فصلنامه علمی زیست‌شناسی کاربردی دانشگاه الزهرا(س)
دوره ۳۵، شماره۳، پیاپی ۷۳، پاییز ۱۴۰۱، ص ۱۰۹-۹۹
نوع مقاله: مقاله پژوهشی

The Quarterly Scientific Journal of Applied Biology
Vol.35, No.3, Sering.72, Fall 2022, p. 99- 109
Article type: Research paper

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۴
وب سایت نشریه: https://jab.alzahra.ac.ir
10.22051/JAB.2021.34309.1398

حفاظت طولانی مدت ژرم پلاسم ارزن دانه‌ای (*Panucum miliaceum* L.) بومی شمال غرب ایران

مهدی کاکایی*[۱] طیبه بساکی[۲]

چکیده

مقدمه: *حفظ و نگهداری ذخایر ژنتیکی گیاهی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با استفاده از تکنیک نگهداری بذر در دمای فراسرد، می‌توان بذر را به طور طولانی مدت و با هزینه بسیار کمتر ذخیره‌سازی کرد. در پژوهش حاضر حفاظت انجمادی بذور گیاه ارزن به روش شیشه‌ای شدن مورد بررسی قرار گرفت.* ***مواد و روش‌ها:*** *آزمایش در قالب فاکتوریل (با دو فاکتور، فاکتور اول در دو سطح محلول شیشه‌ای کردن (PVS2 و PVS3) و فاکتور دوم زمان‌های شیشه‌ای کردن طی پنج سطح زمانی (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ دقیقه) و با آرایش طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام پذیرفت.* ***نتیجه و بحث:*** *نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کلیه صفات (طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی) از نظر زمان تیمار در سطح احتمال یک درصد ($P\leq1\%$) معنی‌دار بودند. همچنین، نوع محلول برای صفات طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه و اثر متقابل زمان تیمار در نوع محلول تنها برای صفت طول ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد ($P\leq1\%$) معنی‌دار بود. تیمار بذور ارزن با محلول‌های محافظت کننده به مدت ۶۰ دقیقه، بیشترین میزان جوانه‌زنی را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد. نتایج نشان داد که بذور تیمار شده با محلول PVS3 دارای ساقه‌چه با طول کمتر ولی ریشه‌چه با طول بیشتری نسبت به محلول PVS2 بودند.* ***نتیجه‌گیری کلی:*** *به طور کلی می‌توان روش حفاظت انجمادی را یک روش مناسب به منظور حفاظت از ژرم‌پلاسم گیاه ارزن تلقی نمود. محلول PVS3 در زمان ۶۰ دقیقه دارای بیشترین میانگین درصد جوانه‌زنی بود که بهترین ترکیب تیماری برای نگهداری طولانی مدت ارزن به شمار می‌رود.*

واژه های کلیدی: ***ارزن، حفاظت انجمادی، ژرم‌پلاسم، شیشه‌ای شدن، محلول حفاظت‌کننده.***

---

۱. دانشیار اصلاح‌نباتات، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران-ایران (* نویسنده مسئول: M.Kakaei@pnu.ac.ir)
۲. استادیار اصلاح‌نباتات، گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران-ایران.

