

تلاقی بین گونه‌ای در جنس لولیوم^(۱) *Lolium spp.*

حسین میرزایی ندوشن^(۲)

چکیده

این تحقیق به منظور انجام تلاقی بین گونه‌ای و تولید بذر دورگ، میان گونه‌های *L. perenne* و *L. rigidum* صورت گرفت. به این منظور در مزرعه و آزمایشگاه اقدام به انجام تلاقی به ترتیب روی بوته‌های کامل و ساقه‌های گل دهنده پای در آب گونه‌های مورد نظر گردید. بذرهای نارس حاصل از تلاقی روی ساقه‌های حامل گل در آزمایشگاه بیست روز پس از انجام تلاحیها از گل آذین جدا شده و با سترون کردن کامل در محیط کشت MS کاشته شدند. به تعداد کافی نشا دورگ در محیط کشت پرورش داده شده و پس از چهار برگی شدن به گلدان حاوی خاکی که با بخار آب سترون شده بود منتقل گردیدند. گلدانهای حاوی این گیاهچه‌ها، به مدت دو هفته با کیسه پلاستیک پوشانده شدند و با سازگاری تدریجی به محیط آزاد به مدت دو ماه نیز در شرایط اتاق رشد نگهداری شدند و پس استقرار کامل به مزرعه منتقل گردیدند. در مقایسه با والدین مادری و پدری، رفتارهای بینابینی در بوته‌های کامل دورگ مشاهده گردید.

کلید واژه‌ها: تلاقی بین گونه‌ای، لولیوم، *L. perenne* و *L. rigidum*

۱ - مقاله حاضر حاصل بخشی از نتیجه یک طرح تحقیقاتی ملی مصوب و حمایت شده توسط دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد

۲ - عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، وزارت جهاد کشاورزی، صندوق پستی

مقدمه و کلیات

گونه‌های مختلف لولیوم به دلایلی متعدد اهمیت زیادی در تولید علوفه مورد نیاز در سیستم‌های دامداری متمرکز و غیر متمرکز دارند و این گونه‌های گیاهی ضمن خوشخوراک بودن برای دام می‌توانند به گونه‌ای در مراتع بکار گرفته شوند که ضمن تأمین علوفه مورد نیاز، در فصولی از سال که سایر گونه‌های مرتعی قادر به تولید نیستند، رشد نموده و تولید علوفه مناسبی نیز داشته باشند. بکارگیری گونه‌ها و ارقام مختلف لولیوم با ویژگی‌های متفاوت از جمله سطوح مختلف پلوئیدی می‌تواند ضمن گسترش دامنه کشت آنها در افزایش تولید در واحد سطح نیز مؤثر باشد. گونه‌ای یکساله از لولیوم با نام *Lolium multiflorum* به دلیل قابلیت رشد در خلال دوره‌های سرد زمستان می‌تواند حتی در مناطق سردی که در بخشی از سال از برف پوشیده شده‌اند مورد کشت و کار قرار گرفته و به دلیل مقاومت زیاد به سرما دارای تولید بالایی از علوفه نیز باشند (Kobayashi و Tase، ۱۹۹۳).

از مهمترین اهداف اصلاحی لولیوم و سایر گراسها، علاوه بر افزایش عملکرد علوفه، افزایش مقاومت به سرما، گرما، خشکی و بیماریها می‌باشد. صفات دیگری از قبیل افزایش سرعت رشد در اوایل بهار و پاییز، دیر زیستی و توسعه فصل چرا، بهبود کیفیت علوفه و مقاومت به چرای دام جزء صفات اصلاحی گراسهای علوفه‌ای می‌باشند. بهر حال، افزایش عملکرد علوفه در واحد سطح، همیشه از مهمترین اهداف در اصلاح نباتات بوده است. در جنس *Lolium* گونه‌های مختلف دارای ویژگی‌های متفاوتی هستند که در صورت تجمع این صفات در واریته‌ای از یک گونه دائمی این جنس می‌تواند در افزایش سطح و دوره تولید مؤثر واقع شود. به همین دلیل انجام تلاقیهای بین گونه‌ای به منظور تولید دورگهای بین گونه‌ای می‌تواند در رسیدن به هدف مذکور مؤثر واقع شود. آمیزشهای بین گونه‌ای در هر دو سطح دیپلوئید و پلی دیپلوئید اهمیت دارند. به عنوان نمونه هیبریدهای تتراپلوئید گونه‌های *L. multiflorum* و

L. perenne را می‌توان نام برد که توانایی مقاومت و پنجه‌زایی یک والد را با تولید زیاد و ارزش غذایی والد دیگر ترکیب می‌نماید. اینک با استفاده از مادهٔ کلشیسین حتی آمیزش‌های بین جنسی نیز امکان‌پذیر است، به عنوان مثال می‌توان صفات و مقاومت به سرمای گونه *Festuca arundinacea* ($2n=42$) را با صفت خوشخوراکی از گونه *L. multiflorum* ($2n=14$) ترکیب نمود.

