

## تعیین زمان سقط جنین در انگور بیدانه قرمز با استفاده روشهای هیستولوژیکی

مهدی محمدی (۱)، محمد رضا دادپور (۲)، محبوبه علی اصغر پور (۳)، حامد دولتی بانه (۴)، جابر پناهنده (۵)، الهام محجل کاظمی (۶)

۱- کارشناسی ارشد باغبانی دانشگاه تبریز، ۲- استادیار کشاورزی دانشگاه تبریز، ۳- دانشیار علوم دانشگاه تبریز، ۴- مسئول ایستگاه تحقیقات کهریز ارومیه، ۵- استاد یار کشاورزی دانشگاه تبریز، ۶- دانشجوی دکتری زیست تربیت معلم تهران

انگور بیدانه ایرانی یکی از ارقام تجاری جنس ویتیس است؛ که در حال حاضر محققین تلاش های زیادی در جهت بهبود کیفیت و کمیت آن انجام می دهند. در کارهای اصلاحی، نتایج حاصل از هیبریداسیون ارقام استنوسپرموکارپ، مدتی بعد از لقاح، جنین دچار سقط می شود، مشخص بودن زمان دقیق سقط، یکی از فاکتورهای بسیار مهم در امر نجات جنین می باشد. در این کار، از گیاهان ۸ ساله واقع در ایستگاه تحقیقاتی کهریز ارومیه، نمونه برداری شد و پس از فیکس کردن و پارافین دهی، برش گیری با ضخامت ۸-۱۰ میکرون توسط دستگاه میکروتوم انجام شد. برای رنگ آمیزی از PAS-هماتوکسیلین استفاده شد. بعد از انجام مشاهدات و بررسی های هیستولوژیکی توسط میکروسکوپ نوری، مشخص شد که سقط جنین در فاصله زمانی ۱۵ تا ۲۵ روز پس از گرده افشانی روی می دهد بهمین دلیل، بنظر می رسد که برداشت تخمک (یا جنین) از میوه برای نجات جنین، می تواند در این زمان انجام شود.

**کلمات کلیدی:** انگور بیدانه ایرانی، نجات جنین، روشهای هیستولوژیکی و میکروسکوپ نوری

### مقدمه

تیره ویتاسه یکی از مهمترین تیره های گیاهی است که جنس ویتیس را با همه ویژگی های اقتصادی خود، در بر می گیرد. در این میان انگور بیدانه ایرانی جایگاه ویژه ای در بازارهای مصرف و صادرات دارد و افزایش کیفیت و کمیت این محصول با استفاده از روشهای اصلاحی از مهمترین هدفهای محققین است (۱،۲،۳). با توجه به اینکه کارهای اصلاحی سنتی نیاز به زمان و هزینه زیادی دارد؛ استفاده از روشهای دقیق و ارزان می تواند راهی مناسب برای تحقق اهداف مذکور باشد. در رقم سلطانی که مهمترین رقم بی دانه بشمار می آید، بی بذری نتیجه تحلیل رفتن جنین تشکیل یافته پس از گرده افشانی و لقاح است. دلایل مختلفی برای آن ذکر شده است که از آن جمله می توان به عدم تغذیه مناسب جنین توسط آندوسپرم اشاره داشت (۲، ۳ و ۴). در واقع بقایای تخمک نمو نیافته در داخل میوه را، تا مرحله برداشت آن می توان دید با این حال به سبب کوچک بودن چنین بذر ناری، وجود آن به هنگام خوردن میوه احساس نمی شود. هرچند این ویژگی از نظر تولید محصول بسیار مطلوب می باشد، ولی از دیدگاه بهنژادی و بدست آوردن نتایج زایشی، مشکل ساز خواهد بود (۵). در کارهای دورگه گیری، که به منظور انتقال ژن های واریته های وحشی یا واریته هایی که دارای صفت بخصوص مطلوبی هستند به واریته های زراعی استفاده می شود؛ نتایج حاصل از تلاقی بیدانه در بیدانه یا بیدانه در دانه دار دچار سقط، پیش از رسیدن کامل می شوند و به همین دلیل از تکنیک نجات جنین استفاده می شود که در آن تخمک یا جنین نارس جدا شده از تخمک به محیط غذایی مایع یا جامد انتقال می یابد تا ادامه رشد و نمو خود را در آنجا طی کند (۱ و ۶). مهمترین عوامل جهت موفقیت در تکنیک نجات جنین، محیط کشت مناسب، سن برداشت جنین یا تخمک و ژنوتیپ گیاه است (۴ و ۱). در این میان زمان برداشت جنین یا تخمک نقش بسزائی در موفقیت تکنیک نجات جنین دارد. همچنین تغذیه گیاه مادری نقش مهمی در رشد و نمو جنین دارد و به دلیل وابستگی زیاد جنین نارس به گیاه مادری، هر چه دیرتر از گیاه مادری جدا شود بهتر است و از طرفی زمان مناسب و دقیق جداسازی برای جلوگیری از سقط نیز باید مد نظر باشد.

