مجله بیوتکنولوژی کشاورزی
علمی-پژوهشی و ISC

بررسی اثر محلول پاشی بنزیل آدنین قبل از شکوفایی گل در توسعه تخمک و نجات جنین دو رقم انگور بکربار کاذب ایرانی (*Vitis vinifera* L.)

رسول جلیلی مرندی[1*]، حامد دولتی بانه[2]، الهام معصومی[3]، مهدی محسنی آذر[4]

[1،2،3و4] دانشیار، استادیار پژوهشی، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم باغبانی و کارشناس ارشد بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

تاریخ دریافت: 1390/08/29، تاریخ پذیرش: 1392/02/18

چکیده

یکی از مهمترین اهداف اصلاحی انگورهای رومیزی تولید دورگ‌های بیدانه جدید با حبه‌های درشت، سفت، معطر و مناسب با سلیقه مصرف کنندگان می‌باشد. سقط جنین در ارقام بیدانه به طور عمده کارآیی اصلاح ارقام بیدانه را محدود می‌کند. بر اساس اینکه سیتوکینین‌ها موجب افزایش قدرت مقصد فیزیولوژیکی دانه ها برای اسیمیلات‌ها می‌شوند، تحقیق حاضر به منظور مطالعه اثر محلول‌پاشی بنزیل آدنین قبل از شکوفایی گل در توسعه تخمک و نجات جنین دو رقم انگور بکربار کاذب(عسکری و بیدانه سفید) انجام گرفت. غلظت‌های بنزیل آدنین صفر،60 و100 میلی گرم در لیتر بود. تخمک‌های رقم بیدانه سفید،20 روز و رقم عسکری 40 روز بعد از باز شدن گل از درون حبه‌ها بیرون آورده شد و سپس بر روی محیط کشت نیچ و نیچ حاوی 1 میکرومول جیبرلین،1 میکرومول نفتالین استیک اسید، 2 گرم در لیتر زغال فعال ،20 گرم در لیتر ساکارز و 8 گرم در لیترآگار کشت شدند. صفات مورد بررسی شامل تخمک‌های قهوه‌ای شده، کالوس داده و جوانه‌زده بود. محلول‌پاشی بنزیل آدنین اثر معنی‌دار بر قهوه‌ای شدن تخمک‌ها نداشت اما درصد تخمک‌های قهوه‌ای شده در بین ارقام مورد آزمایش معنی‌دار بود و بیشترین تخمک قهوه‌ای شده در رقم بیدانه سفید مشاهده گردید. اثر محلول‌پاشی بنزیل آدنین با غلظت‌های 60 و100 میلی‌گرم در لیتر بر درصد کالوس‌دهی و جوانه‌زنی تخمک‌ها معنی‌دار بود. بر اساس نتایج بدست آمده درصد تخمک‌های جوانه زده، بین دو رقم مورد آزمایش معنی‌دار بود. تخمک‌های جوانه‌زده در رقم عسکری23/71 درصد و در رقم بیدانه سفید14/44 درصد بود. بطور کلی محلول‌پاشی با بنزیل آدنین قبل از گل‌دهی باعث افزایش موفقیت تکنیک نجات جنین در ارقام عسکری و بیدانه سفید می‌شود.