مقدمه

جنس *Panucum* با نام فارسی ارزن متعلق به تیره‌ی گندمیان (Poaceae) است و در نواحی خشک به ویژه در آسیا و آفریقا به خوبی رشد می‌کند. ارزن از مهم‌ترین منابع انرژی و پروتئین برای میلیون‌ها انسان خصوصا در مناطق گرم و خشک جهان است (Amadou *et al*., 2011 & Habiyaremye *et al*., 2017). ارزن به دلیل داشتن مواد غذایی فراوان شامل پروتئین، اسیدهای چرب ضروری، فیبر غذایی، ویتامین B، مواد معدنی مانند کلسیم، آهن، روی، پتاسیم و منیزیوم از غلات بسیار مغذی محسوب می‌شود. این گیاه با تأثیر بر کاهش سطح قندخون (دیابت)، تنظیم فشار خون، تیروئید و بیماری‌های قلبی عروقی دارای ارزش دارویی نیز است (Dayakar *et al*., 2017). نگهداری از منابع ژنتیکی گیاهی به منظور حفظ امنیت غذایی و تنوع زیستی ضروری است. همچنین حفظ تنوع ژنتیکی امکان انتخاب و اصلاح گیاهان زراعی جدید و پرمحصول و مقاوم به تنش را فراهم می‌نماید (Rao, 2004). امروزه با توجه به کشت‌وکار پی‌درپی برخی گونه‌های گیاهی و همچنین تنش‌های زیستی و غیرزیستی با معضل کاهش تنوع ژنتیکی گونه‌های گیاهی روبرو هستیم؛ بنابراین، حفظ ذخایر ژنتیکی این گونه‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است (Ghaffarzadeh-Namazi *et al*., 2015). از جمله روش‌هایی که برای حفظ ژرم‌پلاسم گیاهان وجود دارد، می‌توان به حفاظت در رویشگاه و یا حفاظت در خارج از رویشگاه اشاره کرد (Hawksworth & Bull, 2007). حفاظت گیاه در رویشگاه می‌تواند بسیار پرهزینه باشد (Li & Pritchard, 2009) اما در بین روش‌های حفاظت گیاه در خارج از رویشگاه، استفاده از توانمندی‌های بیوتکنولوژی راهکاری منحصر به فرد برای حفاظت از گونه‌های گیاهی هست که به سرعت در حال توسعه است. یکی از این توانمندی‌ها، نگهداری بذرها و اندام‌های رویشی در شرایط فراسرد است (Lambardi *et al*., 2005). در این روش به منظور ذخیره‌سازی نمونه‌های زیستی از ازت مایع با دمای ۱۹۶- درجه‌ی سلسیوس استفاده می‌شود (Benson, 2008 & Popov *et al*., 2006). با توقف تقسیم سلولی و فرآیندهای متابولیکی در دمای ازت مایع امکان نگهداری طولانی مدت در آنها ایجاد می‌گردد (Suzuki *et al*., 2005). از جمله راه‌های مؤثر در افزایش کارایی مراقبت و زنده‌مانی مواد گیاهی در شرایط انجماد، روش شیشه‌ای شدن به کمک محلول‌های مرتبط گیاهی است. طی این روش، آب از حالت مایع وارد یک فاز شیشه‌ای بی‌شکل می‌شودکه فاقد ساختار کریستالی است. بنابراین در این روش نگهداری از بافت‌های گیاهی در ازت مایع بدون تشکیل کریستال‌های یخ امکان‌پذیر خواهد بود (Gale *et al*., 2008). حفاظت ژرم‌پلاسم بذور بسیاری از گونه‌های گیاهی به روش انجماد انجام شده و در برخی موارد جوانه‌زنی غیرعادی و یا مرگ به علت آسیب‌های درونی گزارش شده است. اغلب این مشکلات، به دلیل خصوصیات بذر مانند اندازه، رطوبت و ترکیبات شیمیایی بوده است. در پژوهشی Ghaffarzadeh-Namazi و همکاران (۲۰۱۴) شاخص‌های جوانه‌زنی و رشد بذر گونه مرزه (*Satureja spicigera*) را در پاسخ به دمای فراسرد، جهت بررسی کارآمدی فناوری فراسرد به عنوان یک روش جایگزین و مقرون به صرفه برای ذخیره کردن بلندمدت بذر گیاهان در مراکز ژرم‌پلاسمی مورد بررسی قرار دادند. در پژوهشی Mansouri و همکاران (۲۰۱۳)، در مطالعه‌ای با عنوان مطالعه حفاظت انجمادی بذور کلزا به روش شیشه‌ای شدن، اثر

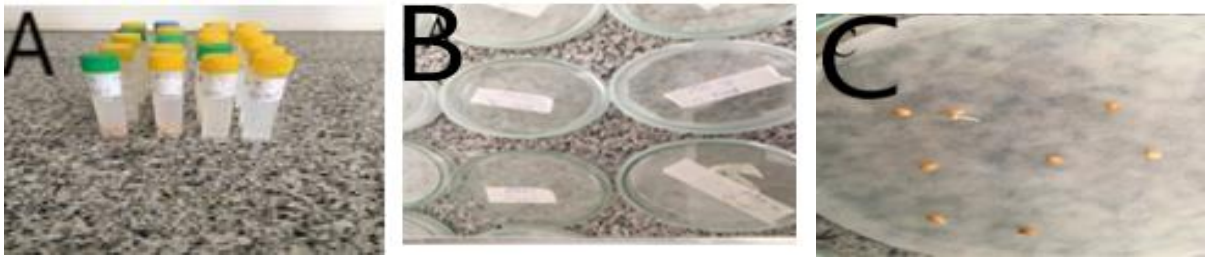
متقابل زمان تیمار با نوع محلول حفاظت‌کننده در سطح احتمال ۵ درصد را مورد بررسی قرار دادند. در اثر کاهش دما، مقداری از آب موجود در سلول‌ها از طریق دهیدراسیون (آبگیری) اسمزی خارج می‌شود و در صورتی می‌توان انواع سلول‌ها را به شکل موفقیت‌آمیز منجمد نمود که کریستاله شدن آب باقیمانده در سلول صدمات جبران‌ناپذیری را به سلول وارد نسازد (Keivanloo & Sudagar, 2012). اگرچه مواد ضد انجماد باعث کاهش تشکیل کریستال‌های یخی درون سلول شده و از این طریق صدمات سلولی را به حداقل می‌رسانند، با این وجود اکثر این مواد بدلیل سمیت شدید و ایجاد صدمات اسمزی می‌توانند سبب بروز صدمات و آسیب‌های سلولی شوند (Pillai *et al.*, 2001).

