تولید و نگهداری بذر مصنوعی در گیاهان

بهاره شعفی[1*]، سید سعید موسوی[2] و سعید قمبرعلی باغنی[3]

[1] کرمانشاه، دانشگاه رازی کرمانشاه، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی ژنتیک و به نژادی گیاهی

[2] همدان، دانشگاه بوعلی سینا همدان، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی ژنتیک و به نژادی گیاهی

چکیده

تولید بذر مصنوعی در گیاهانی که با مشکل تولید بذر یا بذوری با قوه نامیه ضعیف‌اند یک روش کارآمد به‌شمار می‌آید. این فناوری یک روش عالی به منظور نگهداری ژرم پلاسم‌های منتخب، تکثیر دورگه‌های نادر، ژنوتیپ‌های مختلف و گیاهان تراریخت با بذور گران و غیر قابل دسترس، است. بذرمصنوعی در واقع استفاده از واحدهای تکثیری نظیر جنین‌های سومایی، پروپاگول‌های رویشی نظیر (جوانه‌های جانبی، گره و جوانه‌های انتهایی) و یا بخش‌های مریستمی است که قابلیت کپسوله شدن در پوشش هیدروژلی آلژینات را به منظور جوانه‌زنی و تبدیل شدن به یک بذر حقیقی را با هدف سازگاری گیاهچه‌های رشد یافته با شرایط آزمایشگاهی یا مزرعه‌ای را داشته باشند. بهینه نمودن شرایط محیط آندوسپرم بذور مصنوعی، باعث افزایش راندمان جوانه‌زنی، تبدیل و سازگاری گیاهچه‌های حاصل خواهد شد به طوری‌که انتخاب محیط کشت، محرک‌های رشد گیاهی مانند هورمون‌های تحریک کننده رشد ریشه و ساقه، محرک‌های دمایی و غیره کمک فراوانی به رشد گیاهچه‌ها می‌کنند. محققان مختلف مواد مختلفی را برای تولید آندوسپرم مصنوعی توصیه کرده‌اند که هورمون‌های رشد اکسین و سیتوکنین و محیط کشت پایه MS از مهمترین آن‌ها ست، این مواد باعث افزایش راندمان بذور به منظور تولید گیاهچه‌های قوی‌تر و امکان رشد در محیط غیر آزمایشگاهی را فراهم می‌سازد.

واژه های کلیدی: بذر مصنوعی، جنین‌های سومایی، پروپاگول‌های رویشی، آندوسپرم مصنوعی، راندمان جوانه زنی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۵۴۵۱۱۳۹، پست الکترونیکی: Shaefibahar@gmail.com

مقدمه

بذرهای مصنوعی اولین بار در سال ۱۹۸۵ توسط کیتلو و جانیک (Kitlo and Janick) با استفاده از کپسوله کردن جنین‌های سومایی بوسیله پلی‌اکسی‌اتیلن‌گلیکول ساخته شدند. واژه بذر مصنوعی را می‌توان به عنوان کپسوله کردن جنین‌های سومایی، جوانه‌های ساقه، توده‌های سلولی و یا هر بافت دیگری که برای کاشت استفاده شود، تعریف کرد که به عنوان جایگزین بذر استفاده شده و پس از کاشت قابلیت و توانایی تبدیل به گیاه در شرایط درون شیشه‌ای یا بیرون شیشه‌ای را داشته باشند و این توانایی را پس از ذخیره سازی نیز حفظ کنند(۸).

بذرهای مصنوعی را می‌توان از طریق جنین‌های سومایی پوشش‌دار شده یا بدون پوشش، خشک شده و یا کپسول-دار شده در ژل هیدراته (اغلب آلژینات سدیم) تولید کرد. ابتدا بذرهای مصنوعی را فقط با استفاده از جنین‌های سومایی تولید می‌کردند، مزیت این جنین‌های این است که کلون‌های بعضی از گیاهان را می‌توان به طور سریع‌تر تکثیر کرد. اما در این روش دو عامل محدود کننده هزینه بالا و عدم امکان نگهداری طولانی مدت بذور وجود داشت(۵).

