مقاله پژوهشی **شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7**

امکان نگهداری بذر گونهٔ مرتعی چاودار کوهی .*Secale montanum* Guss در شرایط فراسرد (Cryopreservation)

مریم جبلّی*[۱]، علی‌اشرف جعفری [۲] و حمیدرضا فیضی [۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۱۴ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۹/۱۱/۰۴

چکیده

چاودار کوهی (*Secale montanum* Guss.) گیاهی چندساله است و رویشگاه آن اغلب در اراضی شیب‌دار و ارتفاعات می‌باشد. چرای مفرط و بی‌رویه دام، تبدیل مراتع به زراعت و تغییرات شدید آب و هوایی از عوامل خطرساز برای بقای این گونه می‌باشد. از آنجاییکه چرای مفرط باعث محدودیت در تکمیل چرخه زندگی گیاه شده، میزان زادآوری از طریق بذر در عرصه‌های طبیعی کاهش یافته و موجب حذف این گونه ارزشمند از پوشش گیاهی کشور در آینده خواهد بود. بنابراین نگهداری بلندمدت بذر گیاه این امکان را فراهم می‌سازد تا در صورت تهدید و از بین رفتن این گونه، نسبت به احیا، تکثیر و استقرار آن در عرصه‌های منابع طبیعی اقدام نمود. به‌منظور بررسی امکان نگهداری بلندمدت بذر این گونه در شرایط فراسرد (۱۹۶°C-)، بذرها از رویشگاه طبیعی آن جمع‌آوری شد. برای ذخیره‌سازی بذر در برودت (۱۹۶°C-) ازت مایع، از سه پیش تیمار Desiccation (آبگیری)، PVS2 (ویتریفیکاسیون) و ۳۰ درصد Glycerol همراه با شاهد، استفاده شد. بذرهای تیمار شده به مدت یک‌هفته، یک ماه و یک سال درون ازت مایع نگهداری شدند. تعدادی از صفات مرتبط با جوانه‌زنی و استقرار بذر، بعد از خروج از ازت مایع، در شرایط آزمایشگاه، گلخانه و عرصه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایشگاه نشان داد که بذر چاودار کوهی قابل نگهداری در شرایط فراسرد بوده و بهترین تیمار، تیمار Desiccation یا آبگیری با میانگین جوانه‌زنی ۸۸ درصد برای یک سال ذخیره‌سازی بذر در شرایط فراسرد بود. در شرایط گلخانه و عرصه طبیعی نیز با اینکه درصد استقرار بذرهای شاهد و فراسردی بالا نبود لیکن نتایج نشان داد که بذرها در همه تیمارهای فراسردی در شرایط گلخانه و عرصه نیز مستقر شدند.

واژه‌های کلیدی: بذر، چاودار کوهی، فراسرد، آبگیری.

[۱] - کارشناس ارشد پژوهشی، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

*: نویسنده مسئول: rihan2000ir@yahoo.com

[۲] - استاد پژوهش، بخش تحقیقات مرتع، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

[۳] - کارشناس اداره منابع طبیعی و آبخیزداری شهرستان املش، گیلان، ایران.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]

مقدمه

چاودار کوهی گونه‌ای است چندساله از خانواده گرامینه (Poaceae) و رویشگاه آن اغلب در اراضی مرتعی شیبدار و ارتفاعات است. این گونه در ایران، اروپا، آناتولی، عراق، پاکستان، قفقاز و آفریقا رویش دارد. رشینگر در سال ۱۹۷۷ انتشار این گونه را در ایران در استانهای آذربایجان‌غربی، کردستان، تهران و کوه دماوند ارتفاع ۲۰۰۰ متر گزارش کرده است. از آنجایی‌که سطح مراتع ایران حدود ۸۴/۹۶ میلیون هکتار برآورد شده و گونه *Secale montanum* از گیاهان علوفه‌ای مرغوب و با ارزش مرتعی است. این گونه برای اصلاح و توسعه مراتع کوهستانی گونه مناسبی بوده و می‌توان از آن برای اصلاح مراتع تخریب یافته و تبدیل دیمزارهای کم‌بازده به مراتع دست‌کاشت یا چراگاه استفاده کرد (۱۲ و ۲۸).

ذخیره‌سازی ژرم‌پلاسم گیاهی در دمای فراسرد، اولین بار در دهه ۱۹۷۰ شروع و در دهه ۱۹۸۰ توسعه یافته و در اواخر قرن گذشته وارد فاز عملی گردید (۳۵). در این روش قبل از ورود بذر، سلول، بافت، اندام گیاهی، سلول‌های تمایز نیافته، مریستم، جوانه، دانه گرده و ... به شرایط فراسرد، مواد محافظت‌کننده‌ای به آنها اضافه می‌شود تا در شرایط فراسرد از ایجاد توده یخ درون و بین‌سلولی و وارد شدن صدمه به آن جلوگیری گردد. پس از اضافه نمودن این مواد به بافت یا سلول گیاهی و ورود آنها به شرایط فراسرد، محتوای آب سلولی، شیشه‌ای شده و از نظر بیولوژیک زمان تقریباً متوقف می‌شود. در این حالت چون توده منجمد آب به شکل کریستال تشکیل نمی‌شود، به بافت گیاهی و ساختار مولکولی آن صدمه‌ای وارد نمی‌شود. استفاده از پیش‌تیمارهای متفاوت، کاربرد مواد با غلظت‌های اپتیمم، پیش‌تیمارهای دمائی، سرمادهی تدریجی و... در اندام‌ها و گونه‌های گیاهی مختلف ممکن است متفاوت باشد. برای نگهداری بسیاری از گونه‌ها و واریته‌های گیاهی در شرایط فراسرد، تیمارهای مختلفی نظیر ویتریفیکاسیون[1] بذر یا اندام (۱۴و ۳۳) کاهش رطوبت بذر[2] یا اندام (۶ و ۲۵)، گلیسرول (۲۴) و کپسوله‌کردن- ویتریفیکاسیون[3] (۳۲) بکار گرفته شده است. در بعضی از گونه‌ها بذر و محور جنینی از محتوای آب بالایی برخوردار بوده و در صورت کاهش آب، جوانه‌زنی و زنده‌مانی آنها دچار مشکل می‌شود. در این نوع بذور روش و مقدار کاهش رطوبت بذر یا محور جنینی قبل از ورود به ازت مایع بسیار مهم می‌باشد. در همین رابطه بذر و محور جنینی *Citrus suhuiensis* پس از اعمال روش‌های کاهش رطوبت، وارد ازت مایع شده و پس از خروج از ازت مایع زنده‌مانی آنها ارزیابی گردید. نتایج حاکی از حساسیت بذور به کاهش رطوبت و همچنین دخالت فاکتورهای ناشناخته دیگر در کاهش مقاومت بذر در برابر شرایط فراسرد بود. لذا نمی‌توان ادعا نمود که محتوای رطوبت بذر یا اندام رویشی به تنهایی در تحمل یا عدم تحمل به شرایط فراسرد اثر دارد. بلکه فاکتورهای ناشناخته دیگری در سطح سلولی ممکن است دستخوش تغییرات گردیده و در مقاومت بذر یا اندام گیاهی به شرایط فراسرد اثرگذار باشد (۲۶).

