تعیین زمان احیای بذر گیاهان دارویی جنس‌های مریم نخودی (*Teucrium polium*)، مریم گلی (*Salvia virgata*)، آویشن(*Thymus daenensis , T. fedtschenkoi*) و نعناع (*Mentha pulegium, M. longifolia*) با استفاده از مدلینگ متغیرهای مهم حفاظت (دما و رطوبت)

حمیدرضا عیسوند*[۱]، محسن نصیری[۲]، حسن مداح عارفی[۳]، علی اشرف جعفری[۴]

[۱]استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
[۲]مربی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران
[۳]دانشیار، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران
[۴]استاد، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۲۹

چکیده

بذرهای موجود در بانک ژن به‌دلیل تبادل جهت مصارف مختلف و همچنین فرسودگی ناشی از مدت زمان ذخیره سازی، نیاز به احیاء دوره‌ای دارند. درصورت عدم احیاء به‌موقع، دستیابی به مزایای بالقوه سرمایه گذاری زیربنایی در نگهداری ژرم پلاسم به روش برون رویشگاهی (*ex situ*) ممکن نخواهد بود. پیش‌بینی طول عمر بذرها بر پایه معادله قوه‌نامیه بذر استوار است. این معادله دارای چهار ضریب می‌باشد که برای هر گونه اختصاصی هستند. هدف این تحقیق تعیین ضرایب معادله قوه‌نامیه و استفاده از آنها برای پیش‌بینی مدت مفید نگهداری بذر و در نتیجه برآورد زمان تکثیر و احیاء بذر گونه‌های مهم دارویی شامل دو گونه آویشن (*Thymus fedtschenkoi, T. daenensis*)، دو گونه نعناع (*Mentha pulegium, M. longifolia*)، یک گونه مریم‌گلی (*Salvia virgata*) و یک گونه مریم نخودی (*Teucrium polium*) بود. ابتدا بذرها در سه محیط با رطوبت نسبی ۲۰، ٤۰ و ٦۰ درصد به تعادل رطوبتی رسیدند و درصد رطوبت آنها اندازه گیری شد. این بذرها در پاکتهای نایلونی مهر و موم شده و در دماهای ۳۰، ۳۵ و ٤۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به فواصل یک ماه از آنها تست جوانه‌زنی با سه تکرار به‌عمل آمد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل برای برآورد ضرایب معادله قوه‌نامیه (K_E ،C_w ،C_H ،C_Q) مورد استفاده قرار گرفتند. بیشینه و کمینه طول عمر برآورد شده به ترتیب در گونه‌های *T. fedtschenkoi* و *M. pulegium* مشاهده شد. در صورتی که قوه‌نامیه اولیه این نمونه‌ها در بدو ورود به بانک ژن ۱۰۰ درصد باشد و با رطوبت هشت درصد در شرایط کلکسیون فعال (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شوند به‌ترتیب ۲٤۱ سال بعد برای احیا بذر *T. fedtschenkoi* و ۲۲ سال بعد برای *M. pulegium* باید اقدام شود. ضریب K_E برای گونه‌های *T. daenensis*، *T. fedtschenkoi*، *M. pulegium*، *M. longifolia*، *S. virgata* و *T. polium* به‌ترتیب ٥/۱٤، ۷/۱۸، ٤/۳۱۲، ٤/۰٦، ٤/۲۹ و ٤/۷۲ بدست آمد که براساس آنها می‌توان زمان مناسب احیاء بذر در این گونه‌ها را برآورد نمود.

واژگان کلیدی: آویشن، بانک ژن، طول عمر بذر، گیاهان دارویی، مریم گلی، مریم نخودی، نعناع

*نویسنده مسئول: eisvand.hr@lu.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

امروزه اهمیت گیاهان دارویی بر کسی پوشیده نیست و خوشبختانه کشورمان به لحاظ تنوع گونه‌ای بالا، این امکان را فراهم آورده تا بتوان از گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از پتانسیل‌های توسعه اقتصادی بهره برد.

به‌دلیل فرسایش ژنتیکی، حفظ ذخایر ژنتیکی اهمیت قابل توجهی پیدا کرده است. از ۲/۳ میلیون نمونه گیاهی نگهداری شده در جهان، فقط سه درصد در رویشگاه (*in situ*) نگه‌داری شده، و بقیه آنها (۹۷ درصد)، به شکل بذر و در خارج از رویشگاه (*ex situ*) نگهداری می‌شوند (Plucknett et al., 1987). بذر به‌عنوان واحد بنیادین تکوین حیات گیاه از دیرباز مورد توجه بوده و شناخت آن به نقطه آغاز کشاورزی بر می‌گردد (Black and Bewley, 2000). بذرها به عنوان منابع ذخایر توارثی، سرمایه ارزشمند و تضمین شده‌ای می‌باشند که لازم است برای نسل‌های بعد حفظ شوند. با حفظ این ذخایر، تنوع ژنتیکی گیاهی مرتبط با صفات مفید نیز می‌تواند همیشه در دسترس باشد (Gooding et al., 2003).

