مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۳، شماره ۱، سال ۱۳۸۱ (۱۳۵-۱۲۹)

بررسی امکان کاربرد تکنیک نجات جنین در برنامه های اصلاحی انگور

علی عبادی[1]، حسن ساری خانی[2]، ذبیح اله زمانی[3] و مصباح بابالار[4]
۱، ۲، ۳، ٤، استادیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
تاریخ پذیرش مقاله ۸۰/۷/۲۵

خلاصه

اصلاح انگور برای یافتن ارقام برتر بیدانه از اولویتهای بسیار مهم در صنعت انگور کاری است. در بین روشهای اصلاحی استفاده از روش کشت تخمک و نجات جنین اهمیت زیادی یافته است. توانائی بالای این روش در تلاقی ارقام بیدانه با یکدیگر و سپس نجات جنین حاصل قبل از بروز هر گونه فساد در بافتهای تخمک موجب اهمیت فراوان آن شده است . در این تحقیق توانائی روش کشت تخمک و نجات جنین برای بدست آوردن نتاج از پنج رقم انگور بیدانه ایرانی (بیدانه سفید ، بیدانه قرمز ، یاقوتی ، عسکری و کشمشی سبز) و رقم خارجی فلیم سیدلس مورد ارزیابی قرار گرفت. برای انجام این کار ، تخمکها در تاریخهای ۲۰ ، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ روز پس از باز شدن گل از درون حبه ها بیرون اورده شده و بر روی محیط کشت نیچ ونیچ حاوی یک میکرومولار جیبرلین ، ۱۰ میکرومولار اسید اندول استیک ، ۲ گرم در لیتر زغال فعال ، ۲ درصد (وزنی/حجمی) ساکارزو ۰/۸ درصد (وزنی / حجمی) آگار کشت شدند . نجات جنین و بدست آوردن گیاه از آن در ارقام مختلف با موفقیت انجام شد . نتایج نشان داد که در ارقام بیدانه سفید و بیدانه قرمز ، زمان ۲۰ روز و در ارقام فلیم سیدلس ، یاقوتی وعسکری ، زمان ۴۰ روز پس از باز شدن گل بهترین زمان برای جدا سازی تخمک از حبه و کشت آن روی محیط کشت می باشد . بالاترین میزان موفقیت ۱۰/۲ درصد در رقم فلیم سیدلس و پائین ترین میزان موفقیت ۰/ ۹۷ درصد در رقم بیدانه قرمز بود .

واژه های کلیدی : کشت تخمک ، نجات جنین، زمان کشت ، ارقام بیدانه

مقدمه

بیدانگی یکی از صفات بسیار مهم در انگورهای تازه خوری و کشمشی می باشد . بیدانگی در انگور از طریق پدیده های پار تنو کارپی (بکر باری) و استنوسپرمو کارپی (بکر باری کاذب) اتفاق می افتد . بیشتر ارقام بیدانه از نوع استنوسپرموکارپ هستند . در برنامه های اصلاحی انگور ، دست یابی به ارقام بیدانه جدید با کمیت وکیفیت بالا و همچنین داشتن حبه های درشت از مهمترین اهداف به منظور پاسخ گوئی به نیاز روز افزون بازار به انگورهای بیدانه می‌باشد(۱، ۲، ۶، ۷). در روشهای سنتی دو رگ گیری، دست یابی به نتاج بیدانه جدید تنها در صورتی امکان پذیر است که ارقام بیدانه به عنوان والد پدری و ارقام دانه دار به عنوان والد مادری انتخاب شوند . در این روش درصد نتاج بیدانه پائین بوده و حدود ۱۵ -۱۰ درصد کل نتاج راشامل می شود (۱۱، ۱۳، ۱۴، ۱۵) . علت پائین بودن درصد نتاج بیدانه احتمالا کنترل صفت بیدانگی توسط یک یا چند ژن مغلوب می باشد (۳). در مقام مقایسه،تلاقی ارقام بیدانه با بیدانه منجر به تولید درصد بالائی از نتاج بیدانه میشود (بطور متوسط ۸۵ درصد) . با این حال انجام این کار در روشهای سنتی بدلیل سقط جنین امکان پذیر نمی باشد . امروزه برای رفع این مشکل از روشهای جدید مانند تکنیک های مختلف نجات جنین استفاده می شود. دراین روشها جنین جوان در حال تکامل، قبل از شروع به تخریب در بافتهای آن از درون