در همین رابطه اثر دو روش ذخیره‌سازی در دمای فراسرد شامل Vitrification و خشک کردن با هوای معمولی در رشد محورهای جنینی Arachis hypogea پس از خروج از فراسرد، توسط گاجلیاردی و همکاران (۲۰۰۲)، مورد مطالعه قرار گرفت. کاربرد روش Vitrificatio n با محلول PVS2 و خشک کردن در لامینارفلو و سپس ذخیره سازی در ازت مایع، باعث باززائی نمونه‌ها بین ۹۰ –۷۰ درصد در مرحله پس از خروج از ازت مایع گردید. واردانی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش نمودند که بذر تعداد زیادی از گونه‌های باغی استوایی مانند Papaya قابل نگهداری در بانک ژن‌های متعارف نبوده و تنها راه نگهداری بلندمدت بذر این گونه، ذخیره‌سازی بذر در شرایط فراسرد و استفاده از پیش‌تیمار مناسب مانند PVS2 می باشد. همچنین سالوماو و همکاران (۲۰۲۰) در گونه Pyrostegia venusta ، درصد رطوبت را با روش آبگیری (Desiccation) تا ۳/۸ درصد کاهش دادند و سپس به مدت ۳۰ روز در ازت مایع نگهداری نمودند. بذور فراسردی پس از خروج از ازت مایع بخوبی جوانه زده و ریشه‌چه تولید نمودند.

چو و همکاران (۲۰۰۱) اثر مدت زمان قرار گرفتن در ازت مایع و ترکیبات محیط کشت، محلول‌های پیش کشت را بر روی زنده‌مانی محورهای جنینی*Citrus madurensis*

[1]- Vitrification
[2]- Desiccation
[3]- Encapsulation-Vitrification

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]

را که با روش Vitrification آماده شده بود، بررسی کردند. در ایران نیز در موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور بعنوان پیشگام در اجراء طرح‌های فراسرد با هدف نگهداری بلندمدت نگهداری ژرم‌پلاسم گونه‌های منابع طبیعی در شرایط فراسرد، آزمایشات گوناگونی بر روی گونه‌های مختلف گیاهی انجام شده و تیمارهای متفاوتی ارائه گردیده است. بعنوان مثال تیمار آبگیری در مورد گونه‌های مرتعی نظیر گل‌گندم پا پنبه‌ای *Centaurea lachnopus* Rech. *f.* (۳۰) و در گونه جنگلی کنار *Ziziphus spina-christi (L.)* Desf. (۲۹) و Delile *Acacia nilotica (L.)* و *Acacia tortilis (Forssk.) Hayne* مثبت گزارش شده است (۲۳). در رابطه با سایر تیمارهای فراسردی۳۰ درصد *Glycerol* بهترین نتیجه را در نگهداری بذر *Eucalyptus microteca F. Muell.* (۱۷) و در بذر *Pistacia vera* L. تیمار ویتریفیکاسیون بهترین نتیجه را نشان داده است (۱۹). از طرفی ارزیابی زنده‌مانی و میزان بازیافت نمونه‌ها، تعداد و نسبت رشد گیاهچه‌ها تا رسیدن به گیاه کامل و سایر پارامترها می‌تواند مورد تجزیه و تحلیل علمی قرار گیرد و کارآیی هر روش ارزیابی و بهینه گردد (۱۰).

تکثیر گونه *Secale montanum* منحصراً از طریق بذر بوده و چرای مفرط و بی‌رویه مانع از تکمیل رشد رویشی و رفتن گیاه به مرحله زایشی و تولید بذر می‌گردد. با توجه به این محدودیت‌ها و همچنین روند تخریب مراتع در بعضی از رویشگاه ها، خطر جدّی در کاهش رویشگاه‌ها یا حذف این گونه ارزشمند از پوشش گیاهی کشور وجود دارد. بنابراین نگهداری بلندمدت بذر *Secale montanum* این امکان را فراهم می‌سازد تا در صورت تهدید و از بین رفتن این گونه، نسبت به احیاء، تکثیر و استقرار آن در عرصه‌های منابع طبیعی اقدام نمود.

مواد و روش‌ها

محل جمع‌آوری بذر: بذر این گونه از ایستگاه تحقیقات منابع طبیعی همند آبسرد در شهرستان دماوند، از ایستگاه‌های تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهیه گردید.

بررسی جوانه‌زنی: ابتدا کلیه آلودگی‌ها و بذور فاسد و غیرنرمال از مجموعه بذرها جدا شده و سپس بذور خالص شده به‌مدت ۲۴ ساعت زیر شیر آب، قرارگرفتند. پس از انتقال بذرها به شیشه درب‌دار، محلول هیپوکلریت سدیم ۱۵ درصد اضافه و مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری گردیدند. سپس بذرها در شرایط استریل (داخل هود لامینار فلو) با آب مقطر استریل سه بار شستشو شده و بین کاغذ مرطوب استریل در داخل پتری دیش قرار گرفته و به ژرميناتور با دمای۲۲+ درجه سانتی‌گراد با نور مداوم ۱۰ وات بر متر مربع منتقل شدند. وزن هزار دانه بذر ۹/۱۲ گرم بود.