علاوه بر جنین‌های سومایی در بعضی از گیاهان امکان استفاده از ریزنمونه‌های قابل تکثیر رویشی نیز نوعی سیستم تکثیر کلونی ارزان و باصرفه را به صورت بالقوه فراهم می‌کند به طوری‌که می‌تواند جایگزین مناسبی برای بذور مصنوعی حاصل از جنین‌های سومایی باشند. تکنولوژی بذر مصنوعی یک راهکار مناسب به منظور تولید انبوه گیاهان با هزینه کم است به طوری‌که حتی هزینه نگهداری ژرم‌پلاسم‌ها (به دلیل کاهش نیاز به واکشت و انتقال به محیط جدید در زمان نگهداری) نیز کاهش دهد. بذور مصنوعی می‌توانند جایگزین مناسبی نسبت به بذور حقیقی بوده و پس از کاشت قابلیت و توانایی تبدیل به گیاه در شرایط درون شیشه‌ای و یا برون شیشه‌ای را نیز دارا باشند، به طوری‌که پوشش بذور مصنوعی با جلوگیری از تاثیر رطوبت، با قابلیت جابجایی، سازگاری و انتقال

گیاهچه‌های سازگار شده به گلخانه یا مزرعه را فراهم می‌کند (۶).

مهم‌ترین توجیه تولید بذور مصنوعی، رسیدن به ثبات و عملکرد مطلوب و تولید گیاهان عاری از عوامل عفونی بیماری‌زا و همچنین تولید گیاهان یکدست است. علی رغم این‌که روش‌های ازدیاد رویشی مثل تکثیر قلمه، یکدستی و تولید انبوه گیاهان را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد، اما در بسیاری از واریته‌ها مطلوب نبوده و هزینه‌براست (۶). ویژگی مطلوب بذرهای مصنوعی، توانایی آن‌ها برای حفظ پتانسیل زیستایی و امکان رشد مجدد بعد از نگهداری است. ذخیره سرمایی نگهداری ژرم‌پلاسم را به دلیل کاهش نیاز به واکشت و انتقال به محیط جدید در طول دوره نگهداری کاهش می‌دهد، همچنین کاشت مستقیم نمونه-های کپسول شده، نیاز به واکشت‌های زیاد جهت تولید گیاهان و مرحله سخت سازگاری گیاهان به شرایط بیرون را برطرف می‌کند.

برای تولید بذر مصنوعی گیاهان مختلف، کشت بافت از مراحل اجتناب ناپذیر در فرآیند ریز ازدیادی و تکثیر گیاهان است. بعد از القای ریز نمونه‌ها و تولید کالوس‌ها یا جنین‌های سومایی می‌توان آن‌ها را در محیط کشت مناسب قرار داده تا به گیاهچه کامل تبدیل شوند و یا از طریق کپسوله کردن ژرم پلاسم‌ها بذور مصنوعی را تولید و به صورت کوتاه یا طولانی مدت نگهداری کرد. چون واکشت‌های متوالی هزینه‌بر است و علاوه برنیاز به فضای کافی به نیروی کار متخصص نیز نیاز دارد و مهمتر از همه به جهت ایجاد جهش‌های غیر قابل پیش بینی یا تفرق سوماکلونالی در بسیاری از موارد مطلوب نیست(۹).

راوی[1] و همکاران (۲۰۱۲) گیاهانی را که ضرورت دارد به به شیوه بذر مصنوعی تکثیر شوند را به شرح زیر عنوان کردند (۴۶) :

- گیاهان عقیم که بذری تولید نمی‌کنند.
- گیاهان گرمسیری که بذور آن‌ها معمولا خشک نمی‌شود.
- گونه‌های گیاهی خود گشن که تولید بذر دورگه در آن‌ها سخت و پر هزینه است.
- گونه‌های گیاهی زینتی.

موارد استفاده از بذور مصنوعی در اصلاح نباتات و مهندسی ژنتیک

ساپیراساد[2] در سال ۲۰۰۱ کاربرد بذور مصنوعی را در اصلاح نباتات در موارد زیر اعلام می‌دارد (۵۴) :

- برای تکثیر دورگه‌ها
- نگهداری ژرم پلاسم گیاهی
- تکثیر ژنوتیپ هایی که ناپایدار و عقیم هستند و بذر واقعی تولید نمی کنند
- تکثیر گیاهان زینتی یا تکثیر گیاهان پلی پلوئید که دارای صفات مطلوب هستند
- تکثیرگیاهان تراریخت برای حفظ ژنوتیپ های اصلی، با توجه به نیاز به امکانات رشد جداگانه، با استفاده از جنین های سومایی قابل حفاظت‌اند.
- بذرهای مصنوعی در محیط کشت های عاری از پاتوژن تولید می شوند و در نتیجه ریزنمونه قابل تکثیر عاری از پاتوژن به راحتی می‌توانند بین کشور ها بدون مسائل قرنطینه ای جا به جا شوند.

