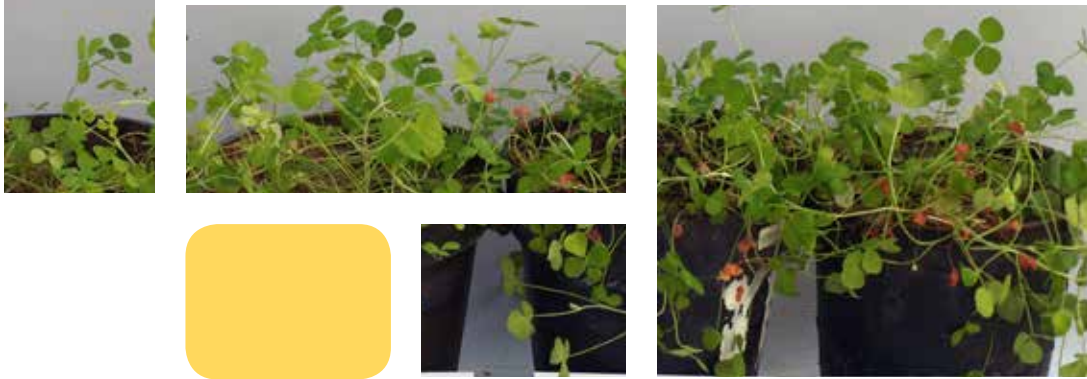




(DOI): 10.22092/IRN.2017.111423



# ذخیره‌سازی ژرم پلاسما گونه‌های گیاهی منابع طبیعی در شرایط فراسرد و ایجاد بانک فراسرد ضرورتی ملی و راهبردی

عباس قمری‌زارع<sup>۱\*</sup>، محبت‌علی نادری‌شهاب<sup>۲</sup> و مریم جبلی<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۷/۲۹

چکیده

نگهداری ژرم پلاسما گیاهی در شرایط فراسرد (cryopreservation) قوه‌نامیه آنها را تا سالیان طولانی (حتی قرن‌ها) نگهداری می‌کند. مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در دو دهه گذشته دستاوردهای بسیار موفقی در زمینه پروتکل‌های عملی حفاظت طیف گسترده‌ای از گونه‌های جنگلی، مرتعی، بیابانی و دارویی به‌دست آورده و نسبت به تأسیس بانک فراسرد (Cryo-Bank) گونه‌های منابع طبیعی کشور اقدام عملی کرده است. بانک فراسرد گونه‌های منابع طبیعی کشور یک طرح راهبردی و بلندمدت ملی است که نوید حفاظت بسیار طولانی مدت، کم‌هزینه و ایمن ذخایر توارثی گیاهی کشور را می‌دهد. با این اقدام مدیرانه و در اولویت قرار گرفتن گونه‌های در معرض انقراض، در معرض تهدید و گونه‌های نادر و انحصاری، می‌توان مطمئن و امیدوار بود که در آینده شاهد انقراض گونه‌های منابع طبیعی کشور نباشیم. همچنین در صورت نیاز می‌توان گونه منقرض شده را دوباره به طبیعت برگرداند.

واژه‌های کلیدی: ژرم پلاسما، منابع طبیعی، حفاظت در شرایط فراسرد، بانک فراسرد

## Cryopreservation of natural resources plant species and establishing Cryo-Bank is a national strategic necessity

A. Ghamari Zare<sup>1\*</sup>, M.A. Naderi Shahab<sup>2</sup> and M. Jebelli<sup>3</sup>

### Abstract

The cryopreservation of plant genetic resources could preserve their viability for many years, even centuries. Research Institute of Forests and Rangelands has had successful achievements on practical protocols for preservation of a wide range of forest, rangeland, desert and medicinal species during the past two decades and established the cryobank of natural resources species. The natural resources cryobank of Iran is a national long-term strategic plan, promising a very long-term, cost-effective and safe protection of plant genetic reserves of the country. This strategic action and prioritizing endangered, threatened, rare, and endemic species would hopefully prevent the species' extinction of the country's natural resources in future. Also, if necessary, the extinct species could be brought back into nature.

**Keywords:** Germ-plasm, natural resources, cryopreservation, cryobank

\*- نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران  
پست الکترونیک: Ghamari-zare@rifr-ac.ir

۲- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران  
۳- کارشناس ارشد پژوهشی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

<sup>1\*</sup>- Corresponding author, Associate Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. E-mail: Ghamari-zare@rifr-ac.ir

<sup>2</sup>- Assistant Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

<sup>3</sup>- Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

در ایران تقریباً ۸ هزار گونه از گیاهان اسپرماتوفیت وجود دارد که در ۱۵۰ خانواده جای دارند. از این تعداد ۲۲ درصد گونه‌ها معادل ۱۷۲۷ تاکسون بومی<sup>iii</sup> (Endemic) کشور بوده که متعلق به ۸۵ خانواده هستند. میانگین پراکنش گونه‌های بومی در کشور ۱۰/۴۶ گونه در هر میلیون هکتار است. از ۸ هزار گونه موجود در کشور، تقریباً ۱۹۲۷ گونه در معرض خطر یا انقراض قرار دارند (Jalili and Jamzad, 1999). دلیل آن هم فشارهای فزاینده بر منابع طبیعی مانند برداشت بی‌رویه چوب از جنگل، چرای کف عرصه‌های جنگلی، تخریب و تبدیل عرصه‌های جنگلی به اراضی کشاورزی و غیر کشاورزی، چرای بی‌رویه و خارج از ظرفیت عرصه‌های مرتعی، آتش‌سوزی‌ها، تخریب و تبدیل عرصه‌های منابع طبیعی و فعالیت‌های عمرانی، صنعتی و غیرصنعتی است. این تخریب و فشارها، باعث تغییرات اساسی در مؤلفه‌های اکوسیستمی مانند فرسایش شدید خاک، کاهش نفوذپذیری خاک، شیوع آفات و بیماری‌ها و آلودگی‌های زیست محیطی شده است. نتایج این تغییر و تخریب‌ها در نهایت باعث وارد آمدن تأثیرات منفی بر فون و فلور اکوسیستم‌ها و عرصه‌های طبیعی شده و بر اثر آن، کاهش تنوع ژنتیکی گیاهی، فرسایش ژنتیکی، بهم خوردن ترکیب پوشش گیاهی و انقراض گونه‌ها در عرصه‌های منابع طبیعی و اکوسیستم‌های جنگلی و مرتعی پدید آمده است. برای مقابله با این خطرات و به‌منظور حفظ ذخایر ژنتیکی و تنوع زیستی، از اواخر قرن گذشته، تلاش‌های جدی در جهان صورت گرفته و سازمان‌های بین‌المللی مانند Global Environmental Facility (GEF)، Convention on Biodiversity (CBD)، United Nations

## Environmental Program (UNEP)

و... با برگزاری نشست‌ها و گردهمایی‌های علمی، کارشناسی با حضور صاحب‌نظران کشورها و تبادل نظرهای کارشناسی و دانش‌افزایی، اقدام به ارائه راهبردها و راهکارهای کلان برای حفظ ذخایر توارثی، تنوع زیستی و جلوگیری از تخریب زیست‌بوم‌ها کرده‌اند. کشورهای مختلف با توجه به سطح آگاهی جامعه، موقعیت علمی-کارشناسی و وضعیت اقتصادی-اجتماعی، قوانین و راهکارهای مختلفی برای حفظ محیط‌زیست، ذخایر توارثی و تنوع زیستی تدوین کرده و اجرایی‌کنند.