در مورد برتری دورگ‌های حاصل از تلاقی بین گونه‌ای و بین جنسی گزارش‌های متفاوتی داده شده است. از جمله در زمینه خوشخوراکی علوفه حاصل از دورگ‌های بین دو جنس لولیوم و فستوکا، و گونه‌های والدینی، میزان علوفه چرا شده از دورگ مذکور توسط دام بیش از علوفه چرا شده از گونه‌های والدینی بوده است (Faber و Hrivank، ۱۹۹۰).

همین‌طور از دورگ‌های حاصل از تلاقی‌های بین گونه‌ای جهت تولید جامعه‌های گیاهی با اساس ژنتیکی گسترده به منظور رسیدن به اهداف اصلاحی نیز استفاده شده است. به عنوان نمونه Buckner و همکاران (۱۹۸۱) از کلن‌های حاصل از بیست و یک دورگ بین دو جنس *Festuca* و *Lolium* جهت ایجاد خزانه پلی‌کراس و ارزیابی وراثت‌پذیری صفات در جامعه گیاهی حاصل در دو محیط متفاوت پرداختند.

از نظر ظرفیت پنجه‌زنی در دورگ‌های حاصل از تلاقی بین گونه‌های مختلف از جنس لولیوم نیز مطالعاتی انجام شده و برتری‌هایی در دورگ‌ها مشاهده گردیده است. از آن جمله تحقیقی است که توسط Williams (۱۹۷۳) انجام شده است. وی در مقایسه‌ای که میان واریته‌هایی از چند گونه انجام داد، واریته‌ای از دورگ بین دو گونه *Lolium prene* و *Lolium italicum* را نیز در مقایسه‌های خود قرار داده و مشاهده نمود که این دورگ از نظر ظرفیت پنجه‌زنی و تولید پوشش متراکم، برتر از سایر گونه‌ها و واریته‌های مورد مطالعه است.

مواد و روشها

چند نمونه (Accession) از گونه‌های مختلف از جنس *Lolium* از جمله گونه‌های *L. rigidum* و *L. perenne* از بانک ژن منابع طبیعی وابسته به مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع ایران دریافت گردیده و در یک آزمایش مزرعه‌ای مورد مطالعات مقدماتی قرار گرفتند. در زمان گلدهی دو گونه مورد نظر ضمن انجام تلاقیهای متقابل در مزرعه، ساقه‌های گل دهنده از بوته جدا شده و پس از قرار دادن در بالن شیشه‌ای محتوی آب، در آزمایشگاه اقدام به برداشتن کیسه‌های گرده از گل‌های تعدادی از بوته‌های هر دو گونه گردید (شکل شماره ۱). لازم به توضیح است که در مدت نگهداری ساقه‌های گل دهنده در آزمایشگاه، از پمپ آکواریوم جهت هوا دهی فضای داخل ظرفها استفاده گردید. پس از گذشت بیست روز از انجام تلاقیها در آزمایشگاه، بذره‌های نارس از گل خارج شده و به شرح زیر سترون گردیدند:

- سترون سطحی بذره‌های نارس با استفاده از کلرید جیوه ۱/۰٪ به مدت ۵ دقیقه

- دو بار شستشوی بذره‌های نارس با آب مقطر سترون

- انتقال بذرها به محیط کشت MS در شرایط کاملاً سترون

محیط کشت MS، (Murashige و Skoog ۱۹۶۲) با ترکیبی که در جداول شماره ۱ و ۲ ارائه گردیده است (جعفری مفید آبادی، ۱۳۷۹) در کشت بذره‌های نارس مورد استفاده قرار گرفت (شکل شماره ۲). در واقع با استفاده از تکنیک نجات جنین، بذره‌های نارس از ساقه گل دهنده جدا شده و در محیط کشت مذکور به گیاه کامل تبدیل گردیدند. گیاهچه‌های حاصل پس از چهار برگی شدن به گلدان حاوی خاکی که با بخار سترون شده بود منتقل گردیدند (شکل شماره ۳). جهت سازگاری گیاهچه‌ها با شرایط خارج از شیشه کشت^(۱) گلدانهای حاوی این گیاهچه‌ها، به مدت دو هفته با کیسه پلاستیک

پوشانده شدند و به تدریج با سوراخ کردن کیسه‌ها به طور کامل از روی گلدان برداشته شدند. گلدانهای مذکور به مدت دو ماه در شرایط مصنوعی با دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۲/۱۲ ساعت روز و شب نگهداری شدند تا ضمن استقرار کامل قبل از به گل رفتن پنجه کافی تولید نمایند (شکل شماره ۴).