مدت زمانی که بذر می‌تواند قوه‌نامیه خود را حفظ کند طول عمر بذر[1] نامیده می‌شود. Ewart (1908) بذرها را براساس طول عمر تحت شرایط عادی، به سه دسته میکروبیوتیک (طول عمر تاسه سال)، مزوبیوتیک (طول عمر بین سه تا ۱۵ سال) و ماکروبیوتیک (طول عمر از ۱۵ تا ۱۰۰ سال و یا بیشتر) تقسیم کرد. امروزه دسته‌بندی فوق به‌ندرت مورد استفاده است. Roberts (1973) نوعی از دسته‌بندی را ارائه داد که تنها بر پایه طول عمر استوار نبوده بلکه تقابل پاسخ‌های فیزیولوژیک بقاء بذر در طی نگهداری به محتوای رطوبتی و دما را نیز شامل می‌شود. او دو واژه "ارتودوکس[2]" و "ریکالسیترنت[3]" را برای رفتار انباری بذر معرفی کرد. بذرهای ارتودوکس آنهایی هستند که می‌توانند بدون هیچ خسارتی کاهش محتوی رطوبت تا حد ۵-۲ درصد را تحمل نمایند. طول عمر این بذرها با کاهش میزان رطوبت و دمای انبار افزایش می‌یابد؛ در مقابل، در بذرهای ریکالسیترنت اگر میزان رطوبت از یک مقدار نسبتاً بالا (بین ۱۲ و ۳۱ درصد) کمتر شود نمی‌توانند زنده بمانند (Hong et al., 1996). دسته سوم رفتار انباری بذر یعنی گروه "حد واسط[4]" توسط Ellis et al., (1990) به دو گروه بالا اضافه شده است. رفتار انبارداری این بذرها حد واسط ارتودوکس و ریکالسیترنت می‌باشد.

بانک ژن منابع طبیعی در حال حاضر با بیش از ٤٦ هزار نمونه بذری از خانواده‌های مختلف گیاهان جنگلی، مرتع و دارویی، نقش مهمی در جمع آوری و حفاظت ذخایر ژنتیکی گیاهی کشور برعهده دارد. تکثیر و احیاء این نمونه‌های بذری موجود در بانک ژن به‌دلیل پیری و زوال بذر و همچنین کاهش موجودی نمونه‌ها بواسطه نقش بانک ژن در تامین بذر مورد نیاز محققان، امری غیر قابل اجتناب است (Eisvand et al., 2004). احیاء به موقع یکی از اولویت‌های مهم در همه بانک‌های ژن است. احیاء نمونه‌ها جهت نگهداری قوه‌نامیه و حفظ تمامیت ژنتیکی مجموعه‌های بذری در خارج از رویشگاه طبیعی آنها (نگهداری در ژرم‌پلاسم) امری ضروری است و درصورت عدم احیاء، بروز مزایای بالقوه سرمایه‌گذاری زیربنایی در نگهداری ژرم‌پلاسم به روش برون رویشگاهی (*ex situ*) ممکن نخواهد بود.

1- Seed longevity
2- Orthodox
3- Recalcitrant
4- Intermediate

Archive of SID
www.SID.ir

قوه‌نامیه‌ای که به‌عنوان آستانه احیاء هر نمونه در نظر گرفته می‌شود حدود ۸۵ درصد و یا افت قوه‌نامیه به میزان ۱۵ درصد پایین‌تر از حداکثر مشاهده شده برای گونه یا نمونه (مثلاً اگر حداکثر مشاهده شده ۸۰ درصد است آستانه آن ٦۵ درصد خواهد بود) می‌باشد. این گزینه برای گونه‌ها یا نمونه‌هایی مناسب است که دستیابی به جوانه‌زنی بالا در آنها مشکل است (Sackville Hamilton and Chorlton, 1997). پیش‌بینی زوال و کاهش قوه‌نامیه بذرها به‌منظور کاهش هزینه‌های احیا بذرها و در اولویت قراردادن نمونه‌هایی که قوه‌نامیه آنها به آستانه احیاء کاهش یافته است از ضروریات می‌باشد. در حال حاضر بانک‌های‌ژن مهم دنیا در حال انجام کارهای معوقه و مشکلات مداوم احیاء مجموعه‌هایشان هستند. در صورت پیش‌بینی زمان احیاء هر نمونه در زمان ورود به بانک ژن، علاوه بر احیاء به موقع و جلوگیری از تلفات ژنتیکی ذخایر توارثی، در وقت و سرمایه نیز بسیار صرفه‌جویی شده و حداکثر بهره برداری حاصل خواهد شد.

زمان، تنها یکی از چند عامل مربوط به انبارداری است. طول عمر بذر به‌صورت قابل توجهی تحت تأثیر شرایط نگهداری بذر است. رطوبت بالای بذر و دمای بالای انبار از مهمترین عوامل تضعیف انبارداری بذر است (Ghaderi-Far and Soltani, 2010). اطلاعات مفیدی در مورد جوانه‌زنی بذرهای کشف شده در آرامگاه‌های اهرام مصر وجود دارد. شرایط داخل اهرام مصر خیلی خشک است و اجازه می‌دهد طول عمر بذر در گونه‌های خاصی به هزاران سال برسد. تقریباً همه رکوردهای طول عمر مربوط به بذرهای دارای پوسته سخت است. گزارشات تحقیقات علوم بذر از بذرهایی که بعد از ۲۰۰ سال تحت شرایط غیر بهینه زنده مانده‌اند، از سازگاری برای حداکثر طول عمر بذر در گونه‌هایی از محیط‌هایی که بطور فصلی خشک می‌شوند- محیط‌های مدیترانه ای - حکایت دارد. مثال‌های دیگری از بیشترین طول عمر بذر، گونه *Canna compacta* است که پس از بیرون آوردن از داخل یک محفظه چوب گردو، بعد از ٦۰۰ سال جوانه زدند. حتی طول عمر بیشتری نیز در لوتوس هندی (*Nelumbo nucifera*) که از کف یک دریاچه در چین بدست آمدند گزارش شده است. این بذرها جوانه زدند و با استفاده از کربن رادیو اکتیو، طول عمر آنها ۱۲۸۸±۲۷۱ سال برآورد شد (Miller et al., 1995). در بذر گیاه شب خسب (*Albizzia julibrissin*) نیز بعد از ۱٤۷سال جوانه‌زنی مشاهده شده است (Odum, 1965).

