

مروری بر پیشینه کاربرد روش‌های زیست فناوری در تکثیر جینکو

آزاده محمودی^{۱*}، بهرام ملکی^۱، علی عمارلو^۲

چکیده

گیاه جینکو بیولوبا یکی از قدیمی‌ترین موجودات زنده روی کره زمین است که به همین دلیل به فسیل زنده نیز شهرت دارد. این گیاه بومی کشور چین است و به واسطه ترکیبات ارزشمندی که در خود دارد نظیر جینکولیدها و بیلوبالید از دیرباز در طب سنتی چینی مورد استفاده بوده است. توجه جهانی به این گیاه اثرگذار در درمان، کنترل و حتی پیشگیری از طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها نظیر دیابت، آلزایمر، ناتوانی‌های جنسی، اختلالات تمرکز، بیماری‌های عروقی و ایمنی باعث شده که کشورها به روش‌های مبتنی بر بیوتکنولوژی جهت کشت آزمایشگاهی این گیاه ارزنده روی بیاورند. اولین گزارشات موفق علمی مبنی بر به کار بستن روش‌های زیست فناوری در کشت جینکو به سال ۱۹۴۹ میلادی برمی‌گردد، در سال‌های پس از آن نیز روش‌های مختلفی مورد بررسی قرار گرفتند که گرچه برخی با شکست روبه رو شد اما برآیند کلی این مطالعات به نتایج ارزنده‌ای منتج شد که امروزه سنگ بنای کشت گسترده جینکو در جهان هستند. در این مقاله پیشینه و خاستگاه درخت جینکو همراه با بررسی نتایج گزارشات علمی منتشر شده جهانی در خصوص استفاده از بیوتکنولوژی در کشت و تکثیر آن در بازه زمانی ۱۹۵۷ تا سال ۲۰۲۰ مورد بحث و بررسی قرار می‌گیرد.

کلمات کلیدی: جینکوبیولوبا، زیست فناوری، جینکولید، بیلوبالید، کوتیلدون

^۱ گروه ژنتیک و به نژادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان. * نویسنده مسئول. ایمیل: ae.mahmoodi@yahoo.com

^۲ پژوهشکده فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان

مقدمه

تخمک طی چهار ماه مراحل تکامل خود را طی کرده و سپس با سلول جنسی ماده ادغام شود. دانه‌های تولید شده جینکو حاوی جنین هستند و در داخل گامتوفیت ماده قرار دارند که پوششی نازک آنها را در بر گرفته است (Singh et al., 2008). خاستگاه این گیاه کشور چین است و از دیرباز برای درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها مورد توجه طبیبان چینی قرار داشته، علاوه بر چین در هند نیز پرورش و استفاده از خواص دارویی جینکو از سال‌ها پیش مرسوم بوده است (Mantovani et al., 2013).

از عصاره برگ این گیاه می‌توان مقدار زیادی از انواع فلاونوئیدها و مقدار کمتری ترپن و نیز اندکی جینولیک اسید استخراج کرد اما آنچه بیشترین کاربرد را در طب سنتی و نیز صنایع دارویی دارد دو ترپن مهم تحت عناوین جینکولیدهای A, B, C, J, M و بیلوبالید است که امروزه نیز بیشتر مورد توجه محققان قرار دارند. این ترکیبات ارزشمند را می‌توان از عصاره ریشه، به مقدار فراوان از برگ و حتی پوست درخت جینکو به دست آورد (جدول شماره ۱).

تحقیقات نشان می‌دهند عصاره گیاه جینکو در بهبود جریان خون نقش پررنگی دارد و می‌تواند در درمان بیماری‌های عروقی تاثیرگذار باشد همچنین عصاره جینکو یک آنتی‌اکسیدان و ضد پیری قوی به شمار می‌رود. طی تحقیقات مختلف محققان توانسته‌اند نقش عصاره این گیاه در کنترل جنون، آلزایمر و دیابت را نیز به اثبات برسانند (Mantovani et al., 2013).

