تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۶ شماره ۴، زمستان ۹۲

تاثیر بنزیل آدنین و ایندول استیک اسید بر امکان نجات جنین نتاج حاصل از تلاقی ارقام انگور عسکری و رابی سیدلس

میترا رازی[۱]*، رسول جلیلی‌مرندی[۲]، حامد دولتی بانه[۳]، بهمن حسینی[۴]، مهران جعفری[۵] و رامین حاجی‌تقی‌لو[۶]

۱*- **نویسنده مسؤول:** دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد، گروه باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، (r. jalili@urmia.ac.ir)

۲، ۴ و۶- به ترتیب دانشیار، استادیار و کارشناس ارشد گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- استادیار پژوهشی، مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه

۵- استادیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۴ تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۱۴

چکیده

مصرف‌کنندگان در سراسر جهان به طور فزآینده انگورهای رومیزی بیدانه را ترجیح می‌دهند. از این رو، هدف برنامه‌های اصلاح انگور در راستای توسعه ارقام جدید بیدانه با کیفیت میوه بهتر، حبه درشت‌تر و عملکرد بالا می‌باشد. در این پژوهش تاثیر محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین در مرحله قبل از گل‌دهی و ایندول‌استیک اسید موجود در محیط کشت بر نجات جنین هیبرید عسکری × رابی‌سیدلس مورد بررسی قرار گرفت. محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین (صفر و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر) به ترتیب ١٤ و ۷ روز قبل از اخته‌کردن گل‌های رقم عسکری انجام گرفت. تخمک-های حاصل از تلاقی عسکری × رابی‌سیدلس ٤٠ روز بعد از باز شدن گل از درون حبه‌ها بیرون آورده شد و سپس بر روی محیط کشت نیچ و نیچ حاوی ۰/۳۵ میلی‌گرم در لیتر GA3، ۲ گرم در لیتر ذغال فعال، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار و غلظت‌های مختلف ایندول‌استیک اسید (۱، ۱/۷۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) کشت گردید. صفات مورد بررسی شامل تخمک‌های کالوس داده و تخمک‌های جوانه‌زده بود. نتایج نشان داد که اثر غلظت‌های متفاوت ایندول‌استیک اسید بر تشکیل کالوس در تخمک‌ها معنی‌دار بود و بیشترین تشکیل کالوس در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید مشاهده گردید. بر اساس نتایج بدست آمده اثر متقابل غلظت‌های مختلف ایندول‌استیک اسید و بنزیل‌آدنین بر درصد جوانه‌زنی تخمک معنی‌دار بود و بیشترین درصد جوانه‌زنی تخمک (۱۰/۵۵ درصد) در ۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید با محلول‌پاشی ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل-آدنین در مرحله سبز روشن غنچه ها بدست آمد.

کلید واژه‌ها: انگور، نجات جنین، محیط کشت، ایندول‌استیک اسید، بنزیل‌آدنین

مقدمه

بیدانگی یکی از مهمترین خصوصیات کیفی انگور است که مورد پسند مردم به منظور مصارف تازه‌خوری و کشمشی می‌باشد. حدود ۸۰ درصد انگورهای تازه‌خوری جهان را انگورهای بیدانه تشکیل می‌دهند (استریم و همکاران[۱]، ۱۹۹۲؛ لدبتر و بورگوس[۲]، ۱۹۹۴؛ عرفانی مقدم و همکاران،۱۳۸۷). اصلاح انگورهای بیدانه از طریق تلاقی بیدانه و بیدانه به منظور دستیابی به ارقام جدید بیدانه با ویژگی‌های کیفی مطلوب صورت می-گیرد. اصلاح انگورهای بیدانه از طریق تلاقی بیدانه و بیدانه و یا تلاقی بیدانه و دانه‌دار به منظور دستیابی به ارقام جدید بیدانه با ویژگی‌های مطلوب صورت می‌گیرد. در تلاقی بیدانه و دانه‌دار درصد نتاج بیدانه کم است ولی در تلاقی بیدانه و بیدانه درصد بیشتری از نتاج بیدانه می‌شوند

1- Striem *et al.*
2- Ledbetter & Burgos

(امرشاد و رامینگ[1]، ۱۹۸۴؛ ترسا و همکاران[2]، ۲۰۰۲). بیدانگی در انگور به دو صورت بکرباری حقیقی[3] و بکرباری کاذب وجود دارد (عبادی و همکارن، ۱۳۸۱؛ تیان و همکاران[4]، ۲۰۰۸؛ جلیلی‌مرندی، ۱۳۸۹). در حالت بکرباری حقیقی میوه بدون عمل لقاح تشکیل می‌شود ولی در حالت بکرباری کاذب با وجود اینکه عمل لقاح انجام می‌شود، رشد بذر در مراحل اولیه متوقف شده و جنین سقط می‌شود (عبادی و همکاران،۱۳۸۰؛ جلیلی مرندی، ۱۳۸۹). برخی محققان بکرباری کاذب را یک صفت قابل توارث گزارش نموده‌اند و عقیده بر این دارند که ژن‌های غالب و فاکتورهای متعدد دیگر، صفت بکرباری کاذب را تحت تاثیر قرار می دهند (لدبتر و رامینگ[5]، ۱۹۸۹؛ باکویت و دانگلت[6]، ۱۹۹۶). به نظر پژوهشگران یکی از علل بکرباری کاذب در ارقام انگور، تخریب اندوسپرم و به دنبال آن توقف رشد جنین می‌باشد (عبادی و همکاران، ۱۹۹۶؛ کلینگلرفر[7]، ۱۹۹۸). علت اصلی این پدیده به طور دقیق مشخص نمی‌باشد. براساس اظهار برخی از پژوهشگران این پدیده می‌تواند ناشی از عدم تعادل هورمونی در بافت‌های والد مادری در طی مراحل اولیه رشد بذر باشد (ترسا و همکاران، ۲۰۰۲).