### ● حفظ و حراست از گونه‌های گیاهی در عرصه‌های حفاظت‌شده، باغ‌های گیاه‌شناسی و بانک‌های ژن

از جمله روش‌های حفاظت از گونه‌های گیاهی در جهان، بانک‌های بذر (بانک ژن)، ایجاد پارک‌های ملی، باغ‌های گیاه‌شناسی و عرصه‌های حفاظت‌شده است. بیش از چند هزار باغ گیاه‌شناسی در جهان ایجاد شده که البته هزینه مراقبت و نگهداری گونه‌های گیاهی در این باغ‌ها قابل توجه است. در صورتی که نگهداری از پارک‌های ملی، عرصه‌های حفاظت‌شده جنگلی و مرتعی، باغ‌های گیاه‌شناسی، آروراتوم‌ها و غیره به دلایل اقتصادی یا هر دلیل دیگری به خطر افتد، گونه‌های حفاظت‌شده این عرصه‌ها به‌سرعت در معرض خطر از بین رفتن قرار خواهند گرفت.

روش دیگری که در قرن گذشته به‌منظور حفاظت از منابع ژنتیکی در کشورهای پیشرفته ابداع شده ایجاد بانک‌های ژن و کلکسیون‌های گیاهی بود. سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) در اواسط قرن گذشته اقدام به ایجاد بانک‌های ژن گیاهان زراعی در بعضی از کشورهای در حال توسعه کرد. هدف اصلی از ایجاد این نوع بانک‌های ژن و کلکسیون‌های جمع‌آوری و نگهداری مواد ژنتیکی به‌منظور دسترسی پژوهشگران و

فعالان بخش کشاورزی و مراکز تحقیقاتی به‌گونه‌ها و اکسشن‌های ذخیره شده در بانک‌های ژن بود. با توجه به بسیار ارزشمند بودن این اقدام اما حیطه کاری این بانک‌های ژن و کلکسیون‌ها اغلب جمع‌آوری و نگهداری بذر توده‌های بومی یا اجداد وحشی گونه‌های زراعی و باغی است. بنابراین جمع‌آوری و نگهداری بذر گونه‌های منابع طبیعی عملاً در حیطه فعالیت این مراکز نبوده و نگرش این نوع مراکز تقریباً اقتصاد محور با اولویت گونه‌های زراعی و باغی است. این در حالی بود که ذخایر ژنتیکی گیاهی عرصه‌های منابع طبیعی، تنوع درون‌گونه‌ای، ژنوتیپ‌ها و توده‌های بومی با سرعت غیر متعارفی در حال کاهش، تهدید یا انقراض بودند. روند شتابان فرسایش شدید ژنتیکی و انقراض گونه‌های بومی و غیر بومی باعث وارد آمدن آسیب‌های جبران‌ناپذیر بر گونه‌های منابع طبیعی و در بسیاری از موارد به‌گونه‌ها و توده‌های زراعی و باغی در جهان و از جمله کشور ما شده است. به‌منظور پر کردن خلاء نبود بانک ژن گونه‌های منابع طبیعی در کشور و در راستای حراست از گونه‌های منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در سال ۱۳۷۶ اقدام به ایجاد و راه‌اندازی بانک ژن گونه‌های گیاهی منابع طبیعی کشور کرد که یکی از ارزشمندترین اقدامات مؤسسه در حفظ و حراست از ذخایر ژنتیکی منابع طبیعی کشور است.

### ● مشکلات فرا راه نگهداری بذر گونه‌ها در شرایط متعارف یا بانک‌های ژن گیاهی

اکثر بذرهای قابل نگهداری در بانک‌های ژن متعارف، بذرهای ارتودوکس<sup>v</sup> (Orthodox) هستند که درصد آب آنها کم بوده و قابلیت نگهداری کوتاه‌مدت یا میان‌مدت در شرایط بانک ژن را دارند. با توجه به گونه گیاهی، قوه‌نامیه بذرهای نگهداری شده در بانک ژن پس از چندین سال یا در بهترین حالت به‌طور میانگین پس



از ۶۰-۵۰ سال کاهش یافته یا از بین می‌رود. بنابراین قبل از اینکه قوه‌نامیه بذر از بین برود باید نسبت به بازکشت بذرهای باقی‌مانده یا جمع‌آوری دوباره آنها از طبیعت اقدام کرد، چراکه در غیر این صورت بذرهای آن نمونه از بین خواهد رفت.

در رابطه با نگهداری بذر گونه‌ها در شرایط بانک ژن، اساسی‌ترین و مهمترین چالش و نگرانی در سطح جهانی، حفظ ذخایر توارثی گیاهان با بذرهای ریکالسیترن (Recalcitrant)<sup>i</sup> مانند بذر تعداد زیادی از گونه‌های جنگلی و غیرجنگلی، بذرهای ارتودوکس (Orthodox) با عمر کوتاه (بذرهای روغنی) و بذرهای بینابینی (Intermediate)<sup>viii</sup> مانند بذر گونه‌های خانواده بید (Salicaceae) است که قابل نگهداری در بانک‌های ژن متعارف نیستند. چالش مهم‌تر، حفظ و حراست از گونه‌هایی است که منحصراً از طریق کلون یا اندام‌های رویشی تکثیر می‌شوند و امکان نگهداری آنها در بانک‌های ژن متعارف وجود ندارد و در صورت تهدید یا خطر، در معرض انقراض قرار می‌گیرند. با توجه به موارد ذکر شده، برای نگهداری ذخایر ژنتیکی گیاهی در شرایط بانک‌های ژن متعارف محدودیت‌هایی وجود دارد که عبارتند از:

۱. بذر تعداد قابل توجهی از گونه‌های بسیار مهم جنگلی و غیرجنگلی از نوع ریکالسیترن (Recalcitrant) بوده و به‌طور کلی امکان نگهداری بذر این گروه از گیاهان در شرایط بانک ژن وجود ندارد؛ مانند کلیه گونه‌های جنس بلوط (*Quercus spp.*)، شاه‌بلوط (*-Casta nea sativa*) و تعداد زیادی از گونه‌های مهم گیاهی دیگر.

۲. نگهداری بذر گونه‌های آبزی که بذر آنها ریکالسیترن است، در بانک ژن امکان‌پذیر نبوده و در صورت تهدید، در معرض خطر انقراض قرار می‌گیرند.

۳. تعدادی از گونه‌های گیاهی که بذر بینابینی (Intermediate) دارند (مانند اغلب گونه‌های خانواده Salicaceae) بیش از چند ماه قابل نگهداری در شرایط متعارف نیستند. گونه‌های بید (*Salix spp.*) و صنوبر (*Populus spp.*) از جنس‌های مهم این خانواده بوده که قابل نگهداری در بانک‌های ژن نیستند (جبل‌سی و قمری زارع، ۱۳۹۳). برای بلوغ گونه به‌منظور تهیه مجدد بذر این گونه‌ها حداقل ۵ تا ۱۰ سال زمان نیاز است. علاوه بر این که این گونه‌ها در شرایط متعارف از طریق کلون تکثیر می‌شوند و امکان نگهداری کلون آنها در بانک ژن (بانک بذر) وجود ندارد.

۴. عمر بذر تعدادی از گونه‌های گیاهی با بذر ارتودوکس اغلب کمتر از یکسال است (مانند *Camphorosma monspeliaca L* از خانواده *Chenopodiaceae* (جبل‌سی و همکاران، ج ۱۳۹۳)؛ بنابراین امکان نگهداری این نوع بذرها در بانک ژن متعارف وجود ندارد.

۵. تعدادی از گونه‌های منابع طبیعی منحصراً به‌صورت کلون (اندام رویشی) تکثیر می‌شوند و نگهداری آنها در بانک‌های ژن امکان‌پذیر نیست. ۶. گونه‌های فاقد سیستم آوندی مانند جلبک‌های چند سلولی و همچنین جلبک‌های تک سلولی قابل نگهداری در شرایط متعارف نیستند.

۷. گونه‌های گیاهی پست خشکی‌زی مانند سرخس‌ها و خزها که با ساختار جنسی هاگ (spore) تکثیر می‌شوند نیز قابل نگهداری در شرایط متعارف نیستند و این گونه‌ها به‌شدت در معرض خطر انقراض قرار دارند.