به منظور اقتصادی کردن تولید بذور مصنوعی انجام مراحل زیر الزامی است (۵۰):

انتخاب محصول براساس ارزش اقتصادی؛ ایجاد روش جنین زایی مناسب؛ تولید جنین های سوماتیکی بالغ و یکنواخت؛ کپسوله کردن ریز نمونه‌ها با مواد مغذی مورد نیاز؛ پوشاندن جنین های کپسوله شده با لایه خارجی؛ بالا بردن درصد تولید گیاه کامل در شرایط مزرعه و گلخانه تشخیص و کنترل آفات و بیماری هایی که ممکن است در سیستم تولید بذر مصنوعی امری کاملا جدید باشند؛ تشخیص و کنترل آفات و بیماری هایی که ممکن است در سیستم تولید بذر مصنوعی امری کاملا جدید باشند؛ ارزیابی تولید بذر مصنوعی در شرایط مناسب

هچنین این محقق چندین مزیت استفاده از بذر مصنوعی را نیز اعلام کرده است :

[1] Ravi

[2] Saiprasad

هزینه کم نشاکاری؛ کاربرد مستقیم درمزرعه؛ به عنوان حاملی برای میکرو ارگانیسم ها، آفت کشها، تنظیم کننده های رشد گیاه، قارچ کش ها، مواد مغذی و آنتی بیوتیک‌ها؛ حفاظت گیاهان هاپلوئید فاقد تقسیم میوز پایدار

اجزای تشکیل دهنده بذور مصنوعی

سه بخش بسیار مهم تشکیل دهنده بذور مصنوعی (۵۲) شامل:

پوسته، به عنوان بخش خارجی و محافظت کننده از جنین-ها و یا ریزنمونه‌های رویشی ؛ آندوسپرم مصنوعی، حاوی ترکیبات و هورمون‌های مورد نیاز به منظور بهبود جوانه-زنی و افزایش قدرت تبدیل بذور به گیاهچه ؛ ریزنمونه که جنین‌های سومایی یا اندام‌های رویشی قابل تکثیر می‌باشند.

انواع مختلف ریزنمونه برای تولید بذر مصنوعی

یکی از مهم‌ترین عوامل در موفقیت تولبد بذور مصنوعی انتخاب ریزنمونه مناسب می‌باشد، که قابلیت رشد، زنده-مانی و سازگاری را داشته باشد. ریزنمونه‌های تک قطبی نظیر پیازها، ریزوم‌ها، پروتوکوم‌ها، قطعات گره‌ای، جوانه-های ساقه و یا جنین‌های سومایی دوقطبی را می‌توان به منظور کپسوله کردن استفاده نمود (۵۱).

تولید بذر مصنوعی با استفاده از جنین‌های سومایی

جنین سوماتیکی، جنینی است که از یک سلول سومایی، غیر ازتخم بارور و از کشت بافت در شرایط درون شیشه-ای و در فرآیندی که جنین‌زایی سومایی نامیده می‌شود به دست آمده باشد. این جنین‌ها شبیه جنین‌های زیگوتی (جنین‌های حاصل از لقاح جنسی) بوده و در محیط کشت مناسب می‌توانند به نهال تبدیل شوند. با توجه به این که جنین‌زایی سوماتیکی به شدت توسط ژنوتیپ‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرد همچنین در کنار کنترل ژنتیکی، عوامل فیزیولوژیکی و محیطی، منبع ریزنمونه را تحت تاثیر قرار داده و در تغییر توانایی باززایی مشارکت می‌کنند (۶۶).

در شرایط طبیعی فاکتورهای متعددی در آغاز جنین‌زایی و ادامه آن تا تشکیل جنین کامل نقش ایفا می‌کنند اما نوع گیاه برای ایجاد جنین‌زایی سومایی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به طوری‌که گونه‌های متعلق به هر جنس یا ژنوتیپ‌های متعلق به هر گونه به میزان زیادی از لحاظ توانایی جنین‌زایی سومایی با هم متفاوت هستند همچنین هر ژنوتیپ ممکن است توانایی منحصر به فردی در باززایی جنین از خود نشان دهد (۱۱).

