فنآوری زیستی در کشاورزی/ جلد هفدهم/ شمارهٔ دوم/ پاییز و زمستان ۹۷
DOI: 10.22084/ab.2018.12749.1330
Archive of SID

مطالعه‌ی جنین‌زایی سوماتیکی و تولید بذر مصنوعی از ارقام مختلف انگور (*Vitis vinifera* L.)

Study of Somatic Embryogenesis and Artificial Seed Production in Grapes (*Vitis vinifera* L.) Cultivars

فرشاد فلاح[۱]، دانیال کهریزی[۲*]، علیرضا زبرجدی[۳] و امیرارسلان احمدی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۸

چکیده

تکثیر ارقام بی‌دانه انگور به روش بذر مصنوعی دارای اهمیت می‌باشد. به‌منظور بررسی تأثیر ارقام مختلف انگور و محیط‌کشت بر جنین‌زایی سوماتیکی و تولید بذر مصنوعی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. ریزنمونه برگ چهار رقم انگور در محیط پایه MS ۱/۲، و در چهار سطح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد کشت داده شد. نتایج نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری میان ارقام و سطوح تنظیم‌کننده رشد بر روی جنین‌زایی سوماتیکی وجود دارد؛ اما اثر متقابل آن‌ها در سطح (۵ درصد) معنی‌دار نشد. سطح تنظیم‌کننده رشد (۳/۸mg/l TDZ + ۰/۲mg/l NAA) بیش‌ترین جنین‌زایی (۶۵ درصد) را نشان داد. هم‌چنین اثر دو ترکیب هیدروژل کپسول بذر مصنوعی [(محیط کامل نمک‌های ماکرو B_5 و نمک‌های میکرو محیط MS به‌عنوان محیط اول کپسول)، (محیط ۱/۲ نمک‌های ماکرو محیط B_5 و نمک‌های میکرو محیط MS به‌عنوان محیط دوم کپسول)] و چهار رقم انگور بر میزان جوانه‌زنی بذور، موردبررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میان ارقام تفاوت معنی‌داری و میان دو محیط ترکیب کپسوله تفاوت بسیار معنی‌دار (سطح ۱ درصد) وجود دارد. در میان ارقام، رقم کریمسون سیدلس بیش‌ترین بذر جوانه‌زده شده (۶۵ درصد) را در تیمار محیط دوم کپسوله داشت. مقایسه میانگین جوانه‌زنی دو محیط کپسوله نشان داد که محیط اول کپسوله (۵۲/۶۲ درصد جوانه‌زنی) نسبت به محیط دوم کپسوله (۲۰/۶۲ درصد جوانه‌زنی) برای کپسوله کردن بذور مصنوعی ارقام انگور موجود در این بررسی مناسب است.

واژه‌های کلیدی: انگور بی‌دانه، بافت سوماتیک برگ، تنظیم‌کننده‌های رشد، ریزازدیادی، محیط‌کشت

۱، ۲، ۳ و ۴. به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد، دانشیار و مربی گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
*: نویسنده مسوول Email: dkahrizi@razi.ac.ir
این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

انگـور (*Vitis vinifera* L.) از مهم‌تـرین محصـولات بـاغی در سراسر دنیا است. بـه‌منظور افـزایش کمیـت و کیفیـت انگـور و ایجاد مقاومـت نسـبت بـه آفـات و امـراض و شـرایط نامسـاعد محیطی لـزوم اجـرای برنامـه‌های اصـلاح انگـور اجتناب‌ناپـذیر می‌باشد. یکی از روش‌های اصلاح، مهندسی ژنتیک می‌باشد. که این روش‌ها به دلایل کوتاهی طـول دوره اصـلاحی واختصاصـی بودن آن اهمیت فراوانی دارد محمود و همکـاران (Mahmood *et al.*, 2013). تولید جنین یا کالوس جنین‌زا و باززایی گیاهچه لازمه هر پروژه مهندسی ژنتیـک می‌باشـد *میلـوت* و همکـاران (Maillot *et al.*, 2006). از جنین‌هـای سـوماتیکی نـه تنهـا در انتقال ژن، بلکه در پژوهش‌هـا جهـت القـاء و اسـتفاده از تنـوع سوماکلونال *داس* و همکاران (Das *et al.*, 2002) ویروس‌زدایـی ارقام *گـامبین* و همکـاران (Gambino *et al.*, 2006) تشـخیص ارقام جهش یافته *فرانـک* و همکـاران (Franks *et al.*, 2002) و مطالعـه نحـوه تمـایز در گیاهـان *فرانسیسـکو* و همکـاران (Francisco *et al.*, 2006) اسـتفاده شـده اسـت. تولیـد جنـین سوماتیکی تحت تـأثیر عوامـل مختلفـی ماننـد ژنوتیـپ *اولاه* و همکـاران (Olahe *et al.*, 2009) محیط‌کشـت، نـوع و غلظـت تنظیم‌کننـده‌ها (*داس* و همکـاران، 2002) زمـان جمـع‌آوری ریزنمونه و نـوع ریزنمونـه قـرار می‌گیـرد *گریبـائبو* و همکـاران، *ویـدال* و همکـاران (Gribaubo *et al.*, 2004; Vidal *et al.*, 2009). جنین‌زایی سوماتیکی نمونه بارزی از ویژگـی توانمنـدی سلول (Totipotency) و هم‌چنین یک سیستم باززایی است کـه منجر به تشکیل ساختارهای دو قطبی نظیر جنین از سلول‌های سوماتیکی می‌شود (*اولاه* و همکاران، 2009).