۸. نگهداری اندام‌های رویشی و جنسی گونه‌های ساپروفیت مانند قارچ‌های چند سلولی و همچنین قارچ‌های تک سلولی که در کشاورزی و منابع طبیعی اهمیت زیادی دارند نیز قابل نگهداری در شرایط متعارف نیستند.

۹. گل‌سنگ‌ها (Lichens) که در نتیجه

همزیستی قارچ و جلبک به وجود می‌آیند، به لحاظ اکولوژیک اهمیت زیادی دارند. با تغییرات آب و هوایی و آلودگی‌های جوی، این گروه از موجودات در معرض خطر جدی بوده و امکان حفظ و حراست از آنها در محیط‌های بانک ژن وجود ندارد.

۱۰. تعدادی از گونه‌های جنگلی یا غیرجنگلی ممکن است پس از ۵۰ سال و حتی بیشتر به مرحله بذردهی برسند، بنابراین بازکشت بذر و تهیه بذر جدید برای نگهداری مجدد در بانک ژن، بسیار طولانی مدت بوده و هزینه‌بر است.

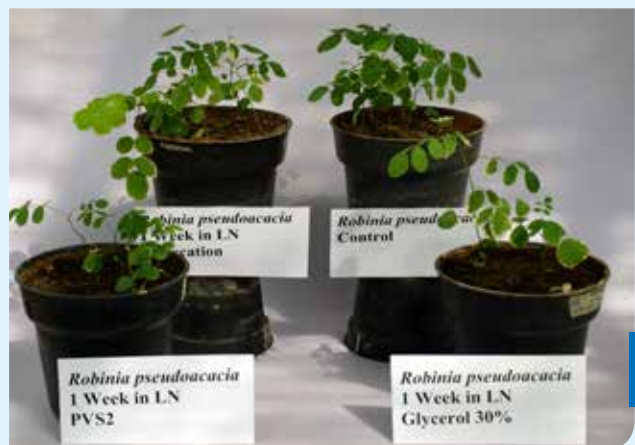
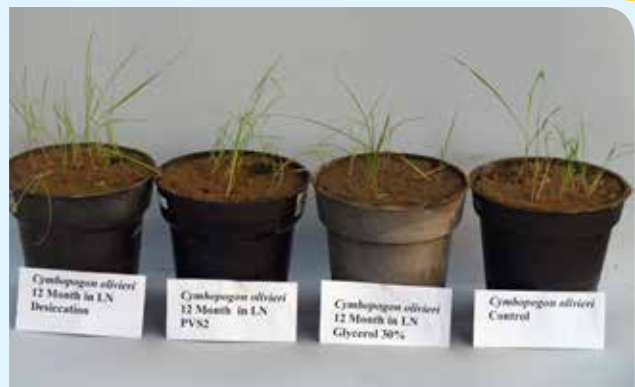
### چالش

مهم‌تر، حفظ و حراست از گونه‌هایی است که تنها از طریق کلون یا اندام‌های رویشی تکثیر می‌شوند و امکان نگهداری آنها در بانک‌های ژن متعارف وجود ندارد و در صورت تهدید یا خطر، در معرض انقراض قرار می‌گیرند.

### ● نگهداری ذخایر ژنتیکی گیاهی در شرایط فراسرد

Cryopreservation به نگهداری و ذخیره کردن مواد زیستی در دمای فراسرد معمولاً درون نیتروژن مایع (°C) (-۱۹۶) گفته می‌شود. در این دما تمامی عملیات تقسیم سلولی و سوخت و ساز سلولی متوقف می‌شوند و بنابراین مواد زیستی بدون هیچ تغییری از نظر تئوری برای مدت نامحدود قابلیت نگهداری دارند (FAO, 214).

در دمای فراسرد امکان نگهداری طولانی مدت بذرها و اندام‌های گیاهی امکان‌پذیر است. به‌منظور بررسی طول عمر بذر در دماهای مختلف، Walters و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند تفاوت مدت زمان نگهداری بذر گونه‌های گیاهی در شرایط فراسرد و



شکل ۱- عکس تعدادی از گونه‌های جنگلی، مرتعی و بیابانی که از بذرهای ذخیره شده در فراسرد رشد کرده‌اند.



شرایط متعارف غیر قابل تصور است. در همین رابطه نامبردگان طول عمر بذر اکسشن‌های مختلف کاهو با رطوبت ۶/۵ درصد را در دماهای  $5^{\circ}\text{C}$ ،  $18^{\circ}\text{C}$ ،  $135^{\circ}\text{C}$  (بخار نیتروژن مایع) و  $196^{\circ}\text{C}$  (درون نیتروژن مایع) مورد آزمایش قرار دادند. طول عمر بذرهای فراسرد با استفاده از معادله ترمودینامیکی ارائه شده توسط Avrami (۱۹۴۱) محاسبه شد. در این بررسی میانگین نیمه‌عمر (Half-life) اکسشن‌های کاهو در  $5^{\circ}\text{C}$  به‌طور میانگین ۱۳ سال، در  $18^{\circ}\text{C}$ ، ۱۵۰ سال، در  $135^{\circ}\text{C}$  (بخار نیتروژن مایع) ۵۲۴ سال و در  $196^{\circ}\text{C}$  (درون نیتروژن مایع) ۳۳۷۷ سال محاسبه شد. نتایج این بررسی نشان داد ذخیره‌سازی بذر در فراسرد در مقیاس غیر قابل باوری (چندین هزار سال) زمان زنده‌مانی بذر را افزایش می‌دهد. دلیل افزایش طول عمر بذر یا اندام‌های گیاهی در دمای فراسرد کاهش شدید فعالیت‌های متابولیکی و حیاتی سلول تا حد تقریباً صفر است که در نتیجه آن، مدت زمان زنده‌مانی نمونه‌ها در فراسرد تا هزاران سال افزایش می‌یابد.

پژوهش‌های کرایوبیولوژی و ذخیره‌سازی نمونه‌های گیاهی مانند بذر، اندام و سلول‌های گیاهی در فراسرد تحولی ژرف در حراست بلندمدت از ذخایر ژنتیکی گیاهان پدید آورده است. در نگهداری ژرم‌پلاسم گیاهان در برودت فراسرد، قسمت‌های مختلف گیاه (بذر، اندام، کالوس، سلول‌های تمایز نیافته، مریستم، دانه، جنین، محور جنینی، گرده، هاگ و ...) قابل نگهداری است. در این روش، امکان ذخیره‌سازی ژرم‌پلاسم گیاهی اقلیم‌های مختلف و تکرار نمونه‌های جمع‌آوری شده از طریق ایجاد بانک‌های فراسرد تکراری با حداقل هزینه و امکانات در هر شرایط محیطی و مکانی وجود دارد.

## ● تکنولوژی نگهداری در شرایط فراسرد

فراسرد، فناوری جدیدی است که به‌دلایل اهمیت و کارایی منحصر به فرد آن در حفظ و نگهداری ذخایر توارثی گیاهی، به‌سرعت در حال پیشرفت است. اکنون تعداد زیادی از بذرهای اندام‌های رویشی و بافت گونه‌های گیاهی جمع‌آوری و در بانک‌های

### پروژه

#### ساختمانی بانک فراسرد

گیاهان منابع طبیعی ایران کاملاً تخصصی، منحصر به فرد و بی‌بدیل بود که طراحی کلان آن توسط اعضای هیئت علمی و کارشناسان ایرانی در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور بدون هیچ گونه کمک خارجی انجام شد.

فراسرد (Cryo-Banks) کشورهای مختلف ذخیره شده و این تعداد به‌سرعت در حال افزایش است. همچنین رقابت بسیار شدید و تنگاتنگی در کشورهای پیشرفته دنیا برای استقرار بانک فراسرد ژرم‌پلاسم گیاهی (Plant Germplasm Cryo-Bank).