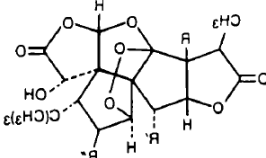
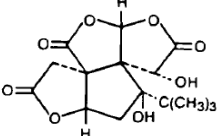
گیاه جینکوبیلوبا (*Ginkgo biloba* L.) یکی از گیاهان ارزشمند با خواص دارویی متعدد است که به واسطه قدمت بسیار به فسیل زنده نیز شهرت دارد. نام گیاه جینکو از ترجمه اشتباه لغت ژاپنی Yin-Kwo به معنی نقره گرفته شده و بیلوبا نیز به فرم دو شاخه‌ای برگ آن اشاره دارد (Singh et al., 2008). مقاومت در برابر بیماری‌ها و حشرات و نیز توانایی تولید ریشه‌های هوایی باعث شده که این گیاه بتواند سال‌های طولانی بقای خود را حفظ کند تا جایی که برخی از درختان جینکو تا ۲۵۰۰ سال هم عمر کرده‌اند (Dibakarchoudhury et al., 2014). در طبقه‌بندی گیاهان، جینکو را که تنها بازمانده خانواده جینکوآسه است در زیرشاخه بازدانگان، شاخه جینکوفیتا، رده جینکوآ و راسته جینکوآل قرار می‌دهند (Sudhir Sharma et al., 2010).

ارتفاع این درخت در حدود ۳۵ متر و قطر تنه آن معمولاً بین ۳ تا ۴ متر است که گاهی تا ۷ متر هم می‌رسد. جینکو گیاهی خزان کننده و دو پایه است از این رو جنس ماده فقط در حضور جنس نر بارور می‌شود اما نکته‌ای که باعث شده دانشمندان به فکر راه‌هایی جز کشت مزرعه‌ای برای پرورش جینکو باشند این است که اندام‌های زایشی نر و ماده پس از گذشت ۳۰ تا ۴۰ سال از عمر گیاه، برای اولین بار روی گیاه ایجاد می‌شوند و به تعبیری درخت جینکو در طبیعت تا ۳۰ سالگی قدرت تکثیر ندارد (Jean-Pierre Balz et al., 1999). در فرآیند تولید مثل این گیاه، دانه‌های گرده با کمک باد به سمت پایه ماده حرکت می‌کنند، ترشح ماده موسیلاژی از انتهای تخمک به جذب هرچه بهتر این گرده‌ها کمک کرده و در نهایت گرده وارد ساختار تخمک می‌شود اما ادغام سلول‌های جنسی رخ نمی‌دهد چرا که گامتوفیت نر باید در داخل

فسوفولیپاز A2 در مغز را دارد (فعال شدن این ترکیب در مغز می‌تواند باعث مرگ مغزی در افراد شود) و بیلوبالید می‌تواند در مواقع هیپوکسی به بدن کمک کند.

در طب سنتی چینی از این گیاه برای درمان برونشیت و آسم هم استفاده می‌شود. چینی‌ها معتقدند دانه جینکو برای درمان مشکلات گوارشی و رفع مسمومیت ناشی از مصرف الکل و عصاره برگ آن در کنترل بیماری‌های نقص ایمنی کاربرد دارد (Dibakarchoudhury et al., 2014). نتایج آخرین تحقیقات که بر روی مکانیسم اثر عصاره برگ جینکو در بدن انجام شده است نشان داده که بیلوبالید می‌تواند بر عملکرد نوروترانسمیتر GABA در مغز تاثیر بگذارد همچنین این ترکیب توانایی جلوگیری از فعالیت