واژه های کلیدی: *بیدانگی، بنزیل آدنین ، کشت تخمک ، سقط جنین، محیط کشت.*

* نویسنده مسئول: رسول جلیلی مرندی تلفن: 09143412964 Email: rasuljalili@yahoo.com

مقدمه

بیدانگی در دو رقم عسکری و بیدانه سفید که از واریته‌های انگور رومیزی و کشمشی در ایران محسوب می‌شوند، به علت استنواسپرموکارپی است، که گرده افشانی و لقاح اتفاق می‌افتد اما به دنبال آن، نسبت به رقم در زمان‌های مختلف، سقط جنین روی می‌دهد (Jalili Ebadi *et al*., 2001; Ebadi *et al*. 2002; Marandi,2007). بنابراین سقط جنین‌های لقاح یافته در انگورهای بیدانه به طور وسیع کارآیی باززایی ارقام بیدانه را محدود می‌کند. با تمام تلاشی که در قرن اخیر برای تعیین نحوه توارث صفت بکرباری کاذب انجام گرفته است ولی توارث آن بطور کامل مشخص نشده است (Ledbetter & Burgos, 1994). 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 می‌دهند (Ledbetter & Ramming, 1989). به نظر پژوهشگران یکی از علل بکرباری کاذب در انگور، تجزیه اندوسپرم و به دنبال آن توقف رشد جنین است (Ebadi *et al*. 1996; Clinglerffer, 1998). در رقم انگور هیمرُد بیدانه[1] درصد بالایی از تخمک ها هسته اندوسپرم تقسیم نشده داشته و خیلی زود تحلیل می‌روند (Ebadi *et al*., 1996). در رقم کنکورد[2] بیدانه تجزیه اندوسپرم حدود سه هفته پس از باز شدن گل می‌باشد. در ارقام سلطانی و مونوکای سیاه[3] زمان تجزیه اندوسپرم مشخص نبوده اما هنگام بلوغ حبه اندوسپرم در هیچ بذری یافت نشده است (Clinglerffer, 1998). وسعت تغییرات هورمونی و مواد مغذی ارتباط مستقیمی با توسعه جنین نارس در کشت تخمک انگور دارد (Loomis & Weinberger, 1997). بافت مادری احاطه کننده حبه توسعه یافته یک مقصد فیزیولوژیکی قوی برای سیتوکینین‌ها می‌باشد و سرانجام اندوسپرم و جنین را از سیتوکینین تهی می‌کند در نتیجه تقسیم سلولی متوقف شده و منجر به سقط جنین می شود، بنابراین کاربرد خارجی سیتوکینین می‌تواند مقصد قوی برای جنین باشد. از سوی دیگر تقسیم سلولی را در تخمدان و جنین تسهیل می کند (Bharathy *et al*., 2005). محلول پاشی بنزیل آدنین می‌تواند کمبود سیتوکینین‌ها را جبران کند و منجر به توسعه بهتر تخمک و جنین شود. سیتوکینین‌ها در بذر منتشر می‌شوند و به عنوان یک مخزن برای تقسیم سلولی در تخمدان و سپس در مریستم‌های جنین عمل می‌کنند و از اینرو برای توسعه و نمو بذر ضروری هستند (Atkins *et al*., 1998). در روش‌های مرسوم اصلاحی به دلیل عدم تولید بذر زنده، کمتر می توان ارقام استنوسپرموکارپ را اصلاح کرد. تکنیک نجات جنین این امکان را بوجود آورده است که از جنین‌های در حال سقط، گیاه تولید

1 - Himrod seedless
2- Concord
3- Black monoka

نمود (Ebadi *et al*., 2001). استفاده از تکنیک نجات جنین در صورتی امکان پذیر است که اولاً بی دانگی به دلیل پدیده استنوسپرموکارپی باشد و در ثانی از چگونگی و زمان سقط جنین آن‌ها اطلاعات کافی در دست باشد تا بتوان قبل از شروع تخریب در بافت های تخمک حاوی سلول تخم و یا پیش از سقط جنین نسبت به خارج کردن آن از درون حبه و کشت آن در محیط های مصنوعی اقدام نمود (Ebadi *et al*., 2001). نتایج تحقیقات نشان می‌دهند که کاربرد خارجی برخی تنظیم کننده‌های رشد نظیر مشتقات مصنوعی سیتوکینین‌ها، پوترسین و کلرومکوات در توسعه تخمک و نجات جنین ارقام استنوسپرموکارپ انگور موثر می‌باشد (Spiegle-Roy *et al*., 1985; Tang *et al*., 2009; Bharathy *et al*., 2005 ;). در اغلب تحقیقات پیشین تنظیم کننده‌های رشد به محیط کشت برای توسعه جنین و باززایی گیاه اضافه شدند (Emershad & Ramming, 1984; Spiegle-Roy *et al*., 1985; Emershad *et al*. 1989; Ponce &Tizio, 2002).

تنظیم کننده‌های رشد گیاهی یکی از فاکتورهای مهم تاثیر گذار بر موفقیت نجات جنین و در بهبود کارآیی نجات جنین در ارقام بیدانه انگور هستند (Emershad & Ramming, 1984; Spiegle-Roy *et al*., 1985). هدف از این بررسی کاربرد خارجی بنزیل آدنین و اثر ژنوتیپ در نجات جنین ارقام انگور عسکری و بیدانه سفید می‌باشد.