مکاتبه کننده: علی عبادی

حبه بیرون آورده شده و در محیط کشت مصنوعی پرورش داده می شود(۴، ۶، ۸، ۹، ۱۵). پرورش جنین در محیط کشت مصنوعی و تبدیل آن به گیاه کامل شرط اساسی در دو رگ گیری بین انگورهای بیدانه وبدست آوردن ارقام بیدانه جدید و برتر می‌باشد (۲، ۶). بااین حال میزان موفقیت این روش در بدست آوردن گیاهان کامل هنوز بسیار پائین بوده ودر حدود ۱۰-۷ درصد می باشد (۴). بنابراین تحقیق حاضربا هدف تعیین پتانسیل روش نجات جنین در تولید ارقام جدید بیدانه از پنج رقم بیدانه ایرانی ویک رقم خارجی وهمچنین تعیین بهترین زمان جداسازی تخمک از حبه وکشت آن در درون محیط کشت مصنوعی انجام شد.

مواد وروشها

این تحقیق در سالهای ۱۳۷۸ و۱۳۷۹ در ایستگاه تحقیقاتی باغبانی و آزمایشگاههای گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انجام شد. به این منظور درسال ۱۳۷۸ سه بوته هم‌سن ویکنواخت از هر کدام ازپنج رقم بیدانه قرمز ،یاقوتی ، عسکری ،کشمشی سبز وفلیم سیدلس[1] انتخاب گردید. در زمان شکوفائی گلها ،در هر بوته سه گل آذین یکنواخت در قسمتهای مختلف بوته که شکوفائی گلهای آنها تقریبا همزمان آغاز شده بود ،انتخاب شدند. نمونه برداری از حبه‌ها در زمانهای ۳۰، ۴۰ ، ۵۰ و۶۰ روز پس از شکوفائی گلها بطورتصادفی از حبه های مختلف هر خوشه انجام شد .حبه ها ابتدا با آب شستشو شده و سپس به مدت چهار دقیقه در محلول ۰/۱ درصد کلرور جیوه حاوی یک قطره مویان ضد عفونی شدند .سپس حبه ها سه بار با آب مقطر شستشو شدند. در مرحله بعد حبه ها شکافته شده و تخمکهای درون آنها بگونه‌ای بیرون آورده شدندکه صدمه‌ای به بافت تخمک وارد نشود . تخمکهای بزرگ هرحبه در داخل پتری دیش حاوی ۲۵میلی لیتر محیط کشت ، کشت داده شدند، بطوریکه ۱۸ تخمک در هر پتری دیش کشت گردید. محیط کشت مورد استفاده محیط نیچ ونیچ[2] (۱۲) بود که به آن یک میکرو مول اسید جیبرلیک ،۱۰ میکرو مول اسید اندول استیک ، ۲ درصد (وزنی /حجمی) ساکارز ، ۰/۸ درصد(وزنی /حجمی) آگارو و۰/۲ درصد (وزنی / حجمی) زغال فعال اضافه گردید.pH محیط کشت حدود ۰/۱ ± ۵/۶ تنظیم گردید . تخمکها بطوری در درون محیط کشت قرار گرفتند که نصف طول آنها از سمت جفت جنین در درون محیط کشت قرار گرفتند . پس از اتمام کار کشت ، درب پتری دیشها با پارافیلم بسته شد و پتری دیشها در اتاقک رشد با طول دوره روشنائی ۱۶ ساعت ودوره تاریکی ۸ ساعت، دمای روزانه ۲۷و دمای شبانه ۲۲درجه سانتی گراد وشدت نور ۳۰ میکرومول برثانیه برمتر مربع قرار گرفتند . این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار ودو پتری دیش درهر تکرار انجام شد . تخمکها پس از حدود ۷۰ روز به محیط کشت تازه منتقل شدند وحدود ۷۰ روز دیگر در اتاقک رشد باشرائط قبلی نگهداری شدند. در طی این مدت ،یادداشت برداری از تخمکهای سیاه شده ، کالوس داده ، متلاشی شده ، بزرگ شده وجوانه زده هر ۲۰روز یکبار انجام گرفت . تخمکهای جوانه زده به ظرفهای شیشه‌ای جدید حاوی ۳۵ میلی لیتر محیط کشت MS حاوی نصف غلظت نمکها وبدون هورمون منتقل گردیدند . گیاهچه های جوان در مرحله ۶-۵ برگچه‌ای به گلدانهای کوچک حاوی پرلیت منتقل شدند . گلدانها در زیر محفظه شیشه‌ای قرار گرفته وبا محلول نصف غلظت هوگلند آبیاری می گردیدند . نشاهای جوان به مدت سه هفته درزیر محفظه قرار گرفته و بعد به تدریج درپوش شیشه‌ای برداشته شد وپس از دو هفته به گلدان دیگر حاوی مخلوطی از خاک وپیت منتقل شده ودر شرائط گلخانه نگهداری شدند . باتوجه به اینکه در رقم بیدانه قرمز ، در هیچکدام از تاریخهای کشت ، تخمک جوانه زده‌ای مشاهده نشد و گیاهی بدست نیامد، لذا در طی آزمایش دیگری درسال دوم (۱۳۷۹)، تخمکهای این رقم وهمچنین رقم بیدانه سفید درزمان ۲۰ روز پس از شکوفائی به همان روشی که قبلا شرح داده شد ، کشت گردیده وتمام مراحل یادداشت برداری ، انتقال تخمک جوانه زده به محیط کشت MS و نهایتا سازگار نمودن نشاهای بدست آمده انجام گردید . تجزیه داده های بدست آمده با استفاده از برنامه آماری Mstat انجام گردید.