با سرمایه‌گذاری‌های بسیار گسترده در جریان است. استقرار این تکنولوژی حتی در کشورهای پیشرفته در آغازین راه است.

با توجه به شروع این پژوهش‌ها توسط مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در ۱۵ سال گذشته و بومی‌سازی آن، در صورتی که حمایت‌ها و سرمایه‌گذاری‌های لازم به موقع صورت گیرد، ایران جزء اولین کشورهای دارای این تکنولوژی در غرب آسیا خواهد بود.

## ● سابقه و نمونه‌هایی از بانک‌های فراسرد

بیشترین بانک‌های فراسرد در زمینه اسپرم، سلول‌ها و بافت‌های حیوانی و

انسانی بوده که مهمترین و بزرگ‌ترین آنها در کشور آمریکا قرار دارند. در بخش گیاهی، طی سه دهه اخیر بانک‌های فراسرد ذخیره ژرم‌پلاسم گیاهی شامل بذر، جنین، اندام‌های رویشی مانند جوانه، مریستم انتهایی، غده سیب زمینی، حبه سیر، سلول‌های سوماتیکی و سایر اندام‌ها رشد چشمگیری داشته و تعداد نمونه‌های ذخیره شده در بانک‌های فراسرد به‌سرعت در حال افزایش است. از بانک‌های فراسرد مهم گیاهی که در سطح ملی یا بین‌المللی فعالیت دارند می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: آمریکا (NCGRP, NR6, NCGR) هندوستان (NBPGR)، کره جنوبی (AFO-), فرانسه (NAC, NICS, RDA) ژاپن (CEL, IRD, KAES, HRO), آلمان (CAES HRO, SARC, NIAS), بلژیک (INIBAP), کلمبیا (CIAT), پرو (CIP), روسیه (Plant Genetic Ro- Cryo-Bank of sources and Rare Tropical Orchid Cryo-Bank) مؤسسه Timiryazev و لهستان (International Cryo-Bank of the genus *Allium*).

مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، مرکز رویان جهاد دانشگاهی، بانک سلولی انستیتو پاستور ایران، بانک سلولی سازمان تحقیقات علمی و صنعتی، بعضی از دانشگاه‌ها و مؤسسات تحقیقاتی وابسته، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، شرکت جاهد (بهبود شیر سابق) و ... نمونه‌هایی از مراکز ایران هستند که از تکنولوژی فراسرد برای نگهداری سلول یا اندام‌هایی از موجودات زنده استفاده می‌کنند.

● سابقه تحقیقات کرایوبیولوژی و آزمایشات فراسرد در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تحقیقات کرایوبیولوژی و ذخیره‌سازی گونه‌های منابع طبیعی در سال ۱۳۸۴ عملاً در آزمایشگاه‌های گروه مستقل

● سابقه تحقیقات کرایوبیولوژی و آزمایشات فراسرد در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تحقیقات کرایوبیولوژی و ذخیره‌سازی گونه‌های منابع طبیعی در سال ۱۳۸۴ عملاً در آزمایشگاه‌های گروه مستقل

تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در قالب طرحی با عنوان «بررسی امکان نگهداری جوانه‌های انتهایی و جانبی، بذر و سلول‌های گیاهی حاصل از کشت بافت تعدادی از گونه‌های جنگلی، مرتعی و بیابانی در دمای فراسرد» با ۶ پروژه توسط دکتر نادری‌شهاب و همکاران آغاز شد. زیر طرح‌های این پروژه شامل نگهداری بذر، سلول و اندام‌های رویشی طیف گسترده‌ای از گونه‌های جنگلی، مرتعی و بیابانی در شرایط فراسرد بود. در اجرای این طرح‌ها جمع زیادی از پژوهشگران و صاحب‌نظران سایر بخش‌های تحقیقاتی مؤسسه همکاری مجدانه و ارزشمندی داشتند که نتیجه این کار گروهی، دستیابی به نتایج ارزشمندی در نگهداری طیف گسترده‌ای از گونه‌های جنگلی، مرتعی و بیابانی در شرایط فراسرد شد (شکل ۱). بذر و در مواردی اندام‌های رویشی گونه‌های گبر (*Acacia tortilis* (Forssk) Hayne) کبک یا چش (*Acacia nilotica* (L.) Delile) افاقا (*Robinia pseudoacacia* L.) کیکم (*Acer monspessulanu*)، نوش یا سرو خمره‌ای (*Biota orientalis*)، شاه بلوط (*Castanea sativa* Mill) اکالیپتوس (*Eucalyptus microtheca*)، زیتون (*Olea europea* L.)، بنه (*Pistacia atlantica* Desf.)، خینجوک (*Pistacia khin-*)، پسته وحشی گونه (*Pistacia vera*)، پده (*Populus euphratica* Oliv.)، تلخ‌بیان باغی (سنجه تینه یا عقربک) (*Sophora mollis* (Royle) Graham ex Baker) سرخدار (*Taxus baccata* L.)، اوجا (*Ulmus carpinifolia* (Gleditsch) Melj) (*Ulmus glabra* Hudson)، کُنار دیودال (*Ziziphus spina-christi* (L.) Desf.)، کافوری (*Ammodendron persicum* (Bunge & Boiss) Camphorosma monspeliaca L.)، گل‌گندم پاپنه‌ای (*Centaurea lachnopus* Rech. f) ناگرد یا کاه مکی (*Cymbopogon olivieri* (Boiss.))