در تحقیقات قبلی به منظور اصلاح انگورهای هیبرید والد ماده را از نوع ارقام دانه‌دار و والد نر را از نوع ارقام بیدانه انتخاب می‌کردند اما در این حالت درصد کمی از نتاج حاصل بیدانه می‌شدند (لومیس و وینبرگر[8]، ۱۹۷۹؛ اشپیگل-روی و همکاران[9]، ۱۹۸۵). تلاقی ارقام بیدانه با یکدیگر به دلیل سقط جنین تا دهه‌های اخیر امکان‌پذیر نبود اما امروزه با پیشرفت تکنیک نجات جنین تلاقی ارقام بیدانه امکان‌پذیر شده است، در این حالت درصد قابل توجهی (حدود ۸۵ درصد) از نتاج بیدانه می‌شوند (کاین و همکاران[10]، ۱۹۸۳؛ اشپیگل-روی و همکاران، ۱۹۸۵؛ بارلاس و همکاران[11]، ۱۹۸۸؛ گری و همکاران[12]، ۱۹۹۰). عواملی نظیر ژنوتیپ، محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد خارجی و شرایط کشت در موفقیت نجات جنین مؤثر می‌باشند (گالتا و هیملریگ[13]، ۱۹۸۹؛ اگرو و همکاران[14]، ۱۹۹۵) . هورمون‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد نقش مهمی در نجات جنین دارند. عده‌ای از محققان برای کشت تخمک‌های انگور از محیط کشت نیچ و نیچ همراه با یک میکرومولار GA3 و ۱۰ میکرومولار ایندول استیک اسید استفاده کردند (گری و همکاران، ۱۹۸۷؛ رامینگ و همکاران[15]،۱۹۹۰). استفاده از GA3 و ایندول‌استیک اسید در محیط کشت، نجات جنین را در تلاقی بیدانه× بیدانه افزایش داده است (اشپیگل-روی و همکاران، ۱۹۸۵). دلیل بکرباری کاذب چنانکه ذکر گردید دقیقاً معلوم نیست ولی یکی از دلایل آن ممکن است کمبود سیتوکینین‌ها باشد که نقش مهمی در تقسیم سلولی دارند (لتام[16]، ۱۹۶۳). بهاراتی و همکاران[17] (۲۰۰۵) گزارش کردند که اثر محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین قبل از گلدهی و در زمان گلدهی بر روی جوانه‌زنی جنین و نمو گیاه وابسته به ژنوتیپ می‌باشد. پژوهش حاضر به منظور بررسی تاثیر تیمارهای مختلف بر امکان نجات جنین در تلاقی دو رقم انگور بیدانه و به کارگیری آنها در تحقیقات بهنژادی انجام شد. در این پژوهش تاثیر غلظت‌های مختلف ایندول‌استیک اسید در محیط کشت نیچ و نیچ و محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین بر جوانه‌زنی جنین در تلاقی عسکری×رابی‌سیدلس مورد بررسی قرار گرفته است. انگور عسکری از ارقام بکربار کاذب است و در

1- Emershad & Ramming
2- Teresa *et al.*
3 -True parthenocarpy
4- Tian *et al.*
5- Ledbetter & Ramming
6- Bouquet & Danglot
7- Clinglerffer
8- Loomis & Weinberger
9 Spiegel-Roy *et al.*

10- Cain *et al.*
11- Barlass *et al.*
12- Gray *et al.*
13- Galleta & Himlric
14- Aguero *et al.*
15- Ramming *et al.*
16- Letham
17- Bharathy *et al.*