مواد و روش ها

این تحقیق در سال 1389 در ایستگاه تحقیقاتی کهریز ارومیه و آزمایشگاه کشت بافت گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه انجام شد. برای این منظور ابتدا از ارقام عسکری و بیدانه سفید در تاکستان‌های ایستگاه تحقیقاتی کهریز ارومیه سه بوته با قدرت رشد یکسان و هم سن (12 ساله) انتخاب شدند. برای هر تیمار 5 خوشه درقسمت‌های مختلف با اندازه تقریباً یکسان انتخاب و اتیکت زده شد. 14روز قبل از باز شدن گل‌ها، از بنزیل آدنین (شرکت مرک آلمان) در غلظت‌های (0، 60 و 100 میلی گرم در لیتر) برای محلول پاشی بر دو رقم عسکری و بیدانه سفید استفاده شد. در مرحله شکوفایی برای هم سن نمودن گل‌ها، خوشه‌ها به طور روزانه مورد باز دید قرار گرفتند. در اولین روز شکوفایی، کلیه گل‌های باز شده حذف شدند. در روز دوم کلیه گل‌های باز شده حفظ و همه گل های باز نشده حذف گردید (Ebadi *et al*., 2001). حبه‌ها در رقم بیدانه سفید در زمان 20 روز پس ازگرده افشانی و در رقم عسکری 40 روز پس ازگرده افشانی برداشت شدند و بعد از استریل کردن حبه‌ها با محلول یک دوم درصد (حجمی به حجمی) هیپوکلریت سدیم تجارتی به همراه چند قطره مویان، به مدت 15 دقیقه ضدعفونی شده پس از سه بار آبکشی با اسکارپل برش و با پنس تخمک‌ها را جدا کرده و به محیط کشت نیچ و نیچ (NN) به اضافه 1 میکرومولGA3، 1میکرومول NAA، 2 گرم در

لیتر زغال فعال، 20 گرم در لیتر ساکارز و 8 گرم در لیتر آگار قرار داده شد و pH محیط کشت به 5/6 ±0/1 تنظیم گردید و سپس به اتاقک رشد با دمای روز 2±27 و دمای شب 2±22 و در معرض نور سفید فلورسنت با فتوپریود 16ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی با شدت نور 3000 لوکس انتقال داده شدند. تعداد تخمک‌های قهوه ای شده، کالوس داده و جوانه‌زده تا 5 ماه پس از کشت در شرایط درون شیشه‌ای، بررسی و شمارش شدند. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی و در پنج تکرار انجام گرفت. هر واحد آزمایشی متشکل از 4 پتری دیش، و هر پتری دیش حاوی 10 تخمک بود.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد آزمایش در جدول 1 نشان داده شده است.

جدول1- نتایج تجزیه واریانس اثر بنزیل آدنین در تخمک‌های سیاه شده، کالوس داده و جوانه‌زده دو رقم انگور مورد آزمایش.

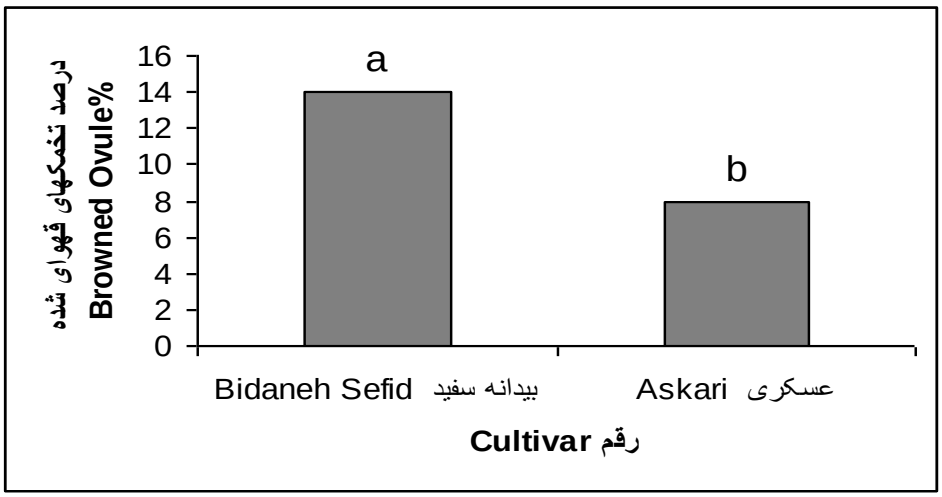
Table 1- ANOVA of the effect of the Benzyladenine and cultivar on browned , callused and germinated ovules in two grape cultivars.