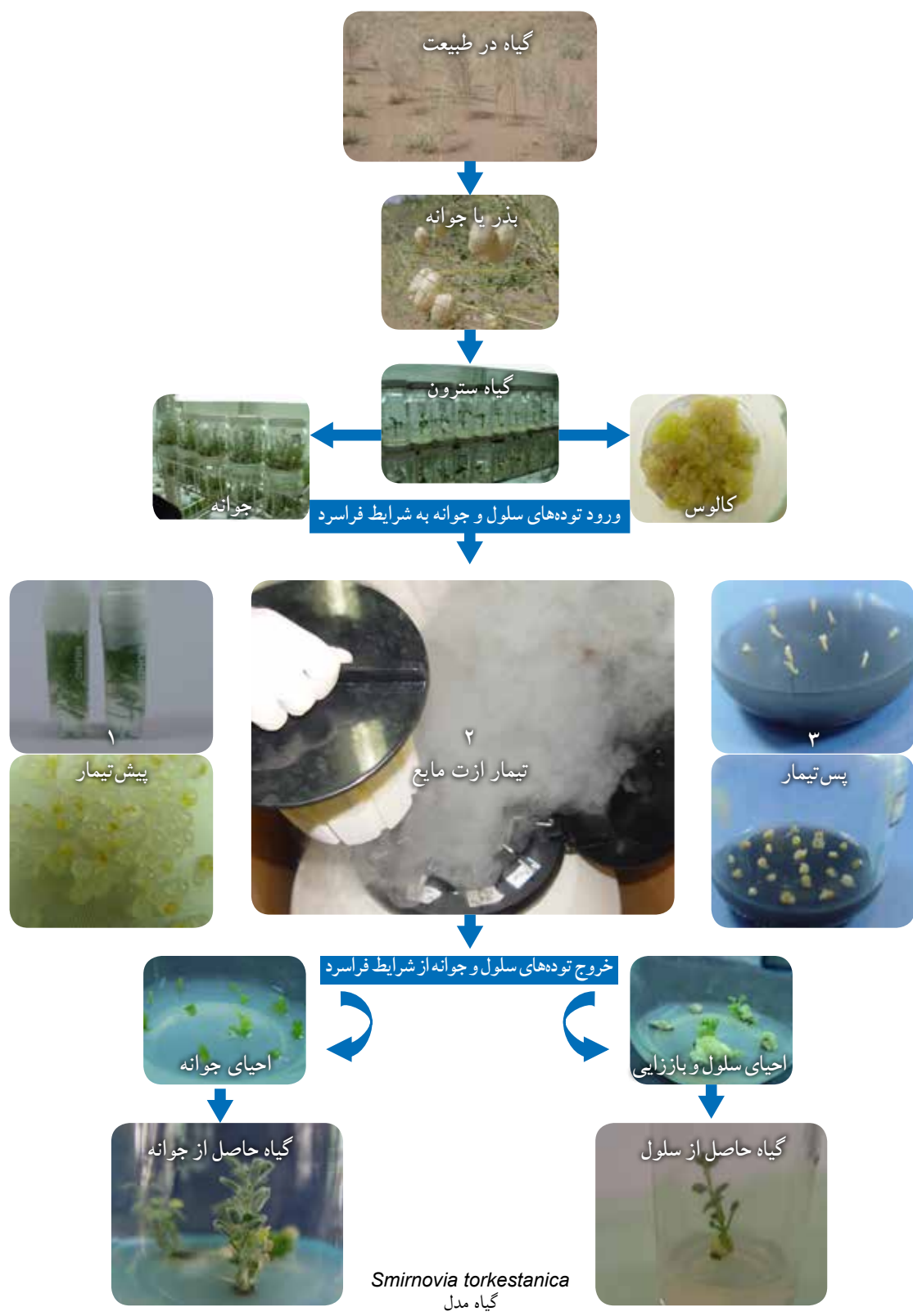
(*Boraginaceae*)، باریجه (بالنبو- قاسنی) (*Ferula gummosa* Boiss)، کلوس (*Kelussia odoratissima* Mozaff)، یونجه یکساله (*Medicago polymorpha* L.)، یونجه یکساله (*Medicago rigidula* (L.) All)، یونجه زراعی (*Medicago sativa* L.)، چاودار کوهی (*Secale montanum* Guss) دم گاوی (شکل ۲). (*Smirnovia iranica* Sabeti (syn. *S. turkestanica* Bunge)، شبدر کوهسری یا شبدر کوهستان (*Trifolium radicosum* (Boiss.))، گونه *Taverniera sp.*، مریم گلی کابلی یا مشهدی (*Salvia lerifolia* (Benth) مرزه (*Satureja sp.*) و سوسن چلچراغ ایرانی (*Lilium Ledebouri* (Boiss) برای حفاظت در شرایط فراسرد بررسی شدند که اغلب آنها با موفقیت شرایط فراسرد را تحمل کرده و نتایج منحصربه‌فرد و بی‌نظیری از آنها به دست آمد.

چون تعداد زیادی از این گونه‌ها در معرض تهدید یا در معرض خطر انقراض هستند، نتایج به دست آمده نقش بسیار مهمی در افق پیش رو برای حراست از ژرم‌پلاسم ذخایر ژنتیکی گیاهی کشور داشت. نتایج علمی به دست آمده از تحقیقات مذکور تاکنون در قالب بیش از ۵۰ مقاله علمی در مجلات علمی داخلی و خارجی، کنفرانس‌های علمی داخلی و خارجی، گزارش‌های نهایی و پایان‌نامه‌های دانشجویان تحصیلات تکمیلی (Naderi Shahab et al., 2009؛ 2013؛ 2009؛ 2015؛ 2007؛ 2014؛ 2014؛ 2010؛ 2010؛ الف) ۱۳۸۹، نادری‌شهاب و همکاران، (ب) ۱۳۸۹، نادری‌شهاب و همکاران، (ج) ۱۳۸۹، نادری‌شهاب و همکاران، (د) ۱۳۸۹، نادری‌شهاب و همکاران، (الف) ۱۳۹۵، نادری‌شهاب و همکاران، (ب) ۱۳۹۵، نادری‌شهاب و همکاران،

(ج) ۱۳۹۵، نادری‌شهاب و همکاران، (الف) ۱۳۹۴، نادری‌شهاب و همکاران، (ب) ۱۳۹۴، قمری زارع و همکاران، ۱۳۸۶، جبلی و همکاران، (الف) ۱۳۹۴، جبلی و همکاران، (ب) ۱۳۹۴، جبلی و همکاران، (ج) ۱۳۹۴، جبلی و همکاران، (د) ۱۳۹۴، جبلی و همکاران، (ه) ۱۳۹۴، جبلی و همکاران، (الف) ۱۳۹۳، جبلی و همکاران، (ب) ۱۳۹۳، جبلی و همکاران، (ج) ۱۳۹۳، حاتمی و همکاران، ۱۳۸۸، حاتمی و همکاران، ۱۳۸۹، حاتمی و همکاران، ۱۳۸۸، حاتمی و همکاران، ۱۳۸۷، کلاهدوزان ۱۳۸۷، رجایی، ۱۳۸۶، شهبازی، ۱۳۹۳، سری، ۱۳۸۹، غفارزاده نمازی، ۱۳۹۳، غفارزاده نمازی و همکاران، ۱۳۹۴، شهرزاد و همکاران، ۱۳۸۶، قربانلی و همکاران، ۱۳۸۷، کلاهدوزان و همکاران، ۱۳۸۸، مهاجری، ۱۳۹۰، کوهی، ۱۳۹۱، احمدی اتویی، ۱۳۸۶، بنیادی، ۱۳۸۷، ناصر، ۱۳۸۸) توسط پژوهشگران مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور و دانشجویان تحصیلات تکمیلی آنها منتشر شده است. نشر این اطلاعات عامل محرکی برای ترغیب مراکز تحقیقاتی و علمی - آموزشی کشور برای گسترش سریع این پدیده جدید و کارآمد بود. خوشبختانه چاپ و انتشار این نتایج کماکان ادامه دارد.

### ● اخذ مجوز تأسیس اولین بانک فراسرد گیاهان منابع طبیعی ایران در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

در پی موفقیت‌های چشمگیر در موضوع حفظ ذخایر ژنتیکی طیف گسترده‌ای از گونه‌های گیاهان مرتعی و جنگلی با استفاده از علم و فناوری‌های کرایوبیولوژی، در سال ۱۳۸۹ به‌عنوان یک ضرورت راهبردی و بلندمدت طرح دیگری تحت عنوان «پروژه ملی



شکل ۲- پروتکل نگهداری جوانه و توده‌های سلول گیاه کویری از تپه‌های شن‌های روان به نام گونه دم‌گاوی (*Smirnovia torkestanica*) در شرایط فراسرد (Cryopreservation) به‌عنوان یک مدل از روشی کارآمد برای حفظ بلندمدت ذخایر ژنتیک گیاهی

جمع‌آوری و نگهداری بلندمدت بذرها و اندام‌های رویشی گونه‌های گیاهی منابع طبیعی کشور به روش فراسرد و ایجاد بانک فراسرد گونه‌های منابع طبیعی ایران» (Iranian National Cryo-Bank of Natural Plant Species) در ۸ فصل به تصویب مراجع ذیصلاح و در نهایت سازمان مدیریت و برنامه‌ریزی وقت رسید و متعاقب آن، ابلاغ به اجرا شد (نادری‌شهاب و همکاران، ۱۳۸۹). پروژه ساختمانی بانک فراسرد گیاهان منابع طبیعی ایران کاملاً تخصصی، منحصربه‌فرد و بی‌بدیل بود که طراحی کلان آن توسط اعضای هیئت علمی و کارشناسان ایرانی در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور بدون هیچ گونه کمک خارجی انجام شد. کلیه طراحی‌ها، محاسبات، فضاها و فیزیکی از قبیل بخش‌های فنی و تخصصی، جانمایی‌ها، تجهیزات مورد نیاز و غیره بر مبنای یک طرح راهبردی بلندمدت و با در نظر گرفتن اصول علمی، فنی و تخصصی روز، با نگرش بلندمدت به آینده طراحی و تهیه شده است.