1. Flame Seedless
2. Nitsch & Nitsch

جدول۱ - تجزیه واریانس داده های مربوط به تخمکهای سیاه شده، کالوس داده، متلاشی شده، بزرگ شده و جوانه زده در زمان ۱۴۰ روز پس از کشت در محیط نیچ و نیچ در سال اول

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		تخمکهای سیاه شده	تخمکهای کالوس داده	تخمکهای متلاشی شده	تخمکهای بزرگ شده	تخمکهای جوانه زده
فاکتور A (زمان جدا سازی و کشت)	۳	۲۸۰۵/۶۶۳**	۱۲۳۸/۹۴۵**	۰/۰۰۲ns	۰/۰۱۲ns	۰/۱۳۸**
فاکتور B (رقم)	۴	۱۰۸۹/۹۸۳**	۱۴۶۸۲/۸۹۳**	۰/۳۵۴**	۱/۱۲۴**	۱/۷۲۶**
اثرمتقابل رقم با زمان جداسازی وکشت	۱۲	۷۳۵/۹۵۳**	۱۵۵/۲۱۰**	۰/۰۰۲ns	۰/۰۵۲**	۰/۰۴**
خطا	۴۰	۸۵/۳۵۱	۲۸/۳۴۳	۰/۰۰۲	۰/۰۱۵	۰/۰۰۷

