Archive of SID

همایش محصولات تراریخته در خدمت تولید غذای سالم، حفاظت از محیط زیست و توسعه پایدار

دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان- ۴ آذر ۱۳۹۵

زیست فناوری در حفاظت و بهره‌برداری از منابع ژنتیکی گیاهی

کریم فرمان‌پور کلالق*[۱] مهدی محب‌الدینی[۲]، رقیه فتحی [۳]

۱و۳. دانشجویان کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی و ژنتیک مولکولی محصولات باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

Email: KarimFarmanpour@yahoo.com

چکیده:

منابع ژنتیکی و ذخایر توارثی گیاهی شامل تنوع درون گونه‌ای و بین گونه‌ای گیاهان می‌باشد و یکی از باارزش‌ترین ثروت‌ها و منابع پایه‌ای جهان محسوب می‌شود. بنابراین حفاظت و صیانت از این منابع و تدابیر روش‌هایی برای استفاده بهینه از آنها توسط زیست فناوری امری ضروری است. حفاظت از ذخایر توارثی گیاهی را می‌توان حفاظت از ذخایر ژنتیکی در رویشگاه طبیعی و خارج از رویشگاه طبیعی در نظر گرفت. توسعه و پیشرفت در علم زیست فناوری روش‌های جدیدی را در جمع‌آوری، تکثیر، حفاظت و ایجاد ذخایر توارثی گیاهی توسط کشت درون شیشه‌ای (از قبیل کشت بافت گیاهی، کشت سلول گیاهی، کشت گرده و بساک، کشت جنین و ...)، حفاظت انجمادی (نیتروژن مایع، $-۱۹۶^{\circ}C$)، استفاده از نشانگرهای مولکولی در بررسی تنوع ژنتیکی بین گیاهان در جهت تعیین هویت ژرم پلاسم گیاهی و .... فراهم کرده است. بنابراین علم زیست‌فناوری که بعنوان یکی از رشته‌های کلیدی جهان محسوب می‌شود می‌تواند نقش کلیدی را در حفاظت و بهره‌برداری از منابع ژنتیکی گیاهی ایفا نماید.

کلمات کلیدی: زیست فناوری، کشت درون‌شیشه‌ای، انجمادسازی، نشانگر مولکولی، تنوع ژنتیکی

۱. مقدمه

یکی از شاخه‌های مهم علم و دانش، زیست فناوری است که امروزه در بسیاری از بخش‌ها از جمله کشاورزی نقش مهمی داشته و بعنوان یکی از محورهای پیشرفت و اقتصاد در سطح جهانی مطرح است. پیشرفت و توسعه علم زیست‌فناوری خود وابسته به ذخایر ژنتیکی و زیستی کشورهاست. منابع ژنتیکی گیاهی علاوه بر اینکه بعنوان عامل زیربنایی برای توسعه کشاورزی محسوب می‌شوند، بعنوان منبعی از سازگاری‌های ژنتیکی و همچون سپری در برابر تغییرات عوامل محیطی عمل می‌نمایند (۵). همچنین این منابع رکن اساسی را در انتخاب و بهبود نیازهای امنیت غذایی جمعیت رو به رشد جهان از طریق اصلاح را فراهم می‌کنند (۳۲). هدف اصلی حفاظت از ذخایر توارثی و منابع ژنتیکی، دستیابی به حفاظت پایدار این منابع بوده که در هر زمانی می‌توانند قابلیت دسترسی داشته باشند (۲۱). انتخاب فنون و روش‌های حفاظت، به اهدافی از جمله تلاش‌هایی در حفاظت از منابع ژنتیکی بصورت ویژه، سیستم اصلاحی و رفتار بذری گونه‌ها با توجه به منابع در دسترس از جمله هزینه‌ها، زیربناهای اقتصادی و فناوری‌ها بستگی دارد (۱۶). بنابراین با در نظر گرفتن این عوامل، حفاظت از ذخایر ژنتیکی می‌تواند به دو صورت حفاظت در رویشگاه طبیعی و خارج از رویشگاه طبیعی اجرا گردد. این دو روش مکمل هم می‌باشند اما انتخاب راهبرد و روش مناسب بر پایه ضوابط و معیارها، بستگی به ماهیت زیستی گونه‌ها و تسهیل در بکارگیری روش انتخاب شده خواهد داشت (۱۷).

