علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۵، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۳۹۳ (ص ۴۰۷-۳۹۹)

پیش‌بینی زمان احیای بذر چند گونهٔ دارویی از طریق برآورد ثابت‌های معادلهٔ قوهٔ نامیه

حمیدرضا عیسوند*
استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه لرستان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۴/۸ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۱۱/۹)

چکیده

یکی از روش‌های حفاظت از ذخایر توارثی گیاهی، نگهداری بذر آنها در بانک ژن است. بذرهای موجود در بانک ژن به تکثیر و احیای دوره‌ای نیاز دارند. در صورت عدم احیای به‌موقع، مزایای بالقوهٔ سرمایه‌گذاری زیربنایی در نگهداری ذخایر ژنتیکی به روش برون‌رویشگاهی (ex situ) حاصل نخواهد شد. پیش‌بینی طول عمر بذرها بر پایهٔ معادلهٔ قوهٔ نامیه بذر استوار است و چهار ضریب دارد که برای هرگونه اختصاصی‌اند. هدف این تحقیق تعیین ضرایب معادلهٔ قوهٔ نامیه و استفاده از آنها برای پیش‌بینی مدت مفید نگهداری بذر و در نتیجه برآورد زمان احیای بذر هشت گیاه دارویی *Dracocephalum moldavica*، *Descurainia sophia*، *Eruca sativa* و *Melilotus officinalis* بود. ابتدا بذرها در سه محیط با رطوبت نسبی ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد به تعادل رطوبتی رسیدند و درصد رطوبت آنها اندازه‌گیری شد. این بذرها در پاکت‌های نایلونی مهروموم شده و در دماهای ۳۵، ۴۰ و ۴۵ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. به فواصل هر یک ماه یک‌بار از آنها آزمون جوانه‌زنی با سه تکرار به‌عمل آمد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار اکسل برای برآورد ضرایب معادلهٔ قوهٔ نامیه (K_E، C_w ، C_H ، C_Q) تجزیه‌وتحلیل شدند. ضریب K_E برای گونه‌های *T. transcaspicus*، *T. daenensis*، *S. officinalis*، *Satureja hortensis*، *D. moldavica*، *Descurinia sophia*، *E. sativa* و *M. officinalis* به‌ترتیب ۵/۰۶۵، ۵، ۵، ۴/۴۶، ۳/۸۳۷، ۴/۳۳، ۴ و ۴/۲۱ به‌دست آمد. از بین بذرهای مورد بررسی، بیشینه و کمینهٔ طول عمر بذر به‌ترتیب در *T. transcaspicus* و*Eruca sativa* مشاهده شد. اگر قوهٔ نامیهٔ این نمونه‌ها در بدو ورود به بانک ژن ۱۰۰ درصد باشد و با رطوبت ۸ درصد در شرایط کلکسیون فعال (دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد) نگهداری شوند، به‌ترتیب ۱۲۳ سال بعد برای احیای بذر *T. transcaspicus* و ۱۵ سال بعد برای *Eruca sativa* باید اقدام شود.

واژه‌های کلیدی: **احیای بذر، بانک ژن، طول عمر بذر، گیاه دارویی.**

مقدمه

به‌دلیل فرسایش ژنتیکی، حفظ ذخایر ژنتیکی اهمیت زیادی پیدا کرده است. از ۲/۳ میلیون نمونهٔ گیاهی نگهداری‌شده در جهان، ۹۷ درصد به شکل بذر و در خارج از رویشگاه (*ex situ*) نگهداری می‌شوند (Plucknett *et al.*, 1987). بذرها به‌عنوان منابع ذخایر توارثی، سرمایهٔ ارزشمند و تضمین‌شده‌ای‌اند که باید 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).

* تلفن: ۰۹۱۲۵۶۱۷۶۲۹
E-mail: eisvand.hr@lu.ac.ir

مدت زمانی که بذر می‌تواند قوهٔ نامیهٔ خود را حفظ کند، طول عمر بذر[1] نامیده می‌شود. اولین بار Ewart (1908) بذرها را براساس طول عمر در شرایط عادی، به سه دستهٔ میکروبیوتیک (طول عمر تا ۳ سال)، مزوبیوتیک (طول عمر بین ۳ تا ۱۵ سال) و ماکروبیوتیک (طول عمر از ۱۵ تا ۱۰۰ سال یا بیشتر) تقسیم کرد. امروزه دسته‌بندی مذکور به‌ندرت استفاده می‌شود. Roberts (1973) نوعی از دسته‌بندی را ارائه داد که تنها بر پایهٔ طول عمر استوار نیست، بلکه تقابل پاسخ‌های فیزیولوژیک بقای 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. دستهٔ 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 است.