آذربایجان‌شرقی و غربی پرورش داده می‌شود. حبه‌های انگور عسکری به رنگ سبز با قند بالا، پوست نازک و حساس است. ریزش حبه و عمر قفسه‌ای کمتر، از ویژگی‌های این رقم می‌باشد. رقم عسکری متوسط رس می‌باشد. انگور رابی‌سیدلس دارای حبه‌هایی با گوشت ترد، سفت و عمر قفسه‌ای طولانی می‌باشد و پوست حبه ها قرمز است. از ارقام دیررس بوده و ریزش حبه‌ها کمتر می‌باشد. هدف از این تحقیق دستیابی به رقمی با کیفیت حبه‌های بالا، پوست رنگی، شیرین و عمر انباری زیاد و با زمان رسیدن حد متوسط دو رقم مورد آزمایش انگور عسکری از طریق تلاقی با رابی‌سیدلس می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۸۹ در ایستگاه تحقیقاتی کهریز و آزمایشگاه‌های گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. در خرداد ماه سال ۱۳۸۹ رقم عسکری به عنوان والد ماده و رقم رابی سیدلس به عنوان والد نر انتخاب شدند و خوشه‌های مورد نظر اتیکت زده شدند. خوشه‌های اتیکت زده رقم عسکری ۱۴ روز قبل از اخته‌کردن در مرحله‌ای که غنچه ها به رنگ سبز روشن بود (بهاراتی و همکاران، ۲۰۰۳)، با بنزیل‌آدنین در غلظت‌های صفر (آب مقطر) و ۳۰ میلی گرم در لیتر محلول‌پاشی شدند. ۷ روز بعد مرحله دوم محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین با همان غلظت انجام گرفت. محلول‌پاشی روی خوشه‌ها صورت گرفت و از یک صفحه کاغذی جهت جلوگیری از تماس محلول روی برگ‌ها و خوشه‌های دیگر استفاده شد. محلول‌پاشی در دمای خنک عصر بین ساعت ۶ الی ۸ بعداز ظهر انجام گرفت. سپس از رقم والد پدری رابی‌سیدلس در مرحله ۸۰-۷۰ درصد گلدهی دانه گرده تهیه شد. برای این منظور خوشه‌هایی که ۸۰-۷۰ درصد از گل‌هایشان باز شده بود از بوته جدا کرده و روی یک سطح شیشه‌ای قرار داده شدند و با ضربات دست دانه گرده از گل‌ها جدا گردید و سپس دانه‌های گرده با تیغ جمع‌آوری شده و داخل ظرف شیشه‌ای نگهداری شد تا در زمان گرده-افشانی از آنها استفاده شود. در بوته‌های والد مادری عسکری برای هر تیمار ۵ خوشه در قسمت‌های مختلف با اندازه تقریباً یکسان انتخاب و اتیکت زده شد. در مرحله شکوفایی برای هم سن نمودن گل‌ها، خوشه‌ها به طور روزانه مورد بازدید قرار می‌گرفتند. در اولین روز شکوفایی، کلیه گل‌های باز شده و غنچه‌های ریز حذف گردید. در روز دوم کلیه گل‌های باز شده حذف و همه گل‌های باز نشده حفظ گردید (عبادی و همکاران، ۱۳۸۰) و به وسیله پنس نوک باریکی اخته شدند به طوری که با حرکت دست به سمت بالا کالیپترا و پرچم‌ها جدا شدند. در والد مادری عسکری نیز هنگامی که اولین گل‌های آن در حال باز شدن بود به وسیله پنس نوک باریکی اخته شدند به طوری که با حرکت دست به سمت بالا کالیپترا و پرچم‌ها جدا شدند. سپس با استفاده از قلم‌مو گل‌های اخته شده والد ماده عسکری گرده‌افشانی شدند و بلافاصله گل‌های گرده افشانی شده با پاکت پوشانده شد تا از گرده‌افشانی ناخواسته جلوگیری شود. گرده‌افشانی در دو روز متوالی و در دمای خنک بین ساعت ۶ تا ۸ صبح انجام شد. ۴۰ روز بعد از گرده‌افشانی خوشه‌ها برداشت گردید (عبادی و همکاران، ۱۳۸۰) و به منظور کشت تخمک به آزمایشگاه آورده شدند. در آزمایشگاه حبه‌ها ابتدا با آب مقطر شسته شدند و سپس در شرایط استریل با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شده و سه بار با آب استریل شستشو داده شدند. پس از مراحل ضدعفونی، تخمک‌ها به وسیله پنس و اسکالپل با دقت از داخل حبه‌ها جدا شدند و در محیط کشت نیچ و نیچ نیمه جامد شامل ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۲ گرم در لیتر ذغال فعال، ۰/۳۵ میلی‌گرم در لیتر GA3 و سه غلظت ۱، ۱/۷۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید (IAA) کشت شدند. کشت تخمک‌ها در محیط کشت طوری بود که نصف طول آنها از سمت جفت در درون محیط کشت قرار گرفتند