بذرهای اکثر گیاهان رفتار انبارداری ارتودوکس دارند و به نظر می‌رسد روند زوال آنها از قوانین مشخصی پیروی کند و بخوبی بتوان الگوی افت قوه‌نامیه آنها براساس شرایطی که در آن نگهداری می‌شوند را پیش‌بینی‌کرد (Roberts, 1973). مهمترین تلاش‌هایی که جهت برآورد طول عمر بذر تاکنون صورت گرفته، توسط پروفسور الیس و همکاران وی در دانشگاه ریدینگ انجام شده است. نتایج سالها تحقیق آنها بصورت یک معادله تحت عنوان معادله کلی برآورد طول عمر بذر در سال ۱۹۸۰ انتشار یافت (Ellis and Roberts, 1980). در این معادله که شرح آن در قسمت مواد و روشها آمده است با استفاده از پارامترهایی نظیر دما، درصد رطوبت، قوه‌نامیه اولیه و چهار ضریب مربوط به دما و رطوبت (C_H و C_Q ثابت‌های دمایی و K_E و C_W ثابت‌های رطوبتی) که در هر توده بذر اختصاصی هستند می‌توان طول عمر بذر را پیش‌بینی کرد. این مدل توانایی پیش‌بینی طول عمر هر نوع بذر در هر شرایط نگهداری مشروط به دامنه دمایی ۲۰- تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت بذر ۵ تا ۲۵ درصد را امکان‌پذیر می‌نماید. با کمک این رابطه می‌توان طراحی و مدیریت بانک ژن و انبارداری در شرایط کنترل شده را بهتر انجام داد (Liu et al., 2008). Dickie et al., (1985) با استفاده از آنالیز پروبیت و برازش داده‌ها در مدل رگرسیونی افت قوه‌نامیه توانستند ثابتهای معادله را برای بذر لوپین (K_E= ٦/۲۲؛C_w= ۲/۷٦ ؛C_H=۰/۰۰٤۸) بدست آورند.

www.SID.ir

Roberts (1961) نشان داد که ترسیم نتایج آزمایش‌های جوانه‌زنی متوالی نمونه‌های یک توده بذری نگهداری شده تحت شرایط کنترل، منحنی سیگموئیدی را ایجاد می‌نماید که از توزیع نرمال تجمعی پیروی می‌کند. بنابراین بذرهای منفرد داخل یک توده بذری در زمان‌های مختلفی از بین می‌روند و توزیع ترتیب مرگ آنها نرمال می‌باشد.

از آنجایی که کاهش قوه‌نامیه ناشی از گذشت زمان، برای ۷۰ گونه مدل سازی شده است، امکان پیش‌بینی طول عمر آنها با در دست داشتن میزان رطوبت، دما و جوانه‌زنی اولیه وجود دارد. این مدل‌ها با استفاده از قرار دادن توده‌های بذر در دامنه‌ای از دمای بالا و رطوبت بالا و سپس پلات کردن افت قوه‌نامیه، توسعه داده شده‌اند.

نمونه‌هایی از بذرهای جو و یولاف که به‌مدت ۱۱۰ سال در شیشه‌های دربسته در وین (اتریش) در محدوده دمایی ۱۰ تا ۱۵ درجه سانتی‌گراد و میزان رطوبت بذر ۳/۱۲ درصد نگهداری شده بودند به‌ترتیب ۹۰ و ۸۱ درصد جوانه‌زنی داشتند. همچنین بذر و گونه‌های دیگری نظیر *Agrostemma githago*، *Lolium temulentum*، *Sinapis alba*، *Sinapis arvensis* و *Vaccaria hispanica* قادر به جوانه‌زنی بودند (Steiner and Ruckenbauer, 1995). در پروژه بانک بذر هزاره[1] بذر دو مورد لگوم (*Liparia* sp., *Acacia* sp.) و یک مورد Proteaceae (*Leucospermum* sp.) در سال ۱۸۰۲ جمع‌آوری شده بودند در سال ۲۰۰۵ جوانه زدند (Yaja et al., 2005).

مشخص شده است که در گونه‌های زیادی، رابطه بین میزان رطوبت بذر و عمر آن لگاریتمی و منفی است (Ellis et al., 1980a, 1980b, 1981; Krrak and Vos, 1987; Tompsett, 1986). شیب C_w حساسیت طول عمر به اختلاف رطوبت را نشان می‌دهد. مقدار C_w در گونه‌ها متفاوت، اختلاف زیادی دارد (Ellis and Roberts, 1980b). رابطه لگاریتمی منفی بین طول عمر و رطوبت بذر در یک دامنه خاص صادق است و برای بذر هر گونه این دامنه متفاوت است. در این خصوص دو محدوده وجود دارد یکی حد پایینی و دیگری حد بالایی. یعنی از یک میزان رطوبت پایین‌تر دیگر با کاهش رطوبت، طول عمر افزایش نیافته و حتی کاهش می‌یابد. حد بالایی نیز میزان رطوبتی است که در صورت وجود اکسیژن، طول عمر بذر با افزایش آن نه تنها کاهش نمی‌یابد بلکه افزایش نیز خواهد یافت. حد پایین برای بسیاری از گونه‌ها بین ۲/۵ تا ٦/۲ و حد بالایی حدود ۱۵ تا ۲۸ درصد است (Leon-Lobos and Ellis, 2003).

حداقل رطوبت محدود کننده برای *Chenopodium quinoa* در دمای ٦۵ درجه سانتی‌گراد، ٤/۱ درصد است ولی با کاهش رطوبت تا حد ۱/۸ درصد نیز خسارتی به بار نمی‌آورد. این حداقل رطوبت محدود کننده به همراه روابط لگاریتمی منفی بین طول عمر و رطوبت بذر، در عمل باعث ایجاد محدودیت در خشک نمودن بذر جهت انبار می‌شود. این محدودیت در گونه‌های ارتودوکس متفاوت است برای مثال میزان رطوبت محدود کننده از ۲ درصد در بادام زمینی (*Arachis hypogaea* L.) تا ٦/۲ درصد در نخود (*Pisum sativa*) متفاوت است (Ellis et al., 1989). اغلب یک محدودیت رطوبت زیاد با روابط لگاریتمی منفی، بین طول عمر و رطوبت وجود دارد. در کاهو (*Lactuca sativa*) بذرهایی که در حالت کاملاً آماس کرده ذخیره شده بودند، با افزایش رطوبت از روند کاهش طول عمر، پیروی نکردند (Villiers and Edgcumbe, 1975).

اگر اکسیژن به‌طور آزاد قابل دسترس باشد؛ با افزایش میزان رطوبت از ۱۵ به ۲۰ درصد، طول عمر افزایش می‌یابد؛ اما بدون اکسیژن قابل دسترس، با افزایش رطوبت طول عمر افزایش نمی‌یابد؛ این تغییر روابط در میزان رطوبتی بالا به خاطر ترمیم و فعالیت‌های اتفاق افتاده در بذرهای مرطوب است (Ibrahim and Roberts, 1983; Ibrahim et al., 1983).

1- Millennium seed bank project

Archive of SID

www.SID.ir

هیچ محدودیت دمایی در کاربرد عادی معادله زنده‌مانی بذر وجود ندارد و دامنه دمایی از زیر صفر تا دماهای بالا در این معادله استفاده شده است. رابطه بین مدت زمان حفظ قوه‌نامیه بذرها و دما در رطوبت ثابت، منفی و نیمه لگاریتمی است. مدل الیس و روبرتز، اثر دما بر طول عمر بذر جو را بین دمای ۹۰+ تا ۲۰- شامل می‌شود. در مقایسه بذر ۸ گونه مختلف مشخص شد که تفاوتی بین گونه‌ها از نظر حساسیت نسبی طول عمر به دما وجود ندارد (Dickie et al., 1990). اگر چه کاهش دما طول عمر را بهبود می‌بخشد اما مدل پیشگویی می‌کند که با توجه به افزایش هزینه سود نسبی با کاهش دما کم می‌شود. علت آن است که مدل برخلاف آزمایش‌ها تا دمای ۷۵- درجه سانتی‌گراد را هم در نظر می‌گیرد (Ellis and Roberts, 1980a; 1980b). در چنین دمای پایینی (۷۵- درجه سانتی‌گراد) نسبت به دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد سودمندی نسبی طول عمر جزئی خواهد بود و دمای زیر ۲۰- درجه سانتی‌گراد توصیه نمی‌شود (Dickie et al., 1990).

مواد و روش‌ها

ابتدا بذر چند گونه دارویی موجود در بانک ژن منابع طبیعی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور براساس سند راهبردی توسعه تحقیقات منابع طبیعی برای تعیین ضرایب معادله قوه‌نامیه و پیش‌بینی زمان احیاء انتخاب شدند (جدول ۱). این بذرها در بانک ژن نگهداری می‌شدند. برای برآورد ضرایب، بذرها مدتی تحت تیمارهای پیری زودرس قرار گرفتند. در مطالعات مختلف دامنه وسیعی از دما و رطوبت با توجه به امکانات و زمان استفاده شده است (Smith et al., 2003). در تحقیق حاضر ۹ تیمار ترکیبی استفاده شد. قبل از اعمال تیمارهای رطوبتی و دمایی مختلف؛ قوه‌نامیه بذرها به روش کاغذ صافی (TP) و با اعمال دو هفته پیش‌سرما تعیین گردید که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است.

اعمال سطوح رطوبتی: ابتدا هر نمونه بذر به ۱۵ زیر نمونه ۳۰۰ عددی تقسیم شد. این نمونه‌ها در نایلون‌های مشبکی بسته‌بندی شده و در محفظه‌هایی مهر و موم شده با رطوبت نسبی ۲۰، ٤٠ و ٦٠ درصد قرار داده شدند. برای ایجاد رطوبت‌های نسبی به‌ترتیب از ۱۲۸، ۸۸ و ٦٠ گرم کلرید لیتم[1] در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه استفاده شد. بذرها در بالای محلول و به فاصله دو سانتی متری از آن بر روی صفحه مشبک قرار داشتند. محفظه‌های حاوی بذرها به انکوباتور یخچال‌داری منتقل شدند و دمای آن ۲۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

نمونه‌هایی که بذر خیلی ریزی داشتند (*Mentha* sp.) به‌مدت ١٤ روز و نمونه‌های با بذر درشت‌تر (*Thymus* sp. *Teucrium* sp.،*Salvia* sp.) به مدت ۲۱ روز در محفظه‌های یاد شده قرار داده شدند تا به تعادل رطوبتی برسند (Millennium seed bank project, technical sheet 09).

پس از سپری شدن مدت زمان ایجاد سطوح رطوبت، از بذر هر گونه یک نمونه جهت تعیین میزان رطوبت بذر انتخاب و به روش عادی[2] (با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت یک هزارم گرم و آون با دمای ۱۳۰ درجه به‌مدت یک ساعت) درصد رطوبت بذر هر نمونه تعیین شد. میزان رطوبت بذر پس از رسیدن به تعادل رطوبتی در جدول ۱ آورده شده است.

1- Lithium chloride
2- Routine method

www.SID.ir

اعمال سطوح دمایی: بذرهای مهر و موم شده واجد رطوبت‌های مختلف به سه قسمت تقسیم شده و در سه انکوباتور با دماهای ۳۰، ۳۵ و ٤٠ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جدول ۱- لیست گونه‌های مورد بررسی در تحقیق و مشخصات آنها.

