مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد نوزدهم، شماره چهارم، ۱۳۹۱
http://jopp.gau.ac.ir

بررسی اثر برخی از پلی‌آمین‌ها بر موفقیت تکنیک نجات جنین در انگور بی‌دانه رقم فلیم سیدلس

*مصطفی عالی‌فر[۱]، علی عبادی[۲]، محمدرضا فتاحی‌مقدم[۳]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد رشته بیوتکنولوژی دانشگاه تهران، [۲]استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، [۳]دانشیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

چکیده

انگورهای بی‌دانه به‌طور گسترده در سراسر جهان کشت می‌شوند. ایران دارای ژرم‌پلاسم بسیار غنی از انگورهای دانه‌دار و بی‌دانه می‌باشد. یکی از مهمترین اهداف اصلاحی انگورهای تازه‌خوری، به‌دست آوردن انگورهای بی‌دانه جدید و با کیفیت مطلوب می‌باشد. مهم‌ترین روش برای تولید نتاج جدید بی دانه استفاده از تکنیک نجات جنین می‌باشد. در این پژوهش به‌منظور بهبود راندمان به نسبت پایین نتاج به‌دست آمده از این تکنیک، از غلظت‌های مختلف پوتریسین، کاداورین، اسپرمیدین و اسپرمین (هر کدام در سه غلظت) در محیط کشت تخمک‌های حاصل از گرده‌افشانی آزاد انگور رقم فلیم سیدلس استفاده شد. ٤٥ روز پس از گرده‌افشانی، تخمک‌ها از حبه جدا و در محیط کشت نیچ و نیچ حاوی ۳ درصد ساکارز، ۰/۲ درصد زغال فعال و ۰/٦ درصد آگار کشت شدند. پس از گذشت ۱۰ هفته، جنین‌ها از تخمک‌ها خارج و به محیط کشت موراشیگ و اسکوگ حاوی ۲/۵ درصد ساکارز، ۰/۲ درصد زغال فعال و ۰/۷ درصد آگار منتقل شدند. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که پوتریسین، اسپرمیدین و اسپرمین به‌ترتیب با غلظت ۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سبب افزایش معنی‌دار درصد رشد و نمو و جوانه‌زنی جنین‌ها و گیاهچه‌های حاصل از آن شد. استفاده از کاداورین در بهترین حالت (غلظت ۰/۵ میلی‌مولار) سبب افزایش درصد رشد جنین‌ها و جوانه‌زنی جنین‌ها شد اما این افزایش معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی: پلی آمین‌ها، نجات جنین، انگور

*مسئول مکاتبه: m.aalifar65@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

انگورهای بی‌دانه به‌طور گسترده برای مصارف تازه‌خوری و تهیه کشمش در آسیا، اروپا و آمریکا کشت می‌شوند (تانگ و همکاران، ۲۰۰۹). امروزه مصرف‌کنندگان انگور برای مصارف تازه خوری و کشمشی، انگورهای بی‌دانه را ترجیح می‌دهند (تیان و همکاران، ۲۰۰۸). رقم فلیم سیدلس[1] یکی از ارقام مهم و تجاری انگورهای رومیزی است که به‌دلیل خصوصیات خاص میوه و تولید محصول زیاد از ارقام مهم در برنامه‌های اصلاحی محسوب می‌شود. بی‌دانگی در انگور رقم فلیم سیدلس به‌دلیل پدیده استنواسپرموکارپی[2] ایجاد می‌شود که در این حالت گردهافشانی و لقاح به‌طور طبیعی انجام می‌گیرد اما جنین پس از مدتی سقط می‌شود (بهاراتی و همکارن، ۲۰۰۵). اصلاح‌کنندگان به‌منظور افزایش تعداد نتاج بی‌دانه و امکان‌پذیر ساختن تلاقی‌هایی که در آنها هر دو والد مادری و پدری بی‌دانه باشند از تکنیک نجات جنین[3] استفاده می‌کنند که استفاده از این تکنیک توانسته است بر مشکلات حاصل از روش‌های سنتی به‌نژادی غلبه کند (کین و همکاران، ۱۹۸۳؛ اسپیگل-روی و همکاران، ۱۹۸۵؛ بوکوات و داویز، ۱۹۹۰). از آنجایی که راندمان این تکنیک در سطح مطلوب نیست بنابراین تلاش‌های زیادی در جهات مختلف به‌منظور ارتقا و بهبود این تکنیک توسط محققین انجام گرفته است. در بررسی‌هایی که تاکنون انجام گرفته اضافه کردن اکسین‌های متفاوت (ایندول استیک اسید، ایندول بوتریک اسید و نفتالین استیک‌اسید) و اسیدجیبرلیک به‌محیط کشت نتوانسته میزان زنده‌مانی و جوانه‌زنی جنین‌ها را افزایش دهد (پونس و تیزیو، ۲۰۰۲).

پلی‌آمین‌ها به‌عنوان مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی در محدوده وسیعی از فرآیندهای رشد و نمو شامل: تقسیم سلولی، جنین‌زایی، گلدهی، رسیدن میوه‌ها، رشد و گسترش ریشه، تاخیر پیری، پایداری غشاها، جمع‌آوری رادیکال‌های فعال و تحمل تنش‌های مختلف مشارکت دارند (کائور-ساوهنی و همکاران، ۲۰۰۳؛ کویی و همکاران، ۲۰۰٤؛ تانگ و نیوتن، ۲۰۰۵). پلی‌آمین‌ها جزو مهم‌ترین فاکتورها در دوره ریخت‌زایی در انگور می‌باشند (فائوری، ۱۹۹۰؛ فائوری و همکاران، ۱۹۹۱). ناکاراجو و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که رشد و جوانه‌زنی جنین‌ها در انگور به‌طور معنی‌داری به نوع و مدت زمان پلی‌آمین استفاده شده در محیط کشت وابسته است. متابولیسم فعال پلی‌آمین‌ها طی نمو

1- Flame Seedless
2- Stenospermocarpy
3- embryo rescue

Archive of SID

www.SID.ir

جنین‌های بدنی و بلوغ جنین‌های جنسی در صنوبر نروژی و کاج نوئل بیانگر آن است که پلی‌آمین‌ها نمو و جوانه‌زنی جنین را تنظیم می‌کنند، ولی مکانیسم عمل آنها تاکنون مشخص نشده است (مینوچا و همکاران، ۱۹۹۹؛ سانتانن و سیمولا، ۲۰۰۰؛ مالا و همکاران، ۲۰۰۹). کاکار و ساوهنی (۲۰۰۷) گزارش کردند که تعادل بین پلی‌آمین‌های آزاد برای فرآیندهای رشد و توسعه بسیار ضروری می‌باشد و در همین راستا گزارش شده است که غلظت‌های خیلی بالا و خیلی پایین پوتریسین و اسپرمیدین در محیط کشت سبب جلوگیری از رشد، توسعه و باززایی بافت‌ها می‌شود (پاندیت و گاش، ۱۹۹۰؛ لی و بورلیت، ۲۰۰۳؛ مینوچا و همکاران، ۲۰۰٤).

هدف از این پژوهش، بررسی تاثیر برخی پلی‌آمین‌ها بر درصد جنین‌های رشد یافته، جنین‌های اژدری، جنین‌های جوانه‌زده و درصد گیاهچه‌های تولیدی پس از اضافه‌کردن پلی‌آمین‌ها به محیط کشت تخمک‌های حاصل از گرده‌افشانی آزاد انگور رقم فلیم سیدلس بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در مورد انگور بی‌دانه رقم فلیم سیدلس در کلکسیون انگور ایستگاه تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های گروه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در سال ۱۳۸۹ انجام شد. در اواخر اردیبهشت‌ماه چند گل‌آذین به‌طور تصادفی روی بوته‌های انگور رقم فلیم سیدلس انتخاب شد. پس از اینکه اولین گل‌ها در هر خوشه باز شدند، به‌منظور هم سن سازی آن‌ها، گل‌های باز شده و غنچه‌های ریز نوک خوشه حذف شدند. در زمان ٤۵ روز پس از گرده‌افشانی تعدادی حبه برداشت و به آزمایشگاه منتقل شدند. در ابتدا حبه‌ها با صابون مایع شستشو و به‌مدت یک دقیقه در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفتند و سپس دو بار با آب مقطر شستشو داده شدند و در مرحله بعد به‌مدت ۲۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد قرار گرفتند و در نهایت سه مرتبه با آب‌مقطر دو بار استریل شستشو داده شدند. حبه‌های ضدعفونی شده در شرایط استریل زیر لامینار فلو برش داده شده و آن دسته از تخمک‌هایی که اندازه آنها ٤ میلی‌متر یا بیشتر بود، از حبه‌ها جدا شده و در پتری دیش‌هایی به ابعاد ۱۵×۱۰۰میلی‌متر در محیط کشت قرار گرفتند. همه پتری دیش‌ها به‌طور مشترک دارای محیط کشت نیچ و نیچ[1] (۱۹٦۹) حاوی ۲ درصد ساکارز،۰/۲ درصد درصد زغال فعال و ۰/۷

1- Nitsch and Nitsch

Archive of SID

www.SID.ir

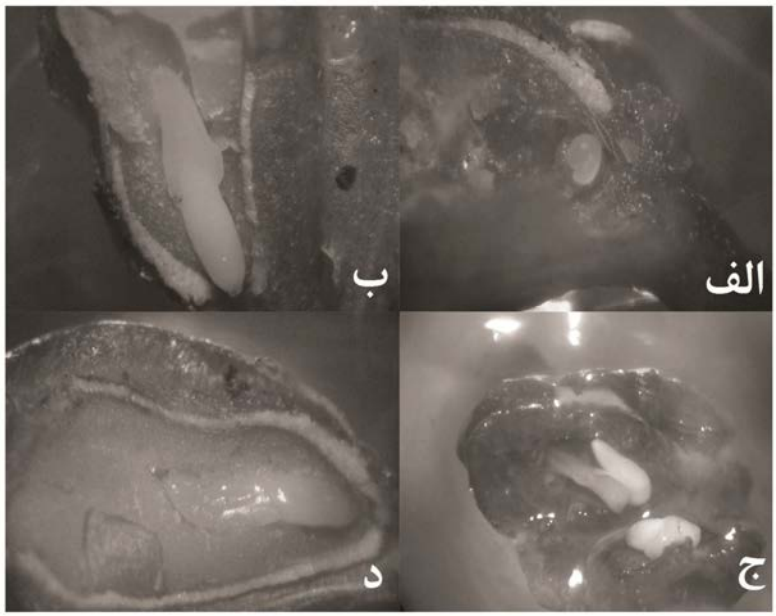
درصد درصد آگار بودند و با توجه به آزمایش موردنظر، به‌طور جداگانه پوتریسین با سه غلظت ۱، ۲و ٤ میلی‌مولار و کاداورین، اسپیرمیدین و اسپرمین هر کدام با سه غلظت ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار توسط فیلتر (۰/۲۲ میکرومتر) به محیط کشت اضافه شدند و تیمار شاهد، محیط کشت نیچ و نیچ فاقد پلی‌آمین بود. پتری دیش‌ها در اتاقک رشد تحت شرایط فتوپریود ١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی با شدت نور۵۰ میکرومول بر ثانیه بر متر مربع و دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از گذشت ۱۰ هفته از کشت، در زیر استریو میکروسکوپ تخمک‌ها را شکافته و جنین‌هایی که در داخل کیسه جنینی در سمت سفت قرار داشتند، خارج شدند (شکل ۱). جنین‌های خارج شده دارای اشکال کروی، قلبی و اژدری بودند (شکل ۱). در برخی موارد پس از شکافتن تخمک‌ها حالت چند جنینی مشاهده شد که این جنین‌ها از سلول‌های بدنی یا سلول‌های جنسی به‌وجود آمده بودند که تعداد آنها یک در نظر گرفته شد. جنین‌ها از آندوسپرم و تخمک جدا شده و به محیط کشت موراشیگ و اسکوگ[1] (١٩٦٢) دارای ۲ درصد ساکارز، ۰/۲ درصد درصد زغال فعال و ۰/۷ درصد آگار منتقل شده (شکل۲-الف) و تحت همان شرایط قبلی در اتاق رشد قرار داده شدند.

بعد از گذشت دو هفته از کشت، جنین‌ها شروع به جوانه‌زدن کردند (شکل۲-ب) و در طی دو هفته بعدی، برگ‌های اولیه که فاقد کلروفیل بودند و نیز ریشه‌های اولیه ظاهر شدند (شکل۲-ج). شش هفته پس از کشت جنین‌ها، رنگ برگ‌ها به سبزی گرایید (شکل۲-د). در این مرحله گیاهان کوچک از پتری دیش به ظروف شیشه‌ای منتقل شدند. در هفته هشتم گیاهچه‌ها ٤ تا ٨ برگ داشتند (شکل۳-الف و ب) که در این مرحله به گلدان‌های حاوی پرلایت منتقل شدند و روی آنها با پلاستیک شفاف پوشیده شد و توسط محلول یک‌چهارم موراشیگ و اسکوگ آبیاری و تغذیه شدند (شکل۳-ج). پس از گذشت سه هفته پلاستیک‌ها برداشته شد و گیاهچه‌ها پس از انتقال به گلدان‌های حاوی پرلایت، ماسه و خاک (هر یک به‌مقدار مساوی) از اتاق رشد به گل‌خانه منتقل شدند (شکل۳-د). در نهایت پس از گذشت دو هفته گیاهان سازگار شده به زمین اصلی منتقل شدند.

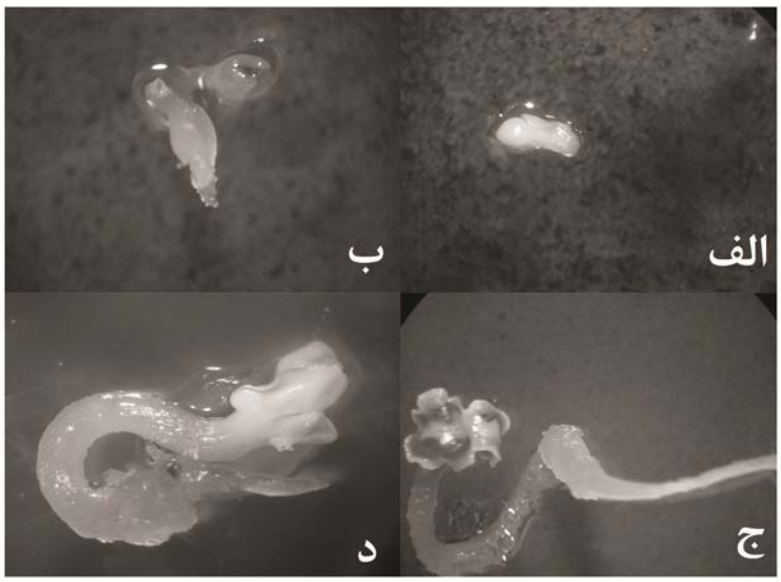
1- Murashige and Skoog

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱: الف– جنین قلبی شکل، ب و د – جنین های اژدری، ج- پدیده چند جنینی در تخمک انگور رقم فلیم سیدلس.



شکل ۲: الف– جنین کشت شده در محیط کشت، ب – جنین جوانه زده دو هفته پس از کشت، ج و د- تغییر رنگ برگ‌های اولیه پس از گذشت شش هفته از کشت.

www.SID.ir

شکل ۳: الف و ب – گیاهچه‌های رشد یافته پس از هشت هفته از جوانه زنی جنین‌ها، ج و د- گیاهان رشد یافته در طی مراحل سازگاری.

این پژوهش در چهار آزمایش جداگانه و به‌صورت طرح کاملا تصادفی ساده انجام شد. در هر آزمایش یکی از پلی‌آمین‌ها به‌عنوان تیمار انتخاب شدند، که هر تیمار شامل چهار غلظت مختلف و با سه تکرار انجام شد. در این آزمایش‌ها هر پتری دیش به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد و در هر پتری دیش ۱۵ تخمک کشت گردید. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس (جدول ۱) هر چهار آزمایش مشخص نمود که استفاده از اسپرمین، اسپرمیدین، پوتریسین و کادآورین در محیط کشت دارای اثرات معنی‌داری بر درصد جنین-های رشد یافته، جنین‌های اژدری، جوانه زنی جنین‌ها و درصد گیاهچه‌های تولید شده بود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر کاربرد پلی‌آمین‌ها بر درصد جنین‌های رشد یافته، درصد جنین‌های اژدری، درصد جوانه‌زنی جنین‌ها و درصد گیاهچه‌های تولید شده.

منابع تغییر	درجه آزادی (DF)	میانگین مربعات(MS)			
		الف	ب	ج	د
آزمایش اول					
اسپرمین	۳	۲۱۷/۵٦**	۲۹/۵۷**	۳۳۹/۳۳**	۲۲۷/۷٦**
خطا	۸	۷/٤۲	۳/٦۹	۸/۵٤	۱۹/٦٤۸
ضریب تغییرات (cv)	-	۱۰/۲۳	۱۰/۸۳	۱٦/۲۳	۲/۱۱
آزمایش دوم					
اسپرمیدین	۳	۱۹۱/٦۷**	۷۲/٦۹**	۳۰۹/۸۱**	۱۹۰/۳۳**
خطا	۸	۱۱/۰۸۹	۱۱/۰۸۹	۱۱/۱۲۲	۷/۳۹
ضریب تغییرات (cv)	-	۱۳/۹٦	۲۰/٦۹	۱۹/۳۷	۲۰/۱۲
آزمایش سوم					
پوتریسین	۳	۲٦۱/٦۹**	۲۷۲/۱۸**	۲۳۹/۷**	۲۵۵/۷۸**
خطا	۸	۱۱/۱۲۲	۷/۳۹	۸/۷۰۹	۸/۵۰۸
ضریب تغییرات (cv)	-	۱۷/٦۷	۱۸/۵۹	۲۵/۲۷	۲۵/۹۵
آزمایش چهارم					
کاداورین	۳	۱۳۳/۰٦۷**	۱۱۵/۵٦۸**	۱۷۷/۷۸**	۱۲۸/۱٤**
خطا	۸	۱۱/۰۸۹	۸/۵۰	۵/۹۲	۹/٦۲
ضریب تغییرات (cv)	-	۲۰	۲۵/۷۰	۲۱/۵٦	۳۱/٤۰

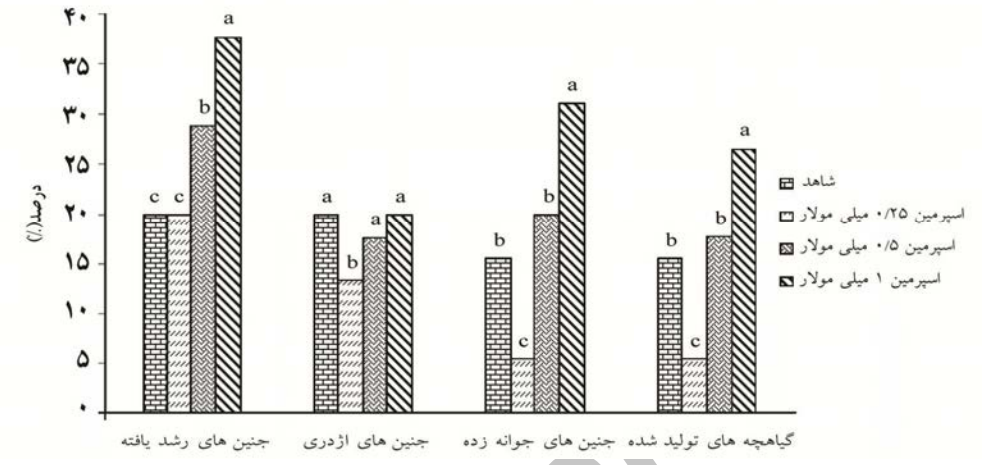
** معنی‌دار در سطح ۱٪، الف: درصد جنین‌های رشد یافته(کروی، قلبی و اژدری) ب: درصد جنین‌های اژدری ج: درصد جوانه زنی جنین‌ها د: درصد گیاهچه‌های تولیدی.

نتیجه‌های به‌دست آمده از از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که استفاده از اسپرمین و پوتریسین با غلظت یک میلی‌مولار و اسپرمیدین با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سبب افزایش معنی‌دار درصد جنین‌های رشدیافته (به‌ترتیب ۳۷/۷۷ درصد، ۳۱/۱ درصد و ۳۵/۵۵ درصد)، جوانه‌زنی جنین‌ها (به‌ترتیب ۳۱/۱ درصد، ۲۲/۲ درصد و ۳۱/۱ درصد) و درصد گیاهچه‌های تولیدی (به‌ترتیب ۲٦/٦۵ درصد، ۲۲/۲ درصد و ۲۲/۲ درصد) نسبت به شاهد گردید اما این افزایش در درصد جنین‌های اژدری مشاهده نشد

Archive of SID

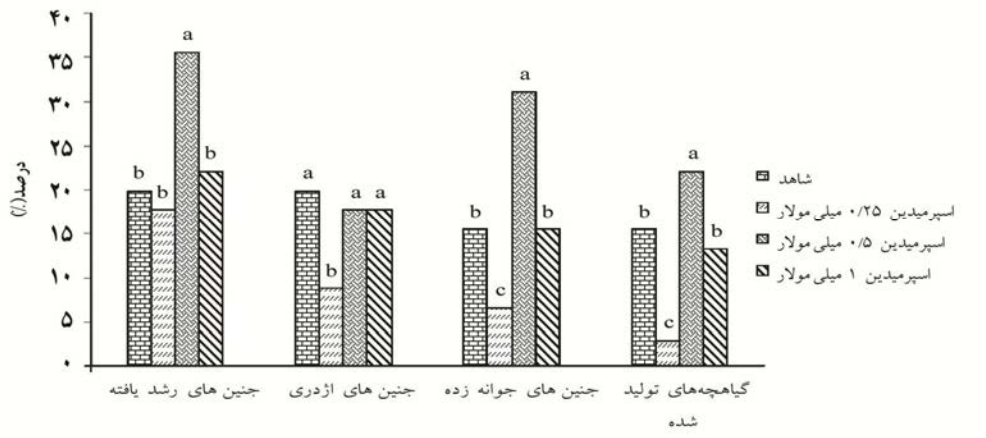
www.SID.ir

(شکل ٤، ٥ و ٦). همچنین، استفاده از کاداورین ثاثیر معنی‌دارای بر افزایش درصد صفات ذکر شده نداشت (شکل ۷).



شکل ٤- اثر اسپرمین بر درصد جنین‌های رشد یافته، جنین‌های اژدری، جوانه زنی جنین‌ها و گیاهچه‌های تولیدی

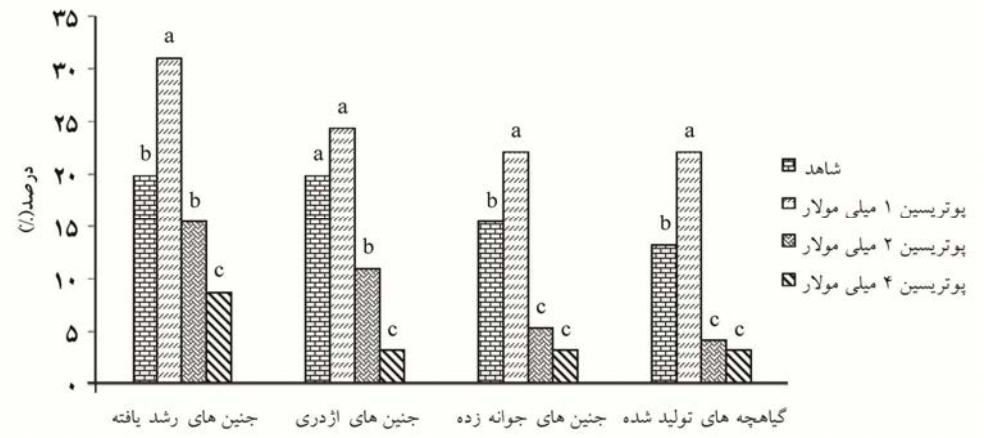
در نمودار فوق هر صفت به طور جداگانه و مستقل از سایر صفات مورد مقایسه قرار گرفته است.



شکل ٥- اثر اسپرمیدین بر درصد جنین‌های رشد یافته، جنین‌های اژدری، جوانه زنی جنین‌ها و گیاهچه‌های تولیدی

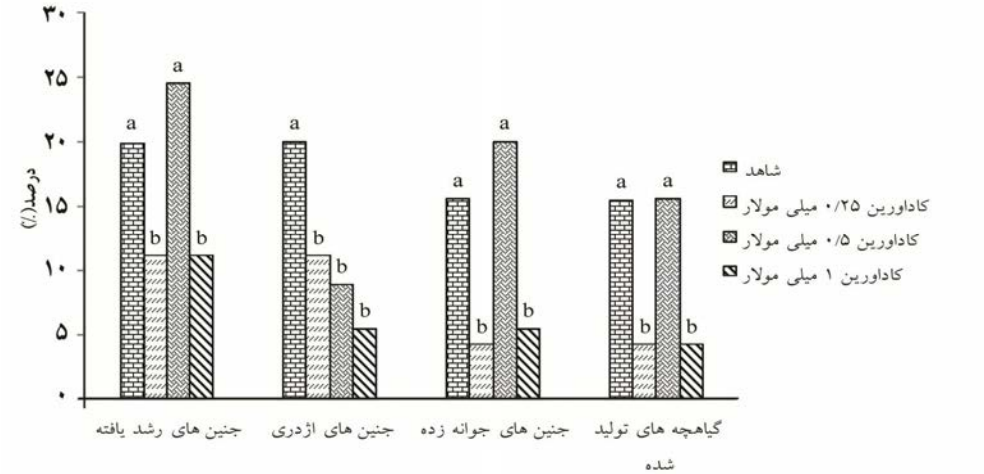
در نمودار فوق هر صفت به طور جداگانه و مستقل از سایر صفات مورد مقایسه قرار گرفته است.

www.SID.ir



شکل ٦- اثر پوتریسین بر درصد جنین‌های رشد یافته، جنین‌های اژدری، جوانه‌زنی جنین‌ها و گیاهچه‌های تولیدی

در نمودار فوق هر صفت به‌طور جداگانه و مستقل از سایر صفات مورد مقایسه قرار گرفته است.



شکل ۷- اثر کاداورین بر درصد جنین‌های رشد یافته، جنین‌های اژدری، جوانه‌زنی جنین‌ها و گیاهچه‌های تولیدی

در نمودار فوق هر صفت به‌طور جداگانه و مستقل از سایر صفات مورد مقایسه قرار گرفته است.

بحث

فائوری و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند که ناتوانی جنین‌های انگور برای تولید گیاهان نرمال احتمالاً به‌دلیل ناکافی بودن پلی‌آمین‌های درونی باشد، بنابراین به‌نظر می‌رسد کاربرد اسپرمین، اسپرمیدین و پوتریسین در محیط کشت احتمالا این کمبود را جبران و سبب افزایش رشد و نمو

www.SID.ir

جنین‌ها، افزایش جوانه‌زنی جنین‌ها و درصد گیاهچه‌های تولیدی شد. در همین راستا نقش مثبت پلی-آمین‌ها در بلوغ جنین‌های جنسی در صنوبر نروژی و کاج نوئل گزارش شده است (سانتانن و سیمولا، ۲۰۰۰؛ مالا و همکاران، ۲۰۰۹).

فائوری و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند که فراهم‌شدن نسبت مناسب پوتریسین به اسپرمیدین شاخص خوبی برای ادامه مراحل تکامل جنین‌های جنسی و بدنی است. همچنین پژوهش‌های انجام-شده روی گیاهان مختلف (لوبیا[1]، کائوچو[2] و یونجه[3]) مشخص نمود که جنین‌های بدنی در مرحله اژدری دارای مقادیر بالایی از اسپرمیدین هستند (پاندیت و گاش، ۱۹۹۰؛ مینوچا و همکاران، ۲۰۰٤) و در همین راستا، مینوچا و همکاران (۱۹۹۹) گزارش کردند که نمو جنین‌های جنسی و بدنی در کاج با افزایش بالای غلظت اسپرمیدین همراه بوده است و در طی دوره تقسیم سلولی جنین‌های بدنی، سطوح اسپرمیدین آزاد، اتصالی و باند شده به‌شدت افزایش یافت. ناکاراجو و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که استفاده از پوتریسین، اسپرمیدین و اسپرمین در غلظت‌های مناسب سبب افزایش جوانه‌زنی جنین‌های بدنی در انگور رقم کریمسون سیدلس[4] نسبت به شاهد شد. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که استفاده از اسپرمین، اسپرمیدین و پوتریسین به‌ترتیب در غلظت‌های ۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار در محیط کشت توانسته است به‌طور موثری درصد رشد، نمو و جوانه‌زنی جنین‌ها و گیاهچه‌های تولیدی را افزایش دهد که این نتایج با نتایج به‌دست آمده توسط ناکاراجو و همکاران (۲۰۰۸) مطابقت داشت. از آنجایی که اسپرمین و اسپرمیدین و پوتریسین در ساختمان خود به‌ترتیب دارای چهار، سه و یک گروه آمونیومی هستند، پس ممکن است ازت موجود در این گروه‌ها بعد از تجزیه در مسیر فرآیندهای متابولیسمی آزاد گردیده و به‌عنوان منبع نیتروژنی در دسترس جنین قرار گرفته و در این راستا منجر به‌تحریک رشد و جوانه زنی جنین‌ها شده باشد.

پونس و تیزیو (۲۰۰۲) گزارش کردند کاربرد پوتریسین به میزان ۲ میلی‌مولار در محیط کشت تخمک، تاثیر معنی‌داری بر افزایش درصد جوانه‌زنی جنین‌های به‌دست آمده از تلاقی ارقام آرژانتینا×پرلون و پرلون×G.C داشت اما استفاده از پوتریسین به میزان ٤ میلی‌مولار سبب کاهش تمام

1- *Vigna aconitifolia*
2- *Hevea brasiliensis*
3- *Medicago sativa*
4- Crimson Seedless

Archive of SID

www.SID.ir

صفات مورد بررسی شده بود. نتایج نشان داد که استفاده از هر دو غلظت دو و چهار میلی‌مولار پوتریسین تاثیر منفی بر صفات مورد ارزیابی گذاشته است و به‌نظر می‌رسد این تفاوت ناشی از اختلاف بین ارقام مورد استفاده باشد. احتمالاً استفاده از غلظت دو و چهار میلی‌مولار در رقم فلیم سیدلس ایجاد سمیت نموده و تاثیر منفی روی جنین‌ها داشته و در نهایت کاهش صفات مورد بررسی را به‌دنبال داشته است. در همین راستا گزارش شده است که استفاده از مقادیر بالا و پایین پوتریسین و اسپرمیدین در محیط کشت سبب جلوگیری از رشد، توسعه و باززایی بافت‌ها شد (لی و بوریت، ۲۰۰۳؛ مینوچا و همکاران، ۲۰۰٤). در این پژوهش استفاده از غلظت‌های پایین اسپرمین و اسپرمیدین (۰/۲۵ میلی‌مولار) در محیط کشت سبب کاهش کلیه صفات مورد بررسی شد و این کاهش در صفات جوانه‌زنی و گیاهچه‌های تولیدی معنی‌دار بود. با توجه به پژوهش‌های صورت‌گرفته در این زمینه، هنگامی‌که پلی‌آمین‌ها به محیط کشت اضافه و جذب می‌شوند، موجب تحریک پروتئین خاصی به‌نام آنتی‌زیم[1] می‌شوند که این پروتئین به‌عنوان بازدارنده آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز[2] عمل می‌کند که این پروتئین به آنزیم اورنیتین دکربوکسیلاز متصل شده و مانع از فعالیت آن می‌شود و سبب جلوگیری از بیوسنتز پلی‌آمین‌ها و کاهش غلظت درون سلولی پلی‌آمین‌ها می‌شود (پاندیت و گاش، ۱۹۹۰) پس می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً در زمانی‌که غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار استفاده شد، تولید پلی‌آمین‌ها توسط آنتی‌زیم متوقف و جنین با کمبود پلی‌آمین‌ها مواجه شده و استفاده از غلظت ۰/۲۵ میلی‌مولار نمی‌تواند این کمبود ایجاد شده را جبران کند. اما هنگامی‌که از غلظت ۱ میلی‌مولار در لیتر استفاده شد علاوه بر جبران این کمبود، سبب افزایش غلظت این پلی‌آمین نسبت به غلظت اولیه گردید که در نتیجه سبب بهبود رشد و نمو جنین و سایر صفات اندازه‌گیری شد که این نتایج با نتایج لی و بوریت (۲۰۰۳) و مینوچا و همکاران (۲۰۰٤) مطابقت دارد.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از آزمایش چهار، کاربرد کاداورین در محیط کشت تاثیر سودمندی روی صفات بررسی‌شده نداشت و به‌نظر می‌رسد استفاده از غلظت‌هایی که مابین غلظت ۰/۵ و یک میلی‌مولار از کاداورین باشد شاید بتواند در افزایش درصد صفات مورد بررسی سودمند واقع شود. همچنین در مرحله انتقال گیاهچه‌ها از محیط کشت به پرلایت مشاهده شد گیاهانی که در محیط کشت آنها کاداورین وجود داشت نسبت به‌گیاهان شاهد دارای ریشه‌های بسیار کوتاه‌تر و ضخیم‌تری بودند.

1- AZ
2- ODC

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به‌نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، استفاده از پوتریسین، اسپرمیدین و اسپرمین به‌ترتیب با غلظت‌های ۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سبب افزایش درصد رشد و نمو جنین‌ها، جوانه‌زنی جنین‌ها و گیاهچه‌های تولیدی در رقم فلیم سیدلس شد و در نهایت افزایش صفات یاد شده به‌طور مستقیم موجب افزایش موفقیت و کارایی تکنیک نجات جنین گردید.

منابع

1. Bharathy, P.V., Karibasappa, G.S. and Patil, S.G. 2005. In Ovule rescue of hybrid embryos in Flame Seedless grapes Influence of pre-bloom sprays of benzyladenine. Sci Hort. 106: 353-356.
2. Bouquet, A., and Davis, H.P. 1990. In vitro ovule and embryo culture for breeding seedless table grapes (*Vitis vinifera* L.). Sci Hort. 38: 14-20.
3. Cain, D.W., Emershad, R.L., and Tarailo, R.E. 1983. In ovule embryo culture and seedling development of seeded and seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.). Vitis. 22: 9–14.
4. Couee, I., Hummel, I., Sulmon, C., Gouesbet, G. and Amrani, A.E. 2004. Involvement of polyamines in root development. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 76: 1-10.
5. El hadrami, M.I., and Dauzac, J. 1992. Effects of polyamine biosynthetic inhibitors on somatic embryogenesis and cellular polyamines in *Hevea brasiliensis.* J. Plant Physiol.140: 33-36.
6. Faure, O. 1990. Embryons somatiques de *Vitis rupestris* et embryons zygotiques de *Vitis sp:* morphologie, histologie, histochimie et devloppement. Can. J. Bot. 68 :2305-2315
7. Faure, O., Mengoli, M., Nougarde, A. and Bagni, N. 1991. Polyaminepattern and biosynthesis in zygotic and somatic embryostages of *Vitis vinifera.* J. Plant Physiol. 138:545-549.
8. Imai, A., Matsuyama, T., Hanzawa, Y. and Akiyama, T. 2004. Spermidine Synthase Genes Are Essential for Survival of *Arabidopsis*. Plant Physiol.135:1565-1573.
9. Kackar, A., and Shekhawat, N.S. 2007. Plant regeneration through somatic embryogenesis and polyamine levels in cultures of grasses of Thar Desert. J. Cell. Mol Biol. 6:2: 121-12.
10. Kaur-Sawhney R., Tiburcio, A.F. and Galston, A.W. 2003. Polyamines in plants: An overview. J. Cell. Mol Biol. 2: 1-12.

Archive of SID

www.SID.ir

11. Li, Z., and Burritt, D.J. 2003. Changes in endogenous polyamines during the formation of somatic embryos from isogenic lines of *Dactylis glomerata* L. with different regenerative capacities. *Plant Growth Reg.* 40**:** 65-75.
12. Malá, JM., Cvikrová, P., Máchová, O., and Martincová, A. 2009. Polyamines during somatic embryo development in Norway spruce (*Picea abies* [L.]). J. For Sci. 2: 75-8.
13. Mengole, M., Pistocchi, R., and Bagni, N. 1989. Effect of long-term treatment of carrot cell cultures with millimolarconcentrations of putrescine. Plant Physiol. Biochem.27: 1-8.
14. Minocha, R., Smith, D.R., Reeves, C., Steele, K.D., and Minocha, S.C. 1999. Polyamine levels during the development of zygotic and somatic embryos of *Pinus radiata*. Physiol Plant.105: 155-164.
15. Minocha, R., Minocha, SC., and Long, S. 2004. Polyamines and their biosynthetic enzymes during somatic embryo development in red spruce (*Picea rubens* Sarg.). *In vitro Cell.* Dev. Biol. 40: 572-580.
16. Murashige, T., and Skoog, L. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant.15: 473-497.
17. Nitsch, J.P., and Nitsch, C. 1969. Haploid plants from pollen grains. Sci. 163: 85-87.
18. Nookaraju, A., Barreto, M.S. and Agrwal D.C. 2008. Cellular polyamines influence maturation and germination of somatic embryos from pro-embryonal masses of two grapevine cultivars. Vitis. 47:1: 31-34.
19. Pandit, M. and B, Ghosh. 1990. Control of ornithine decarboxylase activity in jute seeds by antizyme. J. Bio Sci. 1990 Jun; 15:83-91.
20. Ponce, M., and Tizio, R. 2002. Brief Note Improved in vitro embryo development of stenospermic grape by putrescine. Biocell. 26:2: 263–266.
21. Santanen, A. and Simola, LK. 2000. Changes in polyamine metabolism during somatic embryogenesis in *Picea abies*. J. Plant Physiol. 140:475-480.
22. 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. J. Amer. Soc. Hort Sci. 110:1: 109-112.
23. Tang, W. and Newton, R.J. 2005. Polyamines promote root elongation and growth by increasing root cell division in regenerative Virginia pine (*Pinus virginiana* Mill.) plantlets. Plant Cell Rep. 24: 581-589.
24. 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. Sci Hort.3097.
25. Tian, L., Wang, y., Liang, N. and Dongmi, T. 2008. Breeding of disease-resistant seedless grapes using Chinese wild *Vitis* spp. I. In vitro embryo rescue and plant development. Sci Hort.117: 136–141.

Archive of SID

www.SID.ir

J. of Plant Production, Vol. 19(4), 2012
http://jopp.gau.ac.ir

Effects of some polyamines in embryo rescue of grapevine cv. Flame Seedless

***M. Aalifar[1], A. Ebadi[2] and M.R. Fattahi Moghaddam[3]**
[1]M.Sc Graduate of Biotechnology course, Tehran University, [2]Professor, Dept. of College of Agriculture and Natural Resources, Tehran University, [3]Associate Prof., Dept. of College of Agriculture and Natural Resources, Tehran University

Abstract

Seedless grapes are widely grown all over the world. Iran has very rich germplasm of seeded as well as seedless grape genotypes. One of the most important grape breeding purposes is to obtain high quality and seedless grapes. The embryo rescue technique is one of the main methods for producing seedless grapevines. In this study putrescine, cadaverine, spermidine and spermine (each with three concentrations) were added to media to rescue embryos of grape cv. Flame Seedless. In order to improve this technique, ovules were excised from berries 45 days after pollination and cultured in NN medium supplemented with 3.0% sucrose, 0.2% activated charcoal and 0.6% agar. Embryos were removed from the ovules after 10 weeks and transferred onto MS medium supplemented with 3.0% sucrose, 0.2% activated charcoal and 0.7% agar. Results showed that putrescine, spermidine and spermine at 1, 0.5 and 1 mm could increase growth and development of embryos, percentage of embryo germination and plant production, respectively. Application of cadaverine only at 0.5 mm could increase development and germination of embryos. However, it was not significant.

Keywords: Polyamine; Embryo rescue; Grapevine.

*Corresponding author; Email: m.aalifar65@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir