

بسم الله الرحمن الرحيم

عنوان طرح :

شناسایی، ارزیابی مورفولوژیکی و احیاء بذر ذخایر ژنتیکی
جنس گون (*Astragalus L.*) موجود در بانک ژن منابع
طبیعی ایران

مجری طرح:

علی اشرف جعفری

عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات جنگل ها و مراتع

اسامی پروژه ها و مجریان :

- ۱- ارزیابی عملکرد و صفات زراعی و احیاء بذر ذخایر ژنتیکی گون موجود در بانک ژن منابع طبیعی ایران (مجری علی اشرف جعفری)
- ۲- پروژه شناسایی نمونه‌های جنس‌های گون موجود در "بانک ژن گیاهی منابع طبیعی" (مجری سید رضا صفوی)
- ۳- مطالعه و بررسی تعداد کروموزوم ها و سطوح پلوئیدی نمونه های جنس گون موجود در بانک ژن منابع طبیعی (مجری حمیده جوادی)
- ۴- ارزیابی آزمایشگاهی اکسشنهای بذری جنس گون در بانک ژن و بررسی نوع خواب و عوامل موثر بر برطرف کردن خواب آنها مجری (محسن نصیری)،

مقدمه و ضرورت اجرای طرح

- جنس *Astraguls* یا گون یکی از جنس‌های تیره Papilionaceae است که تا کنون ۸۰۴ گونه از آنها در ایران شناخته شده است. از این تعداد ۵۲۷ گونه انحصاری ایران (Endemic) (معصومی، ۱۳۸۴).
- تعداد گون‌های یکساله علفی ۴۱ گونه، چندساله علفی ۵۲۹ و چندساله چوبی ۲۹۵ عدد می‌باشد (معصومی، ۱۳۸۴).
- گون‌ها از لحاظ تثبیت شن‌های روان و جلوگیری از فرسایش خاک، استفاده دارویی و صنعتی تولید کتیرا) و ارزش علوفه‌ای بسیار حائز اهمیت هستند.
- با توجه به خصوصیت Endemic یا انحصاری بودن بسیاری از گون که بعضا در معرض خطر انقراض می‌باشند اقدامات مربوط به شناسایی ارزیابی و بررسی امکان کشت و اهلی کردن گون‌های علوفه‌ای حائز اهمیت می‌باشند
- قبل از اجرای این پروژه ۸۸۰ نمونه بذر گون در بانک ژن منابع طبیعی وجود داشت که نیمی از آنها (۴۴۰ اکسشن) نام گونه شناسایی نشده بود و بصورت SP نگهداری می‌شدند

ادامه مقدمه و ضرورت اجرای طرح

➤ یکی از چالش های نگهداری بذر گون ها در بانک های ژن ، کم بودن تعداد بذر در نمونه ها و عدم جوانه زنی بذر آنها در شرایط معمولی (دمای ۲۰ تا ۲۵) است که لازم است بررسی شوند آیا واقعا بذرها فاقد قوه نامیه هستند یا عامل خواب بذر در آنها وجود دارد

➤ معادل ۶۵٪ از گون های ایران اندمیک یا انحصاری هستند و وظیفه بررسی سیتوژنتیکی و تهیه ایندکس و اطلس کروموزومی برای آنها ، تعیین یکساله و چند ساله بودن، نحوه تکثیر و ازدیاد آنها ، خود گشن و دگر گشن بودن آنها تعیین دیسکریپتور برای آنها بر اساس تحدیه بین المللی حفاظت از ارقام گیاهی بعهدہ موسسات تحقیقاتی و دانشگاه های داخل کشور می باشد

➤ برای بهره برداری از گیاهان بومی و خودرو لازم است بذر یا اندام گونه های گیاهی طبیعی در شرایط زراعی کشت و اهلی شوند و صفات اقتصادی آنها از قبیل بیوماس (سرشاخه)، کیفیت علوفه (پروتئین و انرژی) و عدم وجود مواد ضد کیفیت مورد ارزیابی قرار گیرند

بررسی تحقیقات انجام شده

- مشتاقیان و همکاران (۱۳۸۸) گونه *A. cyclophyllon* بعنوان علوفه ای و خوشخوراک پیشنهاد معرفی نمود
- اسماعیل شریف (۱۳۹۱) در بررسی اکوتیپ های *A. cyclophyllon* در ایستگاه سمیرم اکوتیپ چادگان را برای استفاده دو منظوره برای علوفه کاری و بذریاشی مراتع پیشنهاد نمود
- زارع کیا و همکاران (۱۳۹۲) در بررسی مشکلات جوانه زنی بذر ۶ گونه گون چندساله علفی نشان دادند که گونه ها، *A. vegetus* بیشترین قدرت جوانه زنی داشت
- خداقلی و همکاران (۱۳۸۹) عمق ۲,۵ سانتیمتر و روش پیتیتنگ برای استقرار گونه *A. caragana* توصیه نمودند
- جنگجو (۱۳۸۹) گون قشلاقی *A. arpilobusa* برای کشت در مراتع قشلاقی استان خراسان شمالی توصیه نمود
- رضوی و همکاران (۱۳۸۸) گزارش کردند که درصد استقرار گون *A. cyclophyllon* در کشت پاییزه نسبت به کشت بهاره بود
- قهساره اردستانی (۱۳۹۴) بیان داشتند که گون *A. caragana* مقاوم به چرای دام بود.
- شریفی و همکاران (۱۳۸۹) کشت بذر گون *A. brachyodontus* با غلاف خرد شده و کشت پاییزه پیشنهاد نمود.

➤ فیاض و همکاران (۱۳۹۷) در گزارش نهایی «تحت عنوان بررسی روش‌های کشت و استقرار پهن‌برگان علفی دائمی مراتع ایران» ۲۲ گونه از جنس گون *Astragalus* در مناطق مختلف آب و هوایی کشور در دو فصل کشت (پاییزه و بهاره) و دو روش کشت بذرکاری ردیفی و بذرپاشی مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که کشت ردیفی در فصل پاییزه بهتر مستقر شدند و علوفه بیشتری تولید نمودند. با اینحال تعدادی از گونه‌ها مستقر نشدند که آنرا به دلیل خواب بذر دانستند

➤ فیاض و همکاران (۱۳۹۷) در گزارش نهایی «ارزیابی جمعیت‌های مهم‌ترین پهن برگ‌ها علفی دائمی» تعدادی از گونه‌های *Astragalus* مناسب برای کشت در مراتع مناطق رویشی مختلف کشور معرفی کردند

اهداف طرح

- کشت، شناسایی، ارزیابی و احیاء بذر گون های موجود در بانک ژن منابع طبیعی
- تهیه شناسنامه صفات زراعی و مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی برای هر یک از گونه های مورد مطالعه
- تعیین روش های مناسب جوانه زنی و کاشت بذور و تعیین بهترین تیمار خواب شکنی برای گونه های که مشکل جوانه زنی دارند
- گروه بندی توده های گون های مورد مطالعه بر اساس صفات مورفولوژیکی و سیتوژنتیکی

مواد و روش‌ها

پروژه اول کشت و ارزیابی اکسشن ها در ایستگاه البرز

- بذر ۴۰۶ اکسشن از ۶۶ گون در زمستان ۱۳۹۱ در گلخانه کشت شدند
- تعداد ۲۳۵ اکسشن موفق به تولید گیاهچه، شدند.
- گیاهچه ها در بهار ۱۳۹۲ به زمین اصلی در ایستگاه البرز کرج منتقل شدند و در شرایط آبیاری قطره ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو تکرار کشت شدند
- تعداد ۱۸۰ اکسشن متعلق به ۵۷ گونه در مزرعه مستقر شدند و به مرحله گلدهی رسیدند.
- صفات درصد استقرار ، درصد زنده‌مانی، صفات فنولوژیکی، ارتفاع گیاه، تراکم ساقه، عملکرد علوفه تر و خشک مورد بررسی قرار گرفت