قوهٔ نامیه‌ای که به‌عنوان آستانهٔ احیای هر نمونه در نظر گرفته می‌شود، حدود ۸۵ درصد یا افت قوهٔ نامیه به مقدار ۱۵ درصد کمتر از حداکثر مشاهده‌شده برای گونه یا نمونه (مثلاً اگر حداکثر مشاهده‌شده ۸۰ درصد است، آستانهٔ آن ۶۵ درصد خواهد بود) است (Sackville Hamilton & Chorlton, 1997). پیش‌بینی زوال و کاهش قوهٔ نامیهٔ بذرها به‌منظور کاهش هزینه‌های احیای بذرها و در اولویت قرار دادن نمونه‌هایی که قوهٔ نامیهٔ آنها به آستانهٔ احیا کاهش یافته، از ضروریات است. در حال حاضر بانک‌های ژن مهم دنیا در حال انجام کارهای معوقه و مشکلات مداوم احیای مجموعه‌هایشان هستند. در صورت پیش‌بینی زمان احیای هر نمونه در زمان ورود به بانک ژن، علاوه بر احیای به‌موقع و جلوگیری از تلفات ژنتیکی ذخایر توارثی، در وقت و سرمایه نیز بسیار صرفه‌جویی می‌شود و حداکثر بهره‌برداری حاصل خواهد شد.

زمان، تنها یکی از چند عامل مؤثر بر طول عمر بذر است. طول عمر بذر به‌صورت چشمگیری تحت تأثیر شرایط نگهداری است. رطوبت زیاد بذر و دمای بالای انبار از مهم‌ترین عوامل تضعیف انبارداری بذر است. تقریباً همهٔ رکوردهای طول عمر مربوط به بذرهای دارای پوستهٔ سخت است. بذر گونهٔ *Canna compacta* پس از بیرون آوردن از داخل محفظهٔ چوب گردو، بعد از ۶۰۰ سال جوانه زدند. حتی طول عمر بیشتری نیز در لوتوس هندی (*Nelumbo nucifera*) که از کف دریاچه‌ای در چین به‌دست آمدند، گزارش شده است. این بذرها جوانه زدند و با استفاده از کربن رادیو اکتیو، طول عمر آنها ۱۲۸۸±۲۷۱ سال برآورد شد. در بذر گیاه شب خسب (*Albizzia julibrissin*) نیز بعد از ۱۴۷ سال جوانه‌زنی مشاهده شد.

بذرهای اکثر گیاهان رفتار انباری ارتودوکس دارند و می‌توان الگوی کاهش قوهٔ نامیهٔ آنها را براساس شرایطی که در آن نگهداری می‌شوند پیش‌بینی کرد (Roberts, 1973). مهم‌ترین تلاش‌ها به‌منظور برآورد طول عمر بذر، توسط پروفسور الیس و همکاران وی در دانشگاه ریدینگ انجام گرفته است. نتایج سال‌ها تحقیق آنها به‌صورت معادلهٔ کلی برآورد طول عمر بذر در سال ۱۹۸۰ انتشار یافت (Ellis & Roberts, 1980). در این معادله با استفاده از پارامترهایی مانند دما، درصد رطوبت، قوهٔ نامیهٔ 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 تودهٔ بذر اختصاصی‌اند، می‌توان طول عمر بذر را پیش‌بینی کرد. این مدل توانایی پیش‌بینی طول عمر هر نوع بذر در هر شرایط نگهداری، مشروط به دامنهٔ دمایی ۲۰- تا ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت بذر ۵ تا ۲۵ درصد را امکان‌پذیر می‌کند. با کمک این رابطه می‌توان طراحی و مدیریت بانک ژن و انبارداری در شرایط کنترل‌شده را بهتر انجام داد (Liu *et al.*, 2008).

اثر ترکیبی رطوبت و دما روی هر دو جنبهٔ منحنی بقای بذر، یعنی انحراف معیار سیگما، با معادلهٔ زیر توصیف می‌شود:

$$\log_{10}\delta = KE - C_w \log 10m - CH^t - CQ^{t^2} \qquad (۱)$$

m: مقدار رطوبت بذر برحسب درصد (براساس وزن‌تر)؛ t: دما برحسب درجهٔ سانتی‌گراد، و K_E، C_w، C_H، C_Q: ضرایب ثابت گونه‌ای هستند. معادله‌های مذکور می‌توانند ترکیب شوند و رابطهٔ زیر را به‌وجود آورند:

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

$$V = \frac{Ki - P}{10^{KE - C_w \log m - CHt - CQt^2}} \quad (۲)$$

این معادله می‌تواند قوهٔ نامیهٔ هر تودهٔ بذری را پس از دورهٔ 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 & Roberts, 1980).

Dickie *et al.* (1985) با استفاده از آنالیز پروبیت و برازش داده‌ها در مدل رگرسیونی کاهش قوهٔ نامیه توانستند ثابت‌های معادله را برای بذر لوپین (K_E= ۶/۲۲؛ C_w=۲/۷۶؛ C_H=۰/۰۰۴۸) به‌دست آورند. روبرتز (Roberts, 1961) نشان داد که ترسیم نتایج آزمایش‌های جوانه‌زنی متوالی نمونه‌های یک تودهٔ بذری نگهداری‌شده در شرایط کنترل، منحنی سیگموئیدی را ایجاد می‌کند که از توزیع نرمال تجمعی پیروی می‌کند. بنابراین بذرهای منفرد داخل یک تودهٔ بذری در زمان‌های مختلفی از بین می‌روند و توزیع ترتیب مرگ آنها نرمال است.