نظر به اهمیت از نظر زراعی، خوراکی و دارویی گیاه ارزن، در تحقیق حاضر به منظور یافتن روشی مطلوب برای حفاظت از ژرم‌پلاسم این گیاه، بذور گیاه ارزن تحت تیمار با محلول‌های مورد استفاده در حفاظت انجمادی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

ابتدا بذور ارزن از مزارع شهرستان اسدآباد-(همدان) جمع آوری و تهیه شد. به منظور یافتن روش مناسب حفاظت انجمادی ژرم‌پلاسم بذر گیاه ارزن، ابتدا بذور با کمک هیپوکلریت سدیم ۳ درصد برای مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. سپس با آب مقطر شستشو و با الکل ۷۰ درصد به مدت ۵۰ ثانیه مجددا استریل شدند و در نهایت با آب مقطر سه بار شستشو صورت پذیرفت. پس از خشک‌شدن، تعداد ۱۰ بذر در دمای آزمایشگاه به ویال (ظروف کوچک استوانه‌ای)های انجمادی ۲ میلی‌لیتری منتقل شدند و با استفاده از محلول‌های حفاظت‌کننده تیمار شدند. محلول‌های استفاده شده دو محلول پرکاربرد در حفاظت انجمادی بافت گیاهی به اسامی PVS2 (شامل ۳۰٪ گلیسرول، ۱۵٪ اتیلن‌گلایکول، ۱۵٪ دی‌متیل سولفوکساید با زمینه محیط کشت مایع MS سوکروز ۴/۰ مولار) و PVS3 (شامل ۴۰٪ گلیسرول و ۴۰٪ ساکارز (WV)) بودند. این محلول‌ها با کمک فیلتر ۰/۲۲ میکرومتری استریل شدند. بذور ارزن در زیر هود لامینار با کمک محلول‌های مذکور، تیمار شدند. به منظور آبگیری، تیمار بذور با مواد مذکور در دمای آزمایشگاه و در ۵ سطح زمانی (۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ دقیقه، مدت زمان تیمار با مواد ذکر شده) صورت گرفت. پس از اتمام زمان‌های یاد شده، محلول‌های قبلی از ویال‌های مربوط خارج گردید و محلول تازه به مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر در ویال قرار گرفت. سپس به مدت ۵۰ ساعت در فراسرد (تانک نیتروژن) قرار داده شدند. ویال‌ها بعد از طی مدت زمان مربوطه در حمام آب گرم با دمای حدود ۵۰ درجه‌سلسیوس و پس از ۱۵ دقیقه در دمای محیط به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. در مرحله بعدی محلول‌های حفاظت‌کننده از ویال‌ها خارج گردیده و جهت تمیز کردن نمونه‌های بذری از محلول‌های حفاظت‌کننده، نمونه‌ها با یک محلول غلیظ (ساکارز ۰/۵ مولار) شستشو شدند. سپس، بذرها با آب مقطر استریل چند بار شستشو و در نهایت در پتری‌دیش‌های ۱۰ سانتی‌متری روی کاغذ صافی کشت و با آب مقطر تغذیه شدند (شکل ۱). کلیه این فعالیت‌ها جهت جلوگیری از آلودگی احتمالی و انجام دقیق آزمایش در شرایط سترون انجام گرفت. جوانه‌زنی بذور در سطوح زمانی مذکور یادداشت‌برداری گردید و صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در کلیه آزمون‌های این تحقیق

تیمار شاهد بدون استفاده از محلول‌های PVS2 و PVS3 مورد استفاده قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد (در هر پتری‌دیش ۱۰ عدد بذر قرار گرفت). عملیات آماری برای سه صفت طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی با کمک نرم‌افزار SAS 9.1 صورت پذیرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل 2016 ترسیم گردید.



شکل ۱- A: تیمار نمونه‌های بذر ارزن با محلول‌های مختلف حفاظت‌کننده قبل از عمل حفاظت انجمادی، B و C: نمونه‌های بذر ارزن کشت شده و جوانه زده در درون پتری‌دیش‌های حاوی کاغذ صافی بعد از عمل حفاظت انجمادی.

Figure 1: (A) Treatment of Millet seeds with different protective solutions before cryopreservation, (B), (C) Millet seed samples cultured in Petri dishes containing the filter paper after cryopreservation.