کشت بذر گون ها در گلخانه در پیت ماس

انتقال نشاءها به زمین اصلی در ایستگاه البرز کرج





نمایی از مزرعه گونه‌ها

پروژه ۲ شناسایی نمونه‌های جنس‌های گون

مجری سید رضا صفوی

- مراجعه به مزرعه تحقیقاتی جهت عکسبرداری و جمع‌آوری گیاهان جهت بررسی دقیق‌تر در آزمایشگاه.
- شناسایی مقدماتی نمونه‌های گیاهی که از کاشت بذرها حاصل شده‌اند
- عکسبرداری از گیاهان در زمان گلدهی و رسیدن میوه
- جمع‌آوری نمونه‌های گیاهی و خشک کردن آنها در زمان گلدهی و رسیدن
- شناسایی نمونه‌های جمع‌آوری شده با استفاده از منابع گیاهشناسی
- انتخاب نام‌های صحیح برای تاکسون‌های مورد بررسی و شناسایی دقیق آنها

نتایج شناسایی نمونه‌های جنس‌های گون

- تعداد ۸۳ نمونه که با نام *Astragalus* sp. در بانک ژن حفاظت می‌شدند بطور کامل شناسایی شدند
- بیش از ۱۰۰ نمونه که دارای نام علمی مشکوک بودند مورد شناسایی مجدد قرار گرفتند که حدود ۵۰٪ با همان نام قبلی شناسایی شدند و بقیه متعلق به سایر گونه‌های جنس گون بودند.
- تعداد ۸۰ نمونه از ۱۲ گونه یک‌ساله و بقیه دو یا چند ساله بودند
- در بین گونه‌های شناسایی شده *A. cyclophyllon*، *A. vegetus*، *A. hamosus* و *A. siliquosus* بیشترین فراوانی از لحاظ تعداد اکسشن‌ها داشتند.



***Astragalus campylorrhynchus* Fisch.
& C.A.Mey.**



***Astragalus bombycinus* Boiss.**



***Astragalus glycyphyllos* L.**



***Astragalus commixtus* Bunge**



Astragalus iranicus Bunge



Astragalus hamosus L.



Astragalus odoratus Lam



Astragalus jodostachys Boiss. & Buhse



Astragalus schmalhauseni Bunge



Astragalus oxyglottis M.Bieb.



Astragalus tribuloides Delile



Astragalus siliquosus Boiss.



Astragalus angustiflorus K.Koch



Astragalus aduncus Willd.



Astragalus cephalanthus DC.



Astragalus caraganae Hohen.



Astragalus comosus Bunge



Astragalus chrysostachys Boiss.



Astragalus cyclophyllon Beck



Astragalus curvirostris Boiss.



Astragalus ebenoides Boiss



Astragalus dactylocarpus Boiss.



Astragalus eucosmus Robinson



Astragalus eriopodus Boiss.



Astragalus glycyphyllos L.



Astragalus fasciculifolius sensu
C.C.Towns.



Astragalus jacobsii Podlech



Astragalus iranicus Bunge



Astragalus macrocephalus Willd.



Astragalus lagopoides Lam.



Astragalus macrourus Fisch. & C.A.Mey.



Astragalus macrourus Fisch. & C.A.Mey.



Astragalus meridionalis sensu auct.



Astragalus megalotropis Bunge



Astragalus orthocarpoides Sirj. & Rech.f.



Astragalus microphysa Boiss.



Astragalus podolobus Boiss.



Astragalus ovinus Boiss.



Astragalus ruscifolius Boiss.



Astragalus pseudocyclophyllus
Rech.f.



Astragalus siliquosus Boiss.



Astragalus semilunatus Podlech



Astragalus stevenianus DC.



Astragalus speciosus Boiss. &
Hohen.



Astragalus tricholobus DC.



Astragalus tenellus Pursh



Astragalus vegetus Bunge



Astragalus vanillae Boiss.

- از تعداد ۴۰۶ اکسشن در گلخانه کشت شدند که فقط ۲۳۵ اکسشن موفق به جوانه زنی شدند در برخی اکسشن ها که بذر بیشتری داشتند در آزمایشگاه تحت تاثیر تیمارهای خوابشکنی شامل
- خراشدهی فیزیکی با سمباده،
 - خراشدهی شیمیایی با اسید
 - تیمار آب داغ ۸۰ درجه سانتی گراد
 - سرمادهی (در ۴ درجه سانتی گراد به مدت یک ماه)

نتایج روش های شکستن خواب بذر در گونها

- خواب بذر اغلب گونه‌های گون از نوع مکانیکی بود و اغلب آنها با خراش مکانیکی قابل حذف بودند.
- تیمار خراش شیمیایی با اسید سولفوریک اگرچه برای تعدادی از گونه‌ها مناسب ولی در بیشتر گونه‌ها موجب تولید گیاهچه‌های غیر نرمال شد.
- از تیمار آب داغ نیز نتیجه مطلوبی حاصل نشد.
- مناسبترین تیمارهای خوابشکنی بذر در اغلب گونه‌های گون خراش مکانیکی همراه با سرمادهی بذرهای مرطوب در دمای حدود 4°C حداقل به مدت یک ماه بود.

تیمارهای خواب شکنی بر درصد جوانه زنی در نمونه هایی که در شرایط نرمال فاقد جوانه زنی بودند.

شاهد	آب جوش	سرمادهی دو ماهه	سرمادهی یک ماهه	اسید سولفویک ۰.۵٪، به مدت ۱۰ دقیقه	درصد جوانه زنی میانگین
1.6	0.0	8.9	15.8	9.96	



جوانه زنی عادی با تیمار خراش دهی در گونه
A. cyclophyllus



جوانه زنی غیر عادی با تیمار اسید سولفوریک در
A. cyclophyllus

پروژه ۴ مطالعه تعداد کروموزوم ها و سطوح پلوئیدی نمونه ها مجری: حمیده جوادی

از نمونه هایی شناسایی شده تعداد کروموزومها و سطح پلوئیدی ۶۵ جمعیت از

۳۷ گونه گون با انجام مراحل زیر تعیین گردید.