** : معنی دار در سطح ۱٪ * : معنی دار در سطح ۵٪ ns : غیر معنی دار

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که زمان جداسازی تخمک و کشت آن بر روی محیط کشت ،رقم وعکس العمل متقابل آنها تاثیر معنی داری بر جوانه زنی تخمک دارند . در آزمایش اول در هیچکدام از زمانهای مورد بررسی (۶۰،۵۰،۴۰،۳۰روز) تخمک جوانه زده‌ای در رقم بیدانه قرمز مشاهده نگردید . بالاترین درصد جوانه زنی تخمکها (۱۰/۲ درصد) در رقم فلیم سیدلس ،در تاریخ ۴۰ روز پس از شکوفائی گلها مشاهده گردید و پس از آن تخمکهای همین رقم در زمان ۵۰ روز بالاترین (۷/۴ درصد) میزان موفقیت را داشتند (جدول ۲). در رقم یاقوتی ، بالاترین درصد جوانه زنی تخمکها در زمان ۴۰ روز پس از شکوفائی گلها بدست آمد (۴/۶ درصد) وکشت تخمکهای این رقم در زمانهای ۳۰و ۵۰ روز موجب کاهش درصد جوانه زنی آنها گردید (۳/۷ درصد). دررقم عسکری وضیعت کمی متفاوت بود ، بطوریکه بالاترین درصد جوانه زنی تخمکها درزمان کشت ۳۰ روز پس از شکوفائی گلها بدست آمد (۳/۷ درصد) ومیزان جوانه زنی تخمکها درزمان ۴۰ روز کمی کاهش نشان داد (۲/۸ درصد) . کشت تخمکهای ارقام مختلف درزمان ۶۰ روز پس از شکوفائی پائین ترین درصد جوانه زنی تخمکها را بدنبال داشت ، بطوریکه اختلاف آن با سایر زمانهای کشت کاملا معنی دار بود . مقایسه میانگینها (جدول۲) نشان دادکه بالاترین درصد سیاه شدن تخمکها در رقم بیدانه قرمز، در تمامی زمانهای کشت مشاهده گردید. با این حال در رقم عسکری وضعیت متفاوت بود و کمترین درصد سیاه شدن تخمکها در آن مشاهده شد ، بطوریکه اکثر تخمکها برنگ سبز باقی مانده و اندازه آنها نیز در روی محیط کشت افزایش یافت. بالاترین درصد تخمکهای متلاشی شده (۹۰/۸٪)در رقم یاقوتی در تاریخ کشت ۴۰ روز پس از شکوفائی گلها مشاهده گردید.در این تخمکها دیواره تخمک شکافته شده بود(جدول۲).تشکیل بافت کالوس بر روی دیواره تخمک در رقم بیدانه قرمز مشاهده نشد ولیکن در سایر ارقام مشاهده شد . بیشترین میزان تشکیل کالوس در رقم عسکری در تاریخهای کشت ۳۰،۵۰،۴۰ روز پس از شکوفائی دیده شد . در آزمایش دوم تخمکهای دو رقم بیدانه قرمز و بیدانه سفید بدلیل عدم جوانی زنی تخمکهای رقم بیدانه قرمز در آزمایش سال اول ، در زمان ۲۰ روز پس از شکوفائی ، گلها از حبه ها بیرون آورده شده وبه همان روش آزمایش اول کشت گردیدند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات بررسی شده در این دو رقم در جدول (۳) نمایش داده شده است . درتمامی صفات مورد بررسی اختلاف بسیار معنی داری بین دو رقم بیدانه سفید و بیدانه قرمز مشاهده گردید . درصد سیاه شدن تخمکها دررقم بیدانه سفید به مراتب کمتر از رقم بیدانه قرمز بود . درصد جوانه زنی تخمکها در تاریخ کشت ۲۰ روز پس از شکوفائی بین دو رقم متفاوت بود . بطوریکه درصد جوانه زنی تخمکها دررقم بیدانه سفید ۳/۷ درصد و دررقم بیدانه قرمز تنها به ۰/۹۳ درصد رسید که نمایانگر اختلاف قابل توجه بین دو رقم مورد بررسی می باشد (جدول ۴) . دراین دورقم ، طبق نتایج آتشکار وهمکاران (۱۳۷۸) ودررقم سلطانی طبق نتایج اسپیگل - روی و همکاران (۱۹۸۵)، سقط جنین در تاریخهای خیلی زود

جدول ۲- مقایسه میانگینهای اثر متقابل تاثیر رقم با زمان جداسازی وکشت بر درصد تخمکهای سیاه شده، کالوس داده و... در سال اول (آزمون دانکن در سطح ۱٪)