نتایج

در بررسی اثر دمای فراسرد روی جوانه‌زنی بذور گیاه ارزن زمان تیمار برای صفت طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک‌درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین نوع محلول برای صفات طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در سطح احتمال یک‌درصد معنی‌دار و برای درصد جوانه‌زنی غیر معنی‌دار مشاهده گردید (جدول ۱). اثر متقابل زمان تیمار در نوع محلول فقط برای صفت طول ساقه‌چه در سطح احتمال یک‌درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). جدول ۲، مقایسه میانگین اثر زمان‌های مختلف تیمار بذور با محلول محافظت‌کننده روی درصدجوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه بذر ارزن را نشان می‌دهد. همانطور که مشخص است در زمان ۴۰ و ۸۰ دقیقه بیشترین رشد مربوط به صفت طول ساقه‌چه بوده است. همچنین، صفت طول ریشه‌چه متناسب با صفت طول ساقه‌چه، دارای بیشترین میزان در بازه‌های زمانی مذکور هستند که بر اساس روش مقایسه میانگین توکی بی در یک گروه آماری قرار دارند. جدول (۳) میانگین اثرات نوع محلول محافظت‌کننده روی صفات طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی بذور گیاه ارزن و همچنین شرایط تیمار شاهد را نشان می‌دهد. همان طور که مشاهده می‌شود بیشترین مقدار صفات طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه مربوط به تیمار شاهد است که مورد انتظار نیز است.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر زمان اعمال تیمار و نوع محلول محافظت‌کننده روی درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در بذر گیاه ارزن

Table 1- Variance Analysis of the effect of Treatment time and type of Protective Solution on Germination percentage, Root Length and Shoot length in Millet Seeds

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		درصد جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه	طول ساقه‌چه
زمان تیمار	۴	۱۶/۶۳**	۲/۰۴ **	۱/۱۵**
نوع محلول	۲	۴/۲۸ ns	۲۸/۹۷ **	۴/۳۳ **
زمان تیمار × نوع محلول	۸	۱/۷۳ ns	۰/۰۸ ns	۰/۲۴**
اشتباه	۴۳۵	۱/۴۰	۰/۱۷	۰/۰۴
ضریب تغییرات		۱۹/۷۹	۹/۸۶	۸/۸۲

*** و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪، ns: غیرمعنی‌دار**

*** and **: Significant at level of 5% and 1%, ns: none significant**

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر مدت زمان تیمار بر روی درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه بذر ارزن

Table 2- Mean Comparison of effect of Treatment duration on Germination percentage, Root length and shoot length of Millet seeds

زمان اعمال تیمار (دقیقه)	درصد جوانه‌زنی	طول ریشه‌چه (سانتی‌متر)	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر)
20	0.45 ± 0.00 c	3.98 ± 0.05 b	۲/۲۰ ± 0.02 c
40	0.51 ± 0.00 bc	4.31 ± 0.05 a	2.38 ± 0.03 a
60	0.81 ± 0.00 a	4.33 ± 0.05 a	2.30 ± 0.03 b
80	0.62 ± 0.00 b	4.32 ± 0.05 a	2.43 ± 0.03 a
100	0.58 ± 0.02 bc	4.13 ± 0.01 ab	2.17 ± 0.00 c

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات نوع محلول محافظت‌کننده روی صفت طول ریشه‌چه و ساقه‌چه گیاه ارزن

Table 3- Comparison of the Average effects of type of Protective Solution on the Root and Shoot length traits of Millet Plants

صفت	نوع محلول		
	PVS2	PVS3	Control
طول ریشه‌چه	4.09 ± 0.03 b	3.84 ± 0.03 c	4.69 ± 0.03 a
طول ساقه‌چه	2.16 ± 0.01 c	2.23 ± 0.02 b	2.48 ± 0.02 a

جداول ۴ و ۵ به ترتیب میانگین اثرات متقابل دوگانه زمان تیمار و نوع محلول حفاظت‌کننده روی صفت طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در بذر ارزن را نشان می‌دهد. بر اساس جدول ۴، بیشترین میزان طول ریشه‌چه در زمان‌های مختلف و با تیمارهای مختلف، مربوط به تیمار شاهد و زمان‌های ۴۰ و ۶۰ دقیقه بوده است. میزان طول ساقه‌چه برای بذور تیمار شده با محلول‌های PVS2، PVS3 و نمونه شاهد در زمان‌های مختلف در جدول ۵ نشان داده شده است. براساس این جدول بیشترین مقدار طول ساقه‌چه مربوط به نمونه شاهد و زمان‌های ۴۰ و ۸۰ دقیقه است. همچنین پس از این تیمارها، بیشترین مقدار مربوط به تیمار PVS3 و زمان ۸۰ دقیقه بوده است. به طور کلی جدول ۴ نشان می‌دهد که مقادیر طول ریشه‌چه برای بذور تیمارشده با محلول PVS3 بیشتر از بذور تیمارشده با محلول PVS2 بوده است. جدول ۶، میانگین اثرات متقابل دوگانه زمان تیمار و نوع محلول حفاظت‌کننده روی صفت جوانه‌زنی در بذر ارزن را نشان می‌دهد. بر اساس داده‌های این جدول، بذور تیمار شده با محلول PVS3 در زمان ۸۰ دقیقه دارای بیشترین مقدار درصد جوانه‌زنی بوده و پس از آن بیشترین مقادیر مربوط به بذور تیمار شده با نمونه شاهد و PVS2 است.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل دوگانه زمان تیمار و نوع محلول حفاظت‌کننده روی صفت طول ریشه‌چه در بذر ارزن