➤ جوانه دار کردن بذرها و تهیه نمونه از ریشه

➤ پیش تیمار با محلول آلفابرومونفتالین ۰/۵٪

➤ تثبیت نمونه ها با محلول لویتسکی

➤ هیدرولیز - با استفاده از NaOH

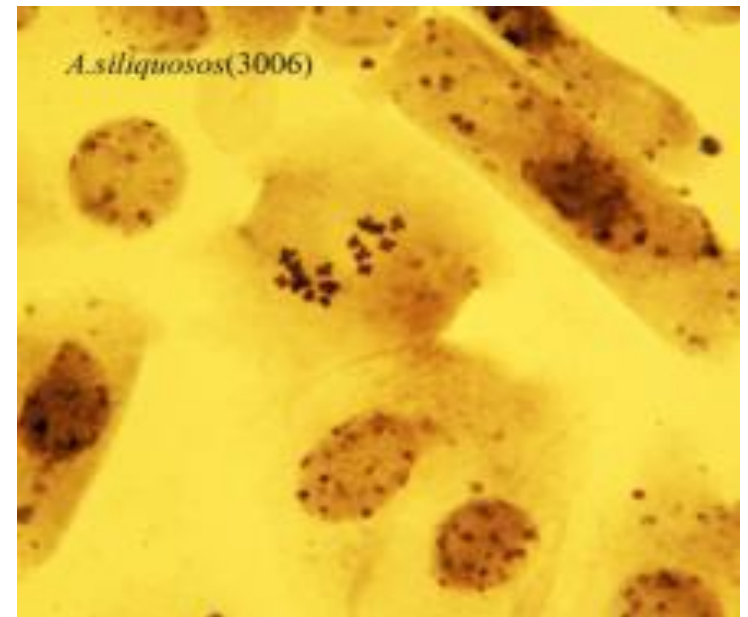
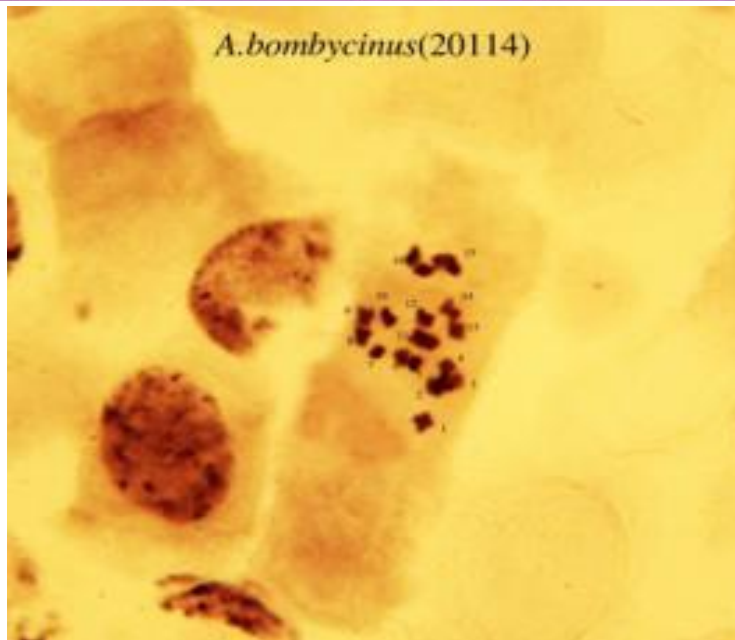
➤ رنگ آمیزی با هماتوکسیلین

➤ تهیه اسلاید به روش اسکواش

➤ تهیه عکس با بزرگ نمایی ۱۷۵۰ توسط دوربین Olympus

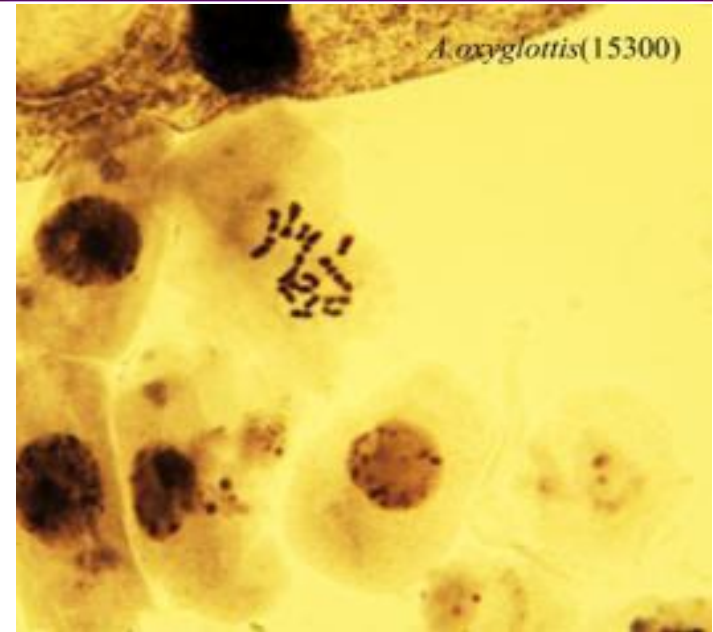
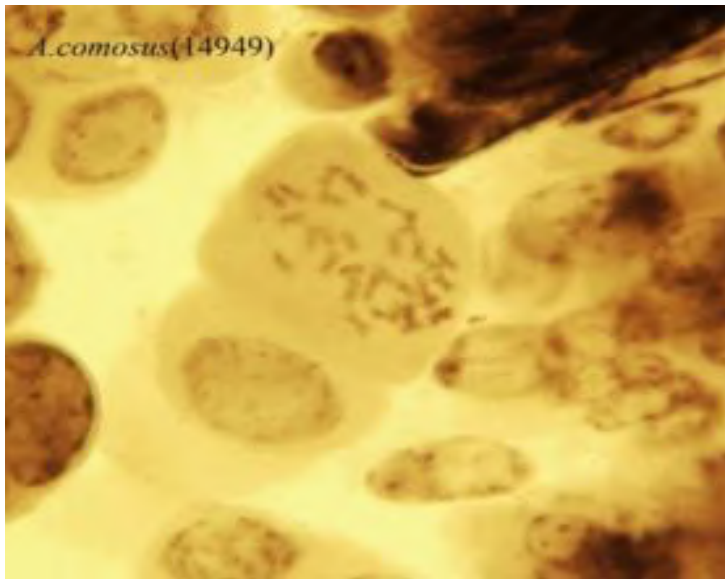
نتایج مطالعه تعداد کروموزوم ها و سطوح پلوئیدی نمونه ها

- تعداد کروموزوم‌های در ۶۵ جمعیت از ۳۷ گونه از جنس گون تعیین و سطوح پلوئیدی آن‌ها مشخص گردید.
- نتایج نشان داد که عدد پایه کروموزومی در تمام جمعیت‌ها $X=8$ بود
- جمعیت‌ها سه سطح پلوئیدی، دیپلوئید ($2n=2X=16$)، تتراپلوئید ($2n=4X=32$) و هگزاپلوئیدی ($2n=6X=48$) بودند
- بیشترین سطح پلوئیدی دیپلوئید (در ۴۳ جمعیت)، تتراپلوئید (۲۱ جمعیت) و هگزاپلوئید (در یک جمعیت) بدست آمد.