زمان جداسازی	رقم	تخمکهای سیاه شده (٪)	تخمکهای کالوس داده (٪)	تخمکهای متلاشی شده (٪)	تخمکهای بزرگ شده (٪)	تخمکهای جوانه زده (٪)
۳۰ روز پس از شکوفایی	کشمشی سبز	۵/۶۳^{e}	۵۱/۸۵^{abc}	۰/۰	۱۵/۷۴^{ab}	۰/۰^{f}
	عسگری	۱۲/۱۱^{e}	۵۴/۶۳^{ab}	۰/۰	۴۳/۵۲^{a}	۳/۷۰^{c}
	فلیم سیدلس	۴۵/۴۱^{d}	۶/۴۸^{ij}	۰/۰	۰/۰^{e}	۶/۴۸^{ab}
	بیدانه قرمز	۸۵/۱۹^{a}	۰/۰^{j}	۰/۰	۰/۰^{e}	۰/۰^{f}
	یاقوتی	۱/۹۳^{e}	۴۲/۵۹^{bcde}	۶۳/۸۹	۰/۹۳^{e}	۳/۷۰^{c}
۴۰ روز پس از شکوفایی	کشمشی سبز	۵/۶۳^{e}	۲۶/۸۵^{efg}	۰/۰	۱۴/۸۲^{ab}	۰/۰^{f}
	عسگری	۷/۵۲^{e}	۶۲/۹۶^{ab}	۰/۰	۴۹/۰۷^{a}	۲/۷۸^{cd}
	فلیم سیدلس	۵۷/۴۱^{cd}	۲۹/۶۳^{def}	۰/۰	۰/۹۳^{e}	۱۰/۱۹^{a}
	بیدانه قرمز	۸۶/۱۱^{a}	۰/۰^{j}	۱/۸۵	۲/۷۸^{de}	۰/۰^{f}
	یاقوتی	۱/۹۳^{e}	۴۴/۴۴^{bcde}	۹۰/۷۴	۰/۰^{e}	۴/۶۳^{bc}
۵۰ روز پس از شکوفایی	کشمشی سبز	۱۹/۴۸^{e}	۱۱/۱۱^{ghi}	۰/۰	۲/۷۸^{cde}	۰/۰^{f}
	عسگری	۱/۹۳^{e}	۶۷/۵۹^{a}	۰/۰	۴۶/۳۰^{a}	۱/۸۵^{de}
	فلیم سیدلس	۶۴/۸۲^{abcd}	۹/۲۶^{hi}	۰/۰	۰/۰^{e}	۷/۴۱^{ab}
	بیدانه قرمز	۷۷/۷۸^{abc}	۰/۰^{j}	۰/۹۳	۰/۰^{e}	۰/۰^{f}
	یاقوتی	۶۱/۱۱^{bcd}	۳۰/۵۶^{cdef}	۴۱/۶۷	۴/۶۳^{bcd}	۳/۷۰^{c}
۶۰ روز پس از شکوفایی	کشمشی سبز	۵۴/۶۳^{d}	۷/۴۱^{hij}	۰/۹۳	۹/۲۶^{abc}	۰/۰^{f}
	عسگری	۲۲/۲۲^{e}	۵۰/۰^{abcd}	۰/۰	۲۵/۰^{ab}	۱/۸۵^{de}
	فلیم سیدلس	۸۱/۴۸^{ab}	۳/۷۰^{ij}	۰/۰	۰/۰^{e}	۲/۷۸^{cd}
	بیدانه قرمز	۸۳/۳۳^{ab}	۰/۰^{j}	۰/۹۳	۰/۹۳^{e}	۰/۰^{f}
	یاقوتی	۵۵/۵۶^{cd}	۲۱/۳۰^{fgh}	۵۵/۵۶	۰/۰^{e}	۰/۹۳^{e}

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگینها در سطح ۱٪ می باشد.

اتفاق می افتد و به همین علت در زمانهای کشت مورد بررسی در آزمایش اول موفقیت در مورد این ارقام بدست نیامد. باروری در این دو رقم در حد قابل قبول و بیش از ۵۰ درصد گزارش شده است. با این حال میزان سقط جنین و زمان انجام آن در بین دو رقم متفاوت می باشد. بطوریکه حتی در تاریخ ۲۰ روز پس از شکوفائی تعداد کمتری رویان زنده در رقم بیدانه قرمز مشاهده می شود (۵).

نتایج جوانه زنی تخمک و تشکیل کالوس بر روی دیواره تخمک در آزمایش اول با نتایج گریبایدو و همکاران(۱۹۹۳) هماهنگی دارد. اصولا در اکثر ارقام بیدانه تخمکهادر شروع رنگ گیری حبه ها شروع به انحطاط می کنند.در این زمان لکه های سیاه رنگی برروی دیواره تخمک ظا هر میشود که در نهایت منجر به از بین رفتن آن میشود . این چنین تخمکهائی توانائی رشد وجوانه زنی برروی محیط کشت را ندارند . این وضیعت در مورد رقم فلیم سیدلس که حاصل چندین بار تلاقی بین ارقام بیدانه ودانه دار می باشد وهمچنین ارقام یاقوتی وعسکری در تاریخ ۶۰ روز پس از شکوفائی گل مشا هده گردید