آزمایش نگهداری بذر در فراسرد (Cryopreservation): پیش‌تیمارهای فراسرد، یا تیمارهای قبل از ورود بذور به ازت مایع به شرح زیر می‌باشد:

PVS2 (Plant Vitrification Solution2): در شرایط استریل، به تیوپ‌های درب‌دار ۵۰ میلی‌لیتری حاوی بذر، محلول Loading شامل: ۰/۴ مول ساکاروز و ۲ مول گلیسرول اضافه و به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۲+ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. محلول Loading کاملاً تخلیه و به تیوپ‌های حاوی بذر محلول PVS2 (۴+ درجه سانتی‌گراد) شامل: ۱۵درصد اتیلن‌گلیکول (w/v)، ۱۵ درصد DMSO (w/v)، ۳۰ درصد گلیسرول (w/v) و ۰/۴ مول ساکاروز (۳۷) اضافه، درب آنها بسته و به‌مدت ۲۰ دقیقه در آب۴+ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. سپس تیوپهای حاوی بذر وارد ازت مایع گردیدند (۲۷).

Desiccation یا آبگیری: به منظور تعیین رطوبت کل بذر، حدود ۱۰ گرم بذر با ترازوی حساس توزین و بعنوان وزن اولیه بذر (FW) یادداشت گردید. سپس بذور به‌مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بذور از آون خارج و بلافاصله با ترازوی حساس توزین و وزن خشک بذر بدست آمد (DW). درصد رطوبت کل بذر (۸/۶۱ درصد) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

Total Seed Moisture Content = (FW - DW) /DW*100

آزمایشات مقدماتی به منظور یافتن حداقل رطوب بذر، بدون وارد آمدن صدمه به جوانه‌زنی آن انجام شد تا حداقل رطوبت بذر بدست آید. برای تهیه بذرهای تیمار Desiccation، مقدار ۴۰ گرم بذر تازه توزین و به دسیکاتور حاوی ۴۰۰ گرم سیلیکاژل منتقل و به‌مدت ۷ روز در

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]

سردخانه با دمای ۴+ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. بذر از دسیکاتور خارج و با ترازوی حساس توزین و درصد رطوبت بذر پس از خشک شدن در دسیکاتور با استفاده از فرمول فوق محاسبه گردید. با در دست داشتن رطوبت کل بذر و مقدار رطوبت بذر پس از قرار گرفتن در دسیکاتور، درصد کاهش رطوبت بذر در دسیکاتور محاسبه شد. بذور به تیوپ‌های دربدار ۵۰ میلی‌لیتری منفذدار منتقل و بلافاصله وارد ازت مایع گردیدند.

۳۰ درصد Glycerol: به تیوپ‌های دربدار ۵۰ میلی‌لیتری حاوی بذر، ۳۰ درصد گلیسرول اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۲+ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از آن تیوپهای حاوی بذر وارد ازت مایع گردیدند.

بذور شاهد: سه نمونه بذر جهت استفاده در آزمایش به‌مدت یک‌هفته، یک‌ماه و یک‌سال در ۴+ درجه نگهداری و بعنوان شاهد آزمایشات از آنها استفاده شد.

کلیه بذرها (شاهد و نیمارها) به مدت یک‌هفته، یک‌ماه و یک‌سال در داخل ازت مایع نگهداری گردیدند.

تیمارهای خروج بذر از ازت مایع: به‌منظور ایجاد شوک حرارتی، بذور پس از خروج از ازت مایع به‌مدت ۲ دقیقه در آب ۴۲+ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بذور از آب گرم خارج و به‌مدت ۳۰ دقیقه در محلول ساکاروز ۱/۵ مول استریل قرار داده شدند. سپس بذرها از محلول ساکاروز خارج شده و ۳ بار با آب مقطر استریل شستشو و بین کاغذ مرطوب استریل داخل پتری‌دیش قرار داده شدند. پتری‌های حاوی بذر به ژرمیناتور با دمای ۲۲+ درجه سانتی گراد با شدت نور ۱۰ وات بر متر مربع (مداوم) منتقل گردیدند.

طرح آزمایشی: طرح آزمایشی فاکتوریل با دو فاکتور شامل پیش تیمارهای فراسرد و مدت زمان ذخیره‌سازی در ازت مایع با بکارگیری طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد استفاده قرار گرفت. پیش تیمارهای فراسرد شامل PVS2، آبگیری یا Desiccation، ۳۰ درصد Glycerol و شاهد تشکیل‌دهنده سطح فاکتور A و سه دوره زمانی یک‌هفته، یک‌ماه و یک‌سال ذخیره‌سازی بذور در ازت مایع تشکیل دهنده ۳ سطح فاکتور B در این آزمایش بودند. پتری‌دیش‌ها هر یک با ۵۰ بذر واحدهای آزمایشی در نظر گرفته شدند. صفات مورد بررسی و اندازه‌گیری در این آزمایش عبارت بودند از طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، طول گیاهچه، درصد جوانه‌زنی شاخص بنیه بذر (VI)، سرعت جوانه‌زنی و نسبت طول ریشه‌چه بر طول ساقه‌چه (R/S). شاخص بنیه بذر با استفاده از فرمول ارائه شده توسط عبدالباقی و آندرسون (۱۹۷۳) محاسبه گردید. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد.

آزمایشات گلخانه: قسمتی از بذرهای سه تیمار مختلف این تحقیق که یک‌هفته در شرایط فراسرد بودند پس از خروج از ازت مایع و اعمال شوک حرارتی به همراه بذر شاهد، با آب معمولی شستشو و در داخل گلدان با نسبت ۱/۳ خاک، ۱/۳ پیت‌ماس و ۱/۳ ماسه کاشته شدند. صفات اندازه‌گیری در این آزمایش طول ساقه و وزن خشک گیاه بود.

آزمایشات عرصه‌ای: آزمایشات عرصه‌ای به منظور بررسی رفتار بذور فراسردی در عرصه طبیعی اجرا گردید تا مشخص گردد که این بذور قادر به استقرار و رشد در شرایط طبیعی هستند یا خیر. بنابراین بذر پیش تیمارهای مختلفی که یک ماه در ازت بودند پس از خروج از ازت مایع و ایجاد شوک حرارتی و شستشو با آب معمولی همراه با بذر شاهد در عرصه تحقیقاتی اداره منابع طبیعی همند آبسرد در خطوطی به طول یک متر به فاصله خطوط یک متر کاشته شدند. سپس درصد استقرار گیاه در مزرعه اندازه‌گیری گردید.