#### ● نتیجه‌گیری

دانش کرایوبیولوژی و ذخیره‌سازی طولانی مدت بذر، اندام و سلول گیاهی در بانک فراسرد (Cryo-Bank) تحولی بزرگ در حفظ و حراست از گونه‌های گیاهی است. گیاهان به‌عنوان موجودات اتوتروف (Autotroph) اولین تولیدکننده در زنجیره حیات بسیاری از موجودات زنده هستند و زندگی اغلب هتروتروف‌ها (Heterotrophs) به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم وابسته به گیاهان است. هنگامی که گونه‌ای از جامعه گیاهی منقرض می‌شود، هیچ عاملی نمی‌تواند آن را مجدداً به کره خاکی برگرداند. مهم‌تر اینکه، با انقراض یک گونه گیاهی ممکن است طیف محدود یا گسترده‌ای از گیاهان، جانوران و میکروارگانیسم‌ها از بین بروند. توجیه فنی و زیست محیطی برای حفظ

گونه‌ها، خارج از حیطه و معیارهای اقتصادی بوده و توجیه حراست از گونه گیاهی، هم‌ردیف با توجیه زندگی و حیات در کره خاکی است.

با استفاده از دانش فراسرد، می‌توان بذر یا اندام‌های رویشی گونه‌های در معرض انقراض یا تهدید را نگهداری کرد و در صورت حذف این گونه‌ها از طبیعت در آینده نزدیک یا بسیار دور (چند هزار سال)، با استفاده از نمونه‌های موجود در بانک‌های فراسرد، نسبت به احیای مجدد آنها اقدام کرد. در این صورت می‌توان امیدوار بود نسل‌های آینده به راحتی ذخایر گیاهی از بین رفته را مجدداً احیا کنند.

#### در

#### شرایط فراسرد، هیچ

میکروارگانیسمی توان رشد،

تکثیر و آلوده‌سازی نمونه‌ها را ندارد و نمونه‌هایی که در بانک

فراسرد ذخیره شوند از صدمه

آفات، بیماری‌ها و سایر عوامل

خسارت‌زا مصون خواهند بود.

در شرایط فراسرد، هیچ میکروارگانیسمی توان رشد، تکثیر و آلوده‌سازی نمونه‌ها را ندارد و نمونه‌هایی که در بانک فراسرد ذخیره شوند از صدمه آفات، بیماری‌ها و سایر عوامل خسارت‌زا مصون خواهند بود. در همین رابطه الگوی جامع، منحصربه‌فرد و پویای ذخیره گونه‌های گیاهی در شرایط فراسرد، در مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور از حدود ۱۳ سال پیش پایه‌ریزی شده که شامل تحقیقات پایه، تحقیقات کاربردی با قابلیت استفاده بدون وقفه در اجرا و طراحی بانک فراسرد برای ذخیره‌سازی گونه‌های گیاهی برای آینده‌ای با گستره زمانی چند هزار ساله است. براساس این برنامه‌ریزی، تحقیقات فراسرد که توسط اساتید و پژوهشگران به نتیجه می‌رسد، به سرعت قابل تبدیل به پروتکل‌هایی با قابلیت اجرایی می‌شوند.

در صورت تکمیل و راه‌اندازی بانک فراسرد گونه‌های منابع طبیعی ایران در مؤسسه مذکور، پروتکل‌های تهیه شده امکان ذخیره‌سازی طیف گسترده‌ای از جنس‌ها و گونه‌های گیاهان منابع طبیعی را فراهم می‌سازد.

طرح راه‌اندازی و تأسیس بانک فراسرد گونه‌های منابع طبیعی کشور (Cryo-Bank of Iranian Plant Species of Natural Resources) با اعتبارات دولتی در گروه مستقل تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور با انجام عملیات عمرانی آغاز شده است. با امید به تأمین اعتبار لازم برای تکمیل و راه‌اندازی سریع آن، ضمن حفاظت از ذخایر توارثی گیاهی کشور، ایران را در رده کشورهای پیشگام در ایجاد بانک فراسرد تخصصی گونه‌های منابع طبیعی در دنیا قرار خواهد داد. با نگاهی به گذشته و در نظر گرفتن تعداد قابل توجه گونه‌های بومی و غیر بومی منقرض شده و در نظر گرفتن وجود اساتید و پژوهشگران توانمند، مجرب و با دانش فنی بالا، همچنین وجود بخش‌های تحقیقاتی تخصصی در اغلب موضوعات منابع طبیعی مانند جنگل، مرتع، بیابان، گیاه‌شناسی، زیست‌فناوری، بانک ژن، مجموعه آزمایشگاه‌های تخصصی و مراکز تحقیقاتی استانی مرتبط با مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور در صورت حمایت‌های اعتباری و غیره قادر است بزرگ‌ترین قدم‌های عملی را برای حراست بلندمدت از گونه‌های گیاهی کشور بردارد. در صورت راه‌اندازی هرچه سریع‌تر این بانک فراسرد می‌توان اطمینان حاصل کرد که دیگر شاهد انقراض و از بین رفتن ذخایر توارثی گیاهی در عرصه‌های منابع طبیعی ایران نباشیم.

نتیجه‌گیری منطقی این مباحث ضرورت تسریع تأسیس کرایوبانک منابع طبیعی ایران و انجام پژوهش‌های کرایوبیولوژی به‌عنوان یک اولویت راهبردی بلندمدت و مطمئن برای حراست از ذخایر ژنتیکی گیاهی کشور است.





## • پی‌نوشت

- i - Cryopreservation به نگهداری و ذخیره مواد زیستی در دمای فراسرد معمولاً درون نیتروژن مایع ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) گفته می‌شود (FAO, 214).
- ii - بانک نگهداری ژرم پلاسم گیاهی در شرایط فراسرد درون نیتروژن مایع ( $-196^{\circ}\text{C}$ )
- iii - گونه‌های بومی (Endemic) محدود به یک منطقه یا بخشی از یک منطقه برای مثال در اینجا گونه‌هایی که فقط در ایران حضور دارد و در هیچ نقطه‌ای دیگر از جهان وجود ندارد.
- iv - اکسشن
- v - رطوبت بذرهای ارتودوکس (Orthodox) در زمان بلوغ ۵ تا ۱۰ درصد کاهش می‌یابد. بنابراین این بذرها به سرما مقاوم بوده و در رطوبت ۳ تا ۷ درصد در دمای  $18^{\circ}\text{C}$  - و حتی پائین‌تر برای دوره‌ها طولانی قابلیت نگهداری دارند (FAO, 214).
- vi - رطوبت بذرهای ریکالسیتزنت (Recalcitrant) بر خلاف بذرهای ارتودوکس، در زمان بلوغ بالا (معمولاً ۴۰ تا ۵۰ درصد) بوده و قابلیت نگهداری در بانک‌های ژن عادی را نداشته و نسبت به کاهش رطوبت و سرما حساس هستند (FAO, 214).
- vii - بذور بینهایی (Intermediate) به رفتار انبارداری بذرهایی بین بذرهای ارتودوکس و بذرهای ریکالسیتزنت گفته می‌شود. این بذرها تا حدودی به کاهش رطوبت و سرما مقاوم هستند. قابلیت نگهداری این بذرها در بسیاری از گونه‌ها کاملاً کوتاه است (FAO, 214).
- viii - نیمه‌عمر (Half-life) طول مدت زمانی عمر بذر (سال) که قوه‌نامه آن به ۵۰ درصد قوه‌نامه اولیه خود برسد.