جدول شماره ۱

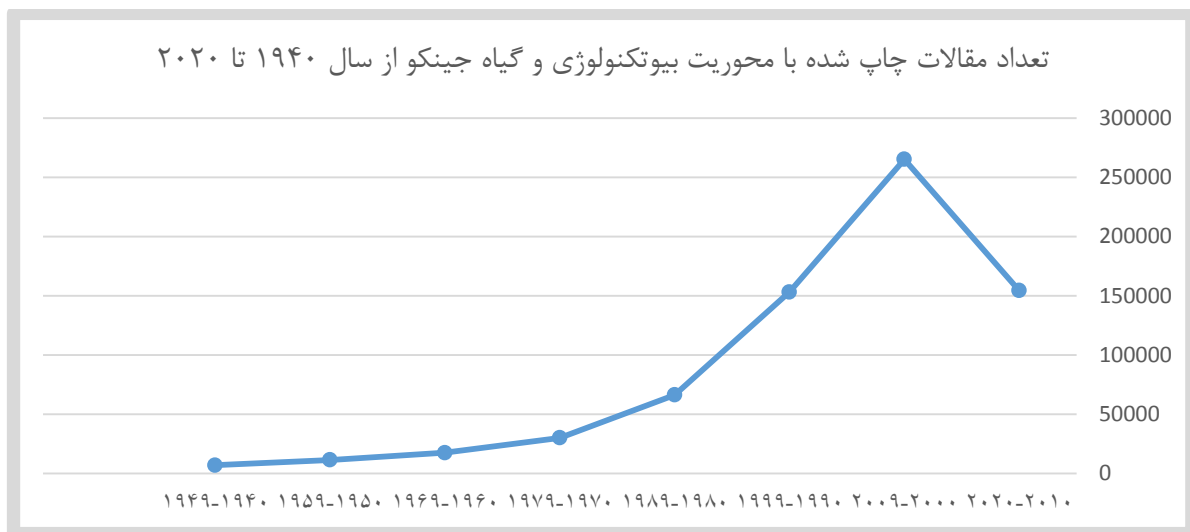
تأثیرپذیرترین گروه بیماریها از این ترین	ساختار شیمیایی	مخفف	ترین استخراج شده
بیماریهای قلبی و عروقی		GB	جینکولید
بیماریهای مرتبط با دستگاه عصبی		BB	بیلوبالید

تکثیر، کشت و استخراج ترین‌های ارزشمند گیاه جینکو در محیط آزمایشگاهی و با تکیه بر روش‌های مختلف زیست فناوری مورد توجه بسیاری از کشورها قرار گرفته است. در حال حاضر تعداد انگشت شماری از کشورها از جمله امریکا، چین، آلمان و فرانسه به فناوری‌ها و پروتکل‌های مورد نیاز جهت کشت گسترده این گیاه در محیط آزمایشگاهی دست یافته‌اند و با کشت وسیع گیاه جینکو امتیاز تامین ماده خام تعداد کثیری از مراکز تولید دارو در جهان را به دست گرفته‌اند. طبق آمار منتشر شده توسط IMS Health (MIDAS) درآمد خالص کشورها از صادرات گیاه

تحقیقات در مورد دومین ترین ارزشمند جینکو نشان می‌دهد انواع جینکولید می‌توانند مانع از لخته شدن خون و تجمع پلاکت در بدن شده و با اتساع عروق جریان خون را تسریع بخشند هم چنین دو نوع GA و GB به طور خاصه در تنظیم گیرنده benzodiazepine نقش دارند Xiaoyan (Lu et al., 2018) (جدول شماره ۱). با توجه به ترکیبات بسیار ارزشمند ذخیره شده در بخش‌های مختلف گیاه جینکو مخصوصا برگ‌های آن که می‌توانند در تولید داروهای مختلف با هدف پیشگیری، کنترل و درمان طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها مورد استفاده قرار بگیرند و نیز اقبال روز افزون جهانی به مصرف داروهای با منشا گیاهی

نظر تعداد رسیدند که حاصل آن‌ها دست یافتن به دستورالعمل‌های کشت مطمئن و کارآمد گیاه جینکو بود. پس از این دهه و رسیدن به پروتکل-های تکثیر قطعی جینکو تحقیق در این زمینه افت چشم‌گیری یافت چرا که دیگر ضرورتی برای بررسی مجدد این روش‌ها احساس نمی‌شد و روند مطالعات از تمرکز بر پیدا کردن روشی مطمئن برای کشت آزمایشگاهی آن دور و به سمت بررسی این گیاه از نگاه مولکولی و بیوشیمیایی و چگونگی تاثیر عصاره جینکو بر روند درمان بیماری‌ها سوق پیدا کرد (نمودار شماره ۱).