جنین سوماتیکی را می‌توان به‌عنوان تکنیکی کارآمـد بـرای ازدیاد گیاه عاری از پاتوژن در گیاه انگور مورداستفاده قـرار داد. یکی از مهم‌ترین موارد استفاده از جنـین سـوماتیکی در تولیـد بذر مصنوعی است (*اولاه* و همکاران، 2009؛ *گامبینو* و همکاران، 2004). بعد از تولید جنین سوماتیکی، کپسـوله کـردن، مرحلـه بعـد در تولیـد بـذر مصـنوعی اسـت (*داس* و همکـاران 2006). *ردربـرگ* و همکـاران (Redenbaugh *et al.*, 1993) تکنیکـی را برای کپسوله کـردن هیـدروژلی جنین‌هـای سـوماتیکی یونجـه ابداع کردند. از آن پس،کپسوله کـردن در هیـدروژل رایج‌تـرین روش تولید بـذر مصـنوعی بـوده اسـت. چنـدین مـاده ازجملـه پتاسیم آلژینات، سدیم آلژینات، آگار، ژلریـت و غیـره بـه‌عنوان هیدروژل آزمایش شده‌اند ولی ژل سدیم آلژینـات مناسـب‌تر از همه گزارش شده است. کپسول ژل آلژینات وظیفـه حفاظـت از بدنـه برهنـه جنـین و تسـهیل حمـل و نقـل را دارد. *داس* و همکـاران (2006) نشـان دادنـد کـه جنـین سـوماتیکی انگـور، محصور شده در آلژینات کلسیم دارای قدرت زیسـت مناسـب و قابل‌قبولی می‌باشد و با توجه به نیاز غذایی خاص جنین، میزان ماده غذایی محصور شده در جنین حائز اهمیت می‌باشد.

محمود و همکاران (2013) ریزنمونه‌های برگ انگور ارقام شاهرودی، بی‌دانه سفید و یاقوتی جهت تولید کالوس در محیط MS به همراه یک میلی‌گرم در لیتر BAP و یک دهم میلی‌گرم در لیتر 2,4-D را کشت داده و کالوس به‌دست‌آمده را در محیط پایه MS دارای ۱۰ میلی‌گرم در لیتر فنیل‌آلانین، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر گلوتامین و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر آرژنین قرار داده و موفق به ایجاد جنین سوماتیک شدند. بیش‌ترین جنین‌زایی در مورد رقم شاهرودی در ۶۰ گرم در لیتر ساکاروز گزارش شد. *داس* و همکاران (2006) جنین سوماتیکی انگور، محصور شده در آلژینات کلسیم و دارای قدرت زیست تولید کردند. *نیرالا* و همکاران (Nirala *et al.*, 2007) آزمایش‌های مختلفی با استفاده از محیط ماکرو B_5، میکرو MS به‌عنوان محیط پایه و تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده ABA در شش سطح (صفر، ۰/۰۰۴، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۲، ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) بر روی ارقام انگور به‌منظور کپسوله کردن جنین سوماتیکی انجام دادند. در بیش‌تر ترکیبات تنظیم‌کننده‌ها جنین‌های کپسوله شده رشد کردند و کارآیی جنین‌زایی از ۸ تا ۷۸ درصد متغیر بود. *داس* و همکاران (2006) آزمایش‌های مختلفی با استفاده از محیط ماکرو B_5، میکرو MS به‌عنوان محیط پایه کپسوله کردن جنین انگور و تیمارهای مختلف ساکارز در چهار سطح (یک، سه، شش، نه درصد) انجام دادند. آن‌ها درصد جوانه‌زنی بذور مصنوعی را از ۵ تا ۹۲درصد اعلام نمودند.

از ریزنمونه پرچم نیز برای تولید جنین سوماتیکی در انگور استفاده شده است (محمود و همکاران، 2013). ایراد اساسی ریزنمونه‌های زایشی تنوع ایجاد شده و محدود بودن زمان جمع‌آوری آن می‌باشد (*داس* و همکاران، 2002). از مزایای ریزنمونه‌های رویشی می‌توان در دسترس بودن این نوع از ریزنمونه‌ها در طی فصل رویش و عدم‌تنوع در جنین‌های حاصله دانست. از معایب آن می‌توان به پایین بودن بازدهی تولید جنین سوماتیکی از این ریزنمونه‌ها اشاره نمود. در بین ریزنمونه‌های رویشی ریزنمونه برگ بیشترین کاربرد را در تولید جنین سوماتیکی در انگور داشته است (محمود و همکاران، 2013؛ *داس* و همکاران، 2006).