## • منابع

- احمدی اتویی، ر.، ۱۳۸۶. بررسی امکان نگهداری جوانه انتهایی، بذرها و سلول‌های گیاه *Secale montanum* در شرایط فراسرد (Cryopreservation). پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه پیام نور، ۱۸۹ صفحه.
- بنیادی، ر.، ۱۳۸۷. بررسی امکان نگهداری جوانه‌های جانبی و بذرهای گیاه *Medicago polymorpha* در دمای فراسرد. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه پیام نور، ۱۵۹ صفحه.
- جبلّی، م. و قمری زارع، ع.، ۱۳۹۳. بررسی امکان نگهداری بذر یونجه زراعی *Medicago sativa* L. در شرایط فراسرد. اولین کنگره بین‌المللی و سیزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نبات و سومین همایش علوم و تکنولوژی بذر ایران. مؤسسه بیوتکنولوژی، کرج، ایران، ۵ صفحه.
- جبلّی، م.، طبری، م.، حاتمی، ف. و مهرپور، ش.، (د) ۱۳۹۴. بررسی امکان نگهداری بذر پسته خوراکی *Pistacia vera* در شرایط فراسرد (Cryopreservation). نشریه حفاظت و بهره‌برداری از منابع طبیعی، ۱۱۶-۱۰۱: (۱)۴.
- جبلّی، م.، نادری شهاب، م. ع. و جعفری، ا. ا.، (ب) ۱۳۹۴. بررسی نگهداری بذر یونجه یکساله *Medicago rigidula* (L.) All. در شرایط فراسرد. فصلنامه آبخیزداری و منابع طبیعی پایدار، ۱۱۱: (۱)۱-۵۳-۴۳.
- جبلّی، م.، نادری شهاب، م. ع. و جعفری، ا. ا.، (الف) ۱۳۹۴. بررسی امکان نگهداری بذرهای گبر *Hayne Acacia tortilis* (Forssk.) و چشم *Delile (Acacia nilotica)* (L.) در شرایط فراسرد. دوفصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان جنگلی و مرتعی، ۲۳: (۱)۱۱-۱۰۳.
- جبلّی، م.، نادری شهاب، م. ع.، جعفری، ا. ع. و حاتمی، ف.، (الف) ۱۳۹۳. نگهداری

- بذر اقاچیا *L. Robinia pseudoacacia* در شرایط فراسرد. مجله جنگل ایران، ۲: ۲۶۶-۲۵۵.
- جبلّی، م.، نادری شهاب، م. ع.، فیضی، ح. ر. و جعفری، ا. ع.، (ج) ۱۳۹۴. نگهداری بذر پده *Populus euphratica* Oliv. در شرایط فراسرد و ارزیابی بذرهای فراسردی در آزمایشگاه و گلخانه. فصلنامه علوم باغبانی دانشگاه تهران، ۴۶: (۲) ۳۲۱-۳۱۳.
- جبلّی، م.، نادری شهاب، م. ع.، جعفری، ا. ع. و شاهمرادی، ا. ع.، (د) ۱۳۹۳. نگهداری بذر کافوری (*Camphorosma monspeliaca* L.) در شرایط فراسرد. دومین همایش ملی پژوهش‌های کاربردی در علوم کشاورزی، تهران، ایران، ۱۲ صفحه.
- جبلّی، م.، نادری شهاب، م. ع.، جعفری، ا. ع. و شاهمرادی، ا. ع.، (ج) ۱۳۹۳. امکان نگهداری بذر ناگرد یا کاه مکی (*Cymbopogon olivieri* (Boiss. Bor) در شرایط فراسرد. دومین همایش ملی پژوهش‌های کاربردی در علوم کشاورزی، تهران، ایران، ۱۱ صفحه.
- جبلّی، م.، نادری شهاب، م. ع.، جعفری، ا. ع.، (ه) ۱۳۹۴. استفاده از سنجه تینه یا تلخ بیان باغی *Sophora mollis* (Graham ex Baker) Royle در فضای سبز شهرهای حاشیه کویر. اولین همایش ملی فضای سبز کم آب، کاشان، ایران، ۸ صفحه.
- حاتمی، ف.، ۱۳۸۷. حفاظت ذخایر ژنتیکی بذرهای نوش، کیکم و پسته وحشی با استفاده از تکنیک فراسرد (Cryopreservation). پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس نور، ۷۶ صفحه.
- حاتمی، ف.، جبلّی، م.، نادری شهاب، م. ع.، طبری، م. و جعفری، ا. ع.، ۱۳۸۹. حفاظت بذر کیکم (*Acer monspessulanum*) در شرایط فراسرد. دوفصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان جنگلی و مرتعی، ۱۱۱: (۱) ۲۳-۱۲.
- حاتمی، ف.، نادری شهاب، م. ع.، جبلّی، م.، قمری زارع، ع. و طبری، م.، ۱۳۸۷. امکان نگهداری بذر گونه *Thuja orientalis* L. در شرایط فراسرد. اولین همایش بین‌المللی تغییر اقلیم و گیاه‌شناسی درختی در اکوسیستم‌های خزری. ساری، ایران.
- حاتمی، ف.، نادری شهاب، م. ع.، جبلّی، م.، قمری زارع، ع.، طبری، م. و عصاره، م. ح.، ۱۳۸۸. بررسی امکان نگهداری بذر گونه *Eucalyptus microtheca* F. Muell. در شرایط فراسرد. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، ۱۱۷: (۴) ۶۳۶-۶۲۷.
- رجایی، م.، ۱۳۸۶. بررسی امکان نگهداری بذر، جوانه و سلول‌های *Ferula gummosa* در دمای فراسرد و بررسی زنده‌مانی دانه کرده این گیاه در دمای فراسرد تحت تیمارهای متفاوت. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت معلم، ۱۵۲ صفحه.
- سری، ف. س.، ۱۳۸۹. بررسی امکان نگهداری بذرها، جوانه‌ها و سلول‌های حاصل از کشت بافت گیاه *Benth Salvia leriifolia* در شرایط فراسرد. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، ۱۴۵ صفحه.
- شهبازی، ش.، ۱۳۹۳. بررسی امکان حفظ ذخایر ژنتیکی دو گونه مرزه *Satureja rechingeri* و *S. sahendica* در شرایط فراسرد (Cryopreservation). رساله دکتری. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، ۲۱۵ صفحه.
- غفارزاده نمازی، ل.، ۱۳۹۳. بررسی امکان نگهداری بذر، جوانه و کالوس حاصل از کشت بافت دو گونه مرزه *Satureja spicigera* و *S. bachtiarica* در شرایط فراسرد (Cryopreservation). رساله دکتری. دانشگاه مازندران، ۱۰۲ صفحه.
- غفارزاده نمازی، ل.، باباییان، ن.، قمری زارع، ع. و حاتمی، ح.، ۱۳۹۴. نگهداری بذر *Satureja spicigera* در شرایط فراسرد، کنفرانس بین‌المللی پژوهش‌های نوین در علوم کشاورزی و محیط‌زیست، مازنی.
- قربالی، م.، بنیادی، ر.، قمری زارع، ع. و شهرزاد، ش.، ۱۳۸۷. اثر ویتریفیکاسیون بر