نام علمی	کد بذر	قوه نامیه اولیه	درصد سطوح رطوبت بذرها	محل جمع‌آوری
Thymus daenensis	۱۳٦۱۱	۱۰۰	۹-۱۷-۲۲	استان مرکزی- ورچه در
Thymus fedtschenkoi	۱۷۹۷۹	۱۰۰	۹-۱٦-۲۱	آذربایجان غربی
Mentha pulegium	۲۲۳۸۱	۱۰۰	۸-۱۳-۱۸	استان مرکزی-باغات سنجان
Mentha longifolia	۲۷٤۹۹	۱۰۰	۸-۱۳-۱۸	آذربایجان غربی-پیرانشهر
Salvia virgata	۲۸۲۹۵	۱۰۰	۹/۱-۱۵ -۲۵	اصفهان-نجف آباد
Teucrium polium	۲۷۲۱۳	۹۵	۹ -۱٤-۲۰	اصفهان خوربیابانک

انجام تست دوره‌ای قوه‌نامیه: پس از ایجاد سطوح رطوبتی مختلف، مهر و موم کردن بذرها و انتقال آنها به سه انکوباتور با دماهای ۳۰، ۳۵ و ٤٠ درجه سانتی‌گراد؛ هر دو ماه یک بار یک پاکت از هر ترکیب تیماری از انکوباتور خارج و قوه‌نامیه آن به روش استاندارد (روی کاغذ) تعیین می‌شد. به‌منظور بر طرف کردن خواب احتمالی بذرها، قبل از آزمون قوه‌نامیه تیمار پیش‌سرما به مدت دو هفته روی آنها اعمال شد. خروج حداقل ۲ میلی‌متری ریشه‌چه بعنوان معیاری برای جوانه‌زنی در نظر گرفته شد (ISTA, 1985).

آنالیز داده‌ها: همزمان با انجام آزمایش‌های دوره‌ای قوه‌نامیه و ثبت نتایج آنها در فرم‌های ویژه، یک فایل ویژه برای ثبت این داده‌ها در نرم افزار اکسل طراحی گردید. داده‌های حاصل از آزمون‌های مختلف قوه‌نامیه در این فایل ثبت و در نهایت با استفاده از قابلیت این نرم افزار به برآورد ضرایب با استفاده از گزینه Solver پرداخته شد. ابتدا معادله بصورت کامل برای نرم افزار تعریف شد سپس برای ضرایب محدودیت‌هایی به شرح زیر اعمال و در نهایت با فرض اینکه مجموع توان دوم باقیمانده‌ها (تفاضل قوه‌نامیه مشاهده شده با پیش‌بینی شده) برابر صفر باشد با برازش رگرسیون ضرایب برآورد شدند.

K_E = ٦-۱۰ C_W = ۳-٦ C_H = ۰/۰۳ -۰/۰٦ C_Q= ۰/۰۰۰۲-۰/۰۰۰۵

در یک توده بذری، تعداد اندکی از بذرها زودتر و تعداد اندکی نیز دیرتر از بین می‌روند اما اکثر آنها در حول و حوش میانه زمان نگهداری، قدرت رویش خود را دست می‌دهند. پلات این نوع از داده‌ها، یک منحنی با توزیع نرمال بوجود می‌آورد. جهت تسهیل آنالیز آماری مقادیر درصد قوه‌نامیه از طریق خطی به انحراف معادل نرمال[1] تبدیل می‌شوند. برای راحتی کار از تبدیل به پروبیت استفاده شد. امروزه معمولاً پروبیت در مدل سازی قوه‌نامیه استفاده می‌شود. یک واحد پروبیت برابر با یک واحد انحراف معیار از توزیع نرمال مرگ بذر در طی زمان است.

معادله قوه‌نامیه اثر ترکیبی رطوبت و دما روی هر دو جنبه منحنی بقاء بذر، یعنی انحراف معیار سیگما، با معادله زیر توصیف می‌شود:

$$\log_{10}\delta = KE - C_w \log 10m - CH^t - CQ^{t^2}$$

1- Normal equivalent deviates (NEDs)

Archive of SID

www.SID.ir

m میزان رطوبت بذر بر حسب درصد (بر اساس وزن‌تر)

t دما بر حسب درجه سانتی‌گراد و K_E، C_w، C_H، C_Q، ضرایب ثابت گونه‌ای هستند. معادله‌های فوق می‌توانند ترکیب شده و رابطه زیر را بوجود آورند:

$$V = Ki - {}^{P}\!/_{10^{KE - C_W \log m - CHt - CQt^2}}$$

این معادله می‌تواند قوه‌نامیه هر تودهٔ بذری را پس از دوره نگهداری در شرایط متعارف نگهداری برای هر گونه‌ای که مقادیر ثابت‌های K_E، C_w، C_H، C_Q، آن مشخص باشد، برآورد کند (Ellis and Roberts, 1980).

نتایج

نعناع (گونه *Mentha pulegium*): ضرایب دمایی و رطوبتی بذر این گونه نعناع به شرح جدول ۲ برآورد شد. با توجه به ضرایب و استفاده از معادله، افت ۱۵ درصدی قوه‌نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) نیز محاسبه گردید. در صورتی که قوه‌نامیه این گونه در شروع ذخیره سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن هشت درصد باشد حدود ۲۲ سال بعد باید نسبت به احیا بذرهای نگهداری شده آن در کلکسیون فعال اقدام شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه تا ۹۰ سال نیازی به احیا ندارد.

نعناع (گونه *Mentha longifolia*): ضرایب مربوط به این گونه از نعناع در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به ضرایب و استفاده از معادله، افت ۱۵ درصدی قوه‌نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) محاسبه گردید. در صورتی که قوه نامیه این گونه در شروع ذخیره سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن هشت درصد باشد حدود ٤٤ سال بعد باید نسبت به احیاء بذرهای نگهداری شده آن در کلکسیون فعال اقدام شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، تا ۱۸۰ سال نیازی به احیا ندارد.