در این حالت بذرهای مصنوعی شامل جنین‌های سومایی حفاظت شده توسط یک دیوار کپسولی می‌باشند که پس از یک دوره کشت کوتاه، تعداد زیادی از جنین‌های سومایی بدست می‌آیند که از آن‌ها می‌توان برای تولید بذرهای مصنوعی استفاده نمود به طوری که می‌توان گفت تولید انبوه جنین‌های سومایی از کشت سوسپانسیون سلولی قابل تحقق می‌باشد. فاکتورهای مهمی که باید جهت جنین‌زایی مدنظر است انتخاب نوع ریزنمونه مناسب از گیاه مورد نظر می‌باشد به طوری که بررسی‌ها نشان داده است که هر چقدر بافت ریزنمونه جوان‌تر، فعال‌تر و مریستمی باشد از توانایی بیشتری جهت القای جنین‌زایی برخوردار است (۱۹).

در گیاهانی که جنین‌های سومایی آن‌ها مقاوم به خشک شدن می‌باشند می‌توان پس از جنین‌زایی و تکثیر جنین‌های سوماتیکی، آن‌ها را تا رطوبت ۸ تا ۱۵ درصد خشک نمود به طوری‌که بذرهای حاصل را می‌توان تا ۱۲ ماه در رطوبت و حرارت مناسب با شکسته شدن خواب جنین‌ها و نیز بدون کاهش یافتن قابلیت زنده‌مانی نگهداری نمود. با توجه به این‌که افزایش سطح پروتئین‌های ذخیره‌ای در جنین‌های سومایی، قدرت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها را بهبود می‌بخشد، اما این جنین‌ها اغلب فاقد پروتئین‌های ذخیره و ترکیبات ضروری مورد نیاز بعد از جوانه‌زنی می-باشندکه این امر باعث شده جنین‌های سوماتیکی اغلب فاقد قدرت جوانه‌زنی نرمال باشند (۴۱).

بذرهای مصنوعی حاصل از جنین‌های سومایی در مقایسه با بذرهای حقیقی، جذب آب نسبتا بالا و سریعی دارند زیرا این جنین‌ها فاقد پوشش هستند و صدمه حاصل از جذب آب ممکن است دیگری برای قدرت ضعیف گیاهچه‌های حاصل از بذرهای مصنوعی باشند (۴۰).

تولید بذر مصنوعی با استفاده از نمونه‌های رویشی

جنین‌های سومایی رایج‌ترین ریزنمونه‌هایی هستند که به منظور تولید بذور مصنوعی استفاده می‌شوند زیرا این جنین‌ها دو قطبی بوده و قادر به تولید گیاهچه کامل می‌باشند. همچنین تحمل به آبگیری در آن‌ها مشابه با جنین‌های زیگوتی می‌باشد اندام‌زایی در برخی از گونه‌ها

برای تولید بذر مصنوعی استفاده شده است از آن جمله می‌توان به استفاده از جوانه‌های انتهایی یا جوانه‌های جانبی اشاره نمود (۱۱).

ریزنمونه‌های رویشی کپسول شده در دانه‌های آلژینات کلسیم می‌تواند به عنوان جایگزین بذرهای مصنوعی حاصل از جنین‌های سوماتیکی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین اغلب جوانه‌های انتهایی به دلیل فعالیت‌های میتوزی بیشتر در نوک اندام‌های هوایی نسبت به جوانه‌های جانبی که در معرض غالبیت انتهایی قرار دارند، پاسخ بهتری را نسبت به ریزنمونه‌های رویشی غیرجنین‌زا می‌دهند (۶۵).