جینکو در سال ۲۰۱۲ بالغ بر ۱/۲۶ بلیون دلار آمریکا بوده است که چین با تصاحب ۴۶ درصد از این مقدار و کشور آلمان با ۱۲ درصد در صدر جدول فروش قرار داشتند (Xiaoyan Lu et al., 2018). طی سال‌ها کشت آزمایشگاهی جینکو با استفاده از بخش‌های مختلف این گیاه از جمله برگ، مریستم، جنین، ساقه و ... در محیط‌های کشت مختلف با درصد متنوعی از مواد مورد آزمون و خطا قرار گرفته است. در این مقاله به بررسی انواع روش‌های کشت آزمایشگاهی گیاه جینکو از دیرباز تا کنون و تاثیر محیط کشت‌های مختلف بر فرآیند کالوس-زایی از بخش‌های مختلف این گیاه می‌پردازیم، روش‌هایی که بیش از صد سال است در جهان مورد بررسی و پژوهش قرار گرفته‌اند و در دهه اول قرن حاضر نیز به اوج خود از



(نمودار شماره ۱)

جینکو رطوبت بالا و گرمای کافی است که قطعا در مناطق سرد و کوهستانی این نیاز تامین نشده و رشد گیاه مختل می‌شود. علاوه بر این که در هر منطقه‌ای با آب و هوای مختلف نمی‌توان جینکو را به صورت طبیعی کاشت. سن بالای گیاه جهت باروری (چیزی در حدود سی سال) برای رسیدن به گل و سپس دانه ضرورت کشت آزمایشگاهی جینکو را برای دست یافتن

نتایج مرور منابع

گیاه جینکو توانسته است با تکیه بر مقاومت بالای خود نسبت به نفوذ حشرات و بیماری‌ها بقای طولانی مدتی طی اعصار مختلف بر روی کره خاکی داشته باشد و در سخت‌ترین شرایط دوام حیات خود را حفظ کند اما این بدان معنا نیست که در تمام مناطق جغرافیایی قابلیت کشت آن وجود دارد. اساسی‌ترین نیاز گیاه

گیاه با استفاده از بافت‌های مرتبط با فرآیند تداوم نسل در گیاه جینکو مانند دانه‌های گرده اصرار داشت. والتر توانست دانه‌های گرده را در محیط کشت غنی شده با شیر نارگیل و عصاره مخمر تا رسیدن به بافت‌های گیاهی هدایت کند. در سال ۱۹۹۶ در ادامه این بررسی‌ها کمپر و همکارانش توانستند با تمرکز بر جنین دانه این گیاه به نتایج بسیار ارزشمندی دست پیدا کنند. سه گروه از نمونه‌ها شامل جنین دست نخورده و کاملاً سالم، جنین بدون کوتیلدون و بافت کوتیلدون خالص شده بدون جنین، در محیط MS غنی شده با ترکیباتی از جمله ۲-۴ دی کلروفونوسی استیک اسید (2,4-D) یا NAA و همچنین کاینین یا بنزیل آدنین (BA) کشت شدند. نتایج نشان داد که هر دو نمونه‌ای که حاوی کوتیلدون بودند یعنی جنین کامل و بافت کوتیلدون به تنهایی کالوس تولید کردند و حتی بافت کوتیلدون کالوس‌زایی بیشتری نسبت به جنین کامل نشان داد همچنین جینکولیدهای نوع A و B در کالوس هر دو نمونه وجود داشت. چمپر کالوس‌های بدست آمده از جنین کامل که به مدت ۵ هفته در محیط کشت حاوی NAA و 2,4-D قرار داشتند را به محیط کشت حاوی 2,4-D قرار داد و پس از گذشت ۵ هفته تولید و رشد ریشه و ساقه را ثبت کرد. این موفقیت ارزشمند در کشت آزمایشگاهی گیاه جینکو به کمک کوتیلدون و نتایجی که جین پیپر بالز در فرانسه از تاثیر سن بر روی غلظت ترین-های اصلی گیاه جینکو در سال ۱۹۹۹ ارائه کرد مبنی بر کاهش غلظت جینکولید و بیلوبالید با افزایش سن، دلگرمی بزرگی شدند تا محققان هر چه جدی‌تر به کشت آزمایشگاهی جینکو با هدف استخراج ترین‌های ارزشمند آن روی بیاورند. در سال ۲۰۰۴ توماسی در