بذرهای جو و یولاف که به مدت ۱۱۰ سال در شیشه‌های دربسته در وین (اتریش) در محدودهٔ دمایی ۱۰ تا ۱۵ درجهٔ سانتی‌گراد و مقدار 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 & Ruckenbauer, 1995). در پروژهٔ بانک بذر هزارهٔ بذر دو لگوم (*Liparia* sp., *Acacia* sp.) و یک گونه از Proteaceae (*Leucospermum* sp.) که در سال ۱۸۰۲ جمع‌آوری شده بودند، در سال ۲۰۰۵ جوانه زدند (Yaja *et al.*, 2005).

مشخص شده است که در گونه‌های زیادی، رابطهٔ بین مقدار رطوبت بذر و عمر آن لگاریتمی و منفی است (Ellis *et al.*, 1980a, 1980b, 1981; Karrak & Vos, 1987; Tompsett, 1986). شیب C_w حساسیت طول عمر به اختلاف رطوبت را نشان می‌دهد. مقدار C_w در گونه‌های متفاوت، اختلاف زیادی دارد (Ellis & Roberts, 1980b). رابطهٔ لگاریتمی منفی بین طول عمر و رطوبت بذر در یک دامنهٔ خاص صادق است و برای بذر هر گونه این دامنه متفاوت است. در این خصوص دو محدوده وجود دارد؛ حد پایینی و دیگری حد بالایی. یعنی از یک مقدار رطوبت پایین‌تر دیگر با کاهش رطوبت، طول عمر افزایش نیافته و حتی کاهش می‌یابد. حد بالایی نیز مقدار 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 ۶/۲ و حد بالایی حدود ۱۵ تا ۲۸ درصد است (Leon-Lobos & Ellis, 2003).

حداقل رطوبت محدودکننده برای *Chenopodium quinoa* در دمای ۶۵ درجهٔ سانتی‌گراد، ۴/۱ درصد است، ولی با کاهش رطوبت تا حد ۱/۸ درصد نیز خسارتی به بار نیاورد. این محدودیت در گونه‌های ارتودوکس متفاوت است. برای مثال مقدار رطوبت محدودکننده از ۲ درصد در بادام‌زمینی (*Arachis hypogaea* L.) تا ۶/۲ درصد در نخود (*Pisum sativa*) متفاوت است (Ellis *et al.*, 1989). اغلب محدودیت رطوبت زیاد با روابط لگاریتمی منفی، بین طول عمر و رطوبت وجود دارد. در کاهو (*Lactuca sativa*) بذرهایی که در حالت کاملاً آماس‌کرده ذخیره شده بودند، با افزایش رطوبت از روند کاهش طول عمر، پیروی نکردند (Villiers & Edgcumbe, 1975).

اگر اکسیژن به‌طور آزاد در دسترس باشد، با افزایش مقدار رطوبت از ۱۵ به ۲۰ درصد، طول عمر افزایش می‌یابد؛ اما بدون اکسیژن قابل دسترس، با افزایش رطوبت طول عمر افزایش نمی یابد. این تغییر روابط در مقدار رطوبتی بالا به‌سبب ترمیم و فعالیت‌های اتفاق‌افتاده در بذرهای مرطوب است (Ibrahim & Roberts, 1983; Ibrahim *et al.*, 1983).

هیچ محدودیت دمایی در کاربرد عادی معادلهٔ زنده‌مانی بذر وجود ندارد و دامنهٔ دمایی از زیر صفر تا دماهای بالا در این معادله استفاده شده است. رابطهٔ بین مدت زمان حفظ قوهٔ نامیهٔ بذرها و دما در رطوبت ثابت، منفی و نیمه‌لگاریتمی است. مدل الیس و روبرتز، اثر دما بر طول عمر بذر جو را بین دمای ۹۰+ تا ۲۰- شامل می‌شود. در مقایسهٔ بذر هشت گونهٔ مختلف مشخص شد که تفاوتی بین گونه‌ها از نظر حساسیت نسبی طول عمر به دما وجود ندارد (Dickie *et al.*, 1990). اگرچه کاهش دما طول عمر را بهبود می‌بخشد، مدل پیشگویی می‌کند

که با توجه به افزایش هزینهٔ سود نسبی با کاهش دما کم می‌شود. علت آن است که مدل برخلاف آزمایش‌ها تا دمای ۷۵- درجهٔ سانتی‌گراد را هم در نظر می‌گیرد (Ellis & Roberts, 1980a; 1980b). در چنین دمای پایینی (۷۵- درجهٔ سانتی‌گراد) نسبت به دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد سودمندی نسبی طول عمر جزئی خواهد بود و دمای زیر ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد توصیه نمی‌شود (Dickie *et al.*, 1990).