Table 4- Comparison of the Average double Interaction effects of Treatment time and type of Protective Solution on the Trait of Root length in Millet seeds

نوع محلول	زمان اعمال تیمار (دقیقه)				
	20	40	60	80	100
PVS2	3.52c	3.97a	3.96a	3.94ab	3.81b
PVS3	3.92c	4.15ab	4.16ab	4.22a	4.01b
Control	4.49c	4.81a	4.82a	4.77ab	4.58b

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل زمان تیمار و نوع محلول حفاظت‌کننده روی صفت طول ساقه‌چه در بذر ارزن

Table 5- Comparison of the Average interaction effects of Treatment time and the type of Protective Solution on the Shoot length Trait in Millet Seeds

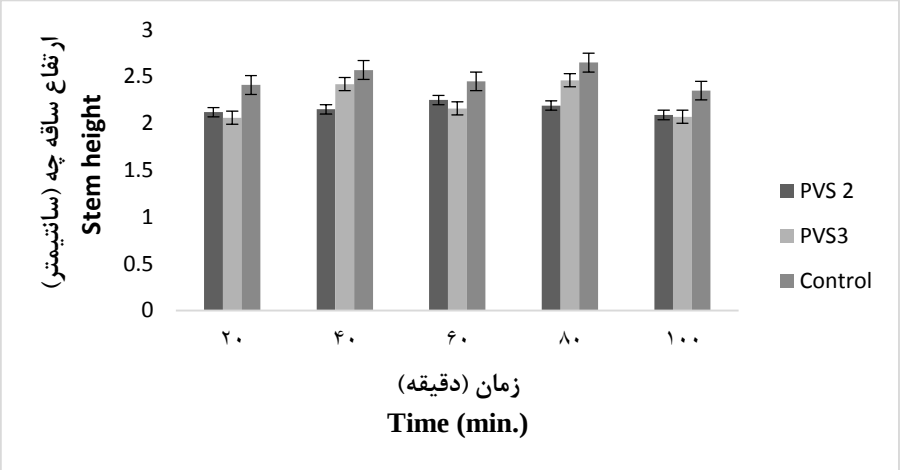
نوع محلول	زمان اعمال تیمار (دقیقه)				
	20	40	60	80	100
PVS2	2.12bc	2.15b	2.25a	2.19ab	2.09c
PVS3	2.06c	2.42ab	2.16b	2.46a	2.07c
Control	2.41b	2.57ab	2.45b	2.65a	2.35c

جدول۶- مقایسه میانگین اثرات متقابل دوگانه زمان تیمار و نوع محلول حفاظت‌کننده روی صفت درصد جوانه‌زنی بذر ارزن

Table 6- Comparison of the Average double Interaction effects of Treatment time and type of Protective Solution on the Germination Percentage trait of Millet Seeds

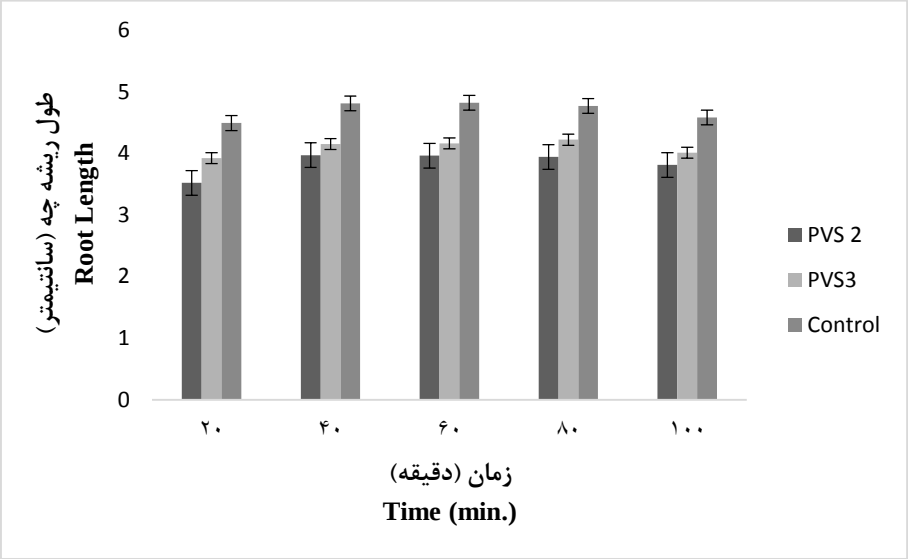
نوع محلول	زمان اعمال تیمار (دقیقه)				
	20	40	60	80	100
PVS2	0.43bc	0.40c	0.80a	0.53b	0.56b
PVS3	0.36d	0.46c	0.83a	0.70ab	0.60b
Control	0.56d	0.66b	0.80a	0.63bc	0.60c