جدول۳ - تجزیه واریانس نتایج کشت تخمک در دو رقم بیدانه سفید و بیدانه قرمز در زمان ۲۰ روز پس از شکوفایی ۱۴۰ روز پس از کشت در محیط کشت نیچ و نیچ در سال دوم

تیمارها	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		تخمکهای سیاه شده	تخمکهای کالوس داده	تخمکهای متلاشی شده	تخمکهای بزرگ شده	تخمکهای جوانه زده
رقم	۱	۸۰۳/۷۵۵**	۳۰۸۷/۷۰۶ **	۲۴۸۹/۷۱۲**	۳۷۱/۶۵۶**	۱۱/۷۲۹**
خطا	۴	۲۱/۸۶۲	۵/۱۴۴	۵۹/۱۵۶	۵/۱۴۴	۰/۴۱

** : معنی دار در سطح ۱٪ * : معنی دار در سطح ۵٪ ns : غیر معنی دار

جدول ۴ - مقایسه میانگینهای نتایج کشت دو رقم بیدانه سفید و بیدانه قرمز در زمان ۲۰ روز پس از شکوفایی ۱۴۰ روز پس از کشت در محیط کشت نیچ و نیچ در سال دوم (آزمون دانکن در سطح ۱٪)

ارقام	میانگین تخمکهای سیاه شده(٪)	میانگین تخمکهای کالوس داده (٪)	میانگین تخمکهای متلاشی شده (٪)	میانگین تخمکهای بزرگ شده (٪)	میانگین تخمکهای جوانه زده (٪)
بیدانه سفید	۹/۲۶ b	۴۵/۳۷ a	۵۴/۶۳ a	۲۲/۲۲ a	۳/۷ a
بیدانه قرمز	۳۲/۴۱ a	۰/۰ b	۱۳/۸۹ b	۶/۴۸ b	۰/۹۳ b

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگینها در سطح ۱٪ می باشد.

که بانتایج گری و همکاران (۱۹۹۳ و ۱۹۹۰) وسینگ وهمکاران (۱۹۹۳ و۱۹۹۲) هماهنگی کامل دارد. در آزمایش اول اندازه تخمکها دررقم بیدانه قرمز به مراتب کوچکتر از اندازه تخمکها در سایر ارقام مورد بررسی بود که علت آن را می توان احتمالا به سقط زود هنگام جنین دراین رقم نسبت داد. برطبق نظرات گریبایدو و همکاران (۱۹۹۳) و اسپیگل - روی و همکاران (۱۹۸۵)،کشت زود هنگام تخمکها (۲۰ پس از شکوفائی گلها) دراین رقم می تواند چاره ساز باشد که نتایج آزمایش دوم تاحدی این نظریه را تائید میکند. اندازه تخمکها دررقم کشمشی سبز مشابه تخمکهای رقم فلیم سیدلس، یاقوتی وعسکری بود ،بااین حال جوانه زنی تخمکهای این رقم درزمانهای مورد بررسی مشاهده نشد. برطبق نتایج عبادی و همکاران (۲۰۰۰)، در رقم کشمشی سبز سقط جنین بین ۶-۴ هفته اززمان شکوفائی گلها اتفاق افتاده وهمین موضوع موجب رشدبیشترتخمک می‌شود.بااین‌حال علت عدم جوانه زنی تخمکها دراین رقم مشخص نبوده ونیاز به بررسی های بیشتری دارد.

مراجع مورد استفاده

REFERENCES

۱. آتشکار، د. ، عبادی. ع.، دهقانی. ی. و م. بابالار. ۱۳۷۸. مکانیزم بیدانگی در ارقام انگور بیدانه ایرانی و ارزیابی تاثیر عنصر بور بر روند باروری انها. . پایان نامه دوره کارشناسی ارشد . گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

2. Barlass, M., D. W. Ramming and H. P. Davis, 1988. In ovulo embryo culture: a breeding technique to rescue seedless x seedless table grape crosses. Grape grower and winemaker 292: 123-125
3. Bouquet, A. and Y. Danglot, 1996. Inheritance of seedlessness in grapevine *(V. vinifera* L.). Vitis 35(1): 35-42.
4. Cain, D. W., R. L. Emershad and R .E. Tarailo, 1983. In ovulo embryo culture and Seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.). Vitis 22: 9- 14.