www.SID.ir

Archive of SID

حفاظت در رویشگاه طبیعی به نگهداری و حفاظت گیاهان و گونه‌های زیستی در رویشگاه طبیعی خود اطلاق می‌شود. حفاظت از گونه‌های گیاهی در زیستگاه‌های آنها، مناسب‌ترین روش نگهداری تنوع ژنتیکی است، چون عوامل طبیعی ممکن است تنوع ژنتیکی را در زیستگاه طبیعی ایجاد کنند (۱۲).

بنابراین حفاظت در رویشگاه طبیعی، تنوع ژنتیکی موجود و جمعیت‌های قابل رویش گونه‌های وحشی را به منظور برهمکنش‌های زیستی، فرآیندهای بوم‌شناختی و عملکردهای تحت شرایط طبیعی حفظ و مدیریت می کند (۱۱). اما از آنجایی که حفاظت از منابع ژنتیکی و ذخایر توارثی در رویشگاه طبیعی بدلیل کوچک و محصور بودن زیستگاه‌ها، تغییرات اقلیمی، استفاده ناکارآمد از منابع گیاهی، هجوم عوامل بیماری‌زا و گونه‌های مهاجم در طبیعت دارای مشکلاتی است (۲۷)، بنابراین این روش حفاظت نمی‌تواند روش کارآمد و مفیدی در حفاظت از منابع ژنتیکی و ذخایر توارثی باشد. روش دیگری که در حفاظت از این منابع می‌تواند بکار گرفته شود حفاظت در خارج از رویشگاه طبیعی است، که به حفاظت از منابع زنتیکی در خارج از زیستگاه طبیعی خود اطلاق می‌شود و شامل حفاظت از جمعیت‌ها یا گیاهانی که در معرض تخریب فیزیکی و زوال ژنتیکی هستند، می‌باشد و جهت اطمینان از دسترسی آسان، تأمین مداوم و پیوسته بخش‌های زایشی، و حتی ایجاد منبع تولید از طریق نگهداری منابع ژنتیکی و بهبود وضعیت اقتصادی از طریق فعالیتهای اصلاحی و تأمین بخش‌های زایشی که از لحاظ ژنتیکی بهبود یافته‌اند، کاربرد دارد (۲۹). همچنین حفاظت در خارج از رویشگاه طبیعی شامل حفاظت یا تکثیر گونه‌های متنوع، کلون یا منابع ژنتیکی گونه‌های گیاهی حتی در باغ‌های گیاهشناسی، بانکهای بذری یا توسط بعضی از محیط‌های زیستی نیمه طبیعی می‌باشد (۳۱). از طرفی این نوع حفاظت می‌تواند با تکثیر گونه‌های گیاهی، واریته‌ها و یا کلون‌های خاص بوسیله روش‌های کلاسیکی با استفاده از بذر، قلمه‌ها، ریزوم‌ها، پداژه‌ها یا با استفاده از روشهای زیست فناوری از قبیل کشت سلول، کشت اندام، کشت بافت، فنون ریزازدیادی، حفاظت انجمادی، ایجاد بانکهای ژرم پلاسمی، ایجاد بانک‌های ژنی، تحقیقات کاربردی در سطح پیشرفته جهت معرفی تغییرات ژنتیکی جدید در جمعیت موجود، تقویت جمعیت موجود و معرفی مجدد به محیط‌های کنترل شده وحشی تداوم داشته باشد (۲۸). این روش حفاظت بدلیل اینکه طریقه نگهداری در آن بر طبق قوانین و مقررات بوده و بصورت مصنوعی نیز روش اصولی و منظمی است، در نتیجه یک روش موثر و عملی می‌باشد (۲۶). بنابراین جمع‌آوری ژرم‌پلاسم گیاهان زراعی و باغی و خویشاوندان وحشی آنها از رویشگاه طبیعی و نگهداری آنها در شرایط تخصصی و مبتنی بر استانداردهای بین‌المللی در خارج از رویشگاههای طبیعی موثرترین استراتژی حفاظت محسوب می‌شود (۷).

