

## دورگ‌گیری مصنوعی در بادام زمینی

### Artificial Hybridization in Groundnut

رضا وجدان: کارشناس به‌نژادی مرکز تحقیقات کاربردی و تولید بذر شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

دورگ‌گیری مصنوعی میان لاین‌های والدینی به منظور گردآوری ترکیبات مطلوب از ژن‌ها، بخش جدایی‌ناپذیر هر برنامه‌ی اصلاحی گیاهی است. بادام زمینی بومی آمریکای جنوبی، گیاهی از خانواده لگومینوز، خودگشن (بطور معمول کمتر از یک درصد دگرگشتی)، اما نرخ دگرگشتی حداکثر تا ده درصد نیز گزارش شده است (Knauft et al., 1987) که منجر به دورگ‌گیری طبیعی می‌شود. میزان دگرگشتی به سطح فعالیت حشرات گرده افشان بویژه زنبور در یک ژنوتیپ، فصل و مکان خاص بستگی دارد. در طبیعت جنس *Arachis* بیش از ۷۰ گونه‌ی وحشی دارد که تنها *A. hypogaea* بصورت زراعی مورد استفاده می‌باشد (Ramanatha Rao, 1988). گونه‌ی آمفی دیپلوئید ( $2n = 4x = 40$ ) با عدد کروموزومی هاپلوئید ۱۰ ( $x = 10$ )، اما از لحاظ سیتولوژیکی همانند دیپلوئیدها رفتار می‌کند.

### ساختمان گل

گل‌های بادام زمینی بصورت پاپلیوناسه و زیگومورفیک با ساقه‌ی تحلیل رفته هستند. چیزی که بعنوان ساقه‌ی گل دیده می‌شود، در واقع هیپانثیوم<sup>۱</sup> طویل شده است. کاسبرگ پنج لوب (در دو گروه، یکی و چهارتایی) دارد. گلبرگ استاندارد طیفی از رنگ‌های زرد، نارنجی، نارنجی تیره و در موارد نادر سفید یا کرم رنگ می‌باشد. بال‌ها<sup>۲</sup> عموماً زرد رنگ بوده و در اطراف کیل<sup>۳</sup> پوششی به رنگ زرد کم‌رنگ که بساک‌ها و بخش بالایی خامه و استیگما را محصور می‌نماید) قرار دارند. در هر گل تعداد ده بساک<sup>۴</sup> وجود دارد که از این تعداد، دو تا عقیم و هشت بساک دیگر بارور هستند. در میان بساک‌های بارور، چهار عدد دوکی شکل بوده و چهارتای دیگر نیز بصورت کروی و کوچک هستند. بساک‌های کروی عموماً طول کمتری در مقایسه با بساک‌های دوکی شکل دارند. تخمدان در قسمت زیرین هایپنثیوم مستقر بوده و  $1/5$  میلی‌متر طول دارد و بطور معمول حاوی دو، سه، در برخی موارد چهار و در موارد نادر تا شش تخمک می‌باشد (Ramanatha Rao 1988).

### زیست‌شناسی گل

گلدهی ۳۵-۱۷ روز بعد از ظهور گیاهچه، تحت تاثیر ژنوتیپ و شرایط محیطی آغاز می‌شود. اندازه گل نیز وابسته به دو فاکتور ذکر شده قرار دارند. عموماً دمای پائین سبب تاخیر در گلدهی می‌شود.

غنچه‌ها ۲۴ ساعت پیش از شکوفایی ۱۰-۶ میلی‌متر طول دارند، رشد طولی هایپنثیوم در طول روز آهسته بوده و غنچه به طول ۲۰-۱۰ میلی‌متر می‌رسد. طی شب رشد هایپنثیوم سریعتر می‌شود و طول گل در زمان شکوفایی به ۷۰-۵۰ میلی‌متر می‌رسد (Smith 1950). معمولاً با طلوع خورشید گل‌ها نیز باز می‌شوند. در برخی از واریته‌ها بساک‌ها ۸-۷ ساعت پیش از باز شدن گل شکوفا می‌شود، اما در برخی دیگر، در زمان گلدهی این اتفاق می‌افتد (Bolhuis et al. 1965). استیگما ۲۴ ساعت پیش از بساک آمادگی دریافت گرده را دارد و این دوره در حدود ۱۲ ساعت بطول می‌انجامد (Hassan and Srivastava 1966). درحالی‌که Sastri and Moss (۱۹۸۲) گزارش کردند که استیگما در قبل یا بعد از روزی که بساک شکوفا می‌شود، آمادگی دریافت گرده را ندارد.

شش ساعت بعد از گرده افشانی، باروری (لقاح) رخ می‌دهد. این گیاه عموماً خودگشن می‌باشد، اما در مواردی دگرگشتی نیز مشاهده می‌شود و آن زمانی است که استیگما و بساک از کیل بیرون زدند و شرایط برای فعالیت حشرات گرده افشان فراهم می‌شود. باروری تخمک سبب رشد و طویل شدن مریستم میانی واقع در بخش زیرین تخمدان می‌شود و در شرایط نرمال رشد، ساختار میخ ماندندی بنام پگ، حدود ۶-۴ روز بعد از باروری نمایان می‌شود.