در صورتی که جنین‌های سوماتیکی موفقیت آمیز نباشند استفاده از جوانه‌های انتهایی یا جوانه‌های جانبی انتخاب مناسبی برای تولید بذر مصنوعی می‌باشند. مزیت کپسوله کردن واحدهای تکثیری تک قطبی مشابه ریزازدیادی است. راندمان تولید بالا، پتانسیل ذخیره، اندازه کوچک آن‌ها و شرایط استریل تولید از مزیت‌های مهم این ریزنمونه‌ها می‌باشد. با توجه به این‌که تولید بذر مصنوعی در گیاهان نیازمند توسعه پروتکل مناسب و بهبود سیستم‌های جنین‌زایی می‌باشد به طوری‌که این بهبود سیستم‌های اغلب بسیار پرهزینه و زمان‌بر می‌باشند، بنابراین استفاده از ریزنمونه‌های رویشی می‌تواند راهکار مناسبی برای تکثیر کلون‌های با ارزش بوده و در تناوب با بذور مصنوعی بدست آمده از جنین‌های سوماتیکی قرار بگیرند(۱۲).

استفاده از ریزنمونه‌های قابل تکثیر رویشی امروزه در گیاهان مختلف نظیر زنجبیل (۵۶)، هیبرید پرتغال و نارنج سه برگ (۲۸)، گل‌کلم (۴۸)، لیلیوم (۶۷)، گزنه (۶۲)، سیویلیکا (۵۳)، ارکیده (۲۰)، درخت گل ابریشم (۴۴)، ریحان (۴۸)، کاسنی (۶۰)، سیب‌زمینی (۲۷) گزارش شده است.

روش های کپسوله کردن ریز نمونه‌های گیاهی به منظور تولید بذر مصنوعی

کپسوله کردن بذور مصنوعی به سه روش انجام می‌شود:

۱.پوشش دار کردن اتوماتیک

فرایند کپسوله کردن اتوماتیک یک روش سریع برای تولید بذرهای مصنوعی است. به منظور کاهش هزینه کارگر و زمان مورد نیاز و افزایش میزان دقت می‌توان از ماشین‌های اتوماتیک جهت کپسوله‌کردن استفاده کرد. در این روش با استفاده از خلاء کپسول‌های سفید رنگ آلژینات سدیم در داخل دستگاه اسپیدینگ[1] تولید می‌شوند.

این کپسول‌های سفید رنگ در داخل مزرعه با استفاده از ماشین‌های مخصوص کشت می‌گردد. اما به دلیل خشک شدن سریع و در نتیجه عدم یکنواختی کپسول‌های آلژینات نیاز به کار دستی در مزرعه می‌باشد. اما دستگاه کوپلیمر ۴۲۶۰ الواکس[2] برای تولید یک پوشش که به آرامی خشک می‌گردد مناسب می‌باشد که این دستگاه اجازه ایجاد پوشش بذور مصنوعی را برای اغلب گیاهان به ما می‌دهد. بذور مصنوعی که با آلژینات سدیم پوشش‌دار می شوند کروی و قابل حمل می‌باشند.

۲.روش چکاندن قطره

این روش توسط ردنباخ و همکاران (۱۹۸۶) برای کپسوله کردن ریز نمونه‌های گیاهی یونجه به کار رفته است. در این روش می‌توان به جای نیترات کلسیم از کلرید کلسیم استفاده کرد. در این روش نمونه‌های گیاهی با محلول آلژینات سدیم آماده شده در محیط موراشیک و اسکوگ مخلوط می شود. سپس این نمونه‌های کپسول شده، مثل قطراتی داخل محلول نیترات کلسیم (۱۰۰ میلی لیتر) افزوده شده و به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه نگهداری می‌شوند. بعد از این مدت نمونه‌ها به طور کامل توسط آلژینات سدیم ژله‌ای می‌شوند . سپس نمونه‌های ژله‌ای شده با آب مقطر استریل شستشو داده شده و می‌توانند به عنوان بذر مصنوعی مورد استفاده قرار بگیرند.

۳.مُلدینگ[3]

در این روش نمونه‌ها با مواد ژله کننده وابسته به دما مثل ژل رایت مخلوط گشته و با کاهش دما نمونه‌ها ژله‌ای می‌شوند. بذرهای مصنوعی که از این طریق تولید می‌شوند را نمی‌توان در مزرعه کشت کرد زیرا بسیار شکننده بوده و مواد مغذی آن‌ها توسط میکروارگانیسم‌های موجود در خاک مورد حمله قرار گرفته و در نتیجه باعث مرگ نمونهٔ گیاهی می‌شوند (۳).