با توجه به این‌که در ارقام بی‌دانه انگور بذر تولید نمی‌شود و به‌منظور تکثیر رویشی این ارقام، در این آزمایش جنین‌زایی سوماتیکی و تولید بذر مصنوعی از ارقام مختلف انگور بی‌دانه با

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده از سطوح و انواع مختلف تنظیم‌کننده‌های گیاهی موردبررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جنین‌زایی

در این آزمایش چهار رقم انگور بی‌دانه (جدول ۱) از کلکسیون انگور پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی تهیه گردید. نمونه‌های مناسب برای کشت، از برگ‌های جوان حاصل از رشد در شرایط استریل درون شیشه‌ای (*In vitro*) جمع‌آوری شد. ریزنمونه برگ حاصله از جوانه کناری منتج شده از رشد در شرایط درون شیشه‌ای کاملاً استریل بودند. اندازه برگ‌ها حدود دو الی سه سانتی‌متر و فاقد علائم بیماری یا کمبود بودند. ریزنمونه‌های برگ به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم شدند و به‌منظور تحریک کالوس‌زایی بر روی رگبرگ‌ها خراش‌هایی ایجاد گردید. برای اعمال تیمارها از آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار استفاده شد. ارقام انگور یا فاکتور A (چهار سطح) و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد یا فاکتور B (چهار سطح) فاکتورهای موردمطالعه بودند. هر تکرار شامل یک پتری‌دیش به قطر ۱۰ سانتی‌متر و هر پتری‌دیش شامل پنج ریزنمونه در محیط پایه MS ۱/۲ بود. میزان آگار هفت گرم در لیتر و pH= ۵/۸ بود. انتخاب مقدار و نوع تنظیم‌کننده‌های رشد در طیف وسیعی صورت گرفت اما به‌علت عدم‌پاسخگویی مناسب ریزنمونه، فقط سطوح تنظیم‌کننده‌های که دارای واکنش مثبت بود در این بررسی آورده شد (جدول ۱).

جدول ۱: تنظیم‌کننده‌های رشد و ارقام انگور موردبررسی به‌منظور القاء کالوس‌های جنین‌زا

Table 1: Growth regulators and grape cultivars used for embryogenic callus induction

فاکتور A (ارقام انگور) Factor A (grape cultivars)	فاکتور B (تنظیم‌کننده‌های رشد) Factor B (growth regulators)
a_1: Thompson Seedless	b_1: Free
a_2: Flame Seedless	b_2: 3.8 mg/l TDZ+ 0.2 mg/l NAA
a_3: Red seedless	b_3: 4.8 mg/l TDZ+ 0.2 mg/l NAA
a_4: Crimson Seedless	b_4: 5.8 mg/l TDZ+ 0.2 mg/l NAA

تولید بذر مصنوعی

آزمایش کپسوله‌کردن جنین‌های سوماتیکی با استفاده از سدیم آلژینات ۲ درصد (سیگما) به‌علاوه محیط‌کشت نمک‌های ماکرو محیط B_5، نمک‌های میکرو، ویتامین‌های محیط MS و هشت گرم در لیتر آگار با pH= ۵/۸ صورت گرفت. برای سخت شدن از محلول ۱۰۰ میلی‌مول کلسیم کلراید ($CaCl_2$) با آب‌مقطر دوبار تقطیر استفاده شد. برای ایجاد محیط اطراف جنین به‌منظور کپسوله کردن جنین‌های برش یافته و آبگیری شده (با استفاده از قرار دادن جنین روی کاغذ صافی)، به محلول حاوی نمک‌های ماکرو محیط B_5، نمک‌های میکرو، ویتامین‌های محیط MS و سدیم آلژینات اضافه گردید. سپس مخلوط ایجاد شده در محلول کلسیم کلراید که در حال چرخش توسط ورتکس با دور ۱۰۰rpm، به‌صورت قطره قطره چکانده شد و به‌مدت ۴۵-۴۰ دقیقه به همان صورت قرار گرفت. پس از گذشت این مراحل قطرات چکانده شده که حاوی جنین بودند سخت شده و بذر مصنوعی شکل گرفت. سپس بذور با آب مقطر شستشو داده و مجدداً در محلول کلسیم کلراید به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند که از سخت شدن پوسته اطمینان حاصل شود. تمام مراحل کپسوله کردن در زیر هود لامینار ایرفلو انجام پذیرفت. برای اعمال تیمارها از آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار استفاده شد، که در آن فاکتور A (در چهار سطح) ارقام انگور و فاکتور B (در دو سطح) محیط پایه‌ای ۱/۲ و کامل نمک‌های محیط (Gamborg's-B_5) به‌علاوه نمک‌های میکرو محیط MS (جدول ۲)، انجام شد.