- زنده‌مانی بذرها *Medicago polymorpha* L. نگهداری شده در شرایط فراسرد، پژوهش‌های علوم گیاهی، ۱۲(۱).
- قمری زارع، ع.، نادری شهاب، م.، ع. شهرزاد، ش. و عصاره، م. ح.، ۱۳۸۶. نگهداری بذر، جوانه‌های انتهایی و جانبی و سلول‌های گیاهی حاصل از کشت بافت، روشی برای حفظ بلندمدت ذخیره ژنتیکی گیاهی. پنجمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران، مشهد، ایران، ۶۸ صفحه.
- کلاهدوزان، م.، ۱۳۸۷. بررسی امکان نگهداری جوانه‌های انتهایی، جانبی و بذر گیاه *Medicago rigidula* L. در شرایط فراسرد. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه الزهراء، ۱۹۰ صفحه.
- کلاهدوزان، م.، شهرزاد، ش.، کیارستمی، خ. و قمری زارع، ع.، ۱۳۸۶. روشی کارآمد برای حفاظت فراسرد بذرهای *Medicago rigidula* (L.) All. پنجمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران. ۲۹۹ صفحه.
- کلاهدوزان، م.، قمری زارع، ع.، شهرزاد، ش. و کیارستمی، خ.، ۱۳۸۸. حفاظت بذرهای *Medicago rigidula* در دمای فراسرد با استفاده از دو روش شیشه‌ای شدن و کیسوله کردن - آگیری. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۱۷(۱): ۶۰-۵۰.
- کوهی، ب.، ۱۳۹۱. بررسی امکان نگهداری بلندمدت بذر برخی از گونه‌های جنس صنوبر *Populus sp.* در شرایط فراسرد (Cryopreservation) پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی، ۱۹۵ صفحه.
- مهاجری، م.، ۱۳۹۰. بررسی امکان نگهداری اندام‌های رویشی و سلول‌های حاصل از کشت بافت گونه سوسن چلچراغ ایرانی *Lilium Ledebourii* Boiss در شرایط فراسرد (Cryopreservation) پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، ۱۵۴ صفحه.
- نادری شهاب، م.، ع.، جبلی، م.، شاهمرادی، ا.ع.، قمری زارع، ع. و جعفری، ع.ا.، ۱۳۹۵. بررسی امکان نگهداری بذر *Centaurea lachnopus* Rech در شرایط فراسرد و بررسی رشد بذرهای فراسردی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه. مجله علمی- پژوهشی پژوهش‌های گیاهی (زیست‌شناسی ایران). ۲۹(۲): ۳۲۵-۳۱۰.
- نادری شهاب، م.، ع.، جبلی، م.، شاهمرادی، ا.ع.، قمری زارع، ع. و جعفری، ع.ا.، ۱۳۹۴. نگهداری بذر شبدر کوهسری *Trifolium radicosum* (Boiss) & Hohen در شرایط فراسرد و بررسی جوانه‌زنی، استقرار و تکثیر آن در شرایط گلخانه. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات مرتع و بیابان ایران. ۲۲(۳): ۵۵۷-۵۴۶.
- نادری شهاب، م.، ع.، ۱۳۸۹(الف). بررسی امکان نگهداری جوانه‌های انتهایی و جانبی، بذر و سلول‌های گیاهی حاصل از کشت بافت تعدادی از گونه‌های جنگلی، مرتعی و بیابانی در دمای فراسرد. گزارش نهایی طرح پژوهشی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ۹۴ صفحه.
- نادری شهاب، م.، ع.، ۱۳۸۹(ب). بررسی امکان نگهداری بذرهای تعدادی از گونه‌های مرتعی و بیابانی در شرایط فراسرد. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ۲۵۳ صفحه.
- نادری شهاب، م.، ع.، ۱۳۸۹(ج). بررسی امکان نگهداری بذرهای تعدادی از گونه‌های جنگلی در شرایط فراسرد. گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ۲۵۵ صفحه.
- نادری شهاب، م.، ع.، ۱۳۸۹(د). پروژه ملی جمع‌آوری و نگهداری بلندمدت بذرهای اندام‌های رویشی گونه‌های گیاهی منابع طبیعی کشور به روش فراسرد (Cryopreservation) و ایجاد کرایوبانک گونه‌های منابع طبیعی کشور (National CryoBank of Natural Plant Species)، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، ۵۱ صفحه.
- نادری شهاب، م.، ع.، جبلی، م. و جعفری، ع.ا.، ۱۳۹۴. بررسی امکان نگهداری بذر بنه *Pistacia atlantica* Desf. در شرایط فراسرد و ارزیابی نهال‌های
- فراسردی در شرایط دیم. اولین همایش رهیافت‌های علمی در صنعت طلای سبز پسته، دامغان، ایران، ۱۱ صفحه.
- نادری شهاب، م.، ع.، جبلی، م. و جعفری، ع.ا.، ۱۳۹۵. بررسی امکان نگهداری بذر ملج *Ulmus glabra* Hudson در شرایط فراسرد (Cryopreservation) نشریه جنگل و فراورده‌های چوب، ۶۹(۳): زیر چاپ.
- نادری شهاب، م.، ع.، جبلی، م. و جعفری، ع.ا.، ۱۳۹۵. بررسی امکان نگهداری بذر کنار *Ziziphus spina-christi* (L.) Desf. در شرایط فراسرد. دوفصلنامه علوم و تحقیقات بذر ایران، ۳(۱): زیر چاپ.
- ناصر، ش.، ۱۳۸۸. حفظ ذخایر ژنتیکی گونه *Smirnovia turkestanica* Bge در شرایط فراسرد. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی، ۱۱۲ صفحه.
- نادری شهاب، م.، ع.، ۱۳۸۹. بررسی امکان نگهداری جوانه‌های انتهایی و جانبی، بذر و سلول‌های گیاهی حاصل از کشت بافت تعدادی از گونه‌های جنگلی، مرتعی و بیابانی در دمای فراسرد. گزارش نهایی پروژه مصوب مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور به شماره فروست ۸۴۰۲-۰۸-۱۷۰۰۰-۱۶-۰۱۶.
- Avarmi, M. 1941. Granulation phase change and microstructure. III. Kinetics of phase change. Journal of chemical Physics, 9:177-184.
- Ghaffarzadeh-Namaz, L., Babaeian, N., Ghamari-zare, A. and Nematzadeh, GH., 2015. Cryopreservation the seeds of the medicinal plant *Satureja bachtiarica* Bunge. International Journal of Biosciences, 6(2): 24-29.
- Ghamari Zare, A., Naderi Shab, M., Shahrzad, Sh., Kolahdoozan, M. and Bonydipour, R., 2007. Effect procedures for cryopreservation of two *Medicago* species seeds. 3rd International Symposium on acclimatization and establishment of micropropagated plants. Portugal, 12-15sep 2007.
- Jalili, A., and Jamzad, Z., 1999. Red Data Book of Iran. Research Institute of Forest and Rangelands, P. O. Box 13185-116, Tehran, Iran.
- Mohajeri, M.R., Ghamari zare, A., Kalateh Jari, S. and Shahrzad, S., 2014. Seed Cryopreservation of *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss by Four Different Cryopreservation Treatments. Journal of Rangeland Science, 4(4): 279-286.
- Naderi Shahab, M., Jebelli, M., Shahmoradi, A.A. and Jafari, A.A., 2013. Seed Cryopreservation and Evaluation of *Ferula gummosa* and *Kelussia odoratissima*. Seed Technology, 35(1): 103-116.
- Naderi Shahab, M.; Hatami, F., Tabari, M. and Jafari, A. A., 2009. Cryopreservation and Evaluation of Chinese Arbor-Vitae (*Biota Orientalis*) Seeds. Journal of New Seeds, 10: 264-276.
- Rajae, M., Ghamari Zare, A., Sharzad, Sh., Naderi Shahab, M.A. and Majd, A., 2010. Cryopreservation of embryonic axes of *Ferula gummosa*: A tool for germplasm conservation and germination improvement. International Medicinal and Aromatic Symposium 2010 and 2nd Iranian Phytochemistry Seminar, 21-23 Jun 2010: P.73.
- Shahbazi, S., Ghamari Zare, A., Sefidkon, F., Jafari, A.A., and Abdossi V., 2014. Investigation on possibility of cryopreservation of *Satureja rechin-geri* seeds. International Journal of Biosciences, 5(1): 113-119.
- Shahrzad, Sh., Ahmadi, R., Ghamari Zare, A. and Naderi Shahab, M.A., 2009. Review of Forests, Wood Products and Wood Biotechnology of Iran and Germany, Part III, 135-148.
- Walters, C., Wheeler, L. J., and Stanwood, P.C. (2004). Longevity of cryogenically-stored seeds.