1. Hypanthium
2. Wings
3. Keel

## دورگ گیری در بادام زمینی

برای راحتی عملیات دورگ گیری، بهتر است گیاه را در گلدان کاشته شود و آن ها را بروی سکو یا میز در گلخانه یا فضای باز قرار دهیم. اگر چه گلخانه شرایط کنترل شده‌ی بهتری را فراهم می‌آورد، اما تعداد تلاقی‌ها محدود می‌شود.

## انتخاب والدین

انتخاب والدین اولین و مهمترین مرحله در فرایند دورگ گیری می‌باشد که به اهداف اصلاحی بستگی دارد. والدین به دلایل گوناگونی نظیر بومی بودن انتخاب می‌شوند یا آن‌هایی که دارای ژن‌های مقاومت هستند یا دارای صفات مورفولوژیکی یا فیزیولوژیکی خاص هستند. بر این اساس دانش به‌نژادگران درباره‌ی خصوصیات لاین‌های والدینی و همچنین نحوه تفکیک آنها در نسل‌های پیشرفته، به انتخاب والدین مناسب و تعیین مسیر تلاقی‌ها کمک می‌نماید.

## تکنیک‌های دورگ گیری

فصول بارنگی در سال بهترین زمان برای دورگ گیری در مزرعه می‌باشند، زیرا رطوبت اتمسفر بالاست. در گلخانه یا اتاقک رشد که نور، دما و رطوبت قابل کنترل است، در هر موقع از سال می‌توان عملیات دورگ گیری را انجام داد. دورگ گیری باید در مراحل اولیه گلدهی انجام گردد، زیرا موفقیت نرخ تولید غلاف‌های بالغ از گل‌های تشکیل شده در مراحل اولیه گلدهی بیشتر است (Bear and Bailey 1973, Ramanatha Rao 1988). مهارت تکنسین و شرایط محیطی (بوئیه رطوبت بالا) نرخ موفقیت را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در شروع گلدهی، برای ۱-۲ روز تمام گل‌ها بروی والد مادری برای کمک به تحریک گلدهی فراوان باید حذف شوند.

## دورگ گیری به روش کلاسیک

### عقیم سازی

عقیم سازی یعنی حذف بساک از غنچه‌های گل، پیش از شکفتن آن که به منظور اجتناب از خودگشایی در زمان بعد از ظهر تا عصر انجام می‌شود. در این زمان هاپینتیوم به اندازه‌ی کافی رشد یافته است و می‌توان آن را به راحتی با دست گرفت و عملیات عقیم سازی را انجام نمود. وقتی یک غنچه را برای تلاقی انتخاب می‌نمائیم سایر غنچه‌ها در آن گره باید حذف شوند. با استفاده از پنس گلبرگ‌ها را کنار می‌زنیم و با احتیاط فراوان بساک‌ها را با استفاده از پنس بیرون می‌کشیم. هر نوع آسیب دیدگی به خامه و استیگما، منجر به خسارت و عدم رشد و نمو غنچه می‌گردد.

### گرده افشانی

گرده افشانی مصنوعی در روز بعد از عقیم سازی انجام می‌شود. اغلب غنچه‌ها در زمان طلوع خورشید شروع به شکفتن می‌نمایند، اما گاهی زمان شکفتن گل بدلیل ابری بودن آسمان و دمای پائین در هنگام شب، به تاخیر می‌افتد. گرده افشانی به محض باز شدن گل‌ها بهترین زمان برای دستیابی به تلاقی موفق می‌باشد (حدود شش تا هشت صبح). در این زمان، رطوبت هوا، گرده پذیری استیگما و تازگی گرده در حد بالایی قرار دارد. اگر گرده افشانی به تاخیر بیافتد، شانس موفقیت در تلاقی نیز کاهش می‌یابد.

### بررسی موفقیت تلاقی

اگر گرده افشانی موفقیت آمیز باشد، ۴-۶ روز بعد از باروری پگ ظاهر می‌شود. بازرسی توسعه‌ی پگ هیبرید، باید بطور روزانه انجام شود. در صورتیکه غنچه‌های جدید ظاهر شود می‌بایست آن‌ها را حذف نمود. اگر بعد از دو الی سه هفته بعد از گرده افشانی پگ ظاهر نشود، تلاقی ناموفق تلقی می‌گردد. اگر گل گرده افشانی شده، در گره‌های بالایی قرار داشته باشد، می‌توان با خم کردن شاخه و نگهداشتن آن در نزدیکی زمین، ورود پگ به داخل خاک را تسهیل نمود و یا اینکه از گلدان‌های کوچک در زیر پگ استفاده نمود و این گلدان‌ها می‌بایست بطور مرتب آبیاری شوند.