امروزه اهمیت گیاهان دارویی بر کسی پوشیده نیست و خوشبختانه به لحاظ تنوع گیاهی بالا در کشور، این امکان فراهم است تا بتوان از گیاهان دارویی به‌عنوان یکی از پتانسیل‌های توسعهٔ اقتصادی بهره برد. بانک ژن منابع طبیعی در حال حاضر با بیش از ۴۶ هزار نمونهٔ بذری از خانواده‌های مختلف، نقش مهمی در جمع‌آوری و حفاظت ذخایر ژنتیکی گیاهی کشور بر عهده دارد. پیری و زوال بذر از یک طرف و کاهش موجودی نمونه‌های بذری به‌واسطهٔ نقش بانک ژن در تأمین بذر مورد نیاز محققان از طرف دیگر، تکثیر و احیای این نمونه‌ها را اجتناب‌ناپذیر می‌سازد (Eisvand *et al.*, 2004). احیای به‌موقع یکی از اولویت‌های مهم در همهٔ بانک‌های ژن است. احیای مجموعه‌های بذری در خارج از رویشگاه طبیعی آنها امری ضروری است و در صورت عدم احیا، بروز مزایای بالقوهٔ سرمایه‌گذاری زیربنایی در نگهداری ذخایر ژنتیکی به روش برون‌رویشگاهی (*ex situ*) ممکن نخواهد بود. ازاین‌رو تحقیق حاضر با هدف پیش‌بینی زمان احیای بذر چند گونهٔ داوریی انجام گرفته است.

حفاظت بذرها از طریق بانک‌های ژن یکی از مجموعه فعالیت‌هایی است که به‌منظور اطمینان از حفاظت "برون‌رویشگاهی" منابع ژنتیکی ارزشمند، نیازمند بهینه‌سازی است. برنامهٔ حفاظتی باید معطوف به این باشد که چه ژرم پلاسمی و برای چه منظوری جمع‌آوری می‌شود. احیای به‌موقع آن نیز مدنظر قرار گیرد. بانک‌های ژن معمولاً از طریق دستکاری و تغییر مقدار 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. به‌عبارتی توجیه اقتصادی را در عملیات حفاظت باید در نظر گرفت. خطرهای ناشی از تغییرات ژنتیکی در طی نگهداری بذر کمتر شناخته شده و اگر قرار است عملیات نگهداری بذر در وضعیتی بهینه اجرا شود، باید این موضوع نیز مدنظر قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور اجرای آزمایش ابتدا فهرستی از چند گونهٔ دارویی اولویت‌دار براساس سند راهبردی توسعهٔ تحقیقات منابع طبیعی ایران (Assareh & Akhlagi, 2009) تهیه و بذر آنها از بانک ژن منابع طبیعی گرفته شد (جدول ۱). برای برآورد ضرایب، بذرها به شرح زیر ابتدا تحت سه تیمار رطوبتی قرار گرفتند و سپس بذرهای حاصل از هر یک از تیمارهای رطوبتی در سه تیمار دمایی به‌مدت طولانی نگهداری شدند (در مجموع ۹ تیمار). در مطالعات مختلف دامنهٔ وسیعی از دما و رطوبت با توجه به امکانات و زمان استفاده شده است (Smith *et al.*, 2003). قبل از اعمال تیمارها، قوهٔ نامیهٔ بذرها به روش کاغذ صافی (TP) و با اعمال دو هفته پیش‌سرما تعیین شد که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است.

اعمال سطوح رطوبتی

ابتدا هر نمونهٔ بذری به ۱۵ زیرنمونهٔ ۳۰۰ عددی تقسیم شد. این نمونه‌ها در نایلون‌های مشبکی بسته‌بندی شده و در محفظه‌هایی مهروموم‌شده با رطوبت نسبی ۲۰، ۴۰ و ۶۰ درصد قرار داده شدند. برای ایجاد رطوبت‌های نسبی مذکور به‌ترتیب از ۱۲۸، ۸۸ و ۶۰ گرم کلرید لیتیم[1] در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه استفاده شد. بذرها در بالای محلول و به فاصلهٔ دو سانتی‌متری از آن روی صفحهٔ مشبک قرار داشتند. محفظه‌های حاوی بذرها به انکوباتور یخچال‌دار منتقل شدند و دمای آن ۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم شد. بذرها براساس دستورالعمل مورد استفاده در پروژهٔ بانک بذر هزاره به‌مدت ۲۱ روز در محفظه‌های یادشده قرار داده شدند تا به تعادل رطوبتی برسند (Gold & Hay, 2008).