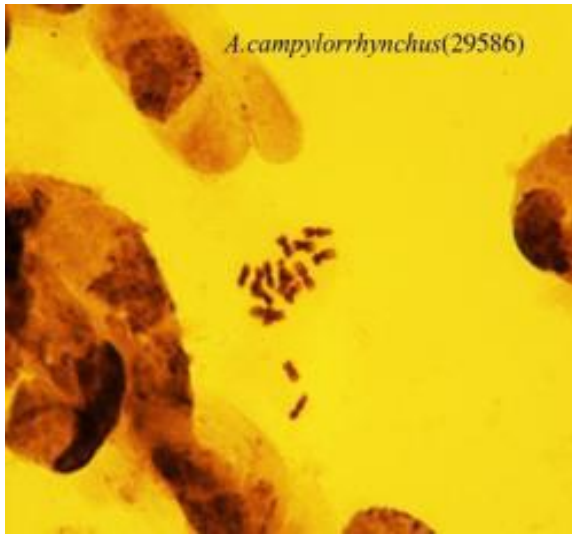
***A. bombycinus* $2n=2x=16$**

***A. siliquosus* $2n=2x=16$**

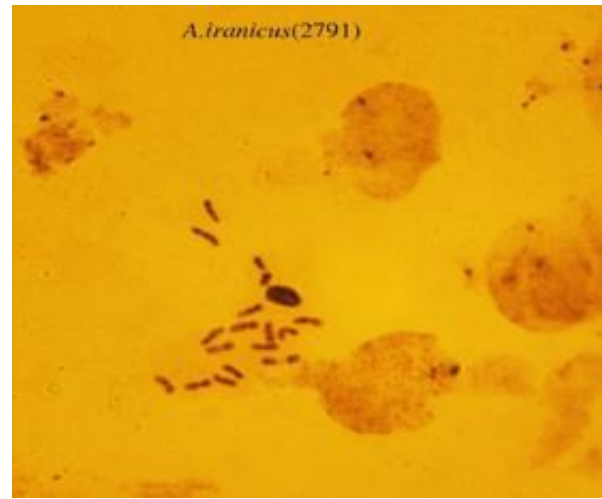


A. Commixtus
 $2n=2x=16$

A. oxyglottis
 $2n=2x=16$



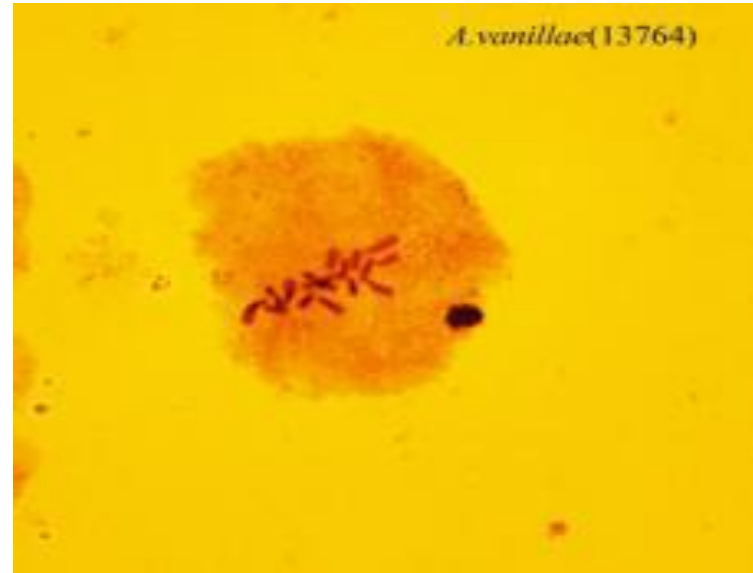
A. Campylorrhynchus
 $2n=2x=16$



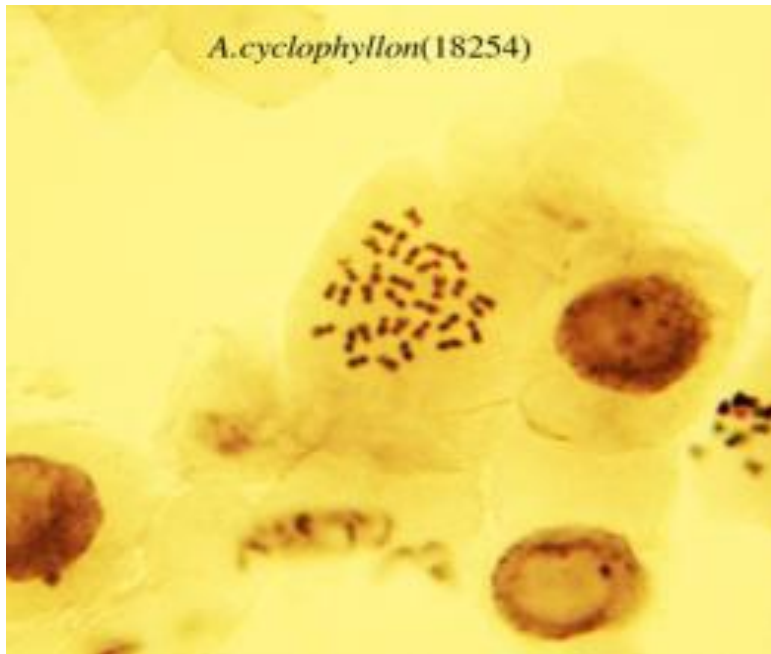
A. Iranicus
 $2n=2x=16$



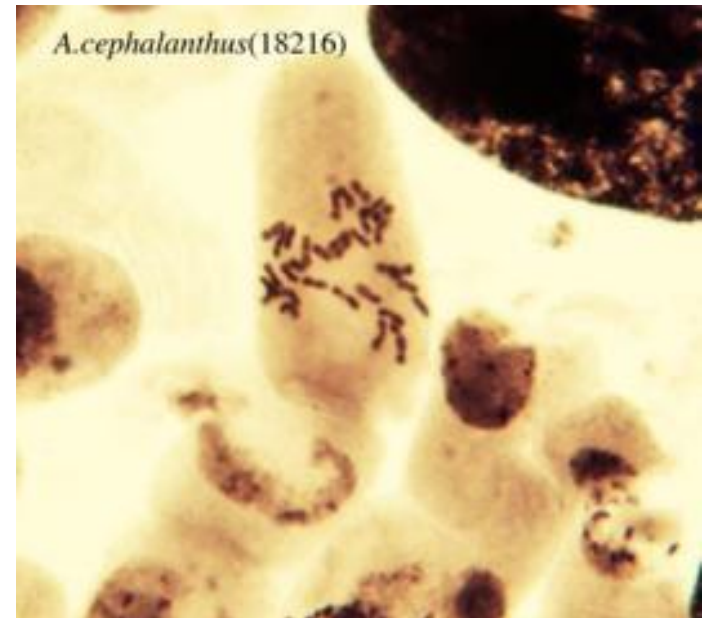
A. Vegetus