به خواص کم نظیر آن در درمان بیماری‌های مختلف صدچندان کرده است. امروزه برخی کشورها توانسته‌اند بدون محدودیت آب و هوایی و در بازه‌های زمانی بسیار کمتر از سی سال با تکیه بر تکنیک‌های آزمایشگاهی موفق به کشت این گیاه ارزشمند شوند. در کشت آزمایشگاهی گیاه جینکو دو نکته بسیار حائز اهمیت است: مسئله اول بخشی از گیاه است که جهت کشت و به تبع آن استخراج ترکیبات مفید گیاه مورد استفاده قرار می‌گیرد و دومین مورد که بسیار مهم است و باید به دقت به آن پرداخته شود محیط کشتی است که نمونه‌ها بتوانند در آن هم رشد کنند و هم ترکیبات مهم دارویی مد نظر ما را در غلظت‌هایی که صرفه اقتصادی داشته باشد تولید کنند. از اواخر قرن نوزدهم که تلاش‌ها برای کشت آزمایشگاهی جینکو به شکل جدی آغاز شد تاکنون بخش‌های مختلف گیاه در محیط کشت‌های متنوع کشت داده شده که تعدادی از آن‌ها بر حسب میزان کالوس‌زایی و تولید جینکولید و بیلوبالید نتایج رضایت بخشی نیز داشته‌اند. در کشت‌های آزمایشگاهی موفق آمیز نخست مانند آنچه در سال ۱۹۹۴ توسط جانسون انجام شد وی نمونه‌هایی از مریستم‌های جانبی، بافت مگاکامتوفیت، جنین و قطعاتی از ساقه‌های جوان را در محیط کشت MS با درصدهای مختلفی از سوکروز و آگار و نیز محیط کشت گیاهان چوبی McCown کشت داد و اعلام کرد که جنین‌ها نسبت به سایر نمونه‌ها کالوس-زایی موفق‌تری داشتند. همچنین وی متوجه شد محیط MS برای کالوس‌زایی نمونه‌ها بهتر از WPM است و تاریکی و نور تاثیر چندانی بر کالوس‌زایی ندارد. در سال ۱۹۵۷ تحقیقات ارزنده ای توسط والتر انجام گرفت که مانند تحقیقات هم دوره خود برکشت

جانبی است. پس از آنکه اکثر بررسی‌ها رای مثبت به کشت آزمایشگاهی جینکو از طریق کوتیلدون و جنین حاوی کوتیلدون دادند نیلتون در سال ۲۰۱۳ تلاش برای کشت جینکو با استفاده از قطعاتی از ساقه این گیاه را آغاز کرد، وی دو دسته نمونه از ساقه‌ها تهیه کرد دسته اول قطعات حاوی گره بودند که از ساقه‌های چوبی بدست آمدند و دسته دوم قطعات حاوی گره که از ساقه‌های علفی و جوان جینکو تهیه شده بودند، وی با قوت و با استناد به نتایج عملی خود و نیز تحقیقات سکتو که در سال ۲۰۰۵ انجام داده بود اعلام کرد که استفاده از ساقه‌های چوبی شده برای کشت بافت کاملاً بی‌نتیجه است اما در مورد دسته دوم از نمونه‌ها وی به نتایج ارزشمندی رسید او دریافت که ۸۰ درصد ساقه‌های علفی حاوی گره وقتی در محیط ساده MS قرار می‌گیرند تا تولید ساقه پیش می‌روند و بخش‌های متورم شده‌ای که می‌تواند در صورت تداوم رشد به ساقه تبدیل شود را تولید می‌کنند ولی پیش از به وجود آمدن ساقه‌ها در همین مرحله متوقف می‌شوند حال اگر به همین محیط کشت کازئین هیدورلیز شده (HC) با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر اضافه کنیم در ۸۵ درصد از نمونه‌ها در محل گره شاهد رشد یک ساقه خواهیم بود و حتی ۳۵ درصد از نمونه‌ها چندین ساقه تولید می‌کنند وی گزارش داد با گذشت یک ماه از کشت نمونه‌ها در این محیط علاوه بر ساقه، رویش برگ‌های جدید بر روی این ساقه‌ها نیز مشاهده شد وی در ادامه در مقادیر مشخصی KIN و AC به محیط‌ها اضافه کرد که شواهد بدست آمده بر اثرات منفی این ترکیبات به‌خصوص وقتی که به‌طور همزمان با HC به محیط کشت اولیه اضافه شدند، دلالت داشت. به این ترتیب این مسیر قابل اعتماد برای کشت