نتایج

در نتیجه تلاقیهای انجام شده در آزمایشگاه و استفاده از تکنیک نجات جنین، به روشی که در قسمت مواد و روشها اشاره گردید در نهایت تعداد دوازده بوته کامل حاصل گردید که پس از سازگار کردن با شرایط محیطی و استقرار و تولید پنجه کافی سرانجام در بهار سال ۱۳۸۱ به مزرعه منتقل گردیدند.

در نتیجه تلاقیهای انجام شده در مزرعه تعداد معدودی بذر حاصل گردید و با توجه به این که تلاقیهای انجام شده در آزمایشگاه به دلیل احتمال کمتر آلودگی به گرده‌های ناخواسته جهت تولید گیاهان F1 مورد استفاده قرار گرفتند.



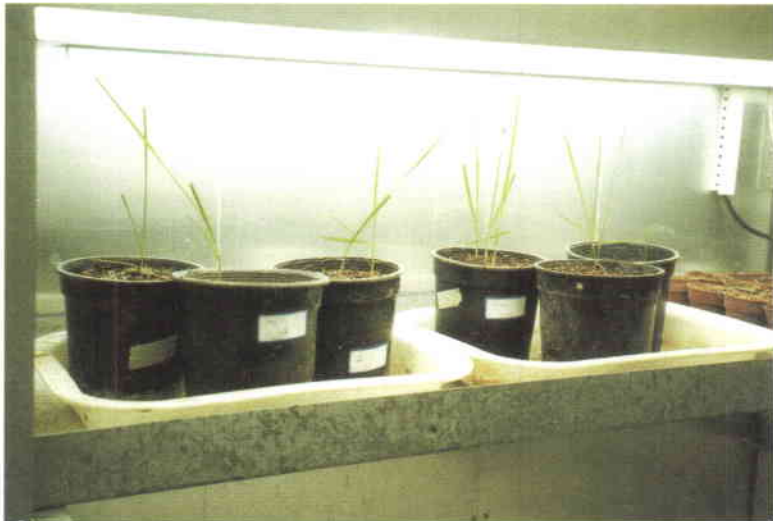
شکل شماره ۱: انجام تلاقیهای بین گونه‌ای در شرایط آزمایشگاهی در شرایطی که ساقه‌های حامل گل پایه‌های مادری پای در آب نگهداری می‌شدند.



شکل شماره ۲: کشت بذرهای نارس در محیط کشت MS و تولید گیاه کامل.



شکل شماره ۳: انتقال گیاهان به گلدان و انجام عمل سازگاری با شرایط محیطی



شکل شماره ۴: نگهداری دورگها در اتاق رشد جهت اطمینان از استقرار کامل

سپاسگزاری

از سرکار خانم مهندس فرشته اسدی کرم و سرکار خانم مهندس هاجر ندرخانی که در اجرای این تحقیق اینجانب را یاری نموده‌اند کمال تشکر را دارم. از مسئولان محترم مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع که بخشی از امکانات فنی اجرای این تحقیق را سخاوتمندانه در اختیار گذاشتند نیز کمال تشکر را دارم.

منابع

- Buckner, R.C., P.B. Burrus, P.L. Cornelius, L.P. Bush, and J.E. Leggett, 1981. Genetic variability and heritability of certain forage quality and mineral constituents in *Lolium-Festuca* hybrid derivatives. *Crop Science*, 21: 419-423.
- Hrivnak, J., and M. Faber, 1990. Palatability and intake of herbage of some grass cultivars. *Scientia Agriculturae Bohemoslovaca*. 22: 109-114.
- Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant*, 15: 473-497.
- Tase, K. and M. Kobayashi, 1993. Assessment of freezing tolerance and changes of protein pattern in Italian ryegrass after cold hardening. XVII International Grassland Congress, Vol. 1: 433-434.
- Williams S., 1973. The seed producing characteristics of some recently developed herbage varieties. Aberystwyth, Welsh Plant Breeding Station, UK.

Inter-specific hybridization between *Lolium* species.

Hossein Mirzaie-Nodoushan⁽¹⁾

Abstract

This research was carried out to produce interspecific hybrid seeds between the two species of *Lolium*, *L. perenne* and *L. rigidum*. Crossing was done on both single plants in the field and cut flowering stems in laboratory. Immature seeds were collected on the stems in the laboratory after twenty days. These were cultured on MS medium after sterilization. Enough hybrid seedlings were raised on the medium in the laboratory. When the seedlings grown to four leaves stage, they were transferred to plastic pots containing steam sterilized soil. These pots were covered by plastic bags for two weeks for acimatization. Then the pots were kept in a growth chamber for two months. After complete establishment, the plants were transplanted to the field. Intermediate behaviors was observed on the adult hybrid plants.

Key words: Interspecific hybridization, *Lolium perenne* and *L. rigidum*