[1] Speeding
[2] Elvax 4260 copolymer
[3] Molding

پوسته بذر و مواد ژله کننده جهت تشکیل بذر

از مهم‌ترین ترکیبات ژله کننده می‌توان پولیوکس، پلی کو۲۱۳۳، آگار، آگاروز، آلژینات سدیم،کربوکسی متیل سلولز، کاراکینان، گوارگام، ژلریت، تراگاکانت کام، پکتات سدیم، اتیلو سلولز و نیترو سلولز وپلی آکریل آمید را جهت تولید بذر مصنوعی نام برد. هدف از پوشش‌دار نمودن بذور مصنوعی ایجاد لایه‌ای جهت حفاظت آن‌ها در برابر آسیب‌های مکانیکی، شیمیایی، بیولوژیکی و تامین حداقل نیازهای تغذیه‌ای می‌باشد به طوری‌که موادی که در این مورد مصرف می‌شوند برای آن‌که تاثیر منفی بر روی مراحل بعدی رشد بذر نگذارند باید مورد شناسایی قرار گرفته و از نظر نوع و میزان بکارگیریشان ارزیابی شوند (۱۰).

برای تهیه بذرهای مصنوعی لازم است جنین‌های سوماتیکی، قطعات گره‌ای، جوانه‌های ساقه و یا سایر اندام-های رویشی قابل تکثیر گیاه به منظور تشکیل پوسته بذور کپسوله گردند. به طوری که یک پوشش مناسب جوانه‌زنی و تبدیل جنین‌ها به گیاه کامل را در مراحل مختلف انتقال، ذخیره و کاشت تضمین و حفظ می‌کند. این فرآیند با به کار بردن هیدروژل‌های محلول در آب نظیر ژل رایت، کربوکسی متیل سولاز، صمغ لپه اقاقیا و سدیم آلژینات همراه با ژلاتین انجام می‌گردد (۲۵).

در میان مواد ژله کننده هیدروژل، آلژینات سدیم بیشترین کاربرد را جهت کپسوله نمودن ریزنمونه‌ها در تولید بذور مصنوعی دارند، به طوری‌که چسبندگی متعادل، سمیت پایین و خاصیت ژله شدن بسیار سریع از مهم‌ترین مشخصات آن می‌باشد (۳۶).

اصول و شرایط کپسوله‌کردن با آلژینات سدیم و کلرید کلسیم

نمک سدیم، آلژنیک با فرمول شیمیایی C6H7NaO6 با وزن ملکولی تئوری۱۹۸/۱۱ و با وزن واقعی ۲۲۲ دالتون می‌باشد.آلژینات سدیم به رنگ‌های سفید، قهوه‌ای مایل به زرد و به فرم‌های میله‌ای، دانه‌ای،گرانول و پودری موجود بوده وبه عنوان یک عامل ثابت کننده، ضخیم کننده، ژله-کننده و امولسیون کننده به کارمی‌رود. نقش اصلی‌آن حفاظت از ژرم پلاسم، باززایی گیاه و تولید بذر مصنوعی می‌باشد.

در میان مواد متفاوت که برای کپسول کردن وجود دارند، سدیم آلژینات به دلیل قابلیت حل شدن در دمای اتاق و خاصیت نفوذ پذیری کامل ژل با کلسیم کلراید انتخاب مناسبی به منظور کپسوله نمودن ریزنمونه‌ها می‌باشد. دلیل استفاده از آلژینات کلسیم سهولت کاربرد و عدم سمیت آن می‌باشد(۳۰).

کلرید کلسیم(CaCl2.H2O) ، یک نمک معمولی است که به عنوان یک هالید یونی عمل کرده و در دمای اتاق به حالت جامد می‌باشد همچنین برخلاف بسیاری از ترکیبات کلسیم که نامحلول می‌باشند، کلرید کلسیم به آسانی حل می‌گردد. محلول این نمک به منظور جامد نمودن حالت ژله‌ای آلژینات سدیم حاوی جنین‌های سوماتیکی و یا ریزنمونه‌های قابل تکثیر استفاده می‌گردد.

اصول مهم مربوط به فرآیند کپسوله کردن توسط آلژینات سدیم این است که قطرات آلژینات سدیم حاوی جنین های سوماتیکی یا ریز نمونه‌های قابل تکثیر رویشی وقتی در محلول کلرید کلسیم چکانده می شوند، دانه های گرد و سختی به سبب مبادله یونی بین Na^{+} در آلژینات سدیم با Ca^{2+} در محلول کلرید کلسیم ایجاد می‌کند. سختی یا محکمی کپسول اساساً به تعداد یون‌های سدیم مبادله شده با یون‌های کلسیم بستگی دارد (۳۵).