 $2n=2x=16$



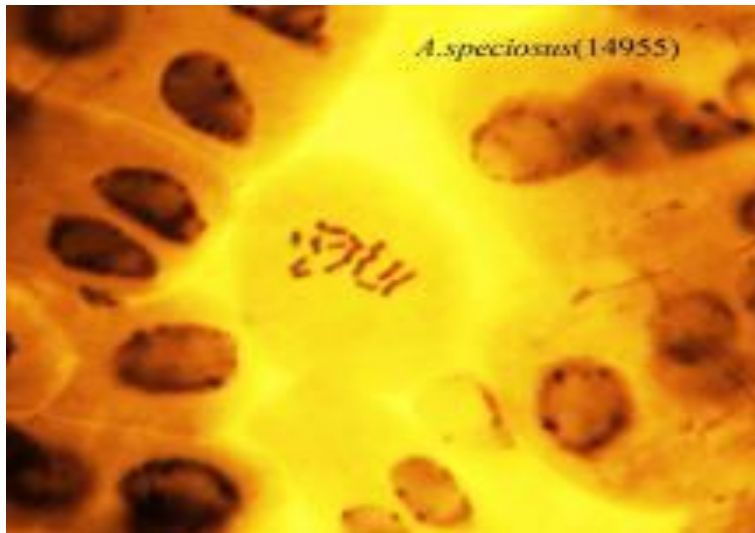
A. vanillae
 $2n=2x=16$



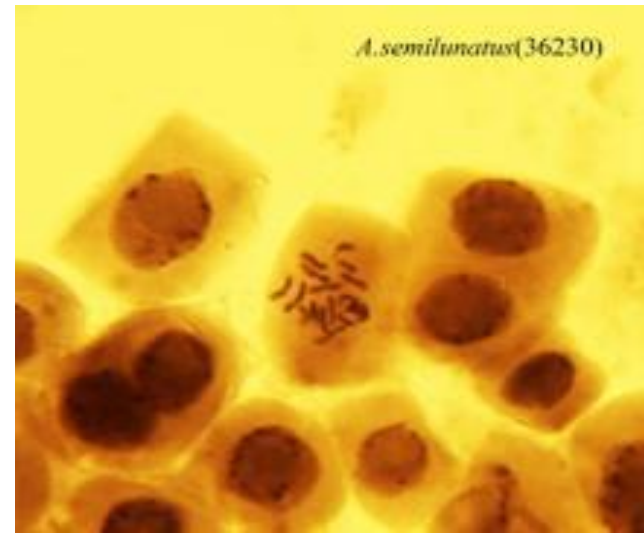
A. Cyclophyllon
 $2n=4x=32$



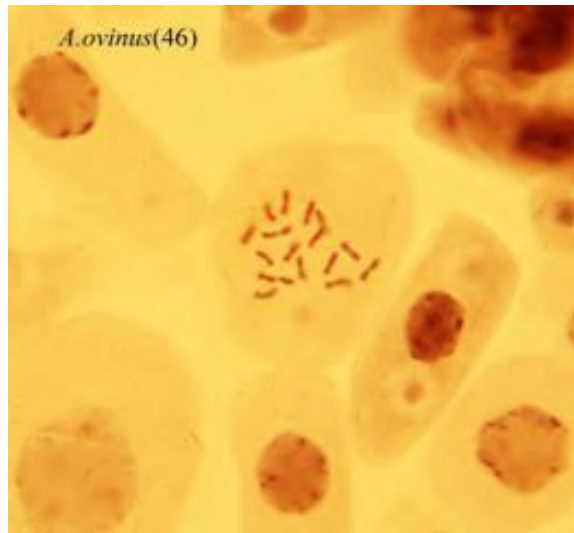
A. Cephalanthus
 $2n=4x=32$



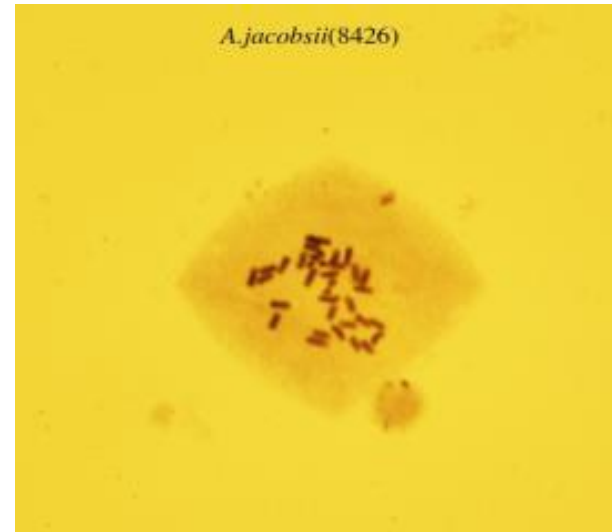
A. Speciosus
 $2n=2x=16$



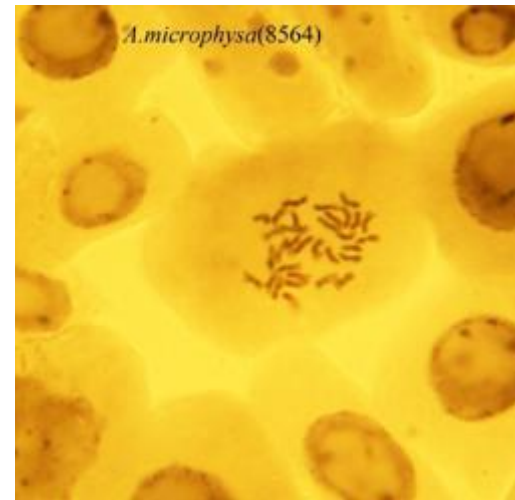
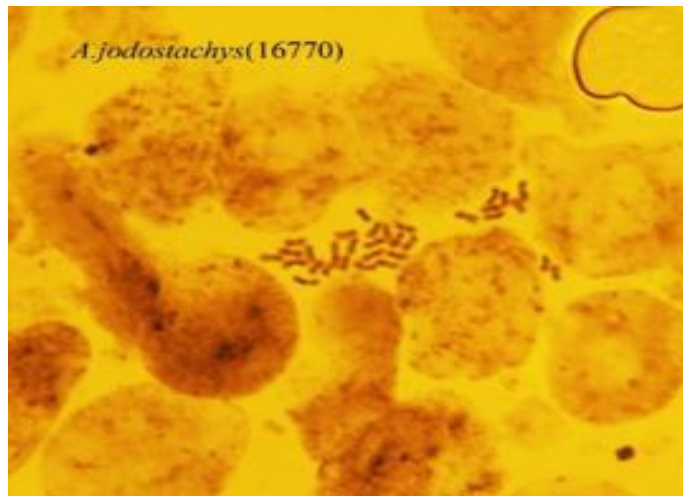
A. Semilunatus
 $2n=2x=16$