نتایج

نتایج اثر مدت زمان نگهداری بذر *Secale montanum* در شرایط فراسرد ($-196^{o}C$) بر میانگین کل صفات مورد بررسی نشان داد که مقدار جوانه‌زنی بذر طی مدت یک‌هفته نگهداری در ازت مایع ۸۸/۸۵ درصد، یک‌ماه ۸۶/۵۸ درصد و یکسال ۸۵/۹۲ درصد بوده که از نظر آماری تغییری نشان نمی‌دهد. در رابطه با سایر صفات از قبیل طول ریشه‌چه، طول گیاهچه، نسبت طول ریشه‌چه بر ساقه‌چه و بنیه بذر نیز، از نظر آماری تفاوتی مشاهده نمی‌شود. بنابراین ماندگاری بذر در ازت مایع طی زمانهای مختلف، تغییری در میانگین این صفات ایجاد ننموده است. ولی طول ریشه‌چه در یک‌ماه ماندگاری در ازت مایع اندکی بیشتر از یک‌هفته و یکسال شده، که احتمالا ناشی از شرایط آزمایش است.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]

سرعت جوانه‌زنی بذور در یک‌سال ماندگاری در ازت مایع تفاوت ناچیز لیکن معنی‌داری با یک‌هفته و یک‌ماه ماندگاری در شرایط فراسرد (۱۹۶°C-) نشان می‌دهد که این تفاوت همانگونه که اشاره شد ناچیز می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱: اثر زمانهای نگهداری بذر در شرایط فراسرد (۱۹۶°C-) بر میانگین صفات مختلف در آزمایشگاه

زمان نگهداری	درصد جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه (mm)	طول ساقه‌چه (mm)	طول گیاهچه (mm)	سرعت جوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر (VI)	نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه R/S
یک هفته	۸۸/۵۸ a	۹۱/۵۸ a	۲۰/۳۳ b	۱۱۱/۸۳ a	۵۰/۸۶ a	۹۹/۰۸ a	۴/۶۱ a
یک ماه	۸۶/۵۸ a	۹۶/۳۳ a	۲۳/۷۵ a	۱۱۹/۸۳ a	۴۹/۸۳ a	۱۰۳/۹۲ a	۴/۰۹ a
یک سال	۸۵/۹۲ a	۹۱/۰۸ a	۲۱/۵۸ b	۱۱۲/۵۸ a	۴۷/۷۱ b	۹۶/۸۳ a	۴/۲۵a

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حرف یا حروف مشترک هستند در سطح ۱ درصد معنی‌دار نمی‌باشند

از بین صفات مختلف، طول ریشه‌چه و طول گیاهچه، تحت تأثیر پیش‌تیمارها نبوده و میانگین این صفات در پیش‌تیمارهای مختلف یکسان هستند. در رابطه با درصد جوانه‌زنی، بیشترین میانگین مربوط به تیمار شاهد با ۹۶/۱۱ درصد می‌باشد که نشان‌دهنده درصد بالای جوانه‌زنی بذر در این گونه است. سپس تیمار Desiccation، ۳۰ درصد گلیسرول و PVS2 به ترتیب با ۸۹ درصد، ۸۳/۸۹ درصد و ۷۹/۱۱ درصد می‌باشند.

سرعت جوانه‌زنی بذر نیز درتیمار شاهد با ۵۹/۸۱ درصد بیشتر از پیش‌تیمارهای فراسردی است و در بین پیش‌تیمارهای فراسرد Desiccation با ۵۱/۳۲ درصد و ۳۰ درصد Glycerol با ۴۵/۷۳ درصد و PVS2 با ۴۱/۰۱ درصد کمترین سرعت جوانه‌زنی را داشته است. در صفت بنیه بذر (VI)، با اینکه تیمار شاهد بیشتر از پیش‌تیمارهای فراسردی است، ولی از نظر آماری تفاوتی بین پیش‌تیمارهای فراسردی مشاهده نمی‌شود. به‌طور کلی میانگین صفات مربوط به پیش تیمارهای فراسرد و شاهد نشان می‌دهد که در اغلب موارد میانگین پیش‌تیمارهای فراسرد کمتر از شاهد است. اثر پیش تیمارهای قبل از ورود بذر به ازت مایع بر میانگین کل صفات مختلف در جدول ۲ ارائه گردیده است.

جدول ۲: اثر پیش تیمار های قبل از ورود بذر به شرایط فراسرد (۱۹۶°C-) بر میانگین صفات مختلف

نام تیمار	درصد جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه (mm)	طول ساقه‌چه (mm)	طول گیاهچه (mm)	سرعت جوانه‌زنی	شاخص بنیه بذر (VI)	نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه R/S
کنترل	۹۶/۱۱a	۹۵/۳۳ a	۲۴/۲۲ a	۱۱۹/۵۶ a	۵۹/۸۱ a	۱۱۴/۵۶ a	۳/۹۷ b
30درصد گلیسرول	۸۳/۸۹ bc	۹۳/۲۲ a	۱۹/۸۹ c	۱۱۳/۰۰ a	۴۵/۷۳ c	۹۴/۷۸ b	۴/۶۶ a
آبگیری	۸۹/۰۰ b	۸۸/۱۱ a	۲۲/۶۷ ab	۱۱۰/۶۷ a	۵۱/۳۲ b	۹۸/۸۹ b	۳/۹۱ b
PVS2	۷۹/۱۱ c	۹۵/۳۳ a	۲۰/۷۸ bc	۱۱۵/۷۸ a	۴۱/۰۱ d	۹۱/۵۶ b	۴/۷۲ a

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حرف یا حروف مشترک هستند در سطح ۱ درصد معنی‌دار نمی‌باشند

در جدول (۳)، به تفصیل و به‌طور مجزا اثر پیش‌تیمارهای مختلف و زمان نگهداری بذر در ازت مایع بر میانگین صفات مختلف همراه با بذر شاهد ارائه گردیده است. داده‌های جوانه‌زنی نشان می‌دهد که بیشترین جوانه‌زنی را بذر شاهد در تیمار یک‌هفته و یک‌ماه (بدون وجود اختلاف معنی‌دار) با مقادیر ۹۷/۶۷ درصد و ۹۶/۳۳ درصد داشته است. لذا در بهترین حالت، بذر تازه برداشت شده این گونه جوانه‌زنی ۹۷/۶۷ درصدی را دارد که رقم بسیار بالایی است. این مقدار پس از یک‌سال نگهداری بذر در شرایط متعارف به ۹۴/۳۳درصد می‌رسد که تفاوت کمی با تیمار یک‌هفته دارد. همچنین سرعت جوانه‌زنی در پیش تیمار آبگیری یا Desiccation به ترتیب با ۵۳/۷۳ درصد، ۵۲/۱۱ درصد و ۴۸/۱۱ درصد و در تیمار۳۰ درصد گلیسرول با ۴۵/۶ درصد، ۴۶/۸۳ درصد و ۴۴/۷۷ درصد و تیمار PVS2 با ۴۳/۱۱ درصد، ۴۰/۹۴ درصد و ۳۸/۹۹ درصد کمترین سرعت جوانه‌زنی را برای یک‌هفته، یک‌ماه و یک‌سال ماندگاری در ازت مایع داشته‌اند. (جدول ۳ و شکل ۱).