1. Lithium chloride

جدول ۱. فهرست گونه‌های بررسی‌شده و مشخصات آنها

نام علمی	منشأ	کد بانک ژن	درصد رطوبت به‌ترتیب ناشی از تیمار ۲۰، ۴۰ و ۶۰ (٪)	قوهٔ نامیهٔ اولیه
Thymus transcaspicus	خراسان	۳۵۰۷	۹-۱۵-۲۲	۱۰۰
Thymus daenensis	کهگیلویه و بویراحمد	۲۹۸۰۸	۹-۱۶-۲۲	۱۰۰
Salvia officinalis	اصفهان	۲۸۳۰۶	۱۰/۵-۱۶-۲۵	۹۵
Satureja hortensis	آذربایجان غربی	۲۷۴۶۰	۹-۱۵-۲۶	۱۰۰
Dracocephalum moldavica	کرج	۳۸۸۲	۱۱-۱۸-۲۹	۱۰۰
Descurainia sophia	شاهرود	۳۲۵۷	۱۳-۲۱-۳۲	۱۰۰
Eruca sativa	کرج	۲۰۴۳۳	۱۰/۶-۱۹-۳۰	۱۰۰
Melilotus officinalis	ایلام	۳۳۴۸	۱۰/۷-۱۷/۳-۲۴	۹۵

پس از سپری شدن مدت زمان ایجاد سطوح رطوبت، از بذر هر گونه یک نمونه برای تعیین مقدار رطوبت بذر انتخاب و به روش عادی[1] (دمای ۱۳۰ درجهٔ به مدت یک ساعت) درصد رطوبت بذر هر نمونه تعیین شد. مقدار رطوبت بذر پس از رسیدن به تعادل رطوبتی در جدول ۱ آورده شده است.

اعمال سطوح دمایی

بذرهای مهر و موم‌شدهٔ واجد رطوبت‌های مختلف به سه قسمت تقسیم شده و در سه انکوباتور با دماهای ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اجرای آزمون دوره‌ای جوانه‌زنی

پس از ایجاد سطوح رطوبتی مختلف، مهر و موم کردن بذرها و انتقال آنها به سه انکوباتور با دماهای ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد؛ هر دو ماه یک‌بار یک پاکت از هر ترکیب تیماری از انکوباتور خارج و جوانه‌زنی آن به روش استاندارد (روی کاغذ) تعیین می‌شد. به‌منظور برطرف کردن خواب احتمالی بذرها، قبل از آزمون قوهٔ نامیه تیمار پیش‌سرما به مدت دو هفته روی آنها اعمال شد. خروج حداقل ۲ میلی‌متری ریشه‌چه به‌عنوان معیاری برای جوانه‌زنی در نظر گرفته شد (ISTA, 1985).

تجزیهٔ داده‌ها

همزمان با انجام آزمایش‌های دوره‌ای جوانه‌زنی و ثبت نتایج آنها در فرم‌های ویژه، فایل ویژه‌ای برای ثبت این داده‌ها در نرم‌افزار اکسل طراحی شد. همهٔ داده‌های حاصل از آزمون‌های جوانه‌زنی در این فایل ثبت و در نهایت با استفاده از گزینهٔ Solver به برآورد ضرایب پرداخته شد. ابتدا معادله به‌صورت کامل برای نرم‌افزار تعریف شد. سپس برای ضرایب محدودیت‌هایی (Kruse *et al.*, 2005) به شرح زیر اعمال و در نهایت با فرض اینکه مجموع توان دوم باقی‌مانده‌ها (تفاضل جوانه‌زنی مشاهده‌شده با پیش‌بینی‌شده) برابر صفر باشد، با برازش رگرسیون ضرایب برآورد شدند.

K_E = ۶-۱۰ C_W = ۳-۶

C_H = ۰/۰۳ -۰/۰۶ C_Q= ۰/۰۰۰۲-۰/۰۰۰۵

داده‌های درصد جوانه‌زنی با استفاده از نرم‌افزار ارائه‌شده در وب سایت باغ گیاه‌شناسی کیو (http://data.kew.org/sid/viability/convert.jsp) به پروبیت تبدیل شدند.

نتایج

آویشن (*Thymus transcaspicus* و *T. daenensis*): ضرایب دمایی و رطوبتی معادلهٔ قوهٔ نامیهٔ بذر *T. transcaspicus* به شرح جدول ۲ برآورد شد. با توجه به ضرایب و استفاده از معادلهٔ ۲، کاهش ۱۵ درصدی قوهٔ نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد) نیز محاسبه شد. اگر قوهٔ نامیهٔ این گونه در شروع ذخیره‌سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن ۸ درصد باشد، حدود ۱۲۳ سال بعد باید نسبت به احیای بذرهای نگهداری‌شدهٔ آن در کلکسیون فعال اقدام شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، تا ۵۲۶ سال نیازی به احیا ندارد.

ضرایب معادلهٔ قوهٔ نامیهٔ *T. daenensis* در جدول ۲

1. Routine method

نشان داده شده است. با توجه به ضرایب و استفاده از معادله، کاهش ۱۵ درصدی قوهٔ نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد) محاسبه شد. درصورتی‌که قوهٔ نامیهٔ این گونه در شروع ذخیره‌سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن ۸ درصد باشد، حدود ۷۹ سال بعد باید به احیای بذرهای نگهداری‌شدهٔ آن در کلکسیون فعال اقدام شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، تا ۴۳۶ سال نیازی به احیا ندارد.

مریم‌گلی: ضرایب دمایی و رطوبتی معادلهٔ قوهٔ نامیهٔ بذر *S. officinalis* در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به ضرایب برآوردشده و استفاده از آنها در معادلهٔ قوهٔ نامیه، افت ۱۵ درصدی قوهٔ نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد) محاسبه شد. درصورتی‌که قوهٔ نامیهٔ این گونه در شروع ذخیره‌سازی ۹۵ درصد و رطوبت آن ۸ درصد باشد، حدود شانزده سال بعد باید بذر نگهداری‌شدهٔ آن در کلکسیون فعال احیا شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، تا ۶۷ سال نیازی به احیا ندارد.