(عبادی و همکاران،۱۳۸۰). تخمک‌های کشت شده در اتاقک‌های رشد با شرایط دمای روز ۲±۲۷ و دمای شب ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، نور سفید فلورسنت و فتو پریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۳۰۰۰ لوکس قرار گرفتند. یادداشت برداری در هر ۳۰ روز یکبار انجام شد و تعداد تخمک‌های کالوس داده و جنین‌های جوانه‌زده شمارش گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام گرفت. هر پتری‌دیش به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد و داخل هر پتری‌دیش ده عدد تخمک کشت گردید. نتایج پژوهش با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و برای مقایسات میانگین از آزمون FLSD استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که غلظت‌های مختلف ایندل‌استیک اسید موجود در محیط کشت اثر معنی‌داری بر انگیزش کالوس در تخمک‌های هیبرید داشت. بیشترین میزان تولید کالوس در محیط کشت دارای ۳ میلی‌گرم در لیتر ایندول استیک اسید (۸۴/۸۷ درصد) و کمترین میزان تولید کالوس در محیط کشت حاوی ۱/۷۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید مشاهده شد (شکل۱). پیش تیمار بنزیل‌آدنین در قبل از گلدهی بر میزان تولید کالوس در تخمک‌های هیبرید اثر معنی‌داری نداشت. گزارش شده است که در صفت کالوس‌دهی تخمک‌ها، نقش اصلی را دیواره تخمدان به عهده دارد که از والد مادری می‌باشد. بنابراین نوع ژنوتیپ والد مادری در این صفات مؤثر است (گریبادو و همکاران[1]، ۱۹۹۳؛ ساریخانی، ۱۳۷۹؛ عبادی و همکاران[2]، ۲۰۰۰). همچنین زمان جداسازی تخمک و کشت آن در محیط کشت، نوع رقم انگور و هورمون‌های محیط کشت در کالوس‌دهی تخمک‌ها موثر می باشد (عبادی وهمکاران، ۱۳۸۱؛ اکسیو و همکاران[3]، ۲۰۰۵). بر اساس این تحقیق غلظت‌های مختلف ایندول استیک اسید تاثیر معنی‌داری در تولید کالوس داشت. غلظت مناسب سیتوکینین و اکسین در کنار هم باعث تولید کالوس می‌شود، به طوری که اکسین در غلظت‌های بالا باعث تولید کالوس می‌گردد. کالوس‌دهی یک صفت مطلوب نیست اما در محیط کشت به دلیل وجود ایندول‌استیک اسید کالوس دهی مشاهده گردید و بر اساس نتایج محققان مشتقات اکسین باعث تولید کالوس می‌گردد (یانگ و همکاران[4]، همکاران[4]، ۲۰۰۶) علاوه بر جوانه‌زنی تخمک‌ها، کالوس کالوس‌دهی هم مشاهده شد، بنابراین صفت کالوس‌دهی نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. در این تحقیق اکسین در غلظت‌های بالا باعث تولید کالوس گردید، به طوری که بیشترین میزان تولید کالوس در محیط کشت دارای ۳ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید مشاهده شد. تاثیر مشتقات اکسین در تولید کالوس از طرف برخی محققان گزارش شده است (پونک و تیزیو[5]، ۱۹۹۸؛ اکسیو و همکاران، ۲۰۰۵).

بر اساس نتایج ارائه شده در جدول ۱ اثر ساده غلظت های مختلف ایندول‌استیک اسید در سطح احتمال ۱ درصد تاثیر معنی‌داری بر جوانه‌زنی تخمک‌ها داشت (جدول ۱). نتایج نشان داد که غلظت ۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید بیشترین تاثیر را در جوانه‌زنی تخمک‌ها داشت (شکل ۲). اثر متقابل پیش تیمار بنزیل آدنین و غلظت‌های مختلف ایندول‌استیک اسید نیز در سطح احتمال ۵ درصد بر جوانه‌زنی تخمک‌ها معنی‌دار بود (جدول ۱). به منظور بررسی اثر متقابل پیش تیمار بنزیل‌آدنین و غلظت‌های مختلف ایندول استیک اسید، برش‌دهی اثر متقابل دو جانبه صورت گرفت. نتیجه اثر برش‌دهی نشان داد که محیط کشت دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید همراه با بنزیل آدنین بر

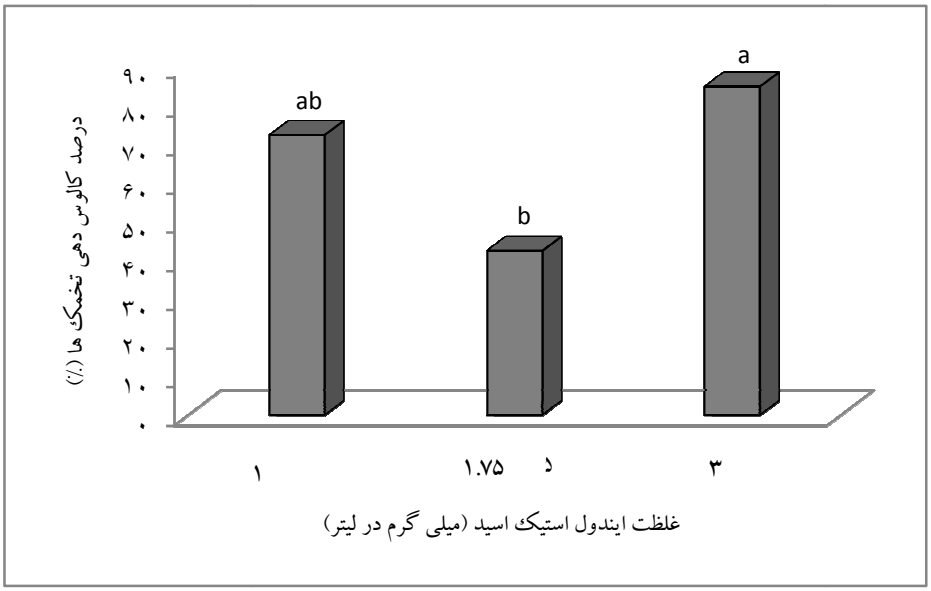
1- Gribaudo *et al.*
2- Ebadi *et al.*
3- Xu *et al.*
4- Yang *et al.*
5- Ponce & Tizio

جوانه‌زنی تخمک‌ها در سطح احتمال ۵ درصد اثر معنی‌داری داشت (جدول ۱). بیشترین میزان جوانه‌زنی (۱۰/۵۵ درصد) در تخمک‌های پیش تیمار شده با بنزیل‌آدنین در مرحله‌ای که غنچه‌ها سبز روشن بود و در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید مشاهده گردید (شکل ۳). همچنین میزان جوانه‌زنی در جنین‌هایی که با بنزیل‌آدنین تیمار نشده بودند و در محیط کشت حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید ۶/۳۴ درصد بود (شکل ۳).