A. ovinus
 $2n=2x=16$



A. jacobsii
 $2n=4x=32$



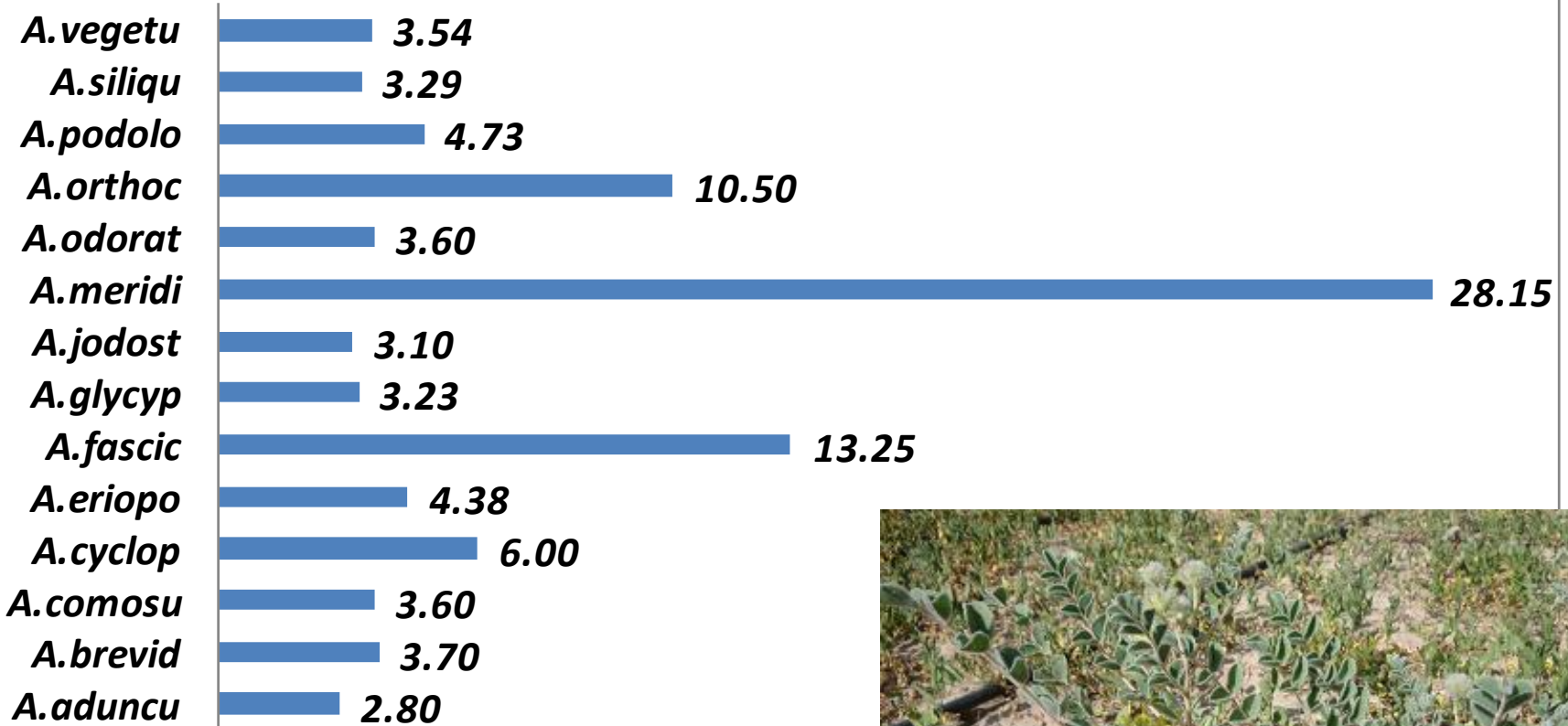
A. Jodostachys
 $2n=4x=32$

A microphysa
 $2n=4x=32$

نتایج پروژه ارزیابی عملکرد و صفات زراعی ذخایر ژنتیکی گون

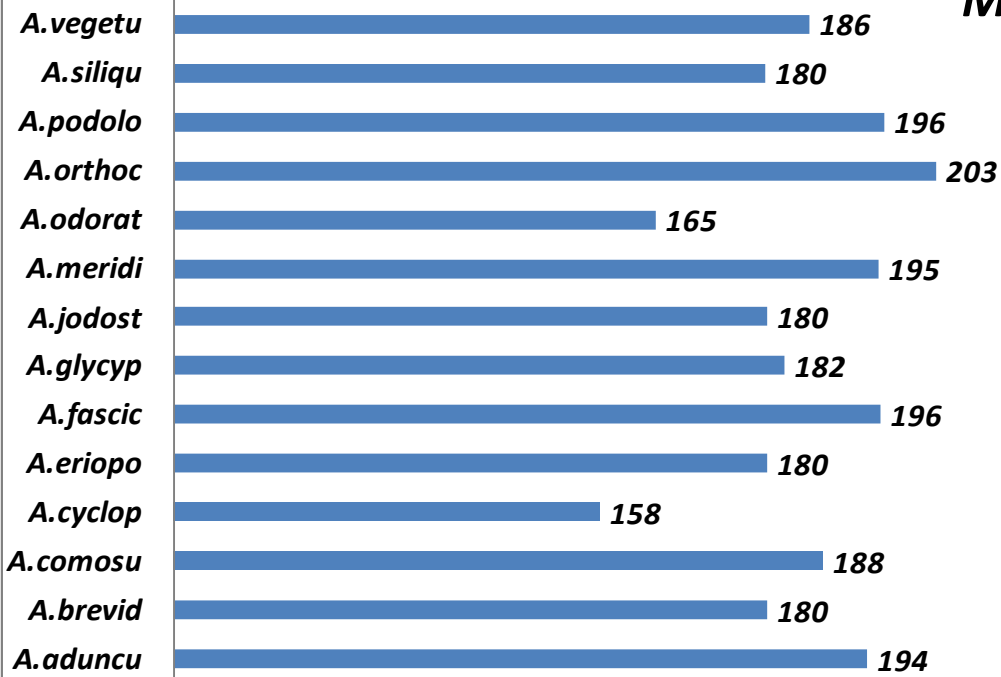
- در بین گونه‌های شناسایی شده *A. cyclophyllon*، *A. vegetus* درصد زنده مانی بیشتری داشتند.
- از لحاظ عملکرد علوفه تر و خشک گونه‌های *A. cicer*، *A. ispahanicum*، *A. glycyphyllos*، *A. odoratus*، *A. scrosis*، *A. siliquosus* با میانگین عملکرد علوفه خشک بین ۲۲۰ الی ۲۵۰ گرم در بوته معادل ۸ الی ۱۰ تن در هکتار در کلاس *a* قرار گرفتند
- از لحاظ تاریخ گلدهی گونه‌های دیر رس و زود رس شناسایی شدند
- از لحاظ دوره رشد گیاهان یک ساله و چندساله مشخص شدند
- از لحاظ ارتفاع و تراکم ساقه در بوته گونه‌ها گروه بندی شدند