این مقاله بطور مختصر روشهای حفاظت و بهره‌برداری از منابع ژنتیکی گیاهی را توسط زیست‌فناوری مورد بحث و بررسی قرار می‌دهد که می‌تواند در حفظ و نگهداری از این منابع مفید و موثر باشد.

۲. روش‌های حفاظت از منابع ژنتیکی با فناوری های درون‌شیشه‌ای

کشت سلول و بافت گیاهی که با عنوان‌های کشت درون‌شیشه‌ای و یا کشت استریل نیز مطرح می‌شود، غالباً بعنوان سیستم‌های الگو برای بررسی‌های فیزیولوژیکی، زیست شیمیایی، ژنتیکی و دشواری‌های ساختاری گیاهان، مورد استفاده قرار گرفته و ابزاری مهم در مطالعات پایه و کاربردی بوده که دارای کاربردهای تجاری می‌باشد (۳ و ۶). حفاظت از منابع ژنتیکی به روش درون‌شیشه‌ای مزایای زیادی دارد از جمله اینکه کشت درون‌شیشه ای امکان نگهداری گونه‌های گیاهی را که در معرض انقراض هستند ممکن می‌سازد، نگهداری درون‌شیشه‌ای گیاهانی که به روش رویشی ازدیاد می‌شوند سبب صرفه‌جویی زیاد در زمان و مکان می‌گردد، نگهداری گیاهان نر عقیم که امکان ازدیاد آنها به روش جنسی وجود ندارد در شرایط درون‌شیشه‌ای امکان‌پذیر است، در کشت درون شیشه‌ای امکان کاهش موثر رشد وجود دارد و بنابراین تعداد واکشت‌ها کاهش می‌یابد، چنانچه در کشت بافت مواد عاری از بیماری (استریل) بدست آید انجام واکشت در شرایط درون‌شیشه‌ای تنها راه مطمئن برای نگهداری این مواد عاری از بیماری است بعبارتی با نگهداری گیاه در شرایط

www.SID.ir

Archive of SID

درون‌شیشه‌ای لازم نیست که برای اطمینان از عاری بودن گیاه از عوامل بیماری زا از کشت مریستم برای تولید گیاه استفاده نمود، همچنین از آنجایی که امکان ادامه کشت مواد عاری از بیماری امکان پذیر است بنابراین امکان نقل و انتقال مواد عاری از بیماری نیز وجود دارد (۳۳ و ۱). بنابراین نگهداری درون‌شیشه‌ای منابع ژنتیکی ارزش زیادی در ارائه راه‌حل و نیز به عنوان روشی جایگزین برای غلبه بر موانع و مشکلات مدیریت ذخایر ژنتیکی است. در گیاهانی که بطور رویشی تکثیر می‌شوند و نیز در گیاهانی که بذور سرسخت (recalcitrance) تولید می‌کنند و گیاهان دائمی یا چندساله که هتروزیگوسیتی زیادی دارند، نگهداری بذر بعنوان ذخایر ژنتیکی مناسب نمی‌باشد. در چنین محصولاتی به طور خاص ذخیره درون شیشه ای اهمیت کاربردی فوق‌العاده‌ای دارد. کاربرد کشت بافت در حفظ منابع ژنتیکی شامل ذخیره کردن ژرم‌پلاسم به صورت کشت‌های با رشد بطئی یا بصورت بافت ذخیره منجمد است که با استفاده از روش‌های کشت بافت می‌توانند باززایی شوند. سایر کاربردها شامل حذف ویروس‌ها از ژرم‌پلاسم‌های باارزش، تبادل بین‌المللی ژرم‌پلاسم بصورت نمونه‌های کشت بافت ضدعفونی شده، و تکثیر ژرم‌پلاسم برای برنامه‌های اصلاحی می‌باشد (۸).