مریم نخودی (گونه *Teucrium polium*): ضرایب دمایی و رطوبتی بذر مریم نخودی در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به ضرایب و استفاده از معادله، افت ۱۵ درصدی قوه‌نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) محاسبه گردید. در صورتی که قوه‌نامیه این گونه در شروع ذخیره سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن هشت درصد باشد حدود ۱۰۹ سال بعد باید بذر نگهداری شده آن در کلکسیون فعال احیا شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، تا ٤٥٢ سال نیازی به احیا ندارد.

مریم گلی (گونه *Salvia virgata*): ضرایب دمایی و رطوبتی بذر مریم گلی در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به ضرایب برآورد شده و استفاده از معادله قوه قوه‌نامیه، افت ۱۵ درصدی قوه‌نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) نیز محاسبه گردید. در صورتیکه قوه‌نامیه این گونه در شروع ذخیره‌سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن هشت درصد باشد حدود ٤٧ سال بعد باید بذر نگهداری شده آن در کلکسیون فعال احیا شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، تا ۱۹٤ سال نیازی به احیا ندارد.

آویشن (گونه *Thymus fedtschenkoi*): ضرایب دمایی و رطوبتی بذر *T. fedtschenkoi* در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به ضرایب برآورد شده و استفاده از معادله قوه‌نامیه، افت ۱۵ درصدی قوه‌نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) نیز محاسبه گردید. در صورتی که قوه‌نامیه این گونه در شروع ذخیره‌سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن هشت درصد باشد حدود ۲٤۱ سال بعد باید بذر نگهداری شده

Archive of SID

www.SID.ir

آن در کلکسیون فعال احیا شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، این زمان بسیار طولانی و حدود ۹۸٦ سال خواهد بود.

آویشن (گونه *Thymus daenensis*): ضرایب دمایی و رطوبتی بذر *T. daenensis* در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به ضرایب برآورد شده و استفاده از معادله قوه قوه‌نامیه، افت ۱۵ درصدی قوه‌نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجه سانتی‌گراد) نیز محاسبه گردید. در صورتی‌که قوه‌نامیه این گونه در شروع ذخیره سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن هشت درصد باشد حدود ۱٤۱ سال بعد باید بذر نگهداری شده آن در کلکسیون فعال احیا شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، این زمان بسیار طولانی و حدود ۵۷۵ سال خواهد بود.

جدول ۲- ضرایب برآورد شده معادله پیش‌بینی طول عمر بذر و زمان محاسبه شده جهت احیا بذر (افت ۱۵ درصد قوه‌نامیه)

کد نمونه	نام علمی	پیش‌بینی زمان لازم (سال) برای احیا (افت ۱۵ درصدی قوه‌نامیه) در کلکسیون‌های پایه و فعال		ضرایب برآورد شده با معادله پیش‌بینی طول عمر بذر			
		-۱۸ °C	۵ °C	C_Q	C_H	C_W	K_E
۲۲۳۸۱	*Mentha pulegium*	۹۰/٤	۲۱/۹۷	۰/۰۰۰٤۷۸	۰/۰۳۲۹	۰/٦۱	٤/۳۱۲
۲۷٤۹۹	*Mentha longifolia*	۱۸۰/۸	٤۳/۸۳	۰/۰۰۰٤۷۸	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۸۲	٤/۰٦
۲۷۲۱۳	*Teucrium polium*	٤۵۲	۱۰۹	۰/۰۰۰٤۷۸	۰/۰۳۲۹	۰/۲۹۷۸	٤/۷۲
۲۸۲۹۵	*Salvia virgata*	۱۹٤/۵	٤۷/۹٤	۰/۰۰۰٤۷۸	۰/۰۳۲۹	۰/۲۲۲	٤/۲۹
۱۳٦۱۱	*Thymus daenensis*	۵۷۵/۳	۱٤۱/۰۱	۰/۰۰۰٤۷۸	۰/۰۳۲۹	۰/٦٤٦	۵/۱٤۸
۱۷۹۷۹	*Thymus fedtschenkoi*	۹۸٦	۲٤۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۳	۲/٦۸	۷/۱۸

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که بین جنس‌ها و همچنین گونه‌های مختلف یک جنس از نظر طول عمر بذر تنوع زیادی وجود دارد. این تفاوت عمر بذر عمدتاً به‌دلیل تفاوت در ضریب رطوبتی (K_E) بود. ضرایب دمایی بین گونه‌های مختلف اختلاف چندانی نداشت. این موضوع نشان دهنده اهمیت بیشتر محتوی رطوبتی بذر نسبت به دمای نگهداری است. در قوانین تجربی Harington (1972) نیز به خوبی به این موضوع اشاره شده است. بر اساس قوانین‌هارینگتون به ازاء هر پنج درجه سانتی‌گراد کاهش دمای نگهداری بذر در محدوده دمایی صفر تا ٤۰ درجه و به ازاء هر یک درصد کاهش رطوبت بذر در محدوده پنج تا ۱٤ درصد، طول عمر بذر دو برابر می‌شود. به همین دلیل هم در منابع متعدد دو ضریب دمـایی (C_H و C_Q) را عمومی دانسته‌اند (Pritchard and Dickie, 2003). به‌طور مثال Dickie et al. (1990) ضرایب C_H و C_Q را برای نه گونه زراعی و سبزی و صیفی به‌ترتیب ۰/۰۳۲۹ و ۰/۰۰۰٤۷۸ گزارش کرده‌اند و Ellis and Roberts (1980b) ضرایب C_H و C_Q را برای جو به‌ترتیب ۰/۰٤ و ۰/۰۰۰٤۲۸ برآورد کردند.