منابع تغییرات Source of Variation	درجه آزادی d.f.	میانگین مربعات Mean of Square		
		تخمک‌های قهوه ای شده Browned Ovules	تخمک‌های کالوس داده Callused Ovules	تخمک های جوانه زده Germinated ovules
رقم Cultivar	1	353.82*	8.132 ns	773.32**
بنزیل آدنین Benzyladenine(BA)	2	69.94 ns	2981.7**	663.65**
اثر متقابل رقم و بنزیل آدنین Interaction BA ×cultivar	2	52.98ns	330.34ns	23.2 ns
اشتباه آزمایشی Error	24	54.78	74.94	40.57
ضریب تغیرات (٪) CV(%)		12.10	16.2	12.45

***، **و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 5 درصد،1 درصد و غیر معنی دار.**

***,**and ns: Significant at p□□< 0.05,0.01 and not significant, respectively.**

بعد از گذشت حدود 20 روز از زمان کشت تخمک‌ها در محیط کشت نیچ و نیچ مشاهده شد که تعدادی از تخمک‌ها ابتدا قهوه‌ای و سپس کاملاً سیاه شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که درصد تخمک‌های قهوه‌ای شده در ارقام مورد آزمایش در سطح احتمال 5 درصد معنی دار بود اما غلظت‌های بنزیل آدنین و اثر متقابل رقم و بنزیل آدنین بر صفت قهوه‌ای شدن تخمک‌ها معنی‌دار نبودند (جدول 1). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بالاترین درصد قهوه‌ای شدن تخمک مربوط به رقم بیدانه سفید (14/29٪) بود که نسبت به رقم عسکری (8/02٪) اختلاف معنی‌داری را نشان داد (شکل1).



شکل1- تاثیر رقم بر روی درصد تخمک های قهوه‌ای شده.

Figure 1-Effect of cultivar on percentage of browned ovules.

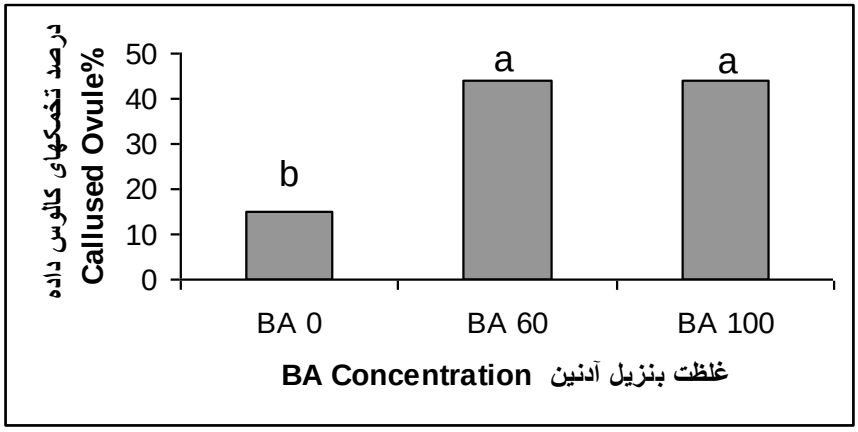
چنانکه در جدول تجزیه واریانس مشاهده می‌شود، غلظت‌های بنزیل آدنین در کالوس‌دهی تخمک در سطح احتمال 1 درصد معنی دار بود. اما اثر ارقام مورد آزمایش و اثر متقابل بنزیل آدنین و رقم، در کالوس‌دهی تخمک‌ها معنی‌دار نبود. بیشترین درصد تخمک‌های کالوس داده در تیمارهای بنزیل آدنین با غلظت 60 میلی گرم در لیتر (43/29٪)، بنزیل آدنین با غلظت 100 میلی گرم در لیتر (42/65٪) و کمترین درصد در تخمک‌های شاهد (15/67 ٪) مشاهده گردید (شکل2). بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول 1)، رقم و غلظت‌های بنزیل آدنین بر درصد تخمک‌های جوا نه‌زده در سطح احتمال 1 درصد معنی‌دار بود. نتایج تجزیه واریانس جدول 1 نشان داد که درصد تخمک‌های جوانه زده تحت تاثیر ارقام مورد آزمایش و غلظت‌های بنزیل آدنین قرار گرفت. اثر ارقام انگور بر میزان جوانه‌زنی در سطح احتمال 1٪ معنی‌دار بود. نتایج

این پژوهش نشان داد که میزان جوانه‌زنی در رقم عسکری 23/71 درصد و رقم بیدانه سفید14/44درصد بود (شکل 3).