مرزه: ضرایب دمایی و رطوبتی بذر *Satureja hortensis* در جدول ۲ نشان داده شده است. افت ۱۵ درصدی قوهٔ نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد) نیز محاسبه شده است. اگر قوهٔ نامیهٔ این گونه در شروع ذخیره‌سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن ۸ درصد باشد، حدود ۴۹ سال بعد باید بذر نگهداری‌شدهٔ آن در کلکسیون فعال احیا شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، تا ۲۰۲ سال نیازی به احیا ندارد.

بادرشبی: ضرایب دمایی و رطوبتی بذر *D. moldavica* در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به ضرایب برآوردشده و استفاده از معادلهٔ قوهٔ نامیه، کاهش ۱۵ درصدی قوهٔ نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد) نیز محاسبه شد. درصورتی‌که قوهٔ نامیهٔ این گونه در شروع ذخیره‌سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن ۸ درصد باشد، حدود ۱۸ سال بعد باید بذر نگهداری‌شدهٔ آن در کلکسیون فعال احیا شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، این زمان حدود ۷۶ سال خواهد بود.

جدول۲. ضرایب برآوردشدهٔ معادلهٔ پیش‌بینی طول عمر بذر و زمان محاسبه‌شده برای احیای بذر (کاهش ۱۵ درصدی قوهٔ نامیه)

کد نمونه	نام علمی	پیش‌بینی زمان لازم (سال) برای احیا (کاهش ۱۵ درصدی قوهٔ نامیه) در کلکسیون‌های پایه (۱۸-) و فعال (۵)		ضرایب برآوردشدهٔ معادلهٔ پیش‌بینی طول عمر بذر			
		-۱۸ °C	۵ °C	C_Q	C_H	C_W	K_E
۳۵۰۷	*T. transcaspicus*	۵۲۶	۱۲۳	۰/۰۰۰۲	۰/۰۳	۰/۰۶۴۱	۵/۰۶۵
۲۹۸۰۸	*T. daenensis*	۴۳۶	۷۹	۰/۰۰۰۲	۰/۰۳۴۷	۰/۷۵۳	۵
۲۸۳۰۶	*S. officinalis*	۶۷	۱۶	۰/۰۰۰۲	۰/۰۳۲۹	۱/۴۹	۵
۲۷۴۶۰	*S. hortensis*	۲۰۲	۴۹	۰/۰۰۰۴۷۸	۰/۰۳۲۹	۰/۳۹۱	۴/۴۶
۳۸۸۲	*D. moldavica*	۷۶	۱۸	۰/۰۰۰۲	۰/۰۳	۰/۲	۳/۸۳۷
۳۲۵۷	*D. sophia*	۲۱۱	۵۷	۰/۰۰۰۴۴۵	۰/۰۳	۰/۱۷۹	۴/۳۳
۲۰۴۳۳	*E. sativa*	۶۱	۱۵	۰/۰۰۰۳۰۴	۰/۰۳	۰/۴۵۷۴	۴
۳۳۴۸	*M. officinalis*	۸۲	۱۸	۰/۰۰۰۲	۰/۰۳	۰/۲	۴/۲۱
	انحراف معیار	۱۸۰/۴۵	۳۸/۸				

خاکشیر: ضرایب دمایی و رطوبتی بذر *D. sophia* در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به ضرایب برآوردشده و استفاده از معادلهٔ قوهٔ نامیه، کاهش ۱۵ درصدی قوهٔ نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد) نیز محاسبه شد. درصورتی‌که قوهٔ نامیهٔ این گونه در شروع ذخیره‌سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن ۸ درصد باشد، حدود ۵۷ سال بعد باید بذر نگهداری‌شده آن در کلکسیون فعال احیا شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، این زمان ۲۱۱ سال خواهد بود.

منداب: ضرایب دمایی و رطوبتی بذر *E. sativa* در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به ضرایب

برآوردشده و استفاده از معادلهٔ قوهٔ نامیه، افت ۱۵ درصدی قوهٔ نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد) نیز محاسبه شد. در صورتی‌که قوهٔ نامیهٔ این گونه در شروع ذخیره‌سازی ۱۰۰ درصد و رطوبت آن ۸ درصد باشد حدود ۱۵ سال بعد باید بذر نگهداری‌شدهٔ آن در کلکسیون فعال احیا شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، این زمان ۶۱ سال خواهد بود.