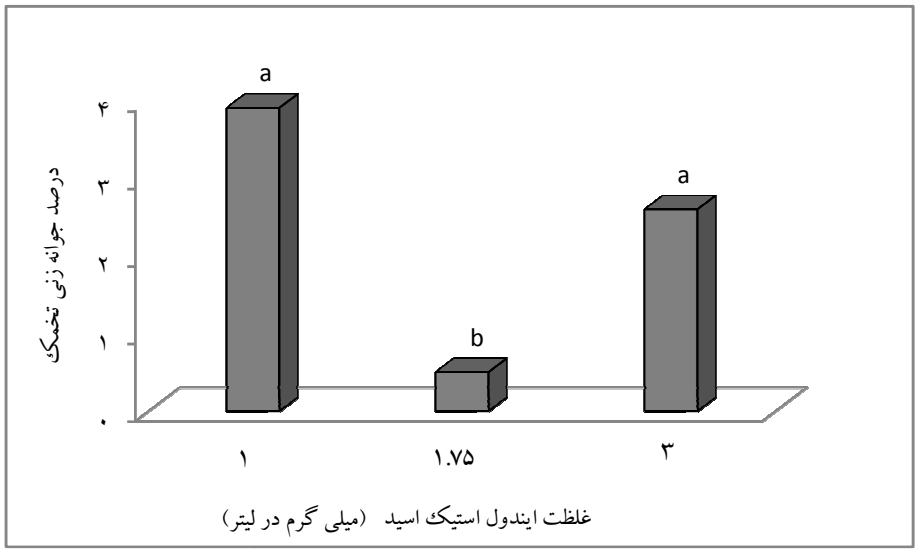
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف ایندل‌استیک اسید (IAA) و پیش تیمار بنزیل‌آدنین در تخمک‌های هیبرید کالوس داده و جوانه‌زده عسکری × رابی‌سیدلس

منابع تغییرات	درجات آزادی	میانگین مربعات[a]	
		تخمک‌های کالوس داده	تخمک‌های جوانه زده
غلظت IAA (A)	۲	۱۰۸۸/۰۸۵۶۱۰*	۰/۰۲۵۶۷۱۷۹**
پیش تیمار بنزیل آدنین (B)	۱	۳۵۸ /۶۷۶۷۷۶ns	۰/۰۰۲۶۶۸۰۵ns
اثر متقابل (A×B)	۲	۲۸۷/۴۶۷۹۴۳ns	۰/۰۷۱۶۷۹۲۵*
اشتباه آزمایشی	۱۲	۱۸۴/۰۴۴۸۷۱	۰/۰۰۴۱۹۳۵۲
برش دهی اثر متقابل			
A1 (۱ میلی گرم در لیتر IAA)	۱		۰/۰۹۶۸۵۴*
A2 (۱/۷۵ میلی گرم در لیتر IAA)	۱		۰/۰۰ns
A3(۳ میلی گرم در لیتر IAA)	۱		۰/۰۴۹۱۷۲*
ضریب تغیرات (٪)		۲۴/۵۱۵۴۹	۲۷/۶۴

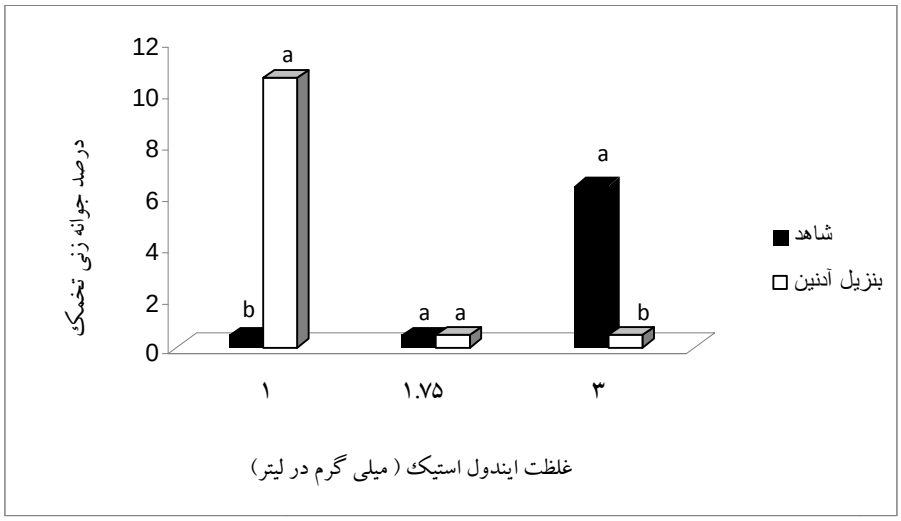
a: *، **و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ٪، ۱ ٪ و غیر معنی‌دار



شکل ۱ – اثرغلظت‌های مختلف ایندول‌استیک اسید محیط کشت بر درصد تخمک‌های کالوس داده در تلاقی عسکری × رابی‌سیدلس. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد در بین میانگین‌ها در آزمون FLSD می‌باشند