همچنین اثر تیمارهای 60 و100 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین نیز بر درصد جوانه‌زنی تخمک‌ها در سطح احتمال 1درصد نسبت به شاهد معنی‌دار بود (شکل 4). درصد جوانه‌زنی تخمک‌ها به ترتیب در تیمار 60 و 100 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین 23/68 و 23/05درصد و در شاهد 10/5 درصد بود.

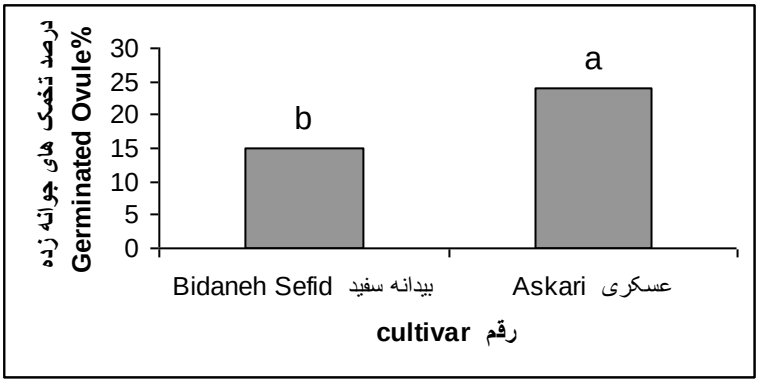
بحث

طبق نتایج جدول 1، بین درصد تخمک‌های قهوه‌ای شده در ارقام مورد آزمایش اختلاف معنی دار بود و درصد تخمک‌های قهوه‌ای شده در رقم انگور سفید بیدانه بیشتر از رقم انگور عسکری بود. براساس اظهار پژوهشگران میزان قهوه‌ای شدن تخمک‌ها بر روی محیط کشت، به ارقام انگور، زمان جداسازی تخمک‌ها واندازه تخمک‌ها بستگی دارد (Spiegel-Roy *et al*., 1985; Gray *et al*., 1990; Gribaudo *et al*., 1993 & Ebadi *et al*., 2002; Tang *et al*., 2009). بین قهوه‌ای شدن تخمک‌ها و احتمالاً تانن‌های تولید شده در اثر متابولیسم تخمک‌ها ارتباط مشخص وجود دارد و در ژنوتیپ‌ها متفاوت می‌باشد (Gray, 1992). قهوه‌ای شدن تخمک‌ها روی محیط کشت به ترکیبات تاننی بستگی دارد که ممکن است شامل فنل‌ها یا سایر مواد سمی باشد و با گسترش تانن‌ها در محیط کشت حلقه‌هایی در اطراف تخمک ها به وجود می‌آید (Gray, 1992). طبق نتایج بدست آمده از این آزمایش قهوه‌ای شدن تخمک‌ها تحت تاثیر محلول پاشی بنزیل آدنین قرار نگرفت. با توجه به اینکه زمان برداشت تخمک در این آزمایش در رقم بیدانه سفید 20 روز بعد از شکوفایی و در رقم عسکری 40 روز بعد از شکوفایی بود، میزان قهوه‌ای شدن تخمک‌ها در این دو رقم نسبت به نتایج بدست آمده از طرف برخی محققان مطابقت دارد (Ebadi *et al*., 2002). طبق اظهار پژوهشگران در اکثر ارقام بیدانه تخمک‌ها در آغاز رنگ گیری شروع به انحطاط می‌کنند. در این زمان لکه‌های قهوه‌ای در دیواره تخمک‌ها ظاهر شده و از بین می‌روند و این نوع تخمک‌ها قادر به جوانه‌زنی بر روی محیط کشت نمی‌باشند (Ebadi *et al*., 2002; Tsolova, 1990).



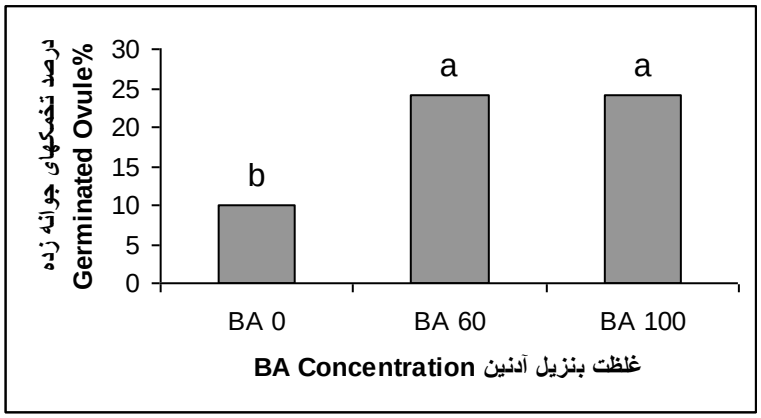
شکل1- اثر غلظت‌های بنزیل آدنین بر روی درصد کالوس‌دهی تخمک‌ها.