در این مطالعه تفاوت بارزی بین گونه‌ها از نظر طول عمر بذر مشاهده شد. طول عمر بذر علاوه بر کیفیت و شرایط نگهداری؛ شدیداً تحت تاثیر ژنتیک گیاه نیز می‌باشد. پریستلی و همکاران نیز در بررسی برآورد زمان لازم برای

Archive of SID
www.SID.ir

۵۰ درصد افت قوه‌نامیه ۹۲ گونه، تفاوت بارزی در سطح گونه را گزارش کردند. این گونه‌ها در ۱۳ مکان مختلف و در شرایط معمولی نگهداری شده بودند (Priestley et al., 1985).

در هفتمین سمینار ISTA که در زمینه علوم آماری بود، ضرایب معادله قوه‌نامیه برای چندین محصول زراعی و سبزی به شرح جدول ۳ ارایه شد (Kruse et al., 2005). با مراجعه به این جدول مشخص می‌شود که گیاهان زراعی در مقایسه با نمونه‌های دارویی غیر زراعی آزمون شده در این طرح ضرایب رطوبتی K_E و C_W بالاتری دارند. می‌توان گفت هرچه K_E بزرگتر باشد طول عمر بذر بیشتر و هرچه ضرایب دیگر نظیر C_W؛ C_H و C_Q بزرگتر باشند طول عمر بذر کمتر است.

جدول ۳- ضرایب معادله قوه‌نامیه برای برخی از گیاهان زراعی و سبزیجات (Kruse et al., 2005)

گونه	K_E	C_W	C_H	C_Q
جو	۹/۹۸۳	۵/۸۹۶	۰/۰٤	۰/۰۰۰٤۲۸
گندم	۱۰/۱	۵/۷۳۰	۰/۰۵٦۳	–
ذرت	۸/۵۷۹	٤/۹۱۰	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰٤۲۸
نخود	۹/۸٦۰	۵/۳۹۰	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰٤۷۸
لوبیا	۹/۰۸	۵/۲۰	۰/۰۰۵۷	۰/۰۰۰۷۹
کلزا	۷/۷۱۸	٤/۵٤	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰٤۷۸
سویا	۷/۷٤۸	۳/۹۷۹	۰/۰۵۳	۰/۰۰۰۲۲۸
آفتابگردان	٦/۷٤	٤/۱٦۰	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰٤۷۸
کتان	۷/۷٦	٤/۸٦۰	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰٤۷۸
چغندرقند	۸/۹٤۳	٤/۷۲۳	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰٤۷۸
پیاز	٦/۹۷۵	۳/٤۷۰	۰/۰٤	۰/۰۰۰٤۲۸
کاهو	۸/۲۱۸	٤/۷۹۷	۰/۰٤۸۹	۰/۰۰۰۳٦۵
گوجه فرنگی	٦/۵۰۱۷	۳/۱۸۰۷	۰/۰۳۲٤	۰/۰۰۰٤۳۱

امروزه تحولات و پیشرفت علوم و تکنولوژی بذر ثابت کرده است که تنوع ژنتیکی را می‌توان از طریق بانک‌های ژن حفاظت کرد. در حال حاضر، سوال در مورد اهمیت حفاظت از منابع ژنتیکی از "آیا" به "چگونه" تغییر کرده است. حفاظت بذرها از طریق بانک‌های ژن یکی از مجموعه فعالیتهایی است که جهت اطمینان از حفاظت "برون رویشگاهی" (*ex situ*) منابع ژنتیکی ارزشمند، نیازمند بهینه‌سازی است. برنامه حفاظتی باید معطوف به این باشد که چه ژرم پلاسمی و برای چه منظوری جمع‌آوری می‌شود و همچنین احیاء به موقع آن نیز مد نظر قرار گیرد. بانک‌های ژن معمولاً از طریق دستکاری و تغییر میزان رطوبت بذر و دمای محل نگهداری سعی در بهینه کردن نگهداری بذرها دارند. هزینه‌های شرایط نگهداری و فایده‌ای که در طولانی کردن عمر بذر دارند باید محاسبه شود و به عبارتی توجیه اقتصادی را در عملیات حفاظت باید در نظر گرفت. خطرات ناشی از تغییرات ژنتیکی در طی نگهداری بذر کمتر شناخته شده است و اگر قرار است عملیات نگهداری بذر در وضعیتی بهینه اجرا شود باید این موضوع نیز مد نظر قرار گیرد.

Archive of SID
www.SID.ir

مطالعات متعدد شکی باقی نگذاشته است که با کاهش دما و رطوبت در یک آستانه معین می‌توان طول عمر بذر را افزایش و دفعات احیای آن را کاهش داد. با این وجود احیا نمونه‌ها امری اجتناب ناپذیر است. با توجه به هزینه‌های زیاد و همچنین خطرات تغییرات ژنتیکی ناشی از احیای مکرر و مضرات فرسایش ژنتیکی ناشی از احیا دیرهنگام، سبب شده تا محققان بسیاری بدنبال برآورد طول عمر بذر و در نتیجه انتخاب زمان مناسب برای احیا نمونه‌ها باشند. از آنجایی که در بانک ژن منابع طبیعی بیش از ٤٦ هزار نمونه بذر از خانواده‌ها و جنس‌های مختلف گیاهان منابع طبیعی وجود دارد و ضمنا هیچ اطلاع دقیقی از الگوی سرعت زوال بذر آنها به‌دلیل غیر زراعی بودن در اختیار نیست به همین سبب انجام تحقیقاتی نظیر پروژه حاضر بسیار سودمند خواهد بود. تجربیات حاصل از این تحقیق مقدمه‌ای است تا انشاالله با روش‌های نوین گونه‌های بیشتری را در مدت کمتری مورد بررسی قرار داده و نتایج حاصل از آنها در اختیار مدیریت بانک ژن قرار گیرد. این نتایج در نهایت منجر به مدیریت صحیح و طولانی مدت ذخایر توارثی گیاهی در کشور خواهد شد.

References

Black, M. and Bewley, J.D. 2000. Seed Technology and its Biological Basis. Sheffield Academic Press, UK and CRC Press, Florida.