W1000



Astragalus meridionalis

MATURITY

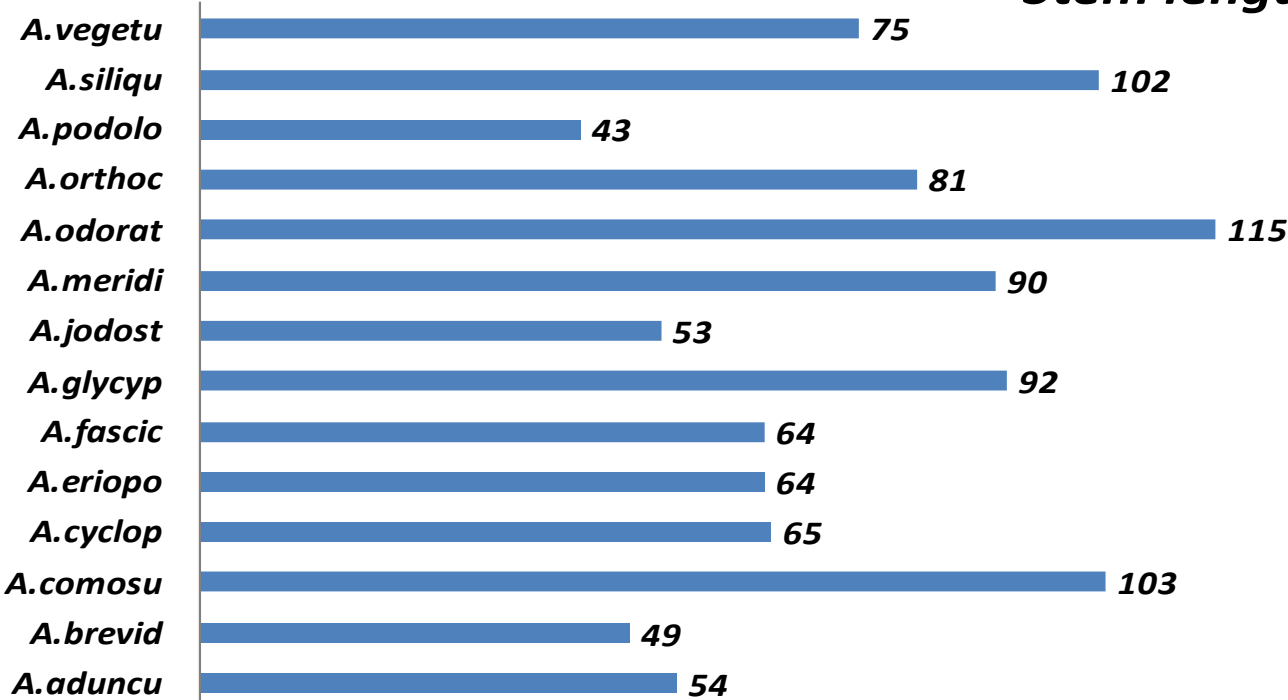


٤٢ *A.cyclophyllon* زودرس



A.orthocarpoides دیررس

Stem length cm



A. siliquosus

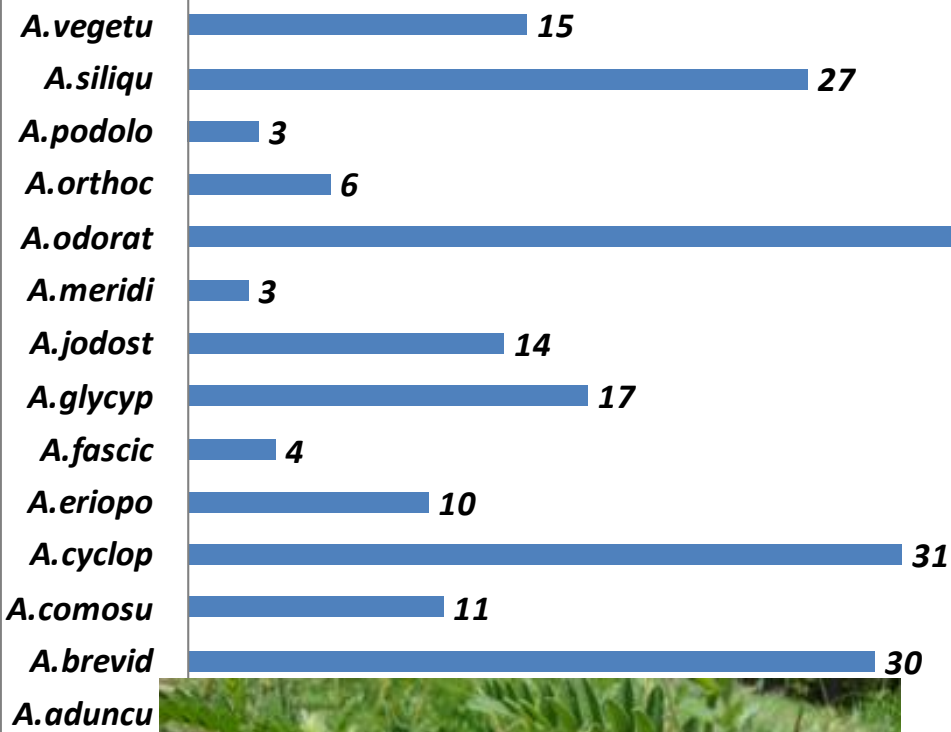


A. comosus



A. odoratus

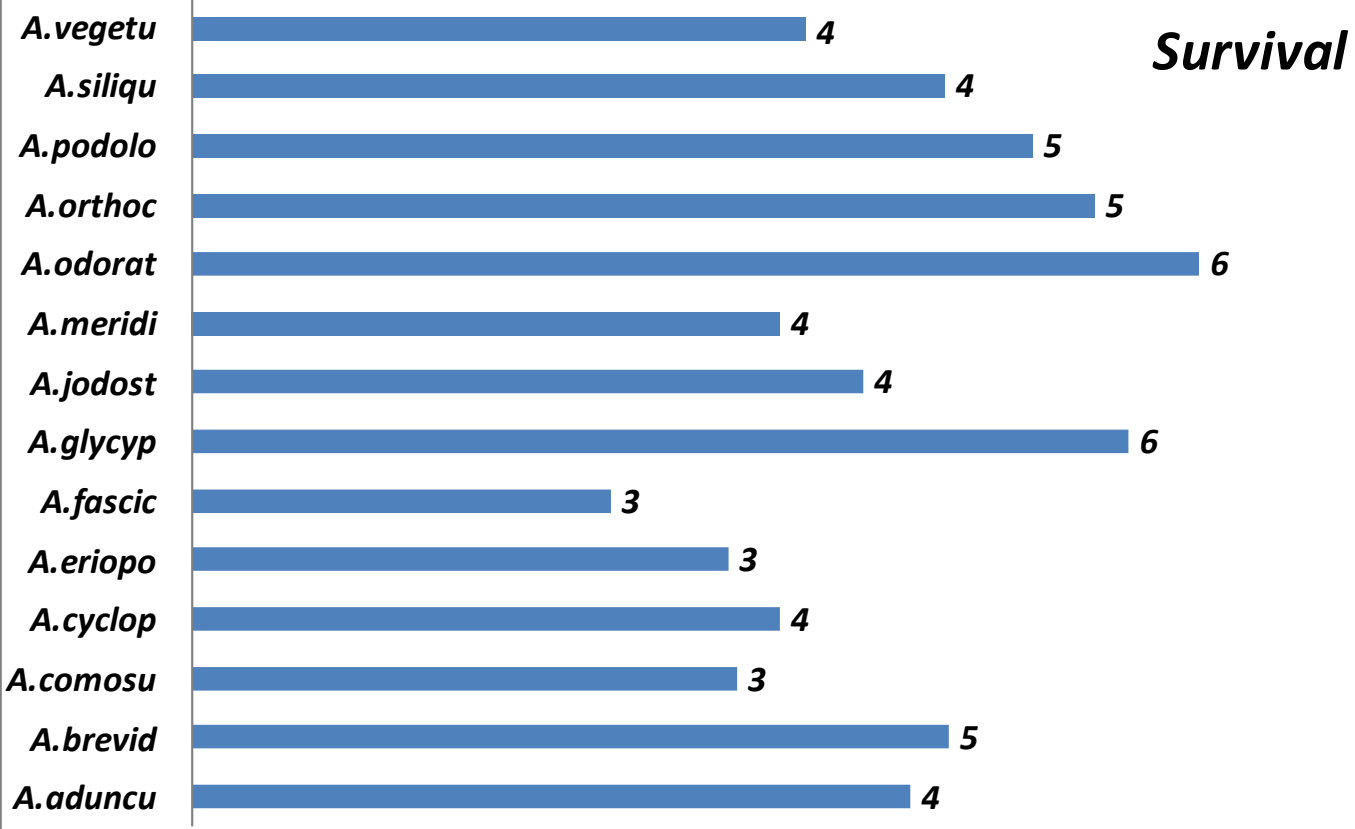
Stem No



A. odoratus



A. fasciculifolius

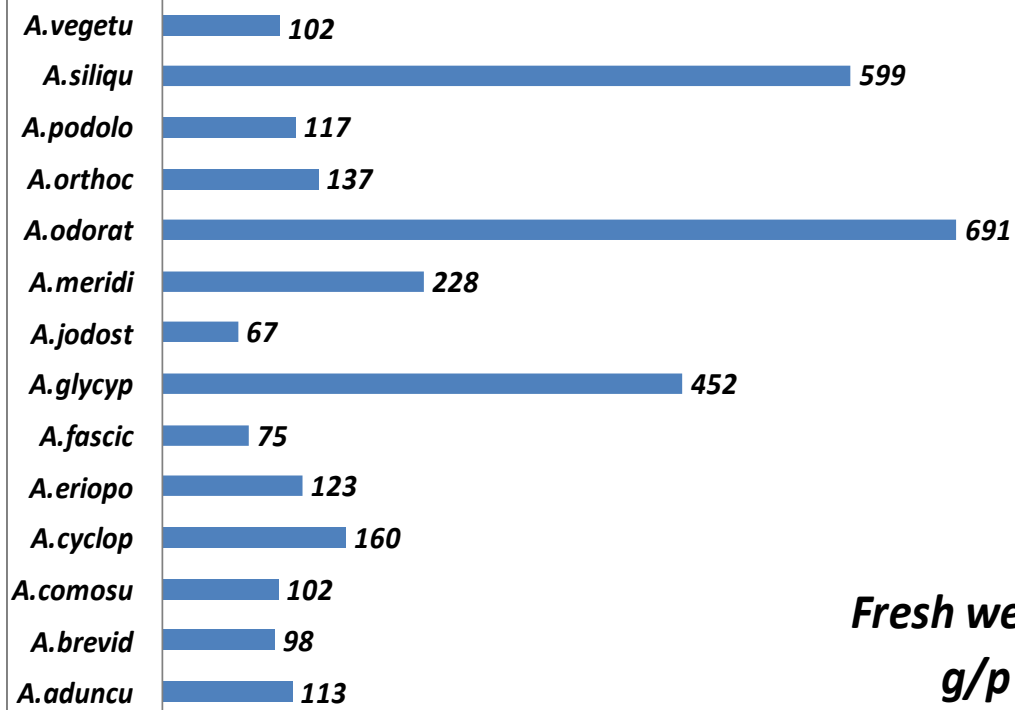


A. glycyphyllos



A. odoratus





Fresh weight
g/p



A. siliquosus



A. odoratus

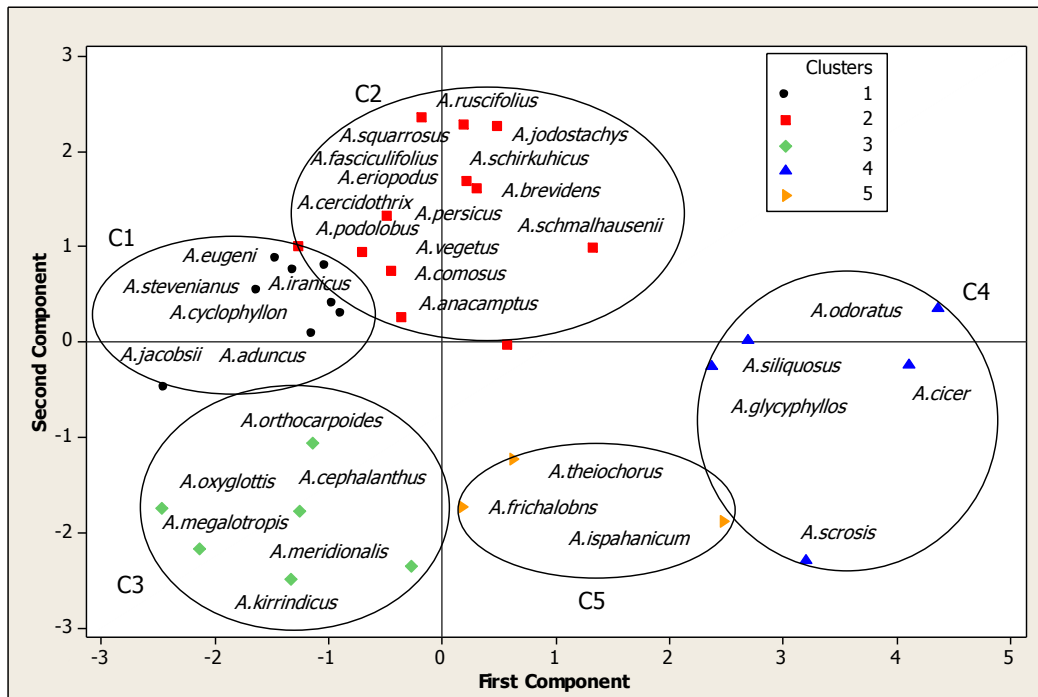
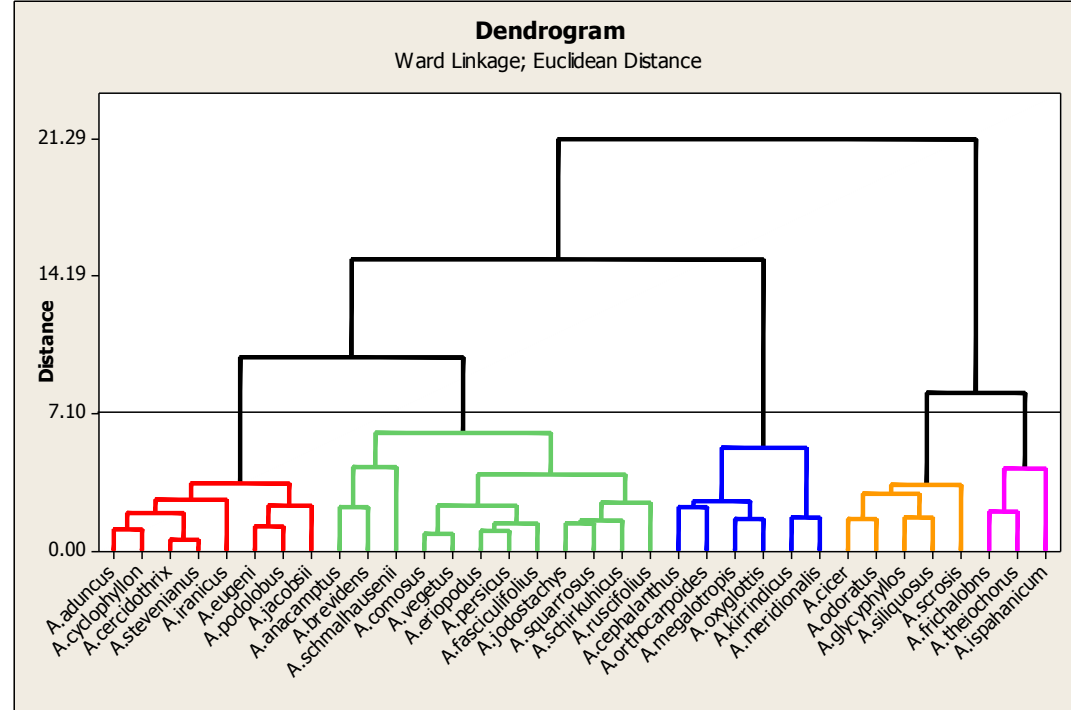


A. glycyphyllos

ضرایب همبستگی بین عملکرد علوفه و سایر صفات

نام صفات	درصد استقرار	وزن هزاردانه	زمان گلدهی	زمان رسیدن	ارتفاع گیاه	تعداد ساقه	عملکرد علوفه تر
وزن هزاردانه	0.04						
زمان گلدهی	-0.16	0.51*					
زمان رسیدن	-0.22	0.49*	0.97**				
ارتفاع گیاه	0.26	0.49*	-0.10	-0.08			
تعداد ساقه	0.55**	-0.45*	-0.42*	-0.43*	0.30		
عملکرد علوفه تر	0.35	-0.16	-0.05	-0.09	0.65**	0.58**	
عملکرد علوفه خشک	0.33	-0.17	-0.04	-0.07	0.61**	0.55**	0.99**

از تجزیه کلاستر به روش WARD



تجزیه به مولفه های اصلی

- در بین گونه‌های شناسایی شده *A. cyclophyllon*، *A. vegetus* و *A. hamosus* به ترتیب با تعداد ۲۲، ۲۱، ۱۷، ۱۲ و ۸ اکسشن بیشترین فراوانی را داشتند.
- مناسبترین تیمارهای خوابشکنی بذر اغلب گونه‌های گون خراش مکانیکی و سرمادهی بذرهای مرطوب در دمای حدود 4°C حداقل به مدت یک ماه بود.