جمع‌آوری نمونه گیاهی اولین قدم در دستیابی به ژرم‌پلاسم گیاهی است. برای حفاظت در خارج از رویشگاه طبیعی، جمع‌آوری قلمه‌های گیاهان و بذور روش موثری می‌باشد (۱۵). در جمع‌آوری و حفاظت از بافت گیاهی در شرایط درون‌شیشه‌ای عوامل مختلفی از جمله بافت مناسب برای جمع‌آوری، اندازه بافت، باقیمانده خاک و حضور بافت تیمار شده، استریل کردن نمونه گیاهی، حذف ماده ضدعفونی کننده، محیط کشت غذایی و شرایط ذخیره‌ای شامل نور، دما و رطوبت باید در نظر گرفته شوند (۳۵). حذف میکروارگانیسم‌ها یک عامل حیاتی است که بایستی جمع‌آوری و حفاظت از نمونه گیاهی در شرایط درون‌شیشه ای بصورت خیلی قوی کنترل شود. استریل کردن سطحی اولین قدم در ایجاد کشت‌های ضدعفونی شده است که در مکان جمع‌آوری یا در آزمایشگاه پس از اینکه نمونه در یک محیط کشت انتقالی قرار داده شد می‌تواند انجام گیرد (۲۵).

فنون کشت بافت بهترین روش برای جمع‌آوری، افزونگری و ذخیره ژرم‌پلاسم گیاهی بوده و روش مفیدی برای حفاظت از تنوع زیستی از جمله منابع ژنتیکی بذور سرسخت و گونه‌های تکثیر شونده رویشی، گونه‌های گیاهی کمیاب و در حال انقراض، و محصولات بیوتکنولوژی از قبیل ژنوتیپ‌های برتر و نمونه‌های مهندسی شده ژنتیکی می‌باشد (۲۸). فنون درون‌شیشه‌ای که برای حفاظت میان‌مدت استفاده می‌شوند، نگهداری نمونه‌های زیستی را بسته به فن استفاده شده و نمونه گیاهی، از چندین ماه تا ۳-۲ سال بدون واکشت کردن فراهم می‌آورند (۱۵). از فنون درون شیشه‌ای که یکی از کاربردهای زیست‌فناوری می‌باشد می‌توان به کشت گیاه کامل، کشت جنین، کشت اندام گیاهی، کشت کالوس، کشت پروتوپلاست، ریزازدیادی و ... اشاره نمود.

۱-۲ حفاظت از طریق کشت سلول، جنین، اندام و پروتوپلاست گیاهی

کشت سلول‌های منفرد به کمک آنزیم‌ها یا به روشهای مکانیکی که از یک بافت گیاهی، کالوس و یا سوسپانسیون سلولی بدست می‌آید کشت سلول گفته می‌شود (۱)که این کشت می‌تواند در محیط‌های مایع (بدون آگار) در ظرفهایی که معمولاً با تکان دادن تهویه می‌شوند، کشت شوند.

کشت جنین نیز به جدا کردن جنین (در هر مرحله‌ای که باشد) تحت شرایط کاملاً استریل شده از تخمک، بذر یا کپسول و کشت آن در یک محیط کشت مصنوعی مایع یا جامد تحت شرایط فیزیکی و شیمیایی مناسب اطلاق می‌شود (۴). کشت جنین دارای دو نوع کشت جنین نابالغ و کشت جنین بالغ است. در کشت جنین نابالغ که از بذر نارس حاصل شده است اساساً برای جلوگیری از سقط جنین و با هدف تولید یک گیاه زنده انجام می‌شود، اما در کشت جنین بالغ که از بذر رسیده حاصل شده است، نسبتاً ساده‌تر بوده و بطور مثال برای حذف جوانه‌زنی بذر استفاده می‌شود (۱).

www.SID.ir

Archive of SID

در حفاظت از منابع ژنتیکی در خارج از رویشگاه طبیعی، نگهداری ممکن است توسط یک اندام ادامه پیدا کندکه این اندام جدا شده می‌تواند در شرایط درون شیشه‌ای رشد کند. در کشت اندام، انواع مختلفی شامل کشت مریستم، کشت نوک ساقه، کشت ریشه، کشت پرچم و ... قابل تشخیص هستند. غالباً قسمت جدا شده بعنوان قلمه شناخته شده، و کشت قلمه نامیده می‌شود (۱).

