

بررسی امکان کاربرد تکنیک نجات جنین در برنامه های اصلاحی انگور

علی عبادی^۱، حسن ساری خانی^۲، ذبیح اله زمانی^۳ و مصباح بابالاری^۴
۱، ۲، ۳، ۴، 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 کشمش 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 آورده شده و بر روی محیط کشت نیچ و نیچ حاوی یک میکرومولار جیبرلین، ۱۰ میکرومولار اسید اندول استیک، ۲ گرم در لیتر زغال فعال، ۲ درصد (وزنی/حجمی) ساکاروز 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 و عسکری، 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 کشمش می باشد. بیدانگی در انگور از طریق پدیده های پار تنو کاری (بکر باری) و استنوسپرمو کاری (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 و کیفیت بالا و همچنین داشتن حبه های درشت از مهمترین اهداف به منظور پاسخ گوئی به نیاز روز افزون بازار به انگورهای بیدانه می باشد (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 را شامل می شود (۱۱، ۱۳، ۱۴، ۱۵). علت پائین بودن درصد نتاج بیدانه احتمالاً 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. در این روشها جنین جوان در حال تکامل، قبل از شروع به تخریب در بافتهای آن از درون

استیک ، ۲ درصد (وزنی /حجمی) ساکارز ، ۰/۸ درصد(وزنی /حجمی) آگارو و ۰/۲ درصد (وزنی / حجمی) زغال فعال اضافه گردید. pH محیط کشت حدود $0.1 \pm 0.5/6$ 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 پارافیلیم بسته شد و پتری دیشها در اتاقک رشد با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و دوره تاریکی ۸ ساعت، دمای روزانه ۲۷ و دمای شبانه ۲۲ درجه سانتی گراد و شدت نور ۳۰ میکرومول برثانیه برمتر مربع قرار گرفتند . این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار و دو پتری دیش در هر تکرار انجام شد . تخمکها پس از حدود ۷۰ روز به محیط کشت تازه منتقل شدند و حدود ۷۰ روز دیگر در اتاقک رشد با شرایط قبلی نگهداری شدند. در طی این مدت ، یادداشت برداری از تخمکهای سیاه شده ، کالوس داده ، تلاشی شده ، بزرگ شده و جوانه زده هر ۲۰ روز یکبار انجام گرفت . تخمکهای جوانه زده به ظرفهای شیشه‌ای جدید حاوی ۳۵ میلی لیتر محیط کشت MS حاوی نصف غلظت نمکها و بدون هورمون منتقل گردیدند . گیاهچه های جوان در مرحله ۴-۵ برگچه‌ای به گلدانهای کوچک حاوی پرلیت منتقل شدند . گلدانها در زیر محفظه شیشه‌ای قرار گرفته و با محلول نصف غلظت هوگلند آبیاری می گردیدند . نشاهای جوان به مدت سه هفته در زیر محفظه قرار گرفته و بعد به تدریج درپوش شیشه‌ای برداشته شد و پس از دو هفته به گلدان دیگر حاوی مخلوطی از خاک و پیت منتقل شده و در شرایط 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 و همچنین رقم بیدانه سفید در زمان ۲۰ روز پس از شکوفائی به همان روشی که قبلا شرح داده شد ، کشت گردیده و تمام 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.

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 و بدست آوردن ارقام جدید و برتر می باشد (۲، ۶). با این حال میزان موفقیت این روش در بدست آوردن گیاهان کامل هنوز بسیار پائین بوده و در حدود ۱۰-۷ درصد می باشد (۴). بنابراین تحقیق حاضر با هدف تعیین پتانسیل روش نجات جنین در تولید ارقام جدید بیدانه از پنج رقم بیدانه ایرانی و یک رقم خارجی و همچنین تعیین بهترین زمان جداسازی تخمک از حبه و کشت آن در درون محیط کشت مصنوعی انجام شد.

مواد و روشها

این تحقیق در سالهای ۱۳۷۸ و ۱۳۷۹ در ایستگاه تحقیقاتی باغبانی و آزمایشگاههای گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انجام شد. به این منظور درسال ۱۳۷۸ سه بوته هم سن و یکنواخت از هر کدام از پنج رقم بیدانه قرمز، یاقوتی ، عسکری ، کشمش سبز و فلیم سیدلس^۱ 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 و ۶۰ روز پس از شکوفائی گلها بطور تصادفی 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 شدند که صدمه‌ای به بافت تخمک وارد نشود . تخمکهای بزرگ هر حبه در داخل پتری دیش حاوی ۲۵ میلی لیتر محیط کشت ، کشت داده شدند، بطوریکه ۱۸ تخمک در هر پتری دیش کشت گردید. محیط کشت مورد استفاده محیط نیچ و نیچ^۲ (۱۲) بود که به آن یک میکرو مول اسید جیبرلیک ، ۱۰ میکرو مول اسید اندول