جدول ۲: فاکتورهای موردبررسی درکپسوله کردن جنین‌های سوماتیکی در ارقام انگور بی‌دانه

Table 2: Investigated treatments in encapsulation of somatic embryos in seedless grape cultivars

فاکتور A (ارقام انگور) Factor A (grape cultivars)	فاکتور B (تنظیم‌کننده‌های رشد) Factor B (growth regulators)
a_1: Thompson Seedless a_2: Flame Seedless a_3: Red Seedless a_4: Crimson Seedless	b_1: محیط ۱/۲ نمک‌های ماکرو B_5 و نمک‌های کامل میکرو MS b_1: 1/2 strength Gamborg's B_5 macronutrients and full strength micronutrition MS b_2: محیط کامل نمک‌های ماکرو B_5 و نمک‌های میکرو MS b_2: Full strength Gamborg's B_5 macronutrients and micronutrition MS

www.SID.ir

Archive of SID

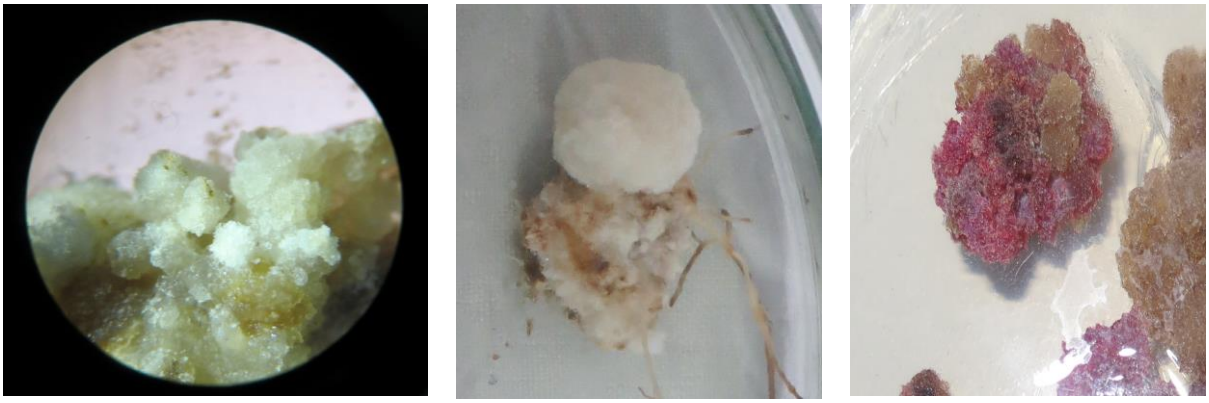
تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS (22) و SAS (9.1) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن و در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

کالوس‌هایی که دارای رشد مناسب، رنگ سفید مایل به کرم و بافت کلوخه‌ای بودند از بین کالوس‌های انتخاب شده و مجدداً در محیط قبلی خود واکشت شدند. کالوس‌های جنین‌زا دارای ساختار کلوخه‌ای، بافت انسجام یافته و نسبتاً سخت‌تر بودند که در شکل ۱ قسمت (C) این نوع ساختاره دیده می‌شود. اما کالوس دارای بافت پودری وکالوس آبدار و نرم فاقد توانایی جنین‌زایی می‌باشند (شکل ۱ قسمت B و A).

کالوس‌های جنین‌زا که جنین‌های یکسانی از لحاظ رشد داشته‌اند جداشده و برای مراحل تولید بذر مصنوعی آبگیری شدند (شکل ۲) .

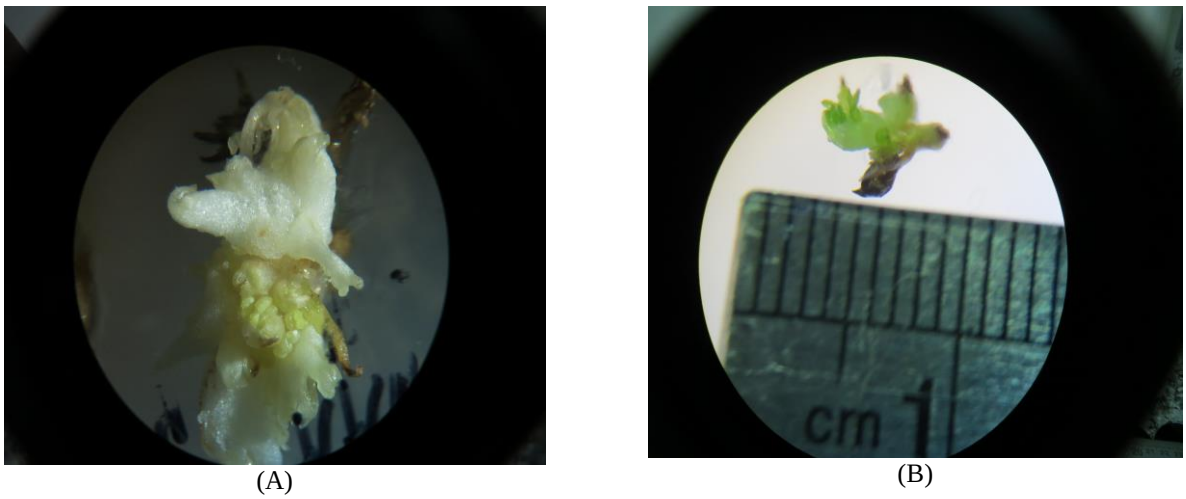
نتایج حاصل از تجزیه واریانس درصد جنین‌زایی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد میان ارقام و سطوح تنظیم‌کننده رشد وجود دارد اما اثر متقابل آن‌ها از نظر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۳). با توجه به غیرمعنی‌دار شدن اثر متقابل سطوح تنظیم‌کننده و ارقام انگور می‌توان این سطوح تنظیم‌کننده‌های رشد را برای جنین‌زایی سوماتیکی سایر ارقام نیز توصیه نمود.