Figure 2- Effect of different concentration of benzyladenine on percentage of callused ovules.



شکل2-.تاثیر رقم بر در صد تخمک‌های جوانه‌زده.

Figure 3- Effect of cultivar on percentage of ovule germination.



شکل4- تاثیرسطوح بنزیل آدنین بر در صد تخمک‌های جوانه‌زده .

Figure 4- Effect of different levels of Benzyladenine on percentage of ovule germination.

از لحاظ درصد تخمک‌های کالوس داده درمحیط کشت، بین ارقام مورد آزماش اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید. اما بین غلظت‌های بنزیل آدنین مورد استفاده در محلول پاشی قبل از شکوفایی گل‌ها و شاهد اختلاف معنی‌دار بدست آمد. طبق اظهار پژوهشگران بنزیل آدنین در تشکیل کالوس نقش دارد (Lopez-Perez *et al*., 2005). در تحریک تشکیل کالوس فقط به اکسین (مخصوصاً در تک لپه‌ها) یا فقط به سیتوکینین و یا به اکسین و سیتوکینین نیاز است (Pierik, 1997). سیتوکینین در تمایز و تقسیم سلولی به ویژه همراه با اکسین دخالت دارد (Gana, 2010). در ضمن ستوکینین‌ها بخصوص بنزیل آدنین در باززایی و تشکیل کالوس‌های جنین‌زا نقش عمده دارند و همراه با گلوکز موجب تشکیل کالوس بیشتر می شود (Pierik, 1997). همچنین طبق نتایج بدست آمده مشخص گردیده است که اضافه کردن بنزیل آدنین به محیط کشت موجب افزایش وزن تر کالوس تشکیل شده در ریزنمونه های برگ انگور شده است (Ozden and Karaaslan, 2010).

در این بررسی درصد تخمک‌های جوانه زده در رقم عسکری 23/71 درصد و در رقم سفید بیدانه سفید 14/44 درصد بود. نتایج تحقیقات بسیاری از پژوهشگران نیز نشان می‌دهد که میزان جوانه‌زنی تخمک‌ها بین ارقام مورد آزمایش متفاوت می‌باشد (Spiegel-Roy *et al*.,1985; Tsolova, 1990; Ebadi *et al*., 2002; Tang *et al*., 2009). در تحقیق انجام شده از لحاظ بررسی زمان و نحوه سقط جنین بر روی ارقام عسکری و بیدانه سفید گزارش گردیده است که در 8/3 درصد از شبه بذرهای رقم بیدانه سفید و 33/3 درصد از شبه بذرهای رقم عسکری در 45 روز بعد از شکوفایی دارای پیش جنین زنده بودند. همچنین در رقم عسکری از مجموع 33/3 درصد شبه بذرهای دارای پیش جنین، 16/6 درصد آن‌ها دارای اندوسپرم سلولی شده زنده بودند و این در حالی بود که در رقم بیدانه سفید همراه پیش جنین‌های زنده اثری از اندوسپرم مشاهده نگردید (Ebadi *et al*., 2001). با توجه به موارد فوق و نتایج حاصل از این تحقیق به نظر می‌رسد جنین‌های رقم عسکری نسبت به بیدانه سفید از قدرت جوانه زنی بیشتر برخوردار هستند.