کشور ایتالیا به بررسی کالوس‌زایی با محوریت مریستم‌ها، توسط نمونه‌های بدست آمده از جوانه‌های راسی و جانبی جینکو پرداخت. وی نمونه‌های تهیه شده را در محیط کشت MS که حاوی ۳۵ گرم در مترمکعب ساکارز و ۱۰ گرم در متر مکعب آگار Difco-bacto قرار داد و به محیط‌های کشت مقادیر مشخصی از EN, IAA, Kin, BAP, NAA و IBA به منظور بررسی اثر گذاری این مواد در کالوس‌زایی، رشد و تولید ترپن‌ها اضافه کرد وی دریافت که در همه محیط‌های کشت کالوس‌زایی اتفاق می‌افتد. اثرگذاری تنظیم کننده‌های اضافه شده به محیط را اینگونه گزارش کرد: در محیط کشت $MS + IAA + Kin + En$ کالوس‌زایی توسط جوانه‌های راسی و جانبی مشاهده شد و در اکثر نمونه‌ها یک ساقه نیز به وجود آمد. در محیط $MS + IAA + BAP + En$ کالوس‌زایی و تولید ساقه با شدت و قوت بیشتری در نمونه‌های تهیه شده از جوانه‌های راسی مشاهده شد. در محیط‌های $MS + NAA + Kin$ - $MS + BAP + En$ هم کالوس‌زایی با شدت بسیار زیادی مشاهده شد اما فقط در تعداد بسیار کمی از نمونه‌های تهیه شده از جوانه‌های راسی نسبت به دو محیط قبلی، رشد ساقه پدیدار شد. اما در هیچ یک از این نمونه‌ها ریشه تولید نشد، توماسی توانست با انتقال ساقه‌های بدست آمده به محیط $MS + IBA + En$ در بیش از ۷۰ درصد انتقال‌ها ریشه‌های سالم و کارآمد تحصیل کند اما توماسی در پایان این بررسی‌ها با وجود درصد بالای موفقیت در تولید کالوس، ساقه و حتی ریشه اعلام کرد که استفاده از جنین جینکو طبق آنچه چمبر انجام داده بود برای انجام کشت آزمایشگاهی بهتر و پربازده‌تر از جوانه‌های راسی و

بحث و نتیجه گیری

برای کسب موفقیت در کشت آزمایشگاهی جینکو باید به دو نکته توجه کنیم: نخست تهیه نمونه مناسب جهت قرار دادن در محیط کشت؛ چرا که بر اساس بررسی‌های انجام شده کالوس‌زایی و اندام‌زایی موفق به این معنا است که بتوان از بافت‌های کشت شده ترکیبات ارزشمندی چون جینکولید و بیلوبالید را در حجم و غلظت مناسب به دست بیاوریم که تنها در استفاده از برخی نمونه‌های تهیه شده از گیاه جینکو میسر است؛ در گام دوم باید ترکیب مناسبی از محیط کشت داشته باشیم. طبق بررسی‌ها استفاده از جنین گیاه جینکو که حاوی کوتیلدون باشد و حتی کوتیلدون به تنهایی در محیط کشت MS غنی شده با NAA و 2,4-D و نیز قطعات حاوی گره از ساقه‌های علفی جینکو که در محیط کشت MS به انضمام مقادیر مشخصی از HC کشت شده باشند می‌توانند گزینه‌های خوبی برای کشت آزمایشگاهی با هدف تکثیر و حتی استخراج مواد موثر آن باشند.

گیاه جینکو نیز با موفقیت طی شد. در همین سال‌ها بود که آمار تحقیقات بر روی تکثیر آزمایشگاهی این گیاه با تکیه بر روش‌های زیست فناوری به شکل پررنگی کاهش پیدا کرد چرا که اشکال مختلف تکثیر آزمایشگاهی جینکو تا دهه اول قرن بیستم به طور کامل مورد تحلیل و تحقیق قرار گرفتند (نمودار شماره ۱) و پس از آن مطالعات با محوریت پروتئومیکس، ژنوم و اثرات بالینی جینکو ادامه پیدا کردند.