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]

جدول ۳: اثر پیش تیمارهای مختلف و زمانهای نگهداری بذر پس از ورود به شرایط فراسرد (۱۹۶°C-) برتعدادی از صفات اندازه‌گیری شده در شرایط آزمایشگاه

مدت نگهداری	پیش تیمار	درصد جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه (mm)	طول ساقه‌چه (mm)	طول گیاهچه (mm)	سرعت جوانه‌زنی	شاخص ب نیه بذر (VI)	نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه R/S
یک‌هفته	کنترل	۹۷/۶۷ a	۹۲/۳۳ a	۲۳/۶۷ ab	۱۱۶ a	۶۱/۰۲ a	۱۱۲/۶۷ ab	۴/۰۱ b
	گلیسرول ۳۰درصد	۸۷ cd	۹۰/۳۳ a	۱۸/۶۷ cd	۱۰۹ a	۴۵/۶۰ cd	۹۴/۶۷ ab	۴/۸۰ ab
	آبگیری	۸۹ abc	۸۵/۶۷ a	۲۱/۳۳ bcd	۱۰۷ a	۵۳/۷۳ b	۹۶/۰۰ ab	۳/۹۶ b
	PVS2	۸۰/۶۷ d	۹۸ a	۱۷/۶۷ d	۱۱۵/۳۳ a	۴۳/۱۱ def	۹۳/۰۰ ab	۵/۶۶ a
یک‌ماه	کنترل	۹۶/۳۳ a	۹۸/۳۳ a	۲۶/۳۳ a	۱۲۴/۶۷ a	۵۹/۴۴ a	۱۱۹/۶۷ a	۳/۷۵ b
	گلیسرول ۳۰درصد	۸۱/۶۷ cd	۹۸a	۲۰/۶۷ bcd	۱۱۸/۳۳ a	۴۶/۸۳ cd	۹۷ ab	۴/۷۱ ab
	آبگیری	۹۰ ab	۹۰/۳۳ a	۲۴ ab	۱۱۴ a	۵۲/۱۱ b	۱۰۳ ab	۳/۸۲ b
	PVS2	۷۸/۳۳ d	۹۸/۶ a	۲۴ ab	۱۲۲/۳۳ a	۴۰/۹۴ ef	۹۶ ab	۴/۰۹ b
یک‌ساله	کنترل	۹۴/۳۳ ab	۹۵/۳۳ a	۲۲/۶۷ abc	۱۱۸ a	۵۸/۹۹ a	۱۱۱/۳۳ ab	۴/۱۶ b
	گلیسرول ۳۰درصد	۸۳ cd	۹۱/۳۳ a	۲۰/۳۳ bcd	۱۱۱/۶۷ a	۴۷/۷۷ cde	۹۲/۶۷ ab	۴/۴۸ b
	آبگیری	۸۸ abc	۸۸/۳۳ a	۲۲/۶۷ abc	۱۱۱ a	۴۸/۱۱ c	۹۷/۶۷ ab	۳/۹۵ b
	PVS2	۷۸/۳۳ d	۸۹/۳۳ a	۲۰/۶۷67 bcd	۱۰۹/۶۷ a	۳۸/۹۹ f	۸۵/۶۷ b	۴/۴۰ b

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حرف یا حروف مشترک هستند در سطح ۱ درصد معنی‌دار نمی باشند

شکل ۱: جوانه‌زنی و رشد بذور فراسردی و شاهد در شرایط آزمایشگاه

نتایج آزمایشات گلخانه‌ای در صفت طول ساقه در دو تیمار آبگیری و گلیسرول ۱۰/۵ سانتی‌متر بود که دقیقا مشابه رقم شاهد مشاهده گردید و در تیمار PVS2 این عدد ۹/۹۲ سانتی‌متر بود که تفاوت معنی‌داری با دو تیمار دیگر و شاهد نداشتند همچنین این اندازه‌ها در وزن خشک گیاه، نشان داد که در میانگین این صفات نیز در پیش‌تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌گردد (جدول ۴ و شکل ۲).

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]

جدول ۴: طول ساقه و وزن خشک ساقه گیاه در شرایط گلخانه و درصد استقرار گیاه در شرایط عرصه در پیش تیمارهای مختلف و یک هفته ذخیره سازی بذر در ا شرایط فراسرد (۱۹۶°C-)

زمان نگهداری	تیمار	طول ساقه (سانتی‌متر) در گلخانه	وزن خشک ساقه گرم) در گلخانه	درصد ماندگاری در عرصه
یک هفته	شاهد	۱۰/۵۸ a	۰/۲۳ a	۱۶/۰۰ a
	۳۰ درصد گلیسرول	۱۰/۰۵ a	۰/۲۲ a	۱۳/۰۰ ab
	آبگیری	۱۰/۵۸ a	۰/۲۱ a	۱۴/۶۷ a
	PVS2	۹/۹۲ a	۰/۲۱ a	۱۰/۶۷ b

در هر ستون، میانگین‌هایی که دارای حرف یا حروف مشترک هستند در سطح ۱ درصد معنی‌دار نمی باشند

شکل ۲: رشد و استقرار بذور فراسردی و شاهد در شرایط گلخانه

در بررسی نتایج کشت بذور در عرصه، میانگین طول ساقه، ماده خشک و درصد استقرار بذور شاهد و تیمارهای مختلف فراسردی که به‌مدت یک‌هفته در ازت مایع ذخیره گردیده بودند، مشاهده شد که در تیمار شاهد ۱۶ درصد از بذور و در پیش‌تیمار آبگیری یا Desiccation ۱۴/۶۷ درصد از بذور بدون تفاوت معنی‌دار مستقر گردیده‌اند. پس از آن پیش‌تیمارهای ۳۰ درصد گلیسرول و PVS2 به ترتیب با ۱۳ درصد و ۱۰/۶۷ درصد در رده‌های بعدی قرار دارند. ملاحظه می‌شود که در شرایط عرصه، بذور PVS2 کمترین استقرار را داشته‌اند (ستون ۵ جدول ۴ و شکل ۳).