(A) (B) (C)

شکل۱: انواع کالوس به‌دست‌آمده در انگور A) کالوس فشرده و کلوخه‌ای (جنین‌زا) B) کالوس آبدار C)کالوس پودری

Fig. 1: Ttypes of drived callus in grape A) Mass compact callus (embryogenic) B) Hydrous callus C) Powdery callus



(A) (B)

شکل ۲: کالوس جنین‌زای به‌دست آمده (A) و جنین جدا شده از کالوس (B) در انگور

Fig. 2: Resulted embryogenic callus (A) and separated embryo from callus (B) in grape

www.SID.ir

Archive of SID

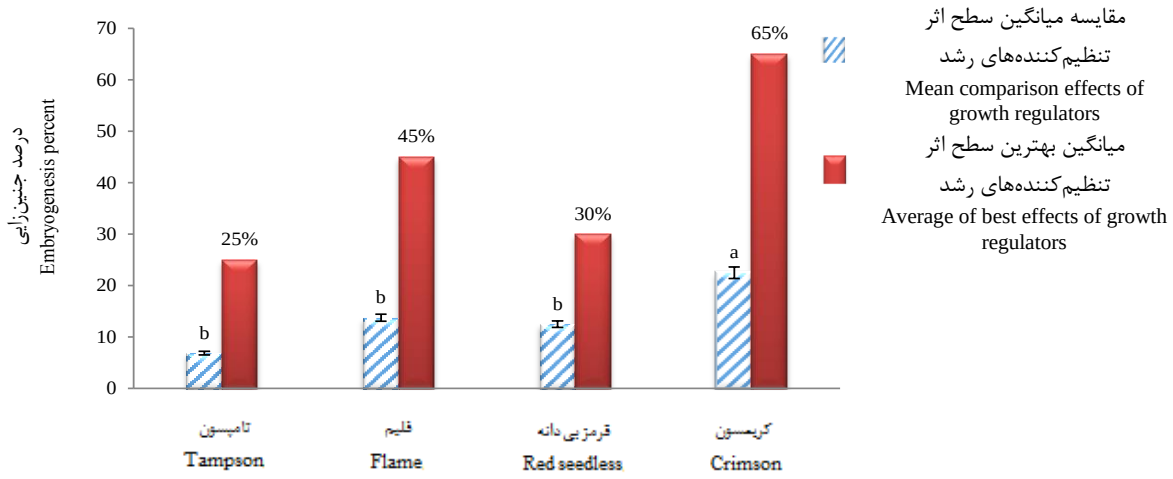
جدول ۳: تجزیه واریانس بررسی تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد و ارقام انگور بر درصد جنین‌زایی در ارقام انگور بی‌دانه

Table 2: Analysis of variance of effects of grape cultivars and growth regulators for the treatments for embryogenesis percentage

میانگین مربعات Mean squares	درجه آزادی df	منبع تغییرات Source of variation
10.25**	3	رقم (C) Cultivar (C)
127.77**	3	تنظیم‌کننده رشد (H) Growth regulators (H)
0.22ns	9	تنظیم‌کننده رشد × رقم C × H
28.94	48	خطا Error
9.46		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

** و ns: به‌ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تیمار در سطح احتمال ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

** and ns: The respectively show significant ($p<0.01$) and non-significant



شکل۳: مقایسه میانگین و میانگین بهترین سطح اثر تنظیم‌کننده‌های رشد ارقام انگور بر درصد جنین‌زایی (در سطح احتمال ۱ درصد)

Fig. 3: Mean comparison and average of best effects of growth regulators on embryogenesis percentage in grape cultivars ($p\leq0.01$)

مقایسه میانگین میزان جنین‌زایی نشان داد که رقم کریمسون سیدلس در بهترین سطح تنظیم‌کننده رشد (۳/۸mg/l TDZ + ۰/۲mg/l NAA) با میانگین ۶۵ درصد بیش‌ترین درصد جنین‌زایی را داشت (شکل ۳).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس ارقام و محیط کپسول بذر مصنوعی نشان داد که میان ارقام در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری وجود دارد و میان دو محیط کپسوله (محیط کامل نمک‌های ماکرو B_5 و نمک‌های میکرو محیط MS و محیط ۱/۲ نمک‌های ماکرو محیط B_5 و نمک‌ها میکرو محیط MS) تفاوت بسیار معنی‌داری (سطح ۱ درصد) وجود دارد و اثر متقابلی میان ارقام و محیط کپسوله کردن در این آزمایش مشاهده نشد (جدول ۴). با توجه به این‌که واکنش ارقام در محیط‌های مختلف کپسوله کردن دارای آهنگ تغییرات یکسانی می‌باشند؛ یعنی تغییرات آن معنی‌دار نبوده لذا اثر متقابل ارقام در محیط کپسوله کردن معنی‌دار نشده است. هم‌چنین میانگین مربعات این اثر متقابل (۰/۴۳) کم‌تر از میانگین مربعات خطا آزمایش (۲/۷) است. پس مقدار F محاسبه شده کم‌تر از یک می‌باشد. به همین دلیل این اثر متقابل معنی‌دار نشده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴: تجزیه واریانس بررسی محیط کپسوله کردن و ارقام انگور بر درصد جوانه‌زنی بذور مصنوعی