نتایج نشان داد که بذور گیاه ارزن با استفاده از روش شیشه‌ای شدن و در مدت زمان‌های بررسی شده، قابلیت زنده‌مانی و جوانه‌زنی دارد. شکل ۲، ۳ و ۴ به ترتیب مقایسه‌ی اثر زمان برروی صفت طول ساقه‌چه‌ی بذور ارزن تیمارشده توسط دو نوع محلول محافظت‌کننده، مقایسه‌ی اثر زمان برروی صفت طول ریشه‌چه‌ی بذور ارزن تیمارشده توسط دو نوع محلول محافظت‌کننده و مقایسه‌ی اثر زمان برروی صفت درصد جوانه‌زنی بذور ارزن تیمارشده توسط دو نوع محلول محافظت‌کننده را نشان می‌دهد.



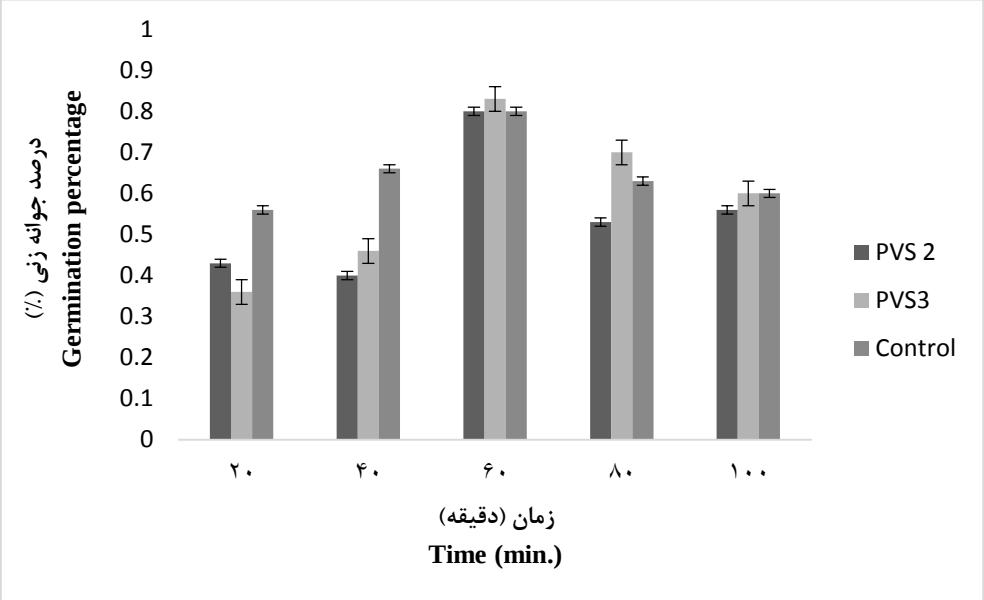
شکل ۲- مقایسه‌ی اثر زمان برروی صفت طول ساقه‌چه‌ی بذور ارزن تیمارشده توسط دو نوع محلول محافظت‌کننده

Figure 2- Comparison of the effect of time on the Shoot Length Trait of millet seeds Treated by two types of Protective Solutions



شکل ۳- مقایسه‌ی اثر زمان برروی صفت طول ریشه‌چه‌ی بذور ارزن تیمارشده توسط دو نوع محلول محافظت‌کننده

Figure 3- Comparison of the effect of time on the Root length of Millet seeds Treated by two types of Protective Solutions



شکل ۴- مقایسه‌ی اثر زمان بر روی صفت درصد جوانه‌زنی بذور ارزن تیمارشده توسط دو نوع محلول محافظت‌کننده

Figure 4- Comparison of the effect of time on the Germination Percentage of Millet Seeds treated by two types of Protective Solutions