شاه افسر: ضرایب دمایی و رطوبتی بذر *Melilotus officinalis* در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به ضرایب برآوردشده و استفاده از معادلهٔ قوهٔ نامیه، افت ۱۵ درصدی قوهٔ نامیه در دو شرایط کلکسیون پایه (دمای ۱۸- درجهٔ سانتی‌گراد) و فعال (دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد) نیز محاسبه شد. درصورتی‌که قوهٔ نامیهٔ این گونه در شروع ذخیره‌سازی ۹۵ درصد و رطوبت آن ۸ درصد باشد، حدود ۱۸ سال بعد باید بذر نگهداری‌شدهٔ آن در کلکسیون فعال احیا شود. اما در صورت نگهداری در کلکسیون پایه، این زمان ۸۲ سال خواهد بود.

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که بین جنس‌ها و همچنین گونه‌های مختلف یک جنس (مثلاً آویشن) از نظر طول عمر بذر تنوع زیادی وجود دارد (جدول ۲). این تفاوت عمر بذر اغلب به‌دلیل تفاوت در ضریب رطوبتی (K_E و C_w) بود. ضرایب دمایی بین گونه‌های مختلف اختلاف چندانی نداشت. این موضوع نشان‌دهندهٔ اهمیت بیشتر محتوای رطوبتی بذر نسبت به دمای نگهداری است. در قوانین تجربی Harington (1972) نیز بر این موضوع تأکید شده است. براساس این قوانین به ازای هر ۵ درجهٔ سانتی‌گراد کاهش دمای نگهداری بذر (در محدودهٔ صفر تا ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد) و به ازای هر ۱ درصد کاهش رطوبت بذر (در محدودهٔ ۵ تا ۱۴ درصد)، طول عمر بذر دوبرابر می‌شود. به همین دلیل هم در منابع متعدد دو ضریب دمایی (C_H و C_Q) را عمومی دانسته‌اند (Pritchard & Dickie, 2003). به‌طور مثال دیکی و همکاران (۱۹۹۰) ضرایب C_H و C_Q را برای ۹ گونهٔ زراعی و سبزی و صیفی به‌ترتیب ۰/۰۳۲۹ و ۰/۰۰۰۴۷۸ گزارش کردند (Dickie *et al.*, 1990). Ellis & R0berts (1980a) ضرایب C_H و C_Q را برای جو به‌ترتیب ۰/۰۴ و ۰/۰۰۰۴۲۸ 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، تحت تأثیر ژنتیک گیاه نیز است. پریستلی و همکاران نیز در بررسی برآورد زمان لازم برای ۵۰ درصد افت قوهٔ نامیهٔ ۹۲ گونه، تفاوت بارزی در سطح گونه گزارش کردند. این گونه‌ها در سیزده مکان مختلف و در شرایط معمولی نگهداری شده بودند (Priestley *et al.*, 1985).

Kruse *et al.* (2005) ضرایب معادلهٔ قوهٔ نامیه برای چندین محصول زراعی و سبزی را به شرح جدول ۳ ارائه کردند. با مراجعه به این جدول مشخص می‌شود که گیاهان زراعی در مقایسه با نمونه‌های دارویی غیرزراعی آزمون‌شده 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 معادلهٔ قوهٔ نامیه برای برخی گیاهان زراعی و سبزیجات (Kruse *et al.*, 2005)

گونه	K_E	C_W	C_H	C_Q
جو	۹/۹۸۳	۵/۸۹۶	۰/۰۴	۰/۰۰۰۴۲۸
گندم	۱۰/۱	۵/۷۳۰	۰/۰۵۶۳	-
ذرت	۸/۵۷۹	۴/۹۱۰	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰۴۲۸
نخود	۹/۸۶۰	۵/۳۹۰	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰۴۷۸
لوبیا	۹/۰۸	۵/۲۰	۰/۰۰۵۷	۰/۰۰۰۷۹
کلزا	۷/۷۱۸	۴/۵۴	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰۴۷۸
سویا	۷/۷۴۸	۳/۹۷۹	۰/۰۵۳	۰/۰۰۰۲۲۸
آفتابگردان	۶/۷۴	۴/۱۶۰	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰۴۷۸
کتان	۷/۷۶	۴/۸۶۰	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰۴۷۸
چغندرقند	۸/۹۴۳	۴/۷۲۳	۰/۰۳۲۹	۰/۰۰۰۴۷۸
پیاز	۶/۹۷۵	۳/۴۷۰	۰/۰۴	۰/۰۰۰۴۲۸
کاهو	۸/۲۱۸	۴/۷۹۷	۰/۰۴۸۹	۰/۰۰۰۳۶۵
گوجه‌فرنگی	۶/۵۰۱۷	۳/۱۸۰۷	۰/۰۳۲۴	۰/۰۰۰۴۳۱

مطالعات متعدد شکی باقی نگذاشته است که با کاهش دما و رطوبت در یک آستانهٔ معین می‌توان طول عمر بذر را افزایش و دفعات احیای آن را کاهش داد. با وجود این احیای نمونه‌ها اجتناب‌ناپذیر است. هزینه‌های