تنظیم کننده‌های رشد گیاهی یکی از عوامل مهم تاثیرگذار بر موفقیت و در بهبود کارآیی نجات جنین در ارقام بکربار کاذب انگور می‌باشند (Burger & Goussard, 1996; Bharathy *et al*., 2005; Tang *et al*. 2009). وسعت تغییرات هورمونی و مواد مغذی، ارتباط مستقیمی با توسعه جنین در کشت تخمک انگور دارد. یکی از دلایل ممکن، استفاده از ترکیبات مصنوعی سیتوکینین‌ها، نظیر بنزیل آدنین به صورت کاربرد خارجی و به شکل استفاده در محیط کشت یا محلول‌پاشی پیش از گلدهی، قدرت مقصد فیزیولوژیکی را در بذر افزایش داده و منتج به توسعه جنین می‌شود (Atkines *et al*.,1998; Bharathy *et al*., 2005 Patil *et*

al.,). درصد بالاتر بازیافت جنین (35/07٪) در تیمار با بنزیل آدنین در مقایسه با شاهد (16/47٪) گزارش شده و به نظر می‌رسد که استفاده از بنزیل آدنین سبب تحریک جوانه‌زنی و تسریع جنین زایی می‌شود (Gray *et al.*, 1990). بر اساس مطالعه‌های انجام گرفته مشخص شده است که محلول‌پاشی قبل از گل‌دهی سبب افزایش باززایی و جوانه‌زنی جنین‌های رقم انگور فلیم سیدلس گردیده است (Bharathy *et al.*, 2005). همچنین در تحقیق دیگر گزارش شده که بنزیل آدنین موجب افزایش نمو و جوانه‌زنی ارقام بکربار کاذب انگور گردیده و اضافه کردن زغال فعال به محیط کشت نیز تاثیر زیاد در جوانه‌زنی جنین‌ها دارد (Burger & Goussard, 1996).

در بررسی شش رقم انگور بکربار کاذب گزارش شد که استفاده از بنزیل آدنین در محیط کشت موجب افزایش احیا و جوانه‌زنی جنین شده و درصد جوانه‌زنی جنین‌ها نسبت به ارقام مورد آزمایش بین صفر الی 41 درصد بود (2007 ,Nookaraju *et al.*).

با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق بنزیل‌آدنین با دو غلظت 60 و 100 میلی گرم در لیتر موجب افزایش درصد جوانه‌زنی در ارقام مورد آزمایش نسبت به شاهد شد. در عین حال می‌توان گفت که بررسی‌های بیشتری مورد نیاز است تا شناخت جامعی بر اساس مطالعه پیش تیمار تنظیم کننده‌های رشد و غلظت‌های آن‌ها در ارقام بکربار کاذب انگور در ایران بدست آید. برای مثال تاثیر انواع مشتقات سیتوکینین و اثر متقابل آن‌ها با انواع اکسین، انواع قندها به ویژه ساکارز و همچنین انواع محیط‌های کشت در نجات جنین ارقام بکربار کاذب می‌تواند نتایج متفاوتی نشان دهد.

منابع

Atkins CA, Emery RJN, Ma Q (1998). Cis and trans isomers of cytokinins in seed development of lupin. Plant Biology Electronic Abstract Center No.585.

Bharathy PV, Karibasappa GS, Patil SG, Agrawal DC (2005). In ovule rescue of hybrid embryos in flame seedless grapes-Influence of pre-bloom sprays of benzyladenine.Scientia Horticulturae 106: 353–356.

Burger P, Goussard PG (1996). In vitro of ovules and embryos from seedless grapes (*Vitis vinifera* L.).South African Journal of Viticulture 17: 31-37.

Clinglerffer PR (1998). Breeding table grape and raisin varieties. Breeding and Biotechnology for Fruit Trees NIFTS pp. 46-49**.**

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

Ebadi A, Atashkar D, Dehgani Y (2001). Time and mechanism of embryo abortion in some seedless grapevine cultivars to rescue their embryo. Seed and Plant Improvement Journal 17(2):183-202. (In Farsi).

Ebadi A , Sarikhani H ,Zamani Z , Babalar M (2002). Application of in ovule embryo culture technique in grapevine breeding program. Iranian Journal of Agricultural Science 33: 129-135. (In Farsi).

Emershad RL, Ramming DW (1984). In ovule embryo culture of *vitis vinifera* L.cv. Thompson seedless. American Journal of Botany 71: 873-877.

Emershad RL, Ramming DW, Serpe MD (1989) In ovule embryo development and plant formation from stenospermic genotypes of *Vitis vinifera* L. American Journal of Botany 76: 379-402.

Gana A S (2010). The role of synthetic growth hormones in crop multiplication and improvement. African Journal of Biotechnology 10: 10330-10334.

Gray DJ, Mortensen JA, Benton CM, Durham RE, Moore GA (1990). Ovule culture to obtain progeny from hybrid seedless bunch grapes. Journal of the American Society for Horticultural Science 115: 1019–1024.