شکل ۲ – اثرغلظت‌های مختلف ایندول‌استیک اسید محیط کشت بر درصد تخمک‌های جوانه‌زده در تلاقی عسکری × رابی-سیدلس. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در بین میانگین‌ها در آزمون FLSD می‌باشند



شکل ۳ – اثر متقابل غلظت‌های مختلف ایندول‌استیک اسید در محیط کشت و پیش تیمار بنزیل‌آدنین بر درصد تخمک‌های جوانه‌زده حاصل از تلاقی در رقم عسکری × رابی‌سیدلس. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد در بین میانگین‌ها در آزمون FLSD می‌باشند

در محیط کشت دارای ۱/۷۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول استیک اسید، جوانه‌زنی در تخمک‌های تیمار شده و بدون تیمار با بنزیل‌آدنین اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (برش‌دهی جدول ۱ و شکل ۳). در نجات جنین انگور از تنظیم‌کننده‌های رشد مانند جیبرلین‌ها، اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها در محیط کشت استفاده می‌شود. جیبرلین‌ها موجب شکستن خواب جنین و بذرها می‌شوند. در نجات جنین غلظت ۱ میکرومولار GA3 در کشت جامد استفاده می شود که این غلظت توسط گریبادو و همکاران (۱۹۹۳) مورد تایید قرار گرفته است. اکسین‌ها

از تنظیم‌کننده‌های رشد است که در نجات جنین انگور به وفور توسط محققان استفاده شده‌اند و غالباً از ایندول-استیک اسید استفاده گردیده است (ترسا و همکاران، ۲۰۰۲؛ بهاراتی و همکاران، ۲۰۰۳؛ زائو و گوو[1]، ۲۰۰۴). طبق گزارش گریبادو و همکاران (۱۹۹۳) از بین سه نوع اکسین استفاده شده، ایندول‌استیک اسید با غلظت ۱۰ میکرومولار بطور معنی‌داری در جوانه‌زنی تخمک‌ها موثر بوده است. نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که میزان جوانه‌زنی در محیط کشت‌های مختلف متفاوت بوده و در واقع میزان جوانه‌زنی در بین محیط‌های کشت مختلف اختلاف معنی‌داری نشان داد و این مورد با نتایج لیو و همکاران[2] (۲۰۰۳) مطابقت داشت. این محققان گزارش کردند که اضافه کردن ۰/۳۵ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و ۰/۱۸ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید در محیط کشت نیچ و نیچ میزان بازیافت جنین را افزایش می‌دهد. یانگ و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که میزان ۰/۳۵ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک و ۱/۷۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید در محیط کشت نیچ و نیچ میزان جوانه‌زنی را افزایش می‌دهد. نتایج این تحقیق نیز نشان داد که میزان ۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر ایندول استیک اسید (جدول۱ و شکل ۲) باعث بیشترین میزان جوانه‌زنی شد.

اثر متقابل محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین و غلظت‌های مختلف ایندول‌استیک اسید در محیط کشت نیز در میزان جوانه زنی تخمک‌ها در سطح ۵ درصد اختلاف معنی-داری را نشان داد. محلول‌پاشی قبل از گلدهی بنزیل-آدنین همراه با غلظت مناسب ایندول‌استیک اسید در محیط کشت موجب توسعه جنین و افزایش جوانه‌زنی تخمک‌ها می‌شود. بهاراتی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که تیمار بنزیل‌آدنین اثر مثبتی روی رشد و نمو جنین در ارقام بکربار کاذب انگور دارد. تانگ و همکاران[3] (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین ۱۴ روز قبل از گلدهی موجب افزایش توسعه و نمو جنین در رقم تامسون سیدلس شد. در این تحقیق بنزیل‌آدنین به تنهایی اثر معنی‌داری در میزان جوانه‌زنی تخمک‌ها نداشت اما اثر متقابل تیمار بنزیل‌آدنین و غلظت‌های مختلف ایندول-استیک اسید موجود در محیط کشت معنی‌دار بود. احتمالاً غلظت بنزیل آدنین به کار رفته به صورت محلول‌پاشی و ایندول‌استیک اسید موجود در محیط کشت تاثیر به سزایی در نجات جنین انگورهای بکربار کاذب دارد. اثر محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین قبل از گلدهی و در زمان گلدهی بر روی درصد بازیابی جنین، جوانه‌زنی جنین و نمو گیاه بستگی به ژنوتیپ والد نر در انگورهای هیبرید شده دارد (بهاراتی و همکاران، ۲۰۰۵). بهاراتی و همکاران (۲۰۰۵) با اعمال تیمار بنزیل‌آدنین بر چند رقم از انگورهای بکربار کاذب گزارش نمودند که با محلول-پاشی بنزیل‌آدنین بهبود بازیافت جنین در تمام تلاقی‌ها به جزء Flame Seedless × Concord افزایش یافت. گری و همکاران (۱۹۹۰) نیز گزارش کردند والد پدری روی درصد جوانه‌زنی اثر معنی‌داری داشته است. محلول‌پاشی قبل از شکوفایی با CPPU[4]، که خصوصیات سیتوکینینی دارد و استفاده از بنزیل‌آدنین در محیط کشت می‌تواند بر کمبود سیتوکینین غلبه کند و قدرت مخزن فیزیولوژیکی را در این اندام‌ها بیشتر کند و منجر به رشد بهتر تخمک و جنین شود (نوکاراجو و همکاران[5]، ۲۰۰۷).

محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین می‌تواند کمبود سیتوکینین‌ها را جبران کند و منجر به توسعه بهتر تخمک و جنین شود (نوکاراجو و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج این تحقیق نشان داد که محلول‌پاشی بنزیل‌آدنین در صورتی می تواند تاثیر

1- Zhao & Guo
2- Liu *et al.*
3- Tang *et al.*
4- Phenyl-N-(2-chloro-4-pyridyl)urea
5- Nookaraju *et al.*

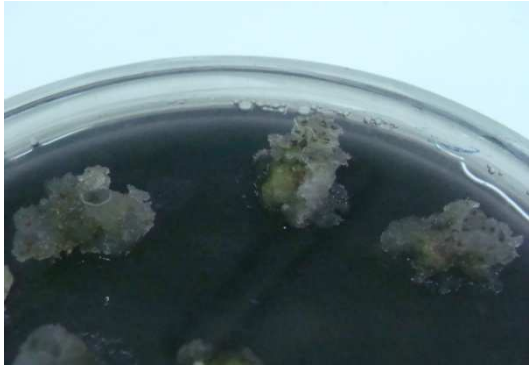
الف) جنین جوانه‌زده ۱۰ هفته پس از کشت

ب) گیاهچه کشت شده در محیط کشت یک دوم نیچ و نیچ

ج) گیاهچه سازگار شده در پرلت

د) گیاهچه منتقل شده به خاک

شکل ۱- نجات جنین و گیاهچه حاصل از تلاقی تخمک‌های حاصل از عسکری × رابی‌سیدلس.



شکل ۲- تخمک‌های کالوس داده

مثبتی در جوانه‌زنی داشته باشد که در مرحله کشت تخمک غلظت مناسبی از ایندول استیک اسید در محیط کشت استفاده شود. به طوریکه تخمک‌هایی که قبلاً با بنزیل‌آدنین تیمار شده بودند در محیط کشت دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید، جوانه‌زنی بیشتری داشتند. در صورتی که در جنین‌های بدون تیمار بنزیل-آدنین، جوانه‌زنی در محیط کشت دارای ۳ میلی‌گرم در لیتر ایندول‌استیک اسید مشاهده گردید. در عین حال می‌توان گفت که بررسی‌های بیشتری مورد نیاز است تا شناخت جامعی بر اساس مطالعه پیش تیمارهای تنظیم-

کننده‌های رشد و غلظت های مختلف آنها در دورگ-گیری ارقام بکربار کاذب ارقام انگور و همچنین تولید گیاهچه‌های بیشتر در محیط کشت با ترکیبات مناسب تنظیم‌کننده‌ها در ایران بدست آید.

منابع

۱. جلیلی‌مرندی، ر. ۱۳۸۹ . میوه‌های ریز. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه، ۲۹۷ ص.

۲. ساریخانی، ح. ۱۳۷۹ . کاربرد تکنیک کشت تخمک برای اصلاح انگورهای بیدانه. پایان‌نامه کارشناسی ارشد باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ۹۶ ص.

۳. عبادی، ع. ، آتشکار، د. و دهقانی، ی. ۱۳۸۰ . بررسی زمان و نحوه سقط جنین در چند رقم انگور بی‌دانه به منظور نجات جنین آن ها.مجله نهال و بذر، ۱۷(۲): ۱۸۳ – ۲۰۲.

۴. عبادی، ع.، ساری خانی، ح.، زمانی، ذ.ا. و بابالار ، م. ۱۳۸۱ . بررسی امکان کاربرد تکنیک نجات جنین در برنامه‌های اصلاحی انگور.مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۳ (۱): ۱۲۹ -۱۳۵.

۵. عرفانی مقدم، ج، عبادی ، ع . و فتاحی مقدم ،م.ر.۱۳۸۷ . بررسی امکان تولید نژادگان های جدید انگورهای بی‌دانه از طریق تلاقی‌های کنترل شده. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ، ۱۲ (۴۵):۵۹۱-۶۰۱ .

6. Aguero,C., Riquelme, C., and Tizio, R., 1995. Emberyo rescue from seedless grapevine (*V.vinifera* L.) treated with growth retardant. Vitis, 34:46-73.

7. Barlass, M., Ramming, D.W., and Dams, H.P. 1988. In ovulo embryo culture: A breeding technique to rescue seedless × seedless table grape crosses. Australian Grape Grower, 259: 123-125.

8. Bharathy, P.V., Karibasappa, G.S., Biradar, A.B., Kulkarni, D.D., Solanke, A.U., Patil, S.G., and Agrawal, D.C. 2003. Influence of pre-blossom sprays of benzyladenine on in vitro recovery of hybrid embryos from crosses of Thompson seedless and eight seeded varieties of grape (*Vitis* spp.). Vitis, 4: 199–202.

9. Bharathy, P.V., Karibasappa, G.S., and Patil, S.G. 2005. In ovulo rescue of hybrid embryos in flame seedless grapes Influence of pre-bloom sprays of benzyladenine. Scientia Horticulture, 106: 353–356.