همچنین کپسول‌های آلژینات کلسیم با چکاندن مخلوط رویان‌های پیکری و آلژینات سدیم در محلول نمک کلسیم به وجود می‌آیند. این پوسته ژلاتین رویان‌ها را حفاظت نموده و می‌تواند آندوسپرم مصنوعی را ایجاد نماید. تفاوت در غلظت آلژینات سدیم برای تشکیل دانه‌های آلژینات در گونه‌های گیاهی مختلف می‌تواند به دلیل تنوع در منبع تجاری که ماده شیمیایی از آنجا تهیه شده است می‌باشدکه این احتمال توسط سینگ و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است. غلظت پلیمر، غلظت آلژینات سدیم، غلظت کلرید کلسیم و زمان تیمار پارامترهای مهم در تعیین نفوذپذیری، مقاومت و سختی دانه‌های حاصل می‌باشد (۳۳).

استفاده از آلژینات سدیم و کلرید کلسیم در تولید بذر مصنوعی

با توجه به این که استفاده از غلظت‌های پایین آلژینات سدیم باعث کاهش توانایی ژلاتینه شدن این ماده پس از

قرارگیری در معرض دماهای بالا طی اتوکلاو می‌گردد همچنین افزایش مدت زمان پلیمریزاسیون منجر به تولید دانه‌های نرم می‌گردد که کار کردن با آن‌ها طی انتقال به محیط کشت سخت می‌گردد. همچنین غلظت‌های بالا دو ماده شیمیایی کپسول کننده باعث تولید دانه‌های تقریبا هم-قطر و سختی می‌گردد که به طور معنی‌داری جوانه‌زنی را به تاخیر می‌اندازد (۹).

به منظور بهینه سازی تولید بذر مصنوعی در موز پروتکلی توسط (پریا،۲۰۰۳) گزارش نمودند، به طوری‌که بیان نمودند نوک شاخه‌های کپسوله شده با آلژینات سدیم ۳ درصد و محلول کلرید ۷۵ میلی‌مولار باعث تولید بیشترین درصد دانه‌ها کروی (۹۳/۵۳) شده است.

کپسوله کردن جنین‌های سوماتیکی را با قطری در حدود ۳ تا ۶ میلی‌متر با استفاده از آلژینات سدیم ۳ درصد گزارش نمودند، به طوری‌که بیان نمودند کپسول‌ها رطوبت را جهت رشد و توسعه جنین‌ها داخل دانه‌ها فراهم کردند که در محیط غذایی این جنین‌ها تولید ریشه و ساقه کردند. مالابادی و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند درصد جوانه-زنی جنین‌های سوماتیکی کپسوله شده به طور قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر غلظت آلژینات سدیم و مدت زمان باقی ماندن در محلول کلرید کلسیم قرار می‌گیرد.

استفاده از آلژینات سدیم ۵ درصد به منظور کپسوله نمودن جوانه‌های ساقه گیاه مورت (معروف به ریشه طلایی) به طور معنی داری موثر بود (۶۸). سومدرا و همکاران (۲۰۰۶) برای تهیه بذرمصنوعی انار غلظت‌های مختلف آلژینات سدیم (۱ تا ۶ درصد) و محلول پلیمریزاسیون کلرید کلسیم (۵۰ تا ۱۵۰ میلی‌مولار) را بررسی نمودند، نتایج نشان داد که ترکیب آلژینات سدیم ۳ درصد و کلرید کلسیم۱۰۰ میلی‌مولاربهترین ترکیب جهت تشکیل بذرهای مصنوعی ایده آل بودند.

کپسوله نمودن جوانه‌های انتهایی گیاه شنگ با استفاده از آلژینات سدیم ۳ درصد و کلرید ۷۵ میلی‌مولار بهترین نتیجه را نشان داده است، به طوری‌که‌حداکثر درصد تبدیل جوانه‌های انتهایی کپسوله شده به گیاهچه را ۵ هفته بعد از کشت، روی محیط MS فاقد تنظیم کننده‌های رشد گیاهی به میزان ۹