### مواد و روش‌ها

نمونه‌های برداشت شده شامل سلطانی (بیدانه ایرانی) و قزل اوزوم (حاوی بذر حقیقی) برای مقایسه بودند. نمونه‌ها از خوشه‌هایی که در مرحله مشابه فنولوژیکی بودند برداشت شده و برای نمونه برداری‌های بعدی علامتگذاری شدند. گیاهان مورد استفاده در ایستگاه تحقیقاتی کهریز اورمیه، ۸ ساله بوده و به روش هدایت روسیمی کوردون (۴ × ۲) تربیت شده بودند. نمونه‌ها طی مرحله ۱۰ روز پیش از ریزش کلاهک تا ۶۰ روز پس از آن (با فواصل زمانی ۵ روزه)، جمع‌آوری شد و بلافاصله در فیکساتور FAA تثبیت شدند. پس از آن در آزمایشگاه سیتوشیمی دانشکده علوم دانشگاه تبریز، براساس طول مادگی در مراحل اولیه و بر اساس طول میوه در مراحل بعدی تقسیم‌بندی شدند. برای این منظور از کاغذ میلیمتری و کولیس استفاده شد. در این آزمایش از روش‌های بافت‌شناسی کلاسیک استفاده شد و رنگ‌آمیزی نمونه‌ها نیز با معرف‌های عمومی و اختصاصی انجام گرفت و در نهایت پس از مونتاژ لام‌ها، در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شدند (۳).

### نتایج و بحث

در بررسی‌ها مشخص شد که در برخی نمونه‌ها، رشد و نمو در مرحله تشکیل کیسه جنینی و سلول تخم متوقف شده است ولی در بیشتر نمونه‌ها سقط در بازه زمانی بین ۱۵ تا ۲۵ روز پس از گرده‌افشانی روی می‌دهد که این زمان در رقم دانه‌دار قزل‌اوزوم ارومیه همزمان با تشکیل جنین گلوبولار کامل بود. اندازه تخمک‌ها در این مرحله ۶ تا ۸ میلیمتر بودند. نتایج این آزمایش با آزمایش‌های عبادی و همکاران (۱۳۸۰) که از روش جوانه‌زنی در محیط کشت استفاده شده بود نیز مطابقت دارد که در آن زمان ۲۰ روز پس از باز شدن گل ذکر شده بود. در کاری دیگر کورکوتال در سال ۲۰۰۵ نشان داد که در برخی از رقم‌های بی‌بذر، سقط در بازه زمانی ۵ تا ۱۰ روز پس از اوج شکوفه رخ می‌دهد (۳و۶).

### منابع:

1. Bharathy, P. V., Karibasappa, G. S., Patil, S. G. and Agrawal, D. C. 2005. In ovule rescue of hybrid embryos in Flame seedless grapes-Influence of pre-bloom sprays of benzyladenine. *Scientia Horticulturae*. 106: 353-359.
2. Korkutallkl, I. 2005. Embryo abortion in some new seedless table grape. *I.J. B.* 1: 1-4.
3. Raghavan, C. 2006. Double fertilization. Embryo and endosperm development in flowering plants. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
4. Ramming, D. W., Ledbetter, C. A. and Tarilo, R. 1990. Hybridization of seedless grapes. *Proceedings of 5th International Symposium of Grape Breeding. Vitis. Special Issue.* 439-444.
5. Ruzin, S. E. 1999. *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press, New York.
6. Yang, D., Li, W., Li, S., Yang, X., Wu, J. and Cao, Z. 2007. In vitro embryo rescue culture of F1 progenies from crosses between diploid and tetraploid grape varieties. *PGR*. 51: 63-71.

**Determination of embryo abortion time in stenospermocarpic grape**

M. mohammadi<sup>1</sup>, M.R. Dadpour<sup>1</sup>, M. Ali asgharpour<sup>2</sup>, H. dolati baneh<sup>3</sup>, J. Panahandeh<sup>1</sup>, E. mohajjel kazemi<sup>4</sup>

1-Faculty of Agriculture. University of Tabriz 2-Faculty of biology. University of Tabriz 3-Agriculture Research Center of west Azerbaijan 4- Tarbiat moalem. Tehran University

**Abstract**

Thomson seedless (Iranian grape) is one of the trade varieties in vitis genus. At the present, the researchers are attempting to improve the quality and quantity with inbreeding methods. One of the major problems in this method is abortion of embryo that occurs following fertilization. Determining of embryo abortion time is important in embryo rescue. At this experiment, after fixation and parafination of plant samples, stained with PAS-Hematoxilen and study the histological characteristics of microtomic slices with light microscope. Microscopic analysis shows that embryo abortion occurred at the 15-25 days of development stage after full bloom and pollination.

Keywords: embryo rescue, histological method, Iranian seedless grape and microscope