10. Bouquet, A., and Danglot, Y.1996. Inheritance of seedlessness in grapevine (*Vitis vinifera* L.). Vitis, 35 (1): 35-42.

11. Cain, D.W., Emershad, R.L., and Tarailo, R.E. 1983. In ovulo embryo culture and seedling development of seeded and seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis Vinifera* L.). Vitis, 22: 9-14.

12. Clinglerffer, P.R. 1998. Breeding table grape and raisin varieties. Breeding and Biotechnology for Fruit Trees, NIFTS., pp: 46-49.

13. Ebadi, A., Sedgley, M., May, P., and Coombe, B.G. 1996. Seed development and abortion in *vitis vinifer*L. cv. Chardonnay. International Journal Plant Science, 157:703-712.

14. Ebadi, A., Atashkar, D., and Dehghani, Y. 2000. Mechanism of seedlessness in five Iranian seedless cvs of grapevine (*V. vinifera* L.). Proceeding of 6th Int. Symp., of grapevine physiology and biotechnology. Create Heraklion, Greece. Abstract.

15. Emershad, R.L., and Ramming, D.W. 1984. In ovule embryo culture of *vitis vinifera* L. cv. Tompson Seedless. American Journal of Botany, 71: 873-877.

16. Galleta, G.G., and Himlric, D.G. 1989. Small Fruit Crop Management. Prentice Hall, pp: 565.

17. Gray, D.J., Fisher, L.C., and Mortensen, J.A. 1987. Comparison of metodologies for in ovulo embryo rescue of seedless grapes. Hortscience, 22: 1334–1335.

18. Gray, D.J., Mortensen, J.A., Benton, C.M., Durham, R.E., and Moore, G.A. 1990. Ovule culture to obtain progeny from hybrid seedless bunch grapes. Journal of the American Society for Horticultural Science, 115: 1019–1024.

19. Gribaudo, I., Botta, Z., Vallenia, R., and Eynard, I. 1993. In ovulo embryo culture of stenospermocarpic grapes. Vitis, 32: 9-14.

20. Ledbetter, C.A., and Ramming, D.W. 1989. Seedlessness in grape. Horticultural Review, 11: 159-184.

21. Ledbetter, C.A., and Burgos, L. 1994. Inheritance of stenospermocarpic seedlessness in *Vitis vinifera* L. Heredity, 85: 157-160.

22. Letham, D.S. 1963. Zeatin, a factor inducing cell division isolated from *Zea mays*. Life Science, 2: 569-573.

23. Liu, S.M., Sykes, R., and Clingeleffer, R. 2003. Improved in ovulo embryo culture for stenospermocarpic grapes. Australian Journal of Agriculture Research, 54: 869-876.

24. Loomis, N.H., and Weinberger, J.H. 1979. Inheritance studies of seedlessness in grapes. Journal of the American Society for Horticultural Sciences, 104: 181-184.

25. Nookaraju, A., Barreto, M.S., Karibasappa, G.S., and Agrawal, D.C. 2007. Synergistic effect of CPPU and benzyladenine on embryo rescue in six stenospermocarpic cultivars of grapevine. Vitis, 46: 188-191.

26. Ponce, M., and Tizio, R. 1998. Factors affecting the development of stenospermic grape (*Vitis vinifera* L.) embryos cultured in vitro. In VII International Symposium on Grapevine Genetics and Breeding, 528: 667–672.

27. Ramming, D.W., Ledbetter, C.A., and Tarailo, R. 1990. Hybridization of seedless grapes. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 43: 439–444.

28. Spiegel-Roy, P., Sahar, N., Baron, J., and Lavi, V. 1985. In vitro culture and plant formation from grape cultivars with abortive ovules and seeds. Journal of the American Society for Horticultural Science, 110: 109–112.

29. Striem, M.J., Spiegel-Roy, P. Baron, J., and Sahar, N. 1992. The degrees of development of the seed-coat and the endosperm as seprate subtraits of stenospermocarpic seedlessness in grapes. Vitis, 31: 140-155.

30. Tang, D., Wang, Y., Cai, J., and Zhao, R. 2009. Effects of exogenous application of plant growth regulators on the development of ovule and subsequent embryo rescue of stenospermic grape. Scientia Horticulturae, 120:51-57.

31. Teresa, M., Monica, P., Guinazu, E., and Tizio, R. 2002. Improved *in vitro* embryo development of stenospermic grape by putrescine. Biocell, 26(2): 263-266.

32. Tian, L., Wang, Y., Niu, L., and Tang, D. 2008. Breeding of disease-resistant seedless grapes using Chinese wild Vitis spp. I. In vitro embryo rescue and plant development. Scientia Horticulture, 117: 136–141.

33. Xu, X., Lu, J., Ren, Z., Wang, H., and Leong, S. 2005. Callus induction and somatic embryogenesis in Muscadine and seedless bunch grapes (*Vitis*) from immature ovule culture. Florida State Horticultural Society, 118:260-262.

34. Yang, D., Shengli, W., Yang, X., and Cao, Z. 2006. In vitro embryo rescue culture of F1 progenies From crosses between diploid and tetraploid grape varieties. Plant Growth Regulation, 51: 63–71.

35. Zhao, S.J., and Guo, Z. 2004. Advances in research of breeding seedless triploid grapes. Journal of Fruit Science, 21: 360-364.