوامل تخریب و در معرض خطر قرار گرفتن گونه‌ها عواملی نظیر چرای بیش از حد، شخم و تغییر کاربری، خشکسالی و کم شدن نزولات، برداشت مستقیم انسان از طبیعت و تغییر کاربری زمینهای مرتعی نظیر احداث کارخانه و– از عواملی بودند که در فرمها از امتیازات بیشتری برخوردار بودند. به‌خصوص در مورد گیاهان دارویی برداشت مستقیم گیاهان دارویی توسط مردم از عرصه و چرای بیش از حد

ظرفیت و پیش از موعد ۲ عامل مهمی هستند که اکثر گونه‌های گیاهی دارویی را در معرض خطـر قـرار مـی‌دهنـد. برای رهایی از چنین معضلی باید با بررسی گونه‌های گیاهان دارویی از نظر سازگاری و کشت به‌صورت زراعی این مشکل را برطرف نمود و برای این منظور فقط از ژرم پلاسم منابع طبیعی استفاده نمود.

منابع

Anonymus, 1988. Technology to maintain biological diversity, OTA (Office of technology assessment) Commissioned paper, 348pp.

Benson, E. E. (Ed.), 1999, Plant Conservation Biotechnology, Talor and Fransis Press, London

Bourgaud, F., A. Gravot, and E. Goniter. 2002. Production of plant secondary metabolites. Plant science 161:839-851.

Dumet, D. and Benson, E. E. 2000. The use of physical and biochemical studies to elucidate and reduce cryopreservation-induced damage in hydrated / desiccated germplasm, in Engelmann, F. and Hiroko, T. (Eds.), Cryopreservation of Tropical Plant Germplasm (Current Research Progress and Application), JIRCAS Press, Tsukuba, Japan, pp. 43-56

Grout, B. (Ed.). 1995. Genetic Preservation of Plant Cells in vitro, Springer-Verlag, Berlin .

Jalili, A. and Jamzad, Z., 1999. Red data book of Iran, a preliminary survey of endemic, rare & endangered plant species in Iran. Research Institute of Forest and Rangelands (RIFR) publication, Tehran, 748p.

Mulabagal, V., and H.S. Tsay. 2004. Plant cell cultures-an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. International Journal of Applied Science and Engineering 2:29-48.

Rout GR, Mohapatra A & Mohan Jain S (2006).Tissue culture of ornamental pot plant: A critical review on present scenario and future prospects. Biotech. Advances. 24: 531–560

Tripathi, L., and J.N. Tripathi. 2003. Role of biotechnology in medicinal plants. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 2:243-253.

Urbanova, M., J. Kosuth, and E. Cellarova. 2006. Genetic and biochemical analysis of *Hypericum perforatum* L. plants regenerated after cryopreservation. Plant Cell Reports 25:140-147.

Application of tissue culture for conservation of genetic resources of medicinal plants

Armaghan Abedzadeh Neyshabouri[*1], Ayatollah Rezaei [2]

[1]*MSc Student of Agricultural Biotechnology, Damghan Branch , Islamic Azad University, Damghan,Iran*
[۲]*Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran*

armaghan.abedzadeh@yahoo.com

Abstract

For plants conservation, taking samples and different various factors are necessary in preventing the extinction of medicinal plants. Destruction of any plant constitutes the devastation of many different genes and aborting them from the existing capabilities. Nowadays, the vegetation and density of medicinal plants are under degradation due to severe harvest, change of forests and ranges to crop lands and overgrazing, so keep them will require special management. In the late nineteenth century because of increasing advances in science, first extraction of chemicals were made for medicinal uses, chemical drugs due to their cost-effective (economical) and their definite impact on diseases were diagnosed safer and after that people used thousands of drug to treat diseases. Harmful effects of chemicals on human health and the adverse effects of chemical drugs in the treatment of various diseases shifted international attentions on herbal medicines and medicinal plants on a broad level. Using of tissue culture technique and medicinal plants *in vitro* regeneration as one of these tools has been able to produce and propagate important and qualify medicinal plants in a wide range and the proliferation rate compared to traditional methods, is extremely high. Nowadays, in the world medicinal plants are known as the savior of human life and are aware of their value.

Keywords: *Plant tissue culture, Medicinal plants, Genetic resources*