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]

شکل ۳: استقرار و رشد بذور فراسردی و شاهد در شرایط مزرعه

بحث و نتیجه‌گیری

بذر چاودار کوهی (*Secale montanum* Guss.) پس از خروج از شرایط فراسرد (۱۹۶°C-) و انتقال به پتری‌دیش در ژرمیناتور بدون اینکه اثر سویی در آنها مشاهده شود همانند تیمارهای شاهد، جوانه زده و تولید گیاهچه نمودند. با توجه به امکان زنده‌مانی این گونه مرتعی در شرایط فراسرد (۱۹۶°C-) و همینطور محتوای رطوبتی کم بذرهای آن که حدود ۸/۱ درصد است، می‌توان بذر *Secale montanum* را در گروه بذرهای با قابلیت بلند مدت نگهداری یا ارتدکس طبقه‌بندی کرد (۱۱ و ۳۶).

ممکن است یک صفت در شرایط فراسرد تغییری در زمان نگهداری در ازت مایع نشان ندهد (بعنوان مثال طول ریشه‌چه و طول گیاهچه در این بررسی) ولی صفات دیگر تفاوت کم یا قابل توجهی نشان دهند. استفاده از پیش تیمارهای متفاوت، کاربرد مواد محافظت کننده در مقابل فراسرد (Cryoprotectant) با غلظت مناسب و بهینه‌سازی روش‌های آن از ضروریات کار بوده و موفقیت نگهداری نمونه در شرایط فراسرد بستگی به بهینه‌سازی این روش‌ها و مواد مورد استفاده دارد (۱۰). در بررسی‌های انجام گرفته روی این گونه نشان داد، میزان جوانه‌زنی بذر در یک هفته نگهداری در ازت مایع و پس از یکسال نگهداری در ازت مایع تفاوت محسوسی نداشتند همچنین نتایج آریاکیا و همکاران در ۲۰۱۲ نیز اینگونه نشان داده در صورتی که نمونه بتواند در شرایط فراسرد (۱۹۶°C-)زنده بماند تفاوت محسوسی در مدت زمان‌های مختلف نگهداری آن در فراسرد وجود ندارد. از طرفی بر اساس محاسبات، در شرایط فراسرد (۱۹۶°C-) تفاوتی بین ذخیره‌سازی کوتاه‌مدت و بلندمدت مشاهده نمی‌شود. بنابراین انتظار می‌رود با ذخیره‌سازی در دمای فراسرد طول عمر بذر به مدت صدها و حتی هزاران سال افزایش یابد. زیرا در این شرایط بسیاری از فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی بذرها و اندامهای گیاهی، تحرک مولکول‌ها و واکنش‌های شیمیایی آن تقریبا متوقف می‌شوند. با توجه به‌این اصل که اگر بذر، سلول یا اندام گیاهی شرایط فراسرد را تحمل نماید، فعالیت های متابولیکی و حیاتی آن تا نزدیک به صفر کاهش می‌یابد (۴۱). همچنین طبق نتایج تحقیقات طباطبایی‌پور و

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]
[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]

همکاران در ۲۰۱۵ با کاهش شدید فعالیت‌های متابولیکی مسئله مدت زمان نگهداری تقریبا منتفی می‌گردد.

همانگونه که اشاره گردید نگهداری در فراسرد تا حدی باعث کاهش جوانه‌زنی بذر چاودار کوهی(*Secale montanum* Guss) می‌شود لیکن این کاهش پس از ورود بذر به ازت مایع برای زمانهای مختلف ثابت می‌ماند. پیش تیمار Desiccation در یک‌هفته، یک‌ماه و یک‌سال ماندگاری بذر در ازت مایع به ترتیب با مقادیر ۸۹ درصد، ۹۰ درصد و ۸۸ درصد جوانه‌زنی، تفاوتی را از نظر آماری نشان نمی‌دهند که این عدم تغییر نشان دهنده این است که اولاً بذر چاودار کوهی (*Secale montanum* Guss.) شرایط فراسرد را بخوبی تحمل می‌نماید و ثانیاً حتی پس از یک‌سال ماندگاری در ازت مایع تغییری در جوانه‌زنی بذر رخ نمی‌دهد. همچنین سرعت جوانه زدن بذر که از صفات مهم می‌باشد، نشان می‌دهد که سرعت جوانه‌زنی بذر شاهد در طی یک‌سال ثابت مانده و از نظر آماری تغییری نکرده است. این موضوع درحالیست که در پیش‌تیمارهای فراسردی سرعت جوانه‌زنی به دلیل تأثیر منفی دمای فراسرد کمتر از شاهد می‌شود. از آنجاییکه در بعضی از بذرهای ارتدوکس فرایند کاهش رطوبت به صورت طبیعی انجام می‌شود می‌توان بدون هیچ پیش‌تیماری بذر را وارد ازت مایع نمود (۴). در این رابطه آراجو و همکاران ۲۰۱۶ نشان دادند که نگهداری از بذرهای گل‌ساعتی بدون استفاده از مواد ضد انجماد در شرایط فراسرد امکان‌پذیر است. همچنین مزیت پیش تیمار یا روش Desiccation نسبت به بقیه پیش‌تیمارها در بعضی از گونه‌های گیاهی به دلیل کاهش محتوای آب بذر گزارش گردیده است (۷ و ۳۹). همچنین این یافته با نتایج سایر گونه‌ها نظیر کافوری *Camphorosma monspeliaca* L.، (۲۰) ناگرد یا کاه‌مکّی *Cymbopogon olivieri* (Boiss.) Bor. (۲۱)، باریجه *Ferula gummosa* Boiss. و کرفس کوهی *Medicago odoratissima* (Mozaff.) Kelussia (۳۱)، یونجه یکساله *Medicago rigidula* (L.) All (۲۲)، یونجه زراعی *Medicago sativa* L. (۱۸) و گونه *Pyrostegia venusta*، توسط (۳۸) هم سو بوده است.