Gray DJ **(**1992). Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryos of muscadine grape (*Vitis rotundifolia* L.) cultivars. American Journal of Botany 79: 542-546.

Gribaudo I, Zanetti R, Botta R, Eynard I (1993). In ovule embryo culture of stenospermocarpic grapes. Vitis 32**:** 9-14.

Jalili Marandi R (2007). Small Fruits. Jihad-e-Daneshgahi. Urmia. (In Farsi).

Ledbetter CA, Ramming DW (1989). Seedlessness in grape. Horticulture Reviews 11: 159-184.

Ledbetter CA, Burgos L (1994). Inheritance of stenospermocarpic seedlessness in *Vitis vinifera* L. Journal of Heredity 85: 157-160.

Loomis NH, Weinberger JH (1997). Inheritance studies of seedlessness in grapes. Journal of the American Society for Horticultural Sciences 104: 181-184.

Lopez-Perez A J, Carreno J, Martinez-Cutllas A, Dabauza M (2005). High embryogenic ability and plant regeneration of table grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) induced by activated charcoal. Vitis 44: 79-85.

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

Ozden M, Karaaslan M (2010). Effect of cytokinin on callus proliferation associated with physiological and biochemical change in *Vitis vinifera* L. Acta Physioloiae Plantarum 1-9.

Patil VP, Patil SG , Honrao B K (1992). Interspecific hybridization and evaluation of F1 hybrids. In: Proceedings of the International Symposium on Recent Advances in Viticulture and Oenology Hyderabad India: 100-107.

Pierik RLM (1997). In Vitro Culture of Higher Plants Kluwer academic publishers.

Ponce M, Tizio R (2002). Brief note improved in vitro embryo development of stenospermic grape by putrescine. Biocell 26: 263-266.

Spiegel-Roy P, Sahar N, Baron J, Lavi V (1985). In vitro culture and plant formation from grape cultivars with abortive ovules and seeds. Journal of American Society Hort scince 110: 109–112.

Tang D, Wang Cai J, Zhao R (2009). Effects of exogenous application of plant growth regulators. Scientia Horticulturae 120: 51-57.

Tsolova V (1990). Obtaining plants from crosses of seedless grapevine varieties by means of in vitro embryo culture. Vitis 29: 1-4.

Effect of pre-bloom sprays of Benzyladenine on the Development of Ovule and Embryo Rescue of Two Iranian Stenospermic Grape (*Vitis vinifera* L.)

Jalili Marandi R.*[1], Doulati Baneh H.[2], Masoumi E.[3], Mohseni Azar M.[4]

[1,2,3,4] Associate professor, Research Assistant Professor, Former graduate student of Horticulture and MS in Biotechnology, Department of Horticulture, Agricultural Faculty, Urmia University, Urmia, Iran.

Abstract

One of the main objectives of table grape breeding programs is producing new seedless hybrids with large, firm, high flavor berries and consistent with consumers taste. Abortion of zygotic embryo in seedless grapes largely limits the efficiency of seedless cultivars breeding. Since cytokinins are known to increase the sink strength of seeds for assimilates, the present investigation was conducted to study the influence of pre-bloom sprays of benzyladenine (BA) on ovule development and embryo rescue of two stenospermic grape cultivars (Askari and White Seedless).Concentrations of BA were 0, 60 and 100 ppm. Ovules of White Seedless, 20 days and Askari 40 days after flower opening were dissected out of berries and then cultured in Nitsch & Nitsch medium containing 1µM GA3, 1µM NAA, 2 g/l activated charcoal, 20 g/l sucrose and 8 g/l agar. Evaluated characteristics were ovule browning, callusing and germination. BA Spraying had no significant effect on ovules blacking but percentage of browned ovules were significant between examined cultivars and the highest ovule browning were observed in White Seedless cultivar. Effect of BA sprays whit 60 and 100 ppm concentrations were significant on callusing and ovules germination. Results showed the significant effect of cultivars on the percentage of germination ovules. Ovules germination was 23.71% in Askari cultivar and 14.44% in White Seedless. Finally pre-bloom sprays of benzyladenine (BA) increase successfully of embryo rescue technique in Askari and Bidaneh sefid Cultivars.

Key words: *Seedlessness, Benzyladenine, Ovule culture, Embryo abortion, Culture medium.*

* Corresponding Author: Jalili Marandi R. Tel: +98-441-2972357 Email: rasuljalili@yahoo.com