بحث

استفاده از تکنیک حفاظت انجمادی به روش پوشش‌دار کردن و آبگیری، تکنیکی کاربردی جهت حفاظت ذخایر ژنتیکی گیاهی است (Mansouri *et al.*, 2013) که البته این پژوهش کارآیی آن را اثبات می‌کند. بر اساس این پژوهش، از نظر خصوصیت جوانه‌زنی نمونه‌ی شاهد در قیاس با بذور تیمار شده با محلول های حفاظت کننده مطلوب‌تر بودند و از جمله علل این نتیجه این است که تیمار بذور با مواد ضد انجماد آسیب بذور را به همراه دارد. بانک های ژنی بر مبنای حفاظت انجمادی و تکنیک های مبتنی بر زیست فناوری در دنیا رو به گسترش است و نگهداری و استفاده بهینه از ذخایر ژنتیکی در اکثر نقاط دنیا از اهمیت بسزایی برخوردار است (Mansouri *et al.*, 2013). بر اساس نتایج این آزمون، بذور تیمار شده با محلول‌های حفاظت شده نسبت به بذور شاهد دارای اندکی آسیب بودند. به طور معمول، به نظر می‌رسد مدت زمان انجماد تأثیری بر حفاظت انجمادی از راه شیشه‌ای کردن ندارد (Rong & Hua 2009). چنانچه نمونه بتواند در ازت مایع زنده بماند، اختلاف محسوسی در مدت زمان‌های متنوع نگهداری در ازت مایع وجود ندارد؛ چرا که با کاهش شدید فعالیت‌های متابولیکی، مسئله مدت زمان نگهداری تقریبا منتفی می‌گردد (Shatnawi, 2011). در این دمای پایین، کلیه تقسیمات سلولی و فرآیندهای متابولیکی و فیزیولوژیکی ریزنمونه‌های گیاهی متوقف می‌شود (Suzuki *et al.*, 2005). جهت حفاظت از ژرم پلاسم گیاه ارزن، حفاظت انجمادی تکنیکی مطلوب است.

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که روش حفاظت انجمادی روشی سودمند جهت نگهداری بذور این گیاه است. شیشه‌ایی شدن یک روش ساده و سریع جهت حفاظت انجمادی است که از تشکیل کریستال‌های یخ در هنگام انجماد جلوگیری می‌کند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کلیه صفات (طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و درصد جوانه‌زنی) از نظر زمان تیمار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند. همچنین، نوع محلول برای صفات طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه و اثر متقابل زمان تیمار در نوع محلول تنها برای صفت طول ساقه‌چه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تیمار بذور ارزن با محلول‌های محافظت کننده به مدت ۶۰ دقیقه، بیشترین میزان جوانه‌زنی را در مقایسه با سایر تیمارها نشان داد. نتایج نشان داد که بذور تیمار شده با محلول PVS3 دارای طول ساقه‌چه کمتر ولی طول ریشه‌چه بیشتری نسبت به محلول PVS2 بودند. به طور کلی می‌توان روش حفاظت انجمادی را یک روش مناسب به منظور حفاظت از ژرم‌پلاسم گیاه ارزن تلقی نمود. محلول PVS3 در زمان ۶۰ دقیقه دارای بیشترین میانگین درصد جوانه‌زنی بود که بهترین ترکیب تیماری برای نگهداری طولانی مدت ارزن به شمار می‌رود.

سپاسگزاری

این تحقیق با استفاده از امکانات دانشگاه پیام نور انجام شده است ضمن تشکر، از همه‌ی کسانی که در مسیر انجام این گزارش، اینجانبان را یاری کردند قدردانی می‌گردد.

منابع

Amadou, I., Gbadamosi, O. S., and Guo-Wei, L. (2011). Millet-based traditional processed foods and beverages-A review. Cereal Food World, 56(3), 115-121.

Benson E. E. (2008). Cryopreservation of phytodiversity: a critical appraisal of theory and practice. Critical Reviews in Plant Sciences, 27, 141-219.

Dayakar, R. B., Bhaskarachary, K., Arlene, C.G.D., Devi, S., Vilas, G., and Tonapi, A. (2017). Nutritional and Health benefits of Millets", ICAR Indian Institute of Millets Research (IIMR), Rajendranagar, Hyderabad.

Gale, S. A., John, K., Harding, K., and Benson, E. (2008). Developing cryopreservation for *Picea sitchensis* (*Sitka spruce*) somatic embryos: a comparison of vitrification protocols. Cryo Letters, 29, 135-144.

Ghaffarzadeh-Namazi, L., Babaeian, N., Ghamari-zare, A., and Nematzadeh, Gh. (2014). Cryopreservation of *Satureja spicigera* seeds. Journal of Biosafety. 7 (1): 45-52.

