

Scientific Short Article

کارایی روش‌های مختلف اخته کردن کاهو (*Lactuca sativa* L.) به منظور تولید بذر هیبرید

Efficiency of Different Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Emasculation Methods for Hybrid Seed Production

پیام خطیب^۱، جمال‌علی الفتی^۲ و یوسف حمیداوغلی^۳

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار ودانشیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۲۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۷

خطیب، پ الفتی، ج. و حمیداوغلی، ی. ۱۳۹۵. کارایی روش‌های مختلف اخته کردن کاهو (*Lactuca sativa* L.) به منظور تولید بذر هیبرید. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۳۲: ۱۴۶-۱۴۱.

کاهو گیاهی خودگشن (در حدود ۹۸٪) است و بسته به شرایط کشت هر بوته بین ۰/۵ تا ۶ گرم و گاهی تا ۱۰ گرم بذر تولید می‌کند (Hervé, 2010). کلاله در زمان خارج شدن از لوله بساک‌ها به گرده‌های خودی آغشته می‌شود در نتیجه در فاصله کوتاهی که قدرت پذیرش پیدا می‌کند با گرده‌های خودی که به آن‌ها آغشته شده بارور می‌شود (Davey et al., 2007). بنابراین ساختمان گل خودگشنی را در کاهو تشویق می‌کند. با این حال عامل بازدارنده اصلی برای کاربرد وسیع‌تر از هیبرید، هزینه بالای گرده افشانی دستی برای تولید آن‌هاست که این امر می‌تواند انگیزه

به‌نژادی را در این گیاه کاهش دهد. برای بررسی کارایی روش‌های مختلف اخته کردن باید از صفاتی که دارای غالبیت هستند و وراثت پذیری ساده‌ای دارند استفاده کرد. در مطالعات قبلی مشخص شده که در کاهو رنگ برگ قرمز نسبت به سبز (Thompson, 1938)، شکل برگ مجعد (بریده) نسبت به صاف (Lindqvist, 1960) و رنگ بذر بالغ سیاه نسبت به نوع سفید و زرد (Durst, 1930) غالب است. اصلاح سبزی‌ها در ایران در مراحل ابتدایی است و تجربه عملی کافی در این زمینه وجود ندارد. بر همین اساس این آزمایش برای بررسی کارایی روش‌های فیزیکی و شیمیایی در

اخته کردن کاهو برای تولید بذر هیبرید انجام شد.

این پژوهش طی دو مرحله انجام شد. در مرحله اول در اسفند ۱۳۹۱، بذر بیست رقم کاهو از منابع مختلف جمع‌آوری و برای تهیه نشاء به صورت جداگانه و خطی در گلخانه دانشگاه گیلان کاشته شدند. براساس بررسی‌های فنوتیپی، ارقامی که دارای رنگ برگ قرمز یا شکل برگ بریده یا بذر سیاه بودند به عنوان والد پدری و ارقامی که دارای رنگ برگ سبز یا شکل برگ غیر بریده یا بذر سفید/زرد بودند به عنوان والد مادری استفاده شدند. در مرحله دوم با توجه به تعداد محدود بوته‌های هر رقم، آزمایش به دو قسمت تقسیم شد و در هر آزمایش چند روش اخته کردن روی یک ترکیب والدینی خاص اجرا شد. در تمامی روش‌ها حدود یک تا نیم ساعت قبل از طلوع آفتاب، جوانه گل‌هایی که در آن روز باز می‌شدند برای اخته کردن و گرده‌افشانی انتخاب شدند (Nagata, 1992). در آزمایش اول اخته کردن با روش‌های شستشو با آب، انبرک و ترکیب آب و انبرک به همراه شاهد (بدون اخته کردن) در قالب آزمایش فاکتوریل با پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی روی رقم‌های Paris Island و شیخ عبود فارس به عنوان والد مادری انجام شد. این آزمایش دارای دو عامل روش اخته کردن و ترکیب والدین تلاقی بود. گل‌های تیمار شده و شاهد با گرده رقم Aviflora 2680 به عنوان والد نر گرده‌افشانی

شدند. در هر تکرار سه بوته از ارقام مادری اخته و سپس گرده‌افشانی شدند. در آزمایش دوم از محلول پاشی اسید جیبرلیک با سطوح ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ پی پی ام و شاهد آب خالص در مراحل مختلف رشد جوانه گل برای اخته کردن استفاده شد (Eenink, 1977). بدین صورت که برای هر سطح سه بار به قواصل هر دو روز یک بار محلول پاشی صورت انجام شد که هر سطح دارای سه تکرار (بوته) بودند. بعد از اعمال تیمارها، یک بار سه و بار دیگر شش روز بعد از آخرین محلول پاشی دورگ گیری انجام شد. دو و پنج روز بعد از آخرین محلول پاشی گرده گیری و بررسی جوانه‌زنی گرده‌ها انجام شد. جوانه زنی گرده‌های بوته‌های تیمار شده با جیبرلیک اسید در تشتک‌های پتری حاوی محیط رشد گرده (۴۰٪ ساکاروز + ۱۰۰ پی پی ام اسید بوریک + ۱۰۰ پی پی ام کلسیم نترات + آب) بررسی شد. این آزمایش که فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی بود دارای دو عامل غلظت و مراحل بود در این طرح از رقم TN-96-16 به عنوان والد پدری و از رقم کاهو پیچ معمولی لنگرود به عنوان والد مادری استفاده شد. حدود دو هفته پس از گرده‌افشانی بذرها جمع‌آوری شدند. بذرها برداشت شده در دمای اتاق خشک شدند و میزان رطوبت آن‌ها به ۵-۸٪ رسید (George, 1999). برای پس‌رسی، بذرها به مدت دو ماه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۳۰٪ قرار گرفتند. بذرها را در گلخانه‌ای پلاستیکی در

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که روش اخته کردن تاثیر معنی‌داری بر درصد بذره‌های هیبرید تشکیل شده داشت در حالی که تغییر والد کرده دهنده تاثیر معنی‌داری بر درصد بذره‌های هیبرید نداشت. اثر متقابل نوع تلاقی و روش اخته کردن هم تاثیر معنی‌داری بر درصد بذر هیبرید نداشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای اخته کردن وجود نداشت و اختلاف موجود بین روش‌های اخته کردن و شاهد بود. در هر سه روش اخته کردن استفاده از انبرک، شستشو و ترکیب این دو نزدیک به ۹۰ درصد بذر تشکیل شده هیبرید بودند (جدول ۱).

شهرستان جویبار کاشته و از نظر صفات شکل و رنگ برگ بررسی شدند. در این مرحله تمام بذر گل‌هایی که بعد از اخته کردن و تلاقی مختلف به دست آمده بودند به همراه بذر والدین آن‌ها در خطوط جداگانه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی کاشته شدند. بعد از این که نتایج به مراحل ۳-۴ برگی رسیدند، گیاهچه‌هایی که حاصل دگرگشتی (هیبرید) بودند از روی رنگ برگ قرمز، شکل برگ مجعد و بذر سیاه کامل (در نسل بعد) از گیاهچه‌های خویش آمیخته شناسایی شدند و بر این اساس درصد بذر هیبرید که نشان از کارایی روش‌های اخته کردن بود محاسبه شد.

جدول ۱- مقایسه میانگین درصد بذره‌های هیبرید تولید شده در روش‌های اخته کردن کاهو
Table 1. Mean comparison of percentage of hybrid seeds in different emasculation methods

Emasculation method	روش اخته کردن	درصد بذر هیبرید Hybrid seed (%)
Forceps + Washing	انبرک + شستشو	95.942a
Forceps	انبرک	92.953a
Washing	شستشو	89.003a
Control	شاهد	14.625b

میانگین‌ها با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.
Means followed by similar letters are not significantly different at 1% probability level.

(Nagata, 1992) نیز نشان داد که روش شستشو ۹۸٪ بذر هیبرید تولید می‌کند و روش سریع و آسانی است که خودگشتی تصادفی را حذف می‌کند. گزارش‌های قبلی حاکی از آن بود که با استفاده از روش انبرک می‌توان تا ۱۰۰٪

رایدر (Ryder, 1999) معتقد است روش شستشو اگر به درستی انجام شود حدود ۲۵ تا ۷۵٪ تلاقی ایجاد می‌کند در صورتی که در این آزمایش حدود ۸۹ درصد بذر هیبرید تولید شد. نتایج حاصل از تحقیقات ناگاتا

جیبرلین و اثر متقابل غلظت و مرحله کاربرد جیبرلین تأثیری بر درصد بذره‌های هیبرید نداشتند، بنابراین تلاقی در مراحل ۳ روز و ۶ روز بعد از آخرین محلول‌پاشی تأثیری بر درصد بذره‌های هیبرید نداشت. بیشترین درصد بذر هیبرید (حدود ۸۵ درصد) با کاربرد ۲۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلین و بیشترین درصد گرده‌های نابارور (حدود ۸۰ درصد) نیز با کاربرد ۲۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلین به دست آمد (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف جیبرلین بر درصد گرده‌های نابارور همسو با نتایج درصد بذره‌های هیبرید بود و از نظر درصد گرده‌های نابارور بین سطوح مختلف کاربرد جیبرلین تفاوت معنی‌دار نبود اما به غیر از تیمار ۵۰ پی‌پی‌ام، بقیه سطوح با شاهد در سطح ۱ درصد تفاوت داشتند (جدول ۲).

دگرگرده‌افشانی ایجاد کرد (Watts, 1975)، در صورتی که در این آزمایش ۹۲/۵۹ درصد دگرگشتی ایجاد شد (جدول ۱). باقی ماندن گرده‌ها روی کلالة و سقط شدن تخمدان می‌تواند مانع بزرگی در تشکیل هیبرید در این روش باشد. ترکیب روش انبرک و شستشو که به عنوان روش جدیدی است، ۹۵/۹۴ درصد هیبرید تولید کرد. در آزمایش اول، حداکثر کارایی اخته‌کردن با جداسازی بساک و شستشوی گرده‌های احتمالی توسط روش انبرک و شستشو به دست آمد اما از آن‌جا که بین روش‌ها تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود نداشت، می‌توان روش شستشو را نیز به عنوان آسان‌ترین روش توصیه کرد.

غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید (جیبرلین) در آزمایش دوم تأثیر معنی‌داری بر درصد بذره‌های هیبرید داشت مرحله کاربرد

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد بذر هیبرید و درصد گرده‌های نابارور در غلظت‌های مختلف جیبرلیک اسید در کاهو

Table 2. Mean comparison of percentages of hybrid seeds and non-fertile pollens in different concentrations of gibberellic acid in lettuce

غلظت جیبرلیک اسید	درصد بذر هیبرید	درصد گرده‌های نابارور
Gibberellic acid concentrations (ppm)	Hybrid seed (%)	Non-fertile (%)
200	84.69a	80.37a
100	56.00b	75.06a
50	19.23c	70.65ab
0	10.31c	49.58b

میانگین‌ها با حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Means followed by similar letters are not significantly different at 1% probability level.

بر گل‌های گیاهان مختلف انجام شده است. اثر

قبلاً تحقیقاتی در مورد اثر نرعی جیبرلین

(Bennekom and Meer, 1982). در این آزمایش مشخص شد که بساک‌های نمو یافته بعضی از گل‌های نر عقیم چروکیده بودند و دانه گرده کمی داشتند که هیچ‌وقت آزاد نمی‌شدند، در موارد دیگر نیز بساک‌ها یا کاملاً وجود نداشتند یا در حالت ابتدایی بودند. جوانه‌های کوچک‌تر و آن‌هایی که بعد از پاشیدن جیبرلین به وجود آمدند به گل‌های بارور کامل تبدیل شدند و درصد بذر هیبرید در آن‌ها پایین بود.

زمان و نحوه گرده‌افشانی عامل خیلی مهمی در ایجاد تلاقی‌های موفق است به طوری که همواره مشاهده شده که اگر گرده‌افشانی زودتر از موعد انجام شود آزاد نشدن و عدم جوانه‌زنی گرده را به دلیل رطوبت بالا به دنبال دارد. به طور کلی در سه روش شستشو، انبرک و ترکیب آن دو، روی تک تک گل‌ها باید فرایند اخته انجام شود که کاری زمان‌بر و طاقت‌فرساست و نیاز به مهارت فنی و کارگر، به خصوص موقعی که اندازه گل کوچک است و تعداد پرچم زیاد است دارد. با وجود اخته کردن صحیح، درصد بالایی از خود گرده‌افشانی ممکن است بعد از تلاقی روی دهد. اگر روش‌ها با دقت انجام نشوند احتمال سقط جنین یا تخمدان بالاست. اما در روش جیبرلین می‌توان به صورت گسترده‌ای بوته‌ها را اخته کرد هر چند انجام این کار هزینه بالایی دارد.

جیبرلین بر عقیم نمودن گل‌های پیاز (Meer and Bennekom, 1973)، کاهو (Eenink and Vereyken, 1978) و کلم (Eenink, 1977) بررسی شده است. (Meer and Dam, 1979) در آفتاب‌گردان به‌عنوان گیاه هم‌خانواده با کاهو، کاربرد جیبرلیک اسید به میزان ۰/۲۵ تا ۰/۵۰ میلی‌گرم در آغاز نمو جوانه، ۹۰ تا ۱۰۰ درصد نر عقیمی ایجاد کرد (Schuster, 1961). اگرچه در این آزمایش ۸۵ درصد بذر هیبرید با کاربرد سطح ۲۰۰ پی‌پی‌ام تولید شد اما توانست تا حدودی با نتایج حاصل از گیاه آفتاب‌گردان نزدیک باشد که با محلول پاشی رقیق‌تر توانست درصد بذر بیشتری نسبت به کاهو تولید کند.

اگرچه اثر مرحله کاربرد جیبرلین بر درصد بذره‌های هیبرید و گرده‌های نابارور کاهو غیر معنی‌دار بود اما تیمارهای یکسان در مرحله اول (۳ روز و ۲ روز قبل از گرده‌افشانی/گرده‌گیری) نسبت به مرحله دوم (۶ روز و ۵ روز قبل از گرده‌افشانی/گرده‌گیری)، به طور جزئی کارایی بیشتری داشت. مرحله کاربرد، جیبرلیک اسید عامل بحرانی مهمی برای نر عقیمی کامل است و بررسی تاثیر مراحل دیگر در آزمایش‌های بعدی ضروری است. احتمالاً علت آن به خاطر کاهش بیشتر تقسیم میوز یا تاثیر بر جوانه‌زنی گرده باشد

واژه‌های کلیدی: کاهو، اخته کردن، جیبرلین، هیبرید، تلاقی، گرده‌افشانی دستی.

References

- Bennekom, J. L. van., and Meer, Q. P. van der 1982.** Gibberellins as gametocides for the common onion (*Allium cepa* L.). III. GA7+4 and pollen viability. *Euphytica* 31: 503-506.
- Davey, M. R., Anthony, P., van Hooff, P., Power, J. B., and Lowe, K. C. 2007.** Biotechnology in Agriculture and Forestry. Transgenic Crops. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
- Durst, C. E. 1930.** Inheritance in lettuce. Illinois Agricultural Experimental Station, Bulletin No. 356. Illinois, USA.
- Eenink, A. H. 1977.** Induction of male sterility in lettuce (*Lactuca sativa* L.) by application of gibberellic acid: a technical note. *Euphytica* 26: 31-32.
- Eenink, A. H., and Vereyken, A. L. J. 1978.** Induction of male sterility in lettuce *Lactuca sativa* L. with GA₃; influence of temperature and GA₃ concentration. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 6 (1): 45-50.
- George, R. A .T. 1999.** Vegetable Seed Production. CAB International, Wallingford, UK.
- Hervé, M. 2010.** Production of hybrid *Lactuca sativa* seeds. Retrieved March 29, 2014, google patents, from <http://www.google.com/patents/US20100306882>.
- Lindqvist, K. 1960.** Inheritance studies in lettuce. Inheritance of lobed leaf form in *Lactuca*. Hilleshog Sugar Beet breeding Institute, Landskrona, Sweden.
- Meer, Q. P. van der, and Bennekom, J. L. van. 1973.** Gibberellic acid as a gametocide for the common onion (*Allium cepa* L.). *Euphytica* 22: 239-243.
- Meer, Q. P. van der, and Dam, R. van. 1979.** Gibberellic acid as a gametocide for cole crops. *Euphytica* 28: 717-722.
- Nagata, R. T. 1992.** Clip and wash method of emasculation for lettuce. *HortScience* 27(8): 907-908.
- Ryder, E. J. 1999.** Lettuce, Endive and Chicory. CABI Publishing, Wallingford, UK.
- Schuster, W. 1961.** Untersuchungen uber kunstlich induzierte pollen sterilitat bei sonnenblumen (*Helianthus annuus* L.). *Zeitschrift fur Pflanzenzucht* 46: 389-404.
- Thompson, R. C. 1938.** Genetic relations of some color factors in lettuce. U. S. Department of Agriculture, Technical Bulletin No. 620, Washington D. C., USA.
- Watts, L. E. 1975.** The response of various breeding lines of lettuce to *Beet western yellows virus*. *Annals of Applied Biology* 81: 393-398.