5. Ebadi, A., D. Atashkar and Y. Dehghani, 2000. Mechanism of seedlessness in five Iranian seedless cvs of grapevine (*V. vinifera*). Proceeding of 6th Int. Symp. of grapevine physiology & biotechnology. Crete Heraklion, Greece.
6. Emershad, R.L. and D.W. Ramming, 1984. In ovulo embryo culture of *Vitis vinifera* L. cv. Thompson Seedless. Amer. J. Bot. 71(6): 873-877.
7. Emershad, R.L., D.W. Ramming and M.D. Serpe, 1989. In ovulo embryo development and plant formation from stenospermic genotypes of *Vitis vinifera*. Amer. J. Bot. 76 (3): 397-402.
8. Goldy, R.G. and U. Amborn, 1987. In vitro culture ability of ovules from 10 seedless grape clones. HortSci. 22 (5): 952.
9. Gray, D J., L.C. Fisher and J.A. Mortensen, 1987. Comparison of metodologies for in ovulo embryo rescue of seedless grapes. HortSci .22 (6): 1334-1335.
10. Gray, D., J., J. A. Mortensen and C. M. Benton, 1990. Ovule culture to obtain progeny from hybrid seedless bunch grapes. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115(6): 1019-1024.
11. Gribaudo, I., R. Zanetti, R. Botta, R. Vallania and I. Eynard, 1993. In ovulo embryo culture of stenospermocarpic grapes. Vitis 32: 9-14.
12. Nitsch, J.P. and C. Nitsch, 1969. Haploid plants from pollen grains. Science 163:85-87.
13. Singh, Z. and S.J.S. Brar, 1992. *In vivo* development of ovule in seedless and seeded cultivars of grapes (*V. vinifera* L.) - a particular reference to in ovulo embryo culture. Vitis 31: 77-82.
14. Singh, Z. and S.J.S. Brar, 1993. In vitro plant regeneration in seedless grapes (*V .vinifera* L.). Vitis 32: 229-232.
15. Spiegel-Roy, P., N. Sahar, J. Baron and V. Lavi, 1985. In vitro culture and plant formation from grape cultivars with abortive ovules and seeds. J. Amer. Soc. Hort. Sci . 110(1): 109-112.

Application of In Ovule Embryo Culture Technique in Grapevine Breeding Program

A.EBADI[1], H.SARIKHANI[2], Z. ZAMANI[3] AND M. BABALAR[4]

1, 3, Assistant Professor, Dept. of Horticulture, Tehran university, Karaj, Iran. 2, Postgraduate Student, Dept. of Horticulture, Tehran University, Karaj,Iran. 4, Associate Professor, Dept. of Horticulture, Tehran University, Karaj, Iran.

Accepted Oct. 17, 2001

SUMMARY

Breeding program in grapevine to find new superior seedless cultivars is one of the most important priorities in table grape industry. Among different techniques, in-ovule embryo culture has obtained a high importance due to its great potential in hybridization of seedless grapevine cultivars followed by a rescue of the resulting embryo before it gets degenerated. In this work, the technique was applied in the case of five Iranian seedless cvs (White Seedless, Red Seedless, Yaghooti, Green Keshmeshi and Askary) and a new recently imported. One, namely Flame Seedless. Ovules were dissected out of berries at 20, 30, 40, 50 and 60 days after flower opening and then cultured in Nitsch & Nitsch medium containing 1μM GA_3, 10 μM IAA, 2 g/l activated charcoal, 2% (w/v)sucrose and 0.8% (w/v) agar. Embryo rescue and its germination were carried out successfully in most of the cultivars. Results showed that culturing of ovules at 20 days after flower opening in cvs White Seedless, and Red Seedless and 40 days after flower opening in cvs Flame Seedless, Yaghooti and Askary were the most convenient to rescue the embryos. The highest success rate was obtained in cv. Flame Seedless (10.2%), while it was too low in cv. Red Seedless (0.97%).

Key words: Ovule culture, Embryo rescue, Culture date, Cultivar