از آنجایی که هدف از کشت و تکثیر گیاه جینکو استحصال عصاره مفید و شگفت‌انگیز آن مخصوصاً ترپن‌های جینکولید و بیلوبالید است ذکر این نکته ضروری است که باید در کنار کشت گیاه جینکو به روش‌هایی برای افزایش مقدار این ترکیبات در گیاه هم بپردازیم. در سال ۲۰۲۰ محققان چینی اعلام کردند تیمار کردن گیاه با اشعه یو وی به مدت ۴۸ ساعت، تنش سرما تا ۴ درجه سانتی‌گراد طی ۸ روز و افزودن ترکیباتی از جمله آبسیزیک اسید، سالیسیک اسید، متیل جاسمونات و اتفن می‌توانند باعث افزایش مقدار ترپن‌ها در گیاه شود که در این بین متیل جاسمونات بیشترین و آبسیزیک اسید کمترین اثرگذاری را داشتند (Zheng et al., 2020).

منابع

- Johnson, S.L., (1994). Tissue culture of *Ginkgo biloba*.
- Tommasi, F., Scaramuzzi, F. (2004). In vitro propagation of *Ginkgo biloba* by using various bud cultures.
- Sharma, S., Rathi, N., Kamal, B., Pundir, D., Kaur, B., Arya, S. (2010). Conservation of biodiversity of highly important medicinal plants of India through tissue culture technology- a review.
- Mantovani, N.C., Grando, M.F., Xavier, A., Otoni, W.C., (2013). In vitro shoot induction and multiplication from nodal segments of adult *Ginkgo biloba* plants.
- Balz, J.P., Courtois, D., Drieu, J., Drieu, K., Reynoird, J.P., Sohier, C., PoonTeng, B., Choudhury, D., Das, A.P. (2014). Propagation of *ginkgo biloba*
- Tulecke, W. (1957). The pollen of *Ginkgo Biloba*.
- Camper, N.D., Coker, P.S., Wedge, D.E., Keese. R.J. (1996). In vitro culture of ginkgo
- Lu, X., Chen, L., Liu, T., Ke, H., Gong, X., Wang, Q., Zhang, J., Fan, X., (2018). Chemical analysis, pharmacological activity and process optimization of the proportion of bilobalide and ginkgolides in *Ginkgo biloba* extract.

Zheng, J., Zhang, X., Fu, M., Zeng, H., Ye, J., Zhang, W., Liao, Y., Xu, F., (2020). Effects of different stress treatments on the total terpene trilactone content and expression levels of key genes in *Ginkgo biloba* Leaves.

Touch, A., Ptiard, V., (1999). Production of ginkgolides and bilobalide by *Ginkgo biloba* plants and tissue cultures.

Yoshikawa, T., Naito, Y., kondo, M., (1999). *Ginkgo biloba* leaf extract: review of biological actions and clinical applications.

Application of biotechnology methods in ginkgo reproduction-A review

Azadeh Mahmoudi^{1*}, Bahram Malekizanjani¹, Ali Ammarlou²

Abstract

Ginkgo biloba is one of the oldest living organisms on the planet, which is why it is also known as a living fossil. This plant is native to China and Due to its valuable compounds such as ginkgolides and bilobalid has long been used in traditional Chinese medicine because of its valuable compounds such as ginkgolides and bilobalid. Global attention to this effective plant in the treatment, control and even prevention of a wide range of diseases such as diabetes, Alzheimer's, impotence, concentration disorders, vascular disease and immunity has led countries to use biotechnology-based methods for laboratory culture of this plant. The first reports of the use of biotechnology methods in ginkgo culture back to the 1950s. In the following years, various methods were studied that some of them was failed but they are the foundation of the widespread laboratory culture of ginkgo in the world from 1957 to 2020.

Keywords: Ginkgo biloba, Biotechnology, Ginkgolid, Cotyledon, Bilobalid

¹ Department of Genetics and Breeding, Faculty of Agriculture, University of Zanjan. Zanjan, Iran.*Corresponding Author. E-Mail:ae.mahmoodi@yahoo.com

² Research Institute of Modern Biological Techniques, University of Zanjan, Zanjan, Iran.