- عدد پایه کروموزومی در تمام جمعیت‌ها $x=8$ و جمعیت‌ها سه سطح پلوئیدی، دیپلوئید ($2n=2x=16$)، تتراپلوئید ($2n=4x=32$) و هگزاپلوئیدی ($2n=6x=48$) بود که به ترتیب بیشترین سطح پلوئیدی دیپلوئید (در ۴۳ جمعیت)، تتراپلوئید (۲۱ جمعیت) و هگزاپلوئید (در یک جمعیت) بدست آمد.

ادامه نتیجه گیری کلی

➤ تنوع بالایی در بین اکسشن های کشت شده گون وجود داشت

➤ در بین گونه های شناسایی شده *A. cyclophyllon*، *A. vegetus* و *A. hamosus* و *A. siliquosus* به ترتیب با تعداد ۲۲، ۲۱، ۱۷، ۱۲ اکسشن بیشترین فراوانی را داشتند

➤ گونه های *A. odoratus*، *A. glycyphyllos* و *A. siliquosus* با میانگین عملکرد علوفه خشک بین ۲۲۰ الی ۲۵۰ گرم در بوته و در کلاس a قرار گرفتند.

➤ نتایج تجزیه همبستگی نشان داد که ارتفاع و تعداد ساقه بیشترین تاثیر بر عملکرد علوفه داشتند.

➤ نتایج تجزیه به مولفه های اصلی نشان داد که صفات درصد استقرار، تعداد ساقه ، عملکرد علوفه همراه با فاکتور زودرسی نقش مهمی در ایجاد تنوع بین گونه ها داشتند

➤ در تجزیه کلاستر به روش Ward. گونه ها در ۵ گروه قرار گرفتند. گونه های موجود در کلاستر ۴ دارای میانگین بیشتری برای عملکرد علوفه و زودرسی بودند.

- افزایش تولید بذر
- خودگشن و دگرگشنی بودن گونه ها بررسی شوند
- افزایش کیفیت علوفه
- کاهش مواد ضد کیفیت حذف یا کاهش مواد ضد کیفیت **Anti nutritional factors**
- ایجاد مقاومت به چرای دام
- استفاده از نشانگرهای مولکولی
- تعیین دیسکرپتور و استانداردهای
- روش های تکثیر و کشت و کشت بافت
- تهیه ایندکس و اطلس کروموزومی

تشکر و قدر دانی

- خانم ها: صالحی، جوادی ، ایزد پناه، فلاح حسینی، یگانه، رسول زاده، کاوندی،
- آقایان : معصومی عزیزاده ، نصیری ، صفوی ، پهلوانی، امیرخانی، سیدیان، اسمعیلی و ...

با تښکر