زیاد و همچنین خطرهای تغییرات ژنتیکی ناشی از احیای مکرر و مضرات فرسایش ژنتیکی ناشی از احیای دیرهنگام، سبب شده تا محققان بسیاری به‌دنبال برآورد طول عمر بذر و در نتیجه انتخاب زمان مناسب برای احیای نمونه‌ها باشند. از آنجا که در بانک ژن منابع طبیعی بیش از ۴۶ هزار نمونهٔ بذر از خانواده‌ها و جنس‌های مختلف گیاهان منابع طبیعی وجود دارد و در ضمن هیچ اطلاع دقیقی از الگوی سرعت زوال بذر آنها به‌دلیل غیرزراعی بودن در اختیار نیست، به همین سبب انجام تحقیقاتی مانند پروژهٔ حاضر بسیار سودمند خواهد بود. تجربیات حاصل از این تحقیق مقدمه‌ای است تا با روش‌های نوین گونه‌های بیشتری در مدت کمتری بررسی شود و نتایج آنها در اختیار مدیریت بانک ژن قرار گیرد. این نتایج در نهایت به مدیریت صحیح و طولانی‌مدت ذخایر توارثی گیاهی در کشور منجر خواهد شد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران نهاد ریاست جمهوری به شمارهٔ ۸۸۰۰۱۶۴۵ انجام گرفت که بدین وسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Assareh, M.H. & Akhlaghi, S.J.S. (2009). *Strategic framework for developing and promoting natural resources research in I.R. Iran*. Principles, strategies, approaches. RIFR publication, Tehran, 379 pages.
2. Dickie, J. B., McGrath, S. & Linington, S. H. (1985). Estimation of provisional seed viability constants for Lupinus polyphyllus Lindley. *Annals of Botany*, 55, 147-151.
3. Dickie, J.B., Ellis, R.H. Kraak, H.L. Ryder K. & Tompsett, P.B. (1990). Temperature and seed storage longevity. *Annals of Botany*, 65, 197-204.
4. Eisvand, H. R., Maddah-Arefi, H. & Nasiri, M. (2004). Seed production challenges in some species of bromus, aegilops and onobrychis in Natural Resources Gene Bank of Iran. In Proceedings of *the 12th Iranian Biology Conference*, Bu Ali Sina University of Hamedan, August 31–September 2, 2004.
5. Ellis, R.H. & Roberts, E.H. (1980a). Improved equations for the prediction of seed longevity. *Annals of Botany*, 45, 13-30.
6. Ellis, R.H. & 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.
7. Ellis, R.H. & Roberts, E.H. (1981a). The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9, 373-409.
8. Ellis, R.H., Hong, T.D. & 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.
9. Ellis, R.H., Hong, T.D. & Roberts, E.H. (1990). An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. *Journal of Experimental Botany*, 41, 1167-1174.
10. Ewart, A.J. (1908). On the longevity of seeds. *Proc. Royal Soc. Victoria*, 21, 1-210.
11. Gold, K. & Hay, F. (2008). Millennium Seedbank Project – Technical Information Sheet 09-Equilibrating seeds to specific moisture levels. Available at: http://bit.ly/gtc_ref_6d.
12. Gooding, M.J., Murdoch, A.J. & 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.
13. Hong, T.D., Linington, S. & Ellis, R.H. (1996). *Seed storage behavior: a compendium*. Handbooks for genebanks: No. 4. International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
14. Ibrahim, A.E. & Roberts, E.H. (1983). Viability of lettuce seeds. I. Survival in hermetic storage. *J. Exp. Bot*, 34, 620-630.
15. Ibrahim, A.E., Roberts, E.H. & Murdoch, A.J. (1983). Viability of lettuce seeds. II. Survival and oxygen uptake in osmotically controlled storage. *J. Exp. Bot*. 34: 631-640.
16. Kraak, H.L. & Vos, J. (1987). Seed viability constants for lettuce. *Annals of Botany*, 77, 251-260.
17. Kruse, M., Ghiasvand Ghiasi, K. & 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.
18. Leon-Lobos, P. & 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.
19. Liu, K., Eastwood, R.J., Flynn, S., Turner, R.M. & Stuppy, W.H. (2008). *Seed Information Database*. from http://www.kew.org/data/sid
20. Plucknett, D.L., Smith, N.J.H., Williams, J.T. & Anishetty, N.M. (1987). *Gene Banks and the World's Food*, Pinceton University Press, Priceton, New Jersey, USA.

21. Priestley, D.A., Cullinan, V.I. & Wolfe, J. (1985). Differences in seed longevity at the species level. *Plant Cell and Environment*, 8, 557-562.
22. Pritchard, H.W. & 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.
23. Roberts, E.H. (1961). Viability of cereal seed for brief and extended periods. *1bid*, 25, 373-380.
24. Roberts, E.H. (1973). Predicting the storage life of seeds. *Seed Science and Technology*, 1, 499-514.
25. Sackville Hamilton, N.R. & 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).
26. Smith, R.D., Dickie, J.B., Linington, S.H., Pritchard, H.W. & Robert, R.J. (2003). *Seed conservation: turning science into practice*. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
27. Steiner, A.M. & 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.
28. 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.
29. Villiers, T.A. & Edgcumbe, D.J. (1975). On the cause of seed deterioration in dry storage. *Seed Science and Technology*, 3, 761-764.
30. Yaja, J., Pawelzik, E. & 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