جدول ۱ - 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

میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییر
تخمکهای جوانه زده	تخمکهای بزرگ شده	تخمکهای متلاشی شده	تخمکهای کالوس داده	تخمکهای سیاه شده		
۰/۱۳۸**	۰/۰۱۲ns	۰/۰۰۲ns	۱۲۳۸/۹۴۵**	۲۸۰۵/۶۶۳**	۳	فاکتور A (زمان جدا سازی و کشت)
۱/۷۲۶**	۱/۱۲۴**	۰/۳۵۴**	۱۴۶۸۲/۸۹۳**	۱۰۸۹/۹۸۳**	۴	فاکتور B (رقم)
۰/۰۴**	۰/۰۵۲**	۰/۰۰۲ns	۱۵۵/۲۱۰**	۷۳۵/۹۵۳**	۱۲	اثر متقابل رقم با زمان جداسازی و کشت
۰/۰۰۷	۰/۰۱۵	۰/۰۰۲	۲۸/۳۴۳	۸۵/۳۵۱	۴۰	خطا
ns : غیر معنی دار			* : معنی دار در سطح ۵٪		** : معنی دار در سطح ۱٪	

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که زمان جداسازی تخمک و کشت آن بر روی محیط کشت، رقم و عکس العمل متقابل آنها تاثیر معنی داری بر جوانه زنی تخمک دارند. در آزمایش اول در هیچکدام از زمانهای مورد بررسی (۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ روز) 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) و کشت تخمکهای این رقم در زمانهای ۳۰ و ۵۰ روز موجب کاهش درصد جوانه زنی آنها گردید (۳/۷ درصد). در رقم عسکری وضعیت کمی متفاوت بود، بطوریکه بالاترین درصد جوانه زنی تخمکها در زمان کشت ۳۰ روز پس از شکوفائی گلها بدست آمد (۳/۷ درصد) و میزان جوانه زنی تخمکها در زمان ۴۰ روز کمی کاهش نشان داد (۲/۸ درصد). کشت تخمکهای ارقام مختلف در زمان ۶۰ روز پس از شکوفائی پائین ترین درصد جوانه زنی تخمکها را بدنبال داشت، بطوریکه اختلاف آن با سایر زمانهای کشت کاملاً معنی دار بود. مقایسه میانگینها (جدول ۲) نشان داد که 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. این تخمکها دیواره تخمک شکافته شده بود (جدول ۲). 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 و به 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. در تمامی صفات مورد بررسی اختلاف بسیار معنی داری بین دو رقم بیدانه سفید و بیدانه قرمز مشاهده گردید. درصد سیاه شدن تخمکها در رقم 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 در رقم بیدانه سفید ۳/۷ درصد و در رقم بیدانه قرمز تنها به ۰/۹۳ درصد رسید که نمایانگر اختلاف قابل توجه بین دو رقم مورد بررسی می باشد (جدول ۴). در این دورقم، طبق نتایج آتشار و همکاران (۱۳۷۸) و در رقم سلطانی طبق نتایج اسپیکل - روی و همکاران (۱۹۸۵)، سقط جنین در تاریخهای خیلی زود

جدول ۲- مقایسه میانگینهای اثر متقابل تاثیر رقم با زمان جداسازی و کشت 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	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	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	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	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.

همانگی دارد. اصولاً در اکثر ارقام بیدانه تخمکها در شروع رنگ گیری حبه ها شروع به انحطاط می کنند. در این زمان لکه های سیاه رنگی بر روی دیواره تخمک ظاهراً هر میشود که در نهایت منجر به از بین رفتن آن میشود. این چنین تخمکهای توانائی رشد و جوانه زنی بر روی محیط کشت را ندارند. این وضعیت در مورد رقم فلیم سیدلس که حاصل چندین بار تلاقی بین ارقام بیدانه ودانه دار می باشد و همچنین ارقام یاقوتی و عسگری در تاریخ ۶۰ روز پس از شکوفائی گل مشاهده گردید

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)

جدول ۳ - 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.

در رقم کشمش سبز مشابه تخمکهای رقم فلیم سیدلس، یا فوئی و عسکری بود، با این حال جوانه زنی تخمکهای این رقم در زمانهای مورد بررسی مشاهده نشد. بر طبق نتایج عبادی و همکاران (۲۰۰۰)، در رقم کشمش سبز سقط جنین بین ۴-۶ هفته از زمان شکوفایی گلها اتفاق افتاده و همین موضوع موجب رشد بیشتر تخمک می شود. با این حال علت عدم جوانه زنی تخمکها در این رقم مشخص نبوده و نیاز به بررسی های بیشتری دارد.

که با نتایج گری و همکاران (۱۹۹۳ و ۱۹۹۰) و سینگ و همکاران (۱۹۹۳ و ۱۹۹۲) هماهنگی کامل دارد. در آزمایش اول اندازه تخمکها در رقم بیدانه قرمز به مراتب کوچکتر از اندازه تخمکها در سایر ارقام مورد بررسی بود که علت آن را می توان احتمالاً به سقط زود هنگام جنین در این رقم نسبت داد. بر طبق نظرات گریبایدو و همکاران (۱۹۹۳) و اسپینگل - روی و همکاران (۱۹۸۵)، کشت زود هنگام تخمکها (۲۰ روز پس از شکوفایی گلها) در این رقم می تواند چاره ساز باشد که نتایج آزمایش دوم تاحدی این نظریه را تأیید میکند. اندازه تخمکها

REFERENCES

مراجع مورد استفاده

- 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 آنها. پایان نامه دوره کارشناسی ارشد. گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.
- 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
- Bouquet, A. and Y. Danglot, 1996. Inheritance of seedlessness in grapevine (*V. vinifera* L.). *Vitis* 35(1): 35-42.
- 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 methodologies 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.EBADI¹, H.SARIKHANI², Z. ZAMANI³ AND M. BABALAR⁴

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 1 μ M GA₃, 10 μ M 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