از طرفی با کشت پروتوپلاست نیز می‌توان مسائل فیزیولوژیکی را در بحث حفاظت مورد مطالعه قرار داد. پروتوپلاست، سلولی گیاهی است که دیواره سلولی آن در اثر هضم آنزیمی حذف شده باشد. بعد از حذف دیواره محکم سلول، تنها یک پلاسمای غشایی نازک، سلول را احاطه می‌کند. استفاده‌های زیادی از پروتوپلاست صورت می‌گیرد و هیبریدهای غیرمعمول را که نمی‌توان با تلاقی جنسی انجام داد، با امتزاج پروتوپلاست دو گونه، تلاقی بین آنها امکان پذیر می شود. بنابراین برای جداسازی پروتوپلاست‌ها می‌توان سلولها را از منابع مختلف نظیر کالوس، کشت‌های سوسپانسیون و بافت گیاهی تهیه نمود (۲۰ و ۶).

۲-۲ انبوه‌سازی ژرم‌پلاسم گیاهی محافظت شده در خارج از رویشگاه طبیعی با استفاده از تکنیک ریزازدیادی

ریزازدیادی شامل تولید از قسمت‌هایی نظیر بافت‌ها، یاخته‌ها و ... در شرایط استریل و درون‌شیشه‌ای می‌باشد. از اهداف و مزایای این روش می‌توان به ازدیاد انبوه، کلون‌سازی، باززایی، افزونگری و ... اشاره نمود. ریزازدیادی بر پایه توانمندی استوار است که توانایی ژنتیکی یک یاخته تمایز نیافته گیاهی مثل یک بافت، اندام، قسمتی از گل، ریشه، مریستم، پروتوپلاست و .... به یک گیاه کامل می‌باشد. ریزازدیادی و کلون‌سازی بافت گیاهی بر پایه ریزنمونه‌های مختلف، برای حفاظت از گونه‌های در خطر و در حال انقراض استفاده می‌شود (۲۷ و ۱۱).

۳. حفاظت از منابع ژنتیکی به روش حفاظت انجمادی

حفاظت انجمادی (معمولاً نیتروژن مایع، $-۱۹۶^{\circ}C$) یکی از روش‌های زیست‌فناوری حفاظت از گیاهان در خارج از رویشگاه طبیعی بوده و برای نگهداری بلندمدت منابع ژنتیکی کاربرد دارد. حفاظت انجمادی بهترین روش مفید در حفظ گونه‌های نادر و در حال انقراض، گونه‌های دارای بذور غیر ارتودوکس، گیاهان تکثیر شونده رویشی، محصولات زیست فناوری و ... می‌باشد (۱۳ و ۹) این فن‌آوری می‌تواند برای پروتوپلاست، سوسپانسیون های سلولی، کالوس‌ها، مریستم، نوک‌شاخساره، جنین‌های سوماتیکی، جنین‌های پلی‌نیکی و جنین‌های زیگوتیکی به کار برده شود، بذور نیز ممکن است در نیتروژن مایع نگهداری شوند (۱۴). حفاظت انجمادی شامل سه مرحله پیش‌تیمار که سلول‌ها و اندام‌ها را برای مقاومت به مرحله دوم آماده می کند، چرخه انجماد و ذوب، و مرحله پس از تیمار که ممکن است میزان بهبود و رشد را افزایش دهد، می‌باشد (۱۴). حفاظت انجمادی مریستم و نوک شاخساره برای نگهداری بلندمدت گیاهان ریز ازدیادی شده توسط کشت درون‌شیشه‌ای توصیه می گردد و بافت مریستم نیز قبل از انجماد باید در یک ماده محافظ که مخلوطی از قند، پلی‌اتیلن گلیکول و دی‌متیل سولفوکسید می‌باشد قرار داده شود. از طرفی نگهداری جنین نیز ابزار مهم دیگری برای حفاظت از منابع ژنتیکی است که دارای اهمیت فوق‌العاده‌ای می‌باشد (۱۴ و ۹).

۴. استفاده از نشانگرهای مولکولی در حفاظت و ایجاد ژرم‌پلاسم گیاهی

از آنجا که اختلالات محیطی، اکوسیستم‌هایی را که ژرم‌پلاسم در آنها تکامل یافته و هم‌اکنون نیز وجود دارند تهدید می‌کند، جمع‌آوری ژرم‌پلاسم تلاشی در جهت حفاظت از تنوع ژنتیکی می‌باشد (۱۳ و ۲). از دست رفتن تنوع ژنتیکی

www.SID.ir

Archive of SID

باعث شده است که توجه و نگرانی‌ها در سطح جهانی نسبت به وضعیت محیطی کره زمین افزایش یابد و به همین منظور سیاست‌های بین‌المللی حفاظت از تنوع زیستی شکل بگیرد. نشانگرهای مولکولی می‌توانند در ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های طبیعی و کلکسیون های ژرم‌پلاسمی مفید واقع شوند. از دستاوردهای ارزیابی مولکولی، تعیین هویت مجموعه ژرم‌پلاسم‌ها است که بطور غیرمعمول مقدار زیادی تنوع آللی نشان می‌دهند. بطوری‌که این مجموعه ژرم‌پلاسم را می‌توان به مناطق جغرافیایی یا اکولوژیکی که از آنها منشأ گرفته‌اند نسبت داد. استفاده صحیح از اطلاعات مولکولی می‌تواند کارایی منابع بسیار کمیاب را برای حفظ و جمع‌آوری ژرم‌پلاسم جدید به مقدار زیادی افزایش دهد (۲). نشانگرهای مولکولی از طریق ارزیابی و تعیین محل ژن‌های کنترل کننده ی خصوصیات مورد علاقه به نژادگران، همانند ژن‌های مقاومت به بیماری، حشرات و تنش‌ها، کاربرد ژرم‌پلاسم را افزایش می‌دهند(۳۶ و ۳۴).

۵ . نتیجه‌گیری

منابع ژنتیکی گیاهی یکی از ارزشمندترین ثروت ها در جهان محسوب می شوند که حفاظت و نگهداری از آن ها از اهمیت خاصی برخوردار است. حفاظت از منابع ژنتیکی گیاهی می تواند به صورت حفاظت در زیستگاه طبیعی خود باشد، ولی به علت مشکلاتی از جمله احتمال نابودی و در معرض انقراض بودن گونه ها به دلایل مختلف، حفاظت در خارج از رویشگاه طبیعی می تواند جایگزین و راه حل مفیدی در حفاظت و بهره برداری از منابع ژنتیکی باشد. از جمله تدابیری که در این حوزه میتوان به این مهم دست یافت استفاده از توانمندیهای علم زیست فناوری است که قابلیت حفاظت از انواع مختلف گیاهان را بسته به اهداف مختلف دارا می باشد. از جمله این فناوری ها و روش ها حفاظت، تکثیر و انبوه سازی منابع ژنتیکی توسط فناوری های درون شیشه ای و حفاظت از نوع انجمادی است که هر کدام به ترتیب برای نگهداری میان مدت و بلند مدت کاربرد دارند. از طرفی مهمترین و اساسی ترین عامل در جمع آوری منابع ژنتیکی، تنوع ژنتیکی است که بررسی و ارزیابی آن میتواند به طرق مختلف از جمله مورفولوژیکی، مولکولی و ... انجام پذیرد. از این میان نشانگرهای مولکولی امکان ارزیابی تنوع ژنتیکی و وجود یا عدم وجود ژن های مورد نظر را در سطح ژنوتیپی فراهم کرده و ارزیابی قابل اعتمادی از تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت حاصل می کنند که این اطلاعات برای حفظ تنوع ژنتیکی گیاهی حائز اهمیت است.

۶. منابع

۱. باقری، عبدالرضا و صفاری، مهری؛ مبانی کشت بافت گیاهی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، چاپ هفتم، ۱۳۹۳.

۲. باقری، عبدالرضا.، کوچکی، عوض و زند، اسکندر؛ اصلاح نباتات در کشاورزی پایدار، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ۱۳۷۶.

۳. باقری، هدایت و آزادی، پژمان؛ کشت بافت گیاهی- تکنیک‌ها و آزمایش‌ها، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ۱۳۸۱.

۴. پیری، خسرو و نظریان فیروزآبادی، فرهاد؛ راهنمای کشت بافت گیاهان، انتشارات دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ۱۳۸۰.

۵. جداری کوهی، بهروز، گروسی، قاسمعلی و حسینی، رامین؛ بررسی تنوع ژنتیکی در ارقام بی‌دانه انگور توسط نشانگر مولکولی RAPA، مجله سلول و بافت، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰، صفحات ۹۹- ۱۰۶.

۶. خوشخوی، مرتضی، فنون کشت بافت، برای گیاهان باغبانی (بوستان‌داری)، انتشارات دانشگاه شیراز، شیراز، ۱۳۷۳.

www.SID.ir

۷. شاهمرادی، سیده شکیبا، قنواتی، فرنگیس، پوراسماعیل، معصومه و سرخی الهلو، بهزاد؛ اهمیت منابع ژنتیکی و بانک‌های ژن گیاهی، انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال بذر، کرج، ۱۳۹۴.
۸. صالحی جوزانی، غلامرضا، بیوتکنولوژی (فناوری زیستی) و اهمیت آن در کشاورزی، کمیته ترویج و ارتباطات ستاد زیست فناوری کشور، زمستان ۸۷.
۹. فارسی، محمد و باقری، عبدالرضا؛ اصول اصلاح نباتات (ویرایش چهارم)، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ۱۳۹۰.

10. Al- Eisawi, D. Effect of biodiversity conservation on arid ecosystem with a special emphasis on Bahrain, Journal of Arid Environments, 2003, pp. 81-90.
11. Ashmore, SE. Status report on the development and application of in vitro techniques for the conservation and use of plant genetic resources, IPGRI, Rome, Italy, 1997, pp. 61- 68.
12. Brink, JA., Prior, B and Dasilra, EJ. Developing biotechnology around the world, Nature biotechnology, 1997, pp. 434-437.
13. Chang, T. T. Conservation of rice genetic resources: Luxury or necessity? Science 224, 1984, pp. 251-256.
14. Charrier, A., Dereuddre, J. and Engelmann, F. The implication of biotechnology in germplasm conservation and utilization. FAO. 1991.
15. Cruz- Cruz, Carlos Alberto., Ganzales- Arnao, Maria Teresa and Engelmann, Florent. Biotechnology and Conservation of Plant Biodiversity, Resources, Vol. II, June, 2013, pp. 73-95.
16. Eneobang, EE. Biotechnological techniques for conservation and use of plant genetic resources, ed. Biological conservation for sustainable agriculture production, Federal university of Agriculture, Umudike, Nigeria. Pp. 72-75.
17. Engelmann, F. Germplasm Collection, storage and conservation, Journal of plant Biotichnology and Agriculture, Academic Press: Oxford, UK, 2012, pp. 255-268.
18. Engelmann, F. In vitro conservation of tropical germplasm- A review, Euphytica, 1991, pp. 227- 243.
19. Engelmannn, F. use of biotechnologies for conservation of plant biodiversity in vitro cell. Dev. Biol. Plants, 2012, pp. 5-16.
20. Galun, E. Plant protoplasts as physiological tools. Annual review of plant physiology, 1981, pp. 237-266.
21. Hamrick, JL and Godt, MJW. Allozyme diversity in plant species. In: Brown A HD, Clegg MT, Kahler AL and Weir BS, Plant population Genetics, Breeding and Genetic Resources, Sinauar Associates, Sunderland, MA, 1989, pp. 43-63.
22. Lidder, P and Sonnino, A. Current status of biotechnologies for the management of crop genetic resources. Biotechnologies for the management of genetic resources for food and agriculture, FAO, 2011, pp. 1- 153.
23. McCouch, S. R., J. L. Abenes, R., Angeles, G. S. Khush and S. D. Tanksley. Molecular tagging of a recessive gene, xa- 5, for resistance to bacterial blight of rice, Rice Gent, Newsl, 1991. pp. 143- 154.
24. Paunescu, A. Biotechnology for Endangered plant conservation: A critical overview, Romanian Biotechnological letters, 2009, pp. 4095- 4103.
25. Pence, V. C., Sandoval, J. A. Controlling contamination during in vitro Collecting, In vitro collecting Techniques for germplasm conservation; Pence, V. C., Sandoval, J. A. Villalobos, V. M., Engelman, F., Eds.; International plant genetic resources Institute, Rome, Italy, 2002, pp. 30-40.
26. Reed, BM., Engelmann F., Dullo, ME and Engels JMM. Technical guideline for the management of field and in vitro germplasm collection. Handbook for genebanks No. 7, IPGRI/ SGRP, Rome, Italy, 2004.
27. Roy Pathak, Malabika and S Abido Mohammad. The role of biotechnology in the conservation of biodiversity, Journal of Experimental biology and Agricultural sciences, Vol. II, August, 2014, pp. 352-363.

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

28. Schemske, DW., Husband, BC., BC., Ruckelshaus, MH., Goodwillie, C., Parker, IM and Bishop, JG. Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants, Ecology 75: 584- 606, Biodiversity conservation, ecosystem services and livelihoods in tropical landscapes, towards a common agenda, Environment Management 48, 1994, pp. 229- 234.
29. Skroppa, T. Exsitu conservation methods, In Geburek T and Turok J (eds) Conservation and Management for forest genetic resources in Europe, Arbora publishers, Zrolen, 2005, pp. 567-583.
30. Thorpe, T. A. The current status of plant tissue culture, In S. S. Bhojwant I(Ed). plant tissue culture: Application and limitations, Elsevier, Amsterdam, 1990.
31. Uinted Nations conference on Environment and Development (UNCED). Convention on biological Diversity, UNCED, Genera, Switzerland, 1992.
32. Upadhyaya, HD., Gowda, CLL and Sastry, DVSSR. Plant genetic resources management: collection, characterization, conservation and utilization, Journal of SAT Agricultural Research 6, Vol. VI, Indiana, December, 2008, pp. 1-15.
33. Uyoh, E. A., Nkang A. E and Eneobong, EE. Biotechnology, genetic conservation and sustainable use of Bioresearches, African Journal of Biotechnology, Vol. II, December, 2003, pp. 704-709.
34. Walbot, V. and D, Gallie, Gene expression in rice, In G. S, Khush and G. H. Toenniessen (ed). Rice biotechnology. Biotechnology in Agriculture servies No. 6. Common wealth agriculture Bureaux, Walling ford, Oxon, UKm, 1991.
35. Withers, L. A. In vitro Collecting concept and Background. In vitro collection techniques for Germplasm Conservation; Pence, V. C., Sandoval, J. A., Villalobos, V. M., Engelmann, F., Eds.; International plant genetic resources institute, Rome, Italy, 2002, pp. 16-25.
36. Yu, Z. H., D. J. Mackill., J. M, Bonman and S. D, Tanksley. Tagging genes for blast resistance in rice via linkage to RFLP markers, Theor, Appl. Genet. 81, 1991, pp. 471- 476.
37. Zhao, Y., Wu, Y., Chang, Y and Reed BM. Cry preservation of fruit and ornamental trees, plant conservation: a practical guide, 2008, pp. 387-420.

www.SID.ir