Ghaffarzadeh-Namazi, N. N., Babaeian, A., Ghamari-zare, A., and Nematzadeh, G. H. (2015). Cryopreservation the seeds of the medicinal plant *Satureja bachtiarica* Bunge. International Journal of Biosciences, 6(2), 24-29.

Habiyaremye, C. Matanguihan, J. B., D'Alpoim Guedes, J., Ganjyal, G. M., Whiteman, M. R., Kid wellK, K., and Murphy, K. M. (2017). Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) and Its Potential for Cultivation in the Pacific Northwest, U.S.: A Review. Frontiers in plant science, 7, 1961.

Hawksworth, D. L., and Bull, A. T. (2007). Plant Conservation and Biodiversity. Springer, Volume 6, 420 p.

Keivanloo, S., and Sudagar, M. (2012). Cryprotectant toxicity in fish embryos. Journal of Conservation and Utilization of Natural Resources, 1(2), 73-84.

Lambardi, M., Benelli, C., and Decarlo, A. (2005). Cryopreservation as a tool for the long-term conservation of woody plant germplasm: development of the technology at the CNR/INVALSA Institute of Florence. The Role of Biotechnology, 181-182.

Li, D. Z., and Pritchard, H.W. (2009). The science and economics of ex situ plant conservation. Trends in Plant Science, 14, 614-621.

Mansouri, M., Kakaei, M., Abdolahi, M. R., and Sharifi, Sh. (2013). Study of Cryopreservation in Rapeseed (*Brassica napus* L.) Seeds via Vitrification Method. Journal of Biotechnology in Agriculture. 12 (2), 33-39.

Pillai, B. R., Rao, K. J., and Mohanty, J. (2001). Toxicity of selected Cryoprotectants to the first zoeal stages of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) (de Man). Ashian fisheries science, 14, 1-8.

Popov, A. S., Popova, E. V., Nikishina, T. V., and Vysotskaya, O. N. (2006). Cryobank of plant genetic resources in Russian Academy of Sciences. International Journal of Refrigeration, 29, 403-410.

Rao, N. K. (2004). Plant Genetic Resources: Advancing conservation and use through biotechnology. African Journal of Biotechnology, 3, 136-145.

Rong, H. S., and Hua, Y. M. (2009). High-efficiency vitrification protocols for cryopreservation of in vitro grown shoot tips of rare and endangered plant *Emmenopterys henryi* Oliv. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 99, 217-226.

Shatnawi, M. A. (2011). Cryopreservation of *Capparis spinosa* shoot tips via vitrification, encapsulation dehydration and encapsulation vitrification. World Applied Sciences Journal, 15, 318-325.

Suzuki, M., Ishikawa, M., and Akihama, T. (2005). Cryopreservation of encapsulated gentian axillary needed to increase recovery of tips after cryopreservation buds following 2 step preculture with sucrose and desiccation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 83, 115-121.

Long-term Protection of Germplasm Millet (*Panucum miliaceum* L.) Native to the Northwest of Iran

M. Kakaei[1], Basaki .T [2]

Received: 2022.02.21

Accepted: 2022.08.15

Abstract

Introduction: *Preservation of plant genetic resources is of particular importance. By applying ultra-cold seed storage techniques, seeds can be stored for a long time at a much lower cost. In the present study, the cryopreservation of millet seeds by a verification method was investigated.* ***Materials and Methods:*** *The experiment in factorial format (with two factors, the first factor in two levels of dewatering solution (PVS2 and PVS3) and the second factor in dewatering times in five- time levels (20, 40, 60, 80, and 100 minutes) and with a completely randomized design and it was done with three repetitions.* ***Result and Discussion:*** *The results of the analysis of variance showed that all traits (root length, stem length, and germination percentage) were significant in terms of treatment time at the level of 1% (P≤%1) probability. Also, the type of solution was significant for root length and shoot length and the interaction effect of treatment time in solution type was significant only for shoot length at the level of 1% (P≤%1) probability. Treatment of millet seeds with protective solutions for 60 minutes indicated the highest germination rate compared to other treatments. The results showed that seeds treated with PVS3 solution had shorter stem length but longer root length than PVS2 solution.* ***Total Resulting:*** *In general, cryopreservation can be considered as an appropriate method to protect the germplasm of millet. PVS3 solution had the highest average germination percentage at 60 minutes, which is the best treatment composition for long-term storage of millet.*

Keyword: Cryopreservation, Germplasm, Millet, Preservative Solution, Verification.

---

1. Associate Professor Plant Breeding, Department of Agricultural Science, Payame Noor University, Tehran-Iran. (*Corresponding Author: M.Kakaei@pnu.ac.ir)

2Assistant Professor Plant Breeding, Department of Agricultural Science, Payame Noor University, Tehran-Iran.