### برداشت خورجین‌های دورگه

بوته‌ی مادری در زمان رسیدگی یا حداقل ۶۰ روز پس از آخرین گرده افشانی برداشت می‌شود. در هر گره باید یک خورجین وجود داشته باشد و در صورتیکه بیش از یک خورجین در گره‌های مورد نظر مشاهده شود، هر دو خورجین دور ریخته

می‌شوند. خورجین‌های دورگه را در کیسه‌ای از جنس پارچه، بدور از نور آفتاب نگهداری می‌نمائیم تا خشک شود. پس از ثبت شجره تلاق، آنها را در مکانی خنک تا فصل کشت بعدی نگهداری می‌نمائیم.

### تکنیک‌های دورگ‌گیری تغییر یافته

اغلب بهنژادگران از روش سنتی در دورگ‌گیری استفاده می‌نمایند. نرخ موفقیت در دورگ‌گیری در این روش بسته به مهارت بهنژادگر، شرایط محیطی، تلاق در مزرعه یا گلخانه و نوع والدین شرکت‌کننده در تلاق از ۵۰ تا ۹۰ درصد متغیر است. برخی از بهنژادگران با تغییر در شیوه‌ی سنتی تلاق، نرخ موفقیت در تلاق را افزایش دادند.

### تکنیک برش حلقه‌ای<sup>۱</sup>

در این روش که توسط Kale & Mouli (۱۹۸۴) شرح داده شده است، غنچه به طول ۱۶-۱۴ میلی‌متر دارای هایپنثیوم به طول ۱۰ میلی‌متر انتخاب و با نخ رنگی که به دور هایپنثیوم بسته می‌شود، علامت‌گذاری می‌شود. با استفاده از تیغ جراحی در دو-سوم انتهایی از بالا یا دو میلی‌متر از پائین غنچه، برش حلقوی و سطحی ایجاد می‌نمائیم. با استفاده از پنس، بخش‌های برش خورده‌ی گلبرگ و استاندارد را به بیرون ناحیه‌ی برش خورده هدایت می‌نمائیم. با استفاده از پنس، باله‌ها را به عقب رانده می‌شوند. با استفاده از سوزن، برش طولی در کیل ایجاد می‌نمائیم و بساک‌ها با دقت با استفاده از پنس به بیرون هدایت می‌شوند. گرده افشانی با جمع‌آوری گرده والد پدری با استفاده از قلمو یا جمع‌آوری آن با استفاده از پنس و انتقال آن به استیگما انجام می‌شود. پگ‌های دورگه با استفاده از نخ که بدور هایپنثیوم خشک شده قرار دارد، شناسایی شده و به حلقه‌های آلومینیومی کوچک پیش از ورود به خاک وارد می‌شود.

### استفاده از لوله‌ی نی<sup>۲</sup>

---

1. The 'ring cut' technique  
2. Straw tube

این تکنیک توسط Reddy و همکارانش (۱۹۷۰) گزارش شد. با استفاده از تیغ جراحی در ناحیه فرورفته‌ی غنچه برش طولی ایجاد می‌کنیم، بنحوی که گلبرگ استاندارد و بخشی از گلبرگ باله بریده می‌شود. کاسبرگ‌ها و گلبرگ‌ها بجز کیل حذف می‌شوند. طی پروسه‌ی عقیم‌سازی با استفاده از پنس، بساک و مادگی از کیل جدا می‌شود. پس از عقیم‌سازی با استفاده از نی مخصوص نوشیدنی به طول ۴-۵ سانتیمتر وارد غنچه گل عقیم شده می‌شود، انتهای آن جهت عدم گرده افشانی ناخواسته خم می‌شود. در هنگام گرده افشانی لوله برداشته شده و پس از گرده افشانی با لوله‌ی جدید جایگزین می‌شود.

#### با استفاده از حوله‌ی کاغذی

این تکنیک توسط Norden and Rodriguez (۱۹۷۱) گزارش گردید. در فرایند عقیم‌سازی، ابتدا بخش پائینی کاسبرگ (Calyx)، سپس باله‌ها و کیل حذف می‌شوند. گلبرگ استاندارد پس از حذف بساک‌ها به مکان اصلی خود برگردانده می‌شود و استیگما را می‌پوشاند. گل‌های عقیم شده با نخ رنگی کوچک نشانه گذاری می‌نمائیم. گرده افشانی در صبح روز بعد با فشردن گرده روی پنس و انتقال آن بروی استیگمای گل عقیم، انجام می‌شود. بلافاصله پس از گرده افشانی با استفاده از دستمال کاغذی مرطوب شده (به ابعاد ۱۲\*۱۲ سانتیمتر)، گل‌ها را می‌پوشانیم. یک شکاف در لبه‌ی کاغذ ایجاد می‌گردد تا میان ساقه و محور برگ قرار گیرد. کاغذ مرطوب شده شرایط محیطی مساعدی را برای جوانه زنی و رشد گرده بروی استیگما فراهم می‌آورد. پگ هیبرید با استفاده از سیم تلفن پیش از نفوذ به خاک علامت گذاری می‌گردد.

#### منبع

Nigam, S.N., Vasudeva Rao, M. J., and Gibbons, R. W. 1990. **Artificial Hybridization in Groundnut**. Information Bulletin no. 29. Patancheru, A.P. 502 324, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.