Dickie, J.B., McGrath, S. and Linington, S.H. 1985. Estimation of provisional seed viability constants for *Lupinus polyphyllus* Lindley. Annals of Botany, 55: 147–151.

Dickie, J.B., Ellis, R.H. Kraak, H.L. Ryder, K. and Tompsett, P.B. 1990. Temperature and seed storage longevity. Annals of Botany, 65:197-204.

Eisvand, H.R., Maddah-Arefi, H. and Nasiri, M. 2004. Seed production challenges in some species of bromus, aegilops and onobrychis in Natural Resources Gene Bank of Iran. Proceedings of the 12th Iranian Biology Conference, Bu Ali Sina University of Hamedan, August 31–September 2, 2004. (In Persian).

Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1980a. Improved equations for the prediction of seed longevity. Annals of Botany, 45:13–30.

Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1980b. The influence of temperature and moisture on seed viability period in barley (*Hordeum distichum* L.). Annals of Botany, 45: 31–37.

Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1981a. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology, 9: 373–409.

Ellis, R.H., Hong, T.D. and Roberts, E.H. 1989. A comparison of the low-moisture content limit to the logarithmic relation between seed moisture content and longevity in twelve species. Annals of Botany, 63:601–611.

Ellis, R.H., Hong, T.D. and Roberts, E.H. 1990. An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. Journal of Experimental Botany, 41(9): 1167-1174.

Ewart, A.J. 1908. On the longevity of seeds. Proc. Royal Soc. Victoria 21: 1-210.

Ghaderi-Far, F. and Soltani, A. 2010. Seed Testing and Control. *Jihad*-Daneshgahi Press, Mashhad, 200 p. (In Persian).

Gooding, M.J., Murdoch, A.J. and Ellis, R.H. 2003. The value of seeds, Seed Technology and its Biological Basis (eds M. Black and M. Bewley), pp. 2-41. Sheffield Academic Press.

Hong, T.D., Linington, S. and Ellis, R.H. 1996. Seed storage behavior: a compendium. Handbooks for genebanks: No. 4. International Plant Genetic Resources Institute, Rome.

Ibrahim, A.E. and Roberts, E.H. 1983. Viability of lettuce seeds. I. Survival in hermetic storage. Journal of Experimental Botany, 34: 620-630.

Ibrahim, A.E., Roberts, E.H. and Murdoch, A.J. 1983. Viability of lettuce seeds. II. Survival and oxygen uptake in osmotically controlled storage. Journal of Experimental Botany, 34: 631-640.

Archive of SID

www.SID.ir

Kraak, H.L. and Vos, J. 1987. Seed viability constants for lettuce. Annals of Botany 77: 251–260.

Kruse, M., Ghiasvand Ghiasi, K., and Schmohl, S. 2005. The seed viability equation for analyzing seed storage behavior. 2005. 7th ISTA Seminar on Statistics, University of Hohenheim on August 29 to September 2. Germany.

Leon-Lobos, P. and Ellis, R.H. 2003. Low-moisture content limits for Nothofagus seed longevity, pp. 785–795. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard and R.J. Probert (eds). Seed conservation: turning science into practice. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

Liu, K., Eastwood, R.J., Flynn, S., Turner, R.M. and Stuppy, W.H. 2008. Seed Information Database. from http://www.kew.org/data/sid.

Miller, S., Mary Beth, M., William, S., Steven, C. and Rainer, B. 1995. Exceptional seed longevity and robust growth: ancient scared lotus from China. American Journal of Botany, 82(11): 1367-1380.

Odum, S. 1965. Germination of ancient seeds: floristical observations and experiments with archae-ologically dated soil samples. *Dansk* Botanisk Arkive 24: 1-70.

Plucknett, D.L., Smith, N.J.H., Williams, J.T. and Anishetty, N.M. 1987. Gene Banks and the World's Food, Pinceton university Press, Priceton, New Jersey, USA.

Priestley, D.A., Cullinan, V.I. and Wolfe, J. 1985. Differences in seed longevity at the species level. Plant Cell and Environment, 8: 557-562.

Pritchard, H.W. and Dickie, J.B. 2003. Predicting seed longevity: the use and abuse of viability equations, pp. 655-700. In: R.D. Smith, J.B. Dickie, S.H. Linington, H.W. Pritchard and R.J. Probert (eds). Seed conservation: turning science into practice. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

Roberts, E.H. 1961. Viability of cereal seed for brief and extended periods. 1bid. 25: 373-380.

Roberts, E.H. 1973. Predicting the storage life of seeds. Seed Science and Technology, 1:499-514.

Sackville Hamilton, N.R. and Chorlton, K.H. 1997. Regeneration of accessions in seed collection: a decision guide. Institute of Grassland and Environmental Research. Published by International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI).

Smith, R.D., Dickie, J.B., Linington, S.H., Pritchard, H.W. and Probert, R.J. 2003. Seed conservation: turning science into practice. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

Steiner, A.M., and Ruckenbauer, P. 1995. Germination of 110-year-old cereal and weed seeds, the Vienna Sample of 1877. Verification of effective ultra-dry storage at ambient temperature. Seed Science Research, 5(4):195-199.

Tompsett, P.B. 1986. The effect of temperature and moisture content on the longevity of seeds of *Ulmus carpinifolia* and *Terminalia brasii*. Ann. Bot. 57:875-883.

Villiers, T.A. and Edgcumbe, D.J. 1975. On the cause of seed deterioration in dry storage. Seed Science and Technology, 3:761-764.

Yaja, J., Pawelzik, E. and Vearasilp, S. 2005. Prediction of soybean seed quality in relation to seed moisture content and storage temperature. Conference on International Agriculture Research for Development, http://www.tropentag.de/2005/abstracts/full/255.pdf.

Archive of SID

www.SID.ir