در آزمایشات عرصه‌ای نیز ملاحظه می‌شود که پیش‌تیمار Desiccation بهترین نتیجه را در رویش بذر چاودار کوهی (*Secale montanum Guss*.) داشت که این احتمالاً بدلیل کاهش محتوای رطوبت بذر، قبل از ورود به ازت مایع است. در حالی‌که در پیش‌تیمار PVS2، به‌رغم اینکه اغلب گونه‌های گیاهی پاسخ مثبت و خوبی به این پیش‌تیمار نشان داده‌اند (۸ و ۱۳) ولی در این بررسی، احتمالاً به دلیل نفوذ مواد شیمیایی موجود در DMSO و اتیلن گلایکول که از ترکیبات تشکیل دهنده PVS2 هستند به درون بذر، باعث ایجاد اثرات سوء در جوانه‌زنی و همچنین روند رشد و استقرار بذرها در مزرعه گردیدند. بنابراین تیمار Desiccation به‌دلیل نداشتن هیچ‌گونه مواد شیمیائی از یک سو و تحمل گیاه به شرایط خشک و سخت محیطی، از سوی دیگر باعث ارجحیت آن نسبت به بقیه پیش‌تیمارها گردیده است.

سخن آخر اینکه در رابطه با تأثیر نگهداری بذر یا نمونه‌های گیاهی در شرایط فراسرد (۱۹۶°C-) باید گفت این نگهداری تأثیر سوئی در ساختار ژنتیکی گیاهانی که از بذور یا نمونه‌های فراسردی تولید می‌شوند، بجای نمی‌گذارد (۹، ۵ و ۱۶). البته در معدود مواردی ممکن است شرایط فراسرد باعث تغییر در الگوی متیلاسیونی نقاطی از ژنوم گردد ولی در ساختار ژنوم گیاه تغییری ایجاد نمی‌نماید (۱۵). در این بررسی نیز هیچگونه تغییری در گیاهان حاصل از بذور فراسردی از ابتدای جوانه‌زنی تا رشد رویشی و رشد زایشی و تولید بذر مشاهده نشد که این مشاهدات همسو با گزارشاتی است که در مورد عدم تأثیر سوء شرایط فراسرد در ساختار ژنومی گیاه گزارش گردیده است (۴۳). نظر به اینکه بذر چاودار کوهی (*Secale montanum* Guss.) شرایط فراسرد را تحمل می‌نماید، می‌توان پیش بینی نمود که بذر این گونه مهم مرتعی را بتوان تا سالیان بسیار طولانی در شرایط فراسرد نگهداری نمود همان‌گونه که این موضوع در رابطه با بعضی از بذور به اثبات رسیده است (۵ و ۴۱).

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]

References

1. Abdul-Baki, A.A & J.D. Anderson, 1973. Vigour determination in soybean seed by multiple criteria. Crop Science, 13: 630-633.
2. Araújo, D.S.D., P.B.D. Luz., L.G. Neves & S.D. Paiva Sobrinho, 2016. Seed cryopreservation of *Passiflora* species. Journal of Seed Science (AHEAD), 38(3): 248-253.
3. Aryakia, E., H. Ramazani, H. Ghafoori, A. Dolatyari, M.R. Naghavi & S.A. Shahzadeh fazeli, 2012. The effect of cryopreservation on germination and growth indices of some orthodox seeds. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 19: 218-230 (In Persian).
4. Benelli, C., A. De Carlo & F. Engelmann, 2013. Recent advances in the cryopreservation of shoot-derived germplasm of economically important fruit trees of *Actinidia*, *Diospyros*, *Malus*, *Olea*, *Prunus*, *Pyrus* and *Vitis*. Biotechnology Advances, 31(2): 175-185.
5. Benson, E.E., 2008. Cryopreservation of phytodiversity: a critical appraisal of theory and practice. Critical Reviews in Plant Sciences, 27(3): 141-219.
6. Bhat, S.N., A. Sharma & S.V. Bhat, 2005. Vitrification and glass transition of water insights from spin probe ESR. Physical Review Letters, 95 (23): 4.
7. Cho, E.G., N.M. Noor, H.H. Kim, V.R. Rao & F. Engelmann, 2002. Cryopreservation of *Citrus aurantifolia* seeds and embryonic axes using a desiccation protocol. CryoLetters, 23(5): 309-316.
8. Cho, E.G., Y.L. Hor, H.H. Kim, V.R. Rao & F. Engelmann, 2001. Cryopreservation of *Citrus madurensis* zygotic embryonic axes by vitrification: importance of pregrowth & preculture conditions. CryoLetters, 22(6): 391-396.
9. Dixit, S., B.B. Mandal, A. Sangeeta & P.S. Srivastava, 2003. Genetic stability assessment of plants regenerated from cryopreserved embryogenic tissues of *Dioscorea bulbifera* L. using RAPD, biochemical and morphological analysis. CryoLetters, 24(2): 77-84.
10. Dussert, S., F. Englemann & M. Noirot, 2003. Development of probabilistic tools to assist in the establishment and management of cryopreserved plant germplasm collections. CryoLetters 24: 149-160.
11. Engelmann, F., 2004. Plant cryopreservation: progress and prospects. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 40(5): 427-433.
12. Foroozeh, M.R & Z. Mirdilami., 2020. Investigating the Effect of Environmental Factors on Changes OF Chemical Compounds in Essential oil of *Achillea milefolium* L. Journal of Rangland, 13 (4): 596-609. (In Persian)
13. Gagliardi, R.F., G.P. Pacheco, J.F.M. Valls & E. Mansur, 2002. Cryopreservation of cultivated and wild *Arachis* species embryonic axes using desiccation and vitrification methods. CryoLetters, 23(1): 61-68.
14. Gale, S., A. John, K. Harding & E.Benson, 2008. Developing cryopreservation for *Picea sitchensis* (sitka spruce) somatic embryos: a comparison of vitrification protocols. CryoLetters, 29: 135-144.
15. Hao, Y., C. You & X. Deng, 2002. Analysis of ploidy and the patterns of amplified fragment length polymorphism and methylation sensitive amplified polymorphism in strawberry plants recovered from cryopreservation. CryoLetters, 23(1): 37-46.
16. Harding, K. & E.E. Benson., 2001. The use of microsatellite analysis in *Solanum tuberosum* L. *in vitro* plantlets derived from cryopreserved germplasm. CryoLetters, 22: 199-208.
17. Hatami, F., M.A. Naderi Shahab, M. Jebelli, A. Ghamari zare, M. Tabari Koochaksoraei & M. H. Asareh, 2010. Investigation on possibility of cryopreservation of *Eucalyptus microtheca* seeds. Iranian journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 17(4): 627-636. (In Persian)
18. Jebelli, M., A. Ghamari Zare, 2014; Seed Cryopreservation of *Medicago sativa* L. 13th Iranian crop science congress and 3th Iranian seed science and technology conference. (In Persian)
19. Jebelli, M., M. Tabari Koochaksoraei, F. Hatami & Sh. Mehrpur, 2015.Possibility evaluation of *Pistasia Vera* L. Seed Conservation under Cryogenic conditions. Journal of Conservation and Utilization of Natural Resources, 4(1):101- 116. (In Persian)
20. Jebelli, M., M.A. Naderi Shahab & A. A. Jafari, 2015. Cryopreservation of *Camphorosma monspeliaca* L. Seeds. 2nd National Conference on Applied Researches in Agriculture Sciences. (In Persian)
21. Jebelli, M., M.A. Naderi Shahab & A. A. Jafari, 2015. Cryopreservation of *Cymbopogon olivieri* (Boiss. Bor) Seeds. 2nd National Conference on Applied Researches in Agriculture Sciences. (In Persian)
22. Jebelli, M., M.A. Naderi Shahab & A. A. Jafari, 2015. Seed Cryopreservation of *Medicago rigidula* (L.) All.Watershed management and sustainable natural resources, (1): 43-53. (In Persian)
23. Jebelli, M., M.A. Naderishahab & A.A. Jafari, 2014. Cryopreservation of Seeds of Some of the Forest species *Acacia tortilis* (Forssk.) Hayne & *Acacia nilotica* (L.) Delile. Iranian journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 23(1): 103-111. (In Persian)

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]

24. Jeyendran, R. S., H. H.Van der Ven, M. Perez- Pelaez & L. J. Zaneveld, 1985. Effect of glycerol and cryopreservation on oocyte penetration by human spermatozoa. Andrologia, 17(3): 241-248.
25. Liu, H., W. Yu, J. Dai, Q. Gong, K. Yang & X. Lu, 2004. Cryopreservation of protoplasts of the alga (*Porphyra yezoensis)* by verification. Plant Science, 166(1): 97-102.
26. Makeen, M. A., N.M. Noor, S. Dussert & M.M. Clyde, 2005. Cryopreservation of whole seeds and excised embryonic axes of *Citrus suhuiensis* cv. Limau Langkat in accordance to their desiccation sensitivity. CryoLetters, 26(4): 259-268.
27. Matsumoto, T., A. Sakai & K.Yamada, 1994. Cryopreservation of *in vitro*-grown apical meristems of wasabi (*Wasabia japonica*) by vitrification and subsequent high plant. Plant Cell Report, 13:442-446.
28. Moameri, M., 2019. Effects of municipal waste compost and silicon nanoparticles on the growth and functional factors of *Secale montanum* Trusted. Rangland, 12(4): 507-518. (In Persian)
29. Naderi Shahab, M. A., M. Jebell & A.A. Jafari, 2016. Assesment of maintenace of *Ziziphus spina-christi* (L.) Desf. f. Seeds under Cryogenic conditions.Iranian Journul of Seed Science and Research, 3(1): 111-120. (In Persian)
30. Naderi Shahab, M. A., M. Jebelli, A.A Shahmoradi, A. Ghamari Zare & A.A. Jafari, 2016. Cryopreservation of *Centaurea lachnopus* Rech. f. Seeds and Establishment of the Cryopreserved Seeds under Laboratory and Greenhouse Conditions. Journal of Plant Research, 29(3):573- 588. (In Persian)
31. Naderi Shahab, M. A., M. Jebelli, A.A. Shahmoradi & A.A. Jafari, 2013. Seed Cryopreservation and Evaluation of *Ferula gummosa* Boiss and *Kelussia odoratissima* Mozaff. Seed Technology, 35(1): 103-116.
32. Panis, B. & M. Lambardi, 2005. Status of cryopreservation technologies in plants (crops and forest trees). The role of biotechnology. Villa Gualino, Turin, Italy, 173p.
33. Rall, W. F., 1987. Factors affecting the survival of mouse embryos cryopreserved by vitrification. Cryobiology, 24: 387–402.
34. Rechinger, K. H., 1977. Flora Iranica. Akademiche Druck-und Verlagsanstalt, Graz, Austria. 356p.
35. Reed, B.M., 2001. Implementing cryogenic storage of clonally propagated plants. CryoLetters, 22(1): 97-104.
36. Roberts, E.H & R.H. Ellis., 1989. Water and seed survival. Annals of Botany, 63(1): 39-39.
37. Sakai, A., S. Kobayashi & I. Oiyama, 1991. Survival by vitrification of nucellar cells of navel orange (*Citrus sinensis* Osb. var. *brasiliensis* Tanaka) cooled to –196°C. Journal of Plant Physiology, 137: 465-470.
38. Salomão A.N., I.R.I. Santos & S.C.B. R. José, 2020. Cryopreservation of Pyrostegia venusta (Ker Gawl.). Miers seeds Hoehnea, 47: 1-8.
39. Stewart, P., M. Taylor & D. Mycock, 2001. The sequence of the preparative procedures affects the success of cryostorage of cassava somatic embryos. CryoLetters, 22(1): 35-42.
40. Tabatabaiepoor, S.Z., A. Moeini & M.A. Sabet, 2015. Effect of cryopreservation by vitrification on the growth and development indices of zygotic embryos. Iranian Journal of Field Crop Science (Iranian Journal of Agricultural Sciences), 46(1): 115-122. (In Persian)
41. Walters, C., L. Wheeler & P.C. Stanwood, 2004. Longevity of cryogenically-stored seeds. Cryobiology, 48(3): 229-244.
42. Wardani, F.F., D. Efendi, D. Dinarti & J.R Witono, 2019. Cryopreservation of papaya seeds cv. Sukma, Callina, and Caliso: Effect of loading treatment and immersion time in plant vitrification solution-2. Nusantara Bioscience, 11: 71-78.
43. Zhai, Z., Y. Wu, F. Engelmann, R. Chen & Y. Zhao, 2003. Genetic stability assessments of plantlets regenerated from cryopreserved *in vitro* cultured grape & kiwi shoot – tips using RAPD. CryoLetters, 24(5): 315-322.

[Downloaded from rangelandsrm.ir on 2026-05-27]

[DOR: 20.1001.1.20080891.1400.15.2.10.7]