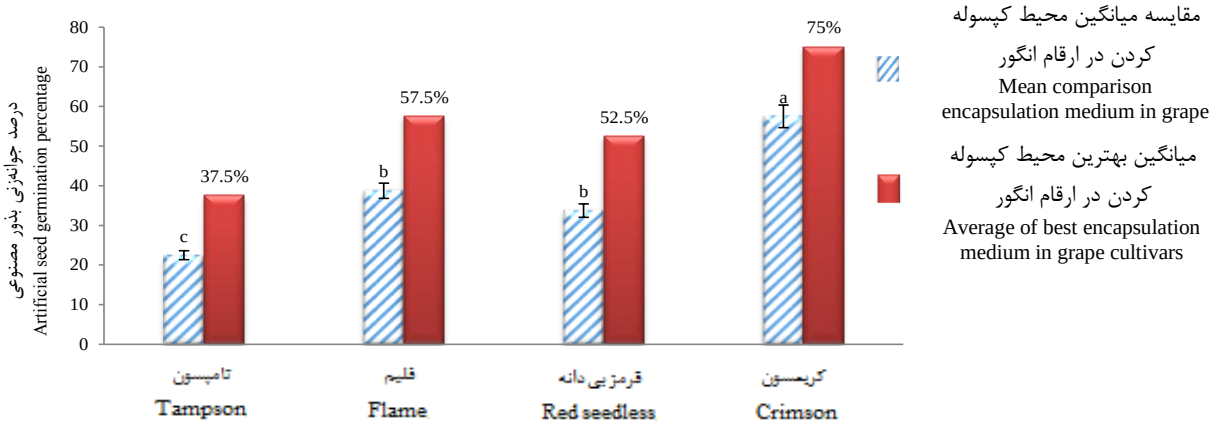
Table 4: Analysis of variance for effects of encapsulation medium and grape cultivar on artificial seed germination

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares
رقم (C) Cultivar (C)	3	11.71*
محیط کپسوله کردن Encapsulation medium (E)	1	85.57**
رقم × تنظیم‌کننده‌های رشد E × C	3	0.43ns
خطا Error	24	2.70
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		28.57

**، * و ns: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار

**, * and ns: The respectively show significant at 1 % and 5% probability level, and non-significant

مقایسه میانگین تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که در میان ارقام، رقم کریمسون سیدلس بیش‌ترین بذر جوانه‌زده شده (در بهترین تیمار ۷۵ درصد) را در میان ارقام دارد و به‌ترتیب ارقام فلیم سیدلس، قرمز بی‌دانه و تامپسون در رتبه‌های بعدی قرار دارند (شکل ۴).



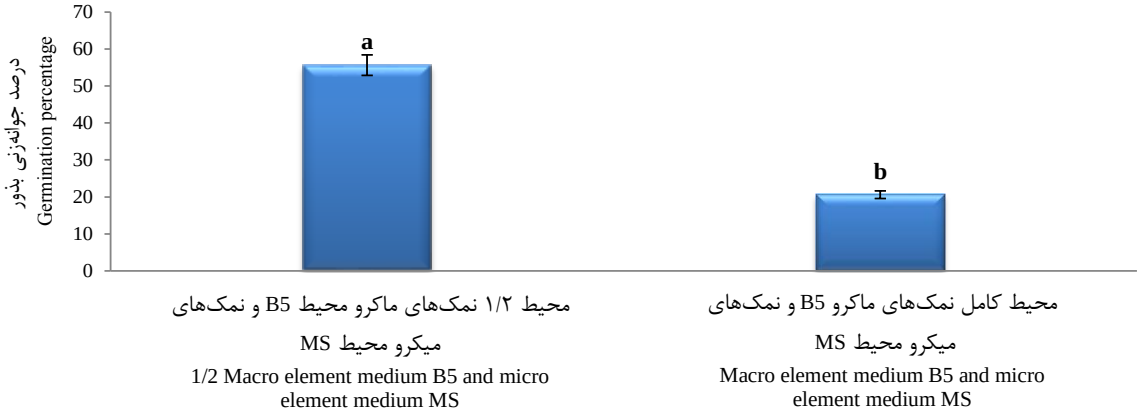
شکل ۴: مقایسه میانگین و میانگین بهترین محیط کپسوله کردن در ارقام انگور (در سطح احتمال ۵ درصد)

Fig. 4: Mean comparison and average of best encapsulation medium in grape cultivars ($p \leq 0.05$)

مقایسه میانگین دو محیط کپسوله نشان داد که تیمار b_1 (۱/۲ غلظت نمک‌های ماکرو B_5) از تیمار b_2 (غلظت کامل نمک‌های ماکرو B_5) برای کپسول بذور مصنوعی انگور مناسب‌تر است زیرا میزان جوانه‌زنی بذور مصنوعی بیش‌تر بوده است (شکل ۵).

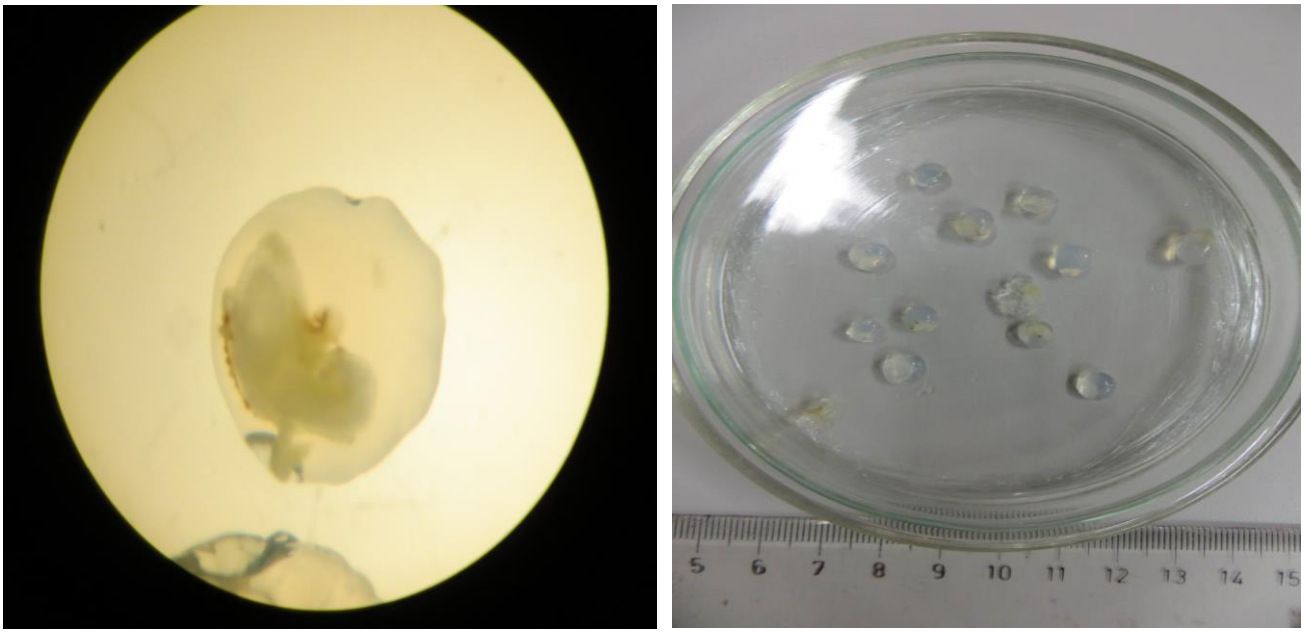
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵: مقایسه میانگین محیط کپسوله کردن بر درصد جوانه‌زنی بذور مصنوعی (در سطح احتمال ۵ درصد)

Fig. 5: Mean comparison of encapsulation medium on artificial seed germination percentage ($p \leq 0.05$)



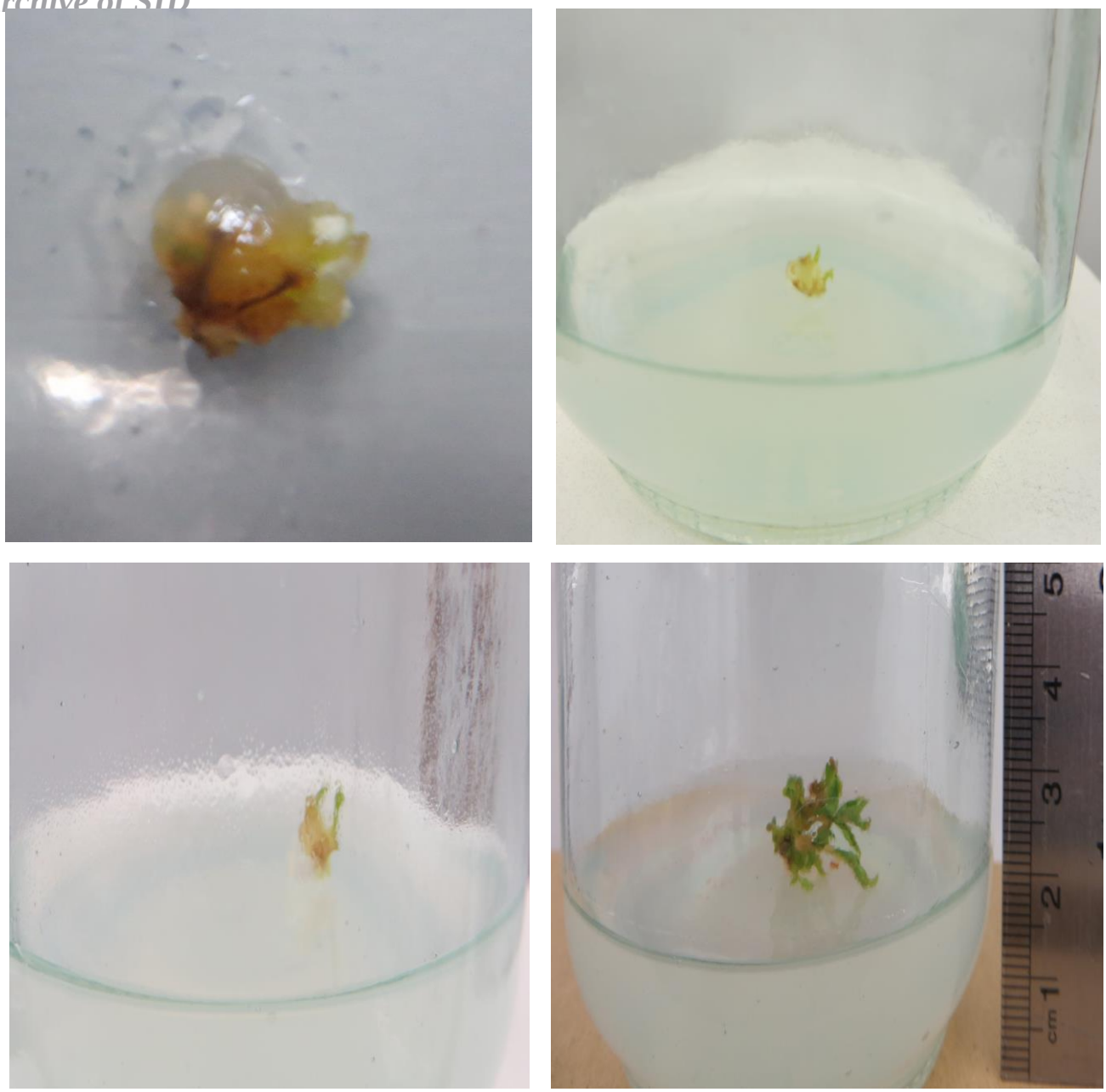
(A) (B)

شکل ۶: A) جنین کپسوله شده انگور (بذر مصنوعی)، B) ابعاد بذور مصنوعی انگور

Fig. 6: A) Encapsulated embryos grapes (synthetic seed), B) Artificial seeds size in grape

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۷: رشد بذور مصنوعی انگور پس از کشت در محیط رشد
Fig. 7: The growth of artificial seeds of grapes after culture on medium

با توجه به این‌که بذور در محیط نمک‌های ماکرو رشد بیش‌تری داشتند می‌توان نتیجه گرفت که کپسول احاطه‌کننده جنین علاوه‌بر نقش حفاظتی، نقش تغذیه‌ای نیز دارد. کپسول به نوعی نقش آندوسپرم در بذور طبیعی را بر عهده دارد. وجود غلظت بالای املاح می‌تواند مسمومیت سلولی به‌وجود آورد. علاوه‌بر این، وجود محیط با غلظت کامل نمک‌های ماکرو می‌تواند در تعادل اسمزی سلول‌های جنین تداخل ایجاد نماید. این موضوع زمانی تحقق پیدا می‌کند که به‌علت آبگیری از جنین‌های سوماتیکی حین کپسوله کردن مقدار آب کمی در سلول‌ها باقی می‌ماند و همین مقدار کم آب جنین، توسط فشار اسمزی زیاد ناشی از املاح فراوان به محیط کپسول انتشار می‌یابد و از دسترس سلول‌های جنین خارج می‌شود و این امر سبب تنش و ادامه آن سبب مرگ جنین می‌شود *اگبیدینوئکون* و همکاران؛ *راجا* و همکاران (Agbidinoukoun *et al.*, 2013; Raju *et al.*, 2016).

نتایج بررسی حاضر در مورد محیط کپسوله ارقام انگور با تحقیقات *نیرالا* و همکاران (2007) که آزمایش‌های مختلفی با استفاده از محیط ماکرو B_5، میکرو MS به‌عنوان محیط پایه و تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشدی ABA در شش سطح (صفر، ۰/۰۰۴، ۰/۰۲، ۰/۰۴، ۰/۲، ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر) بر روی انگور انجام دادند مطابقت دارد. در بررسی *نیرالا* و همکاران (2007) نشان داده شد که در بیش‌تر ترکیبات

www.SID.ir

Archive of SID

تنظیم‌کننده‌های رشد جنین‌های کپسوله شده رشد کرده‌اند و نرخ جنین‌زایی از ۸ تا ۷۸ درصد متفاوت بود؛ که این دامنه در بررسی حاضر نیز دیده شد.

داس و همکاران (2006) آزمایش‌های مختلفی با استفاده از محیط ماکرو B_5، میکرو MS به‌عنوان محیط پایه کپسوله جنین انگور و تیمارهای مختلف ساکارز در چهار سطح (یک، سه، شش، نه درصد) انجام دادند. جنین‌های کپسوله شده رشد کردند و جوانه‌زنی بذور مصنوعی از ۵ تا ۹۲ درصد متغیر بود. در میزان ۳۰ درصد ساکارز در بررسی *داس* و همکاران ۵۶/۷ درصد جوانه‌زنی جنین مشاهده شد که با تحقیق حاضر، که در همان سطح ساکارز انجام شد یکسان می‌باشد.

در شکل ۵ (A) جنین محسور شده در حین آبگیری مشاهده می‌شود و در قسمت (B) ابعاد بذور مصنوعی نشان داده شده است.

در شکل (۷) روند رشد و پاره شدن کپسوله بذور مصنوعی بعد از دریافت رطوبت و رشد جنین محصور شده، نشان داده شده است.

منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۱-۲ متن انگلیسی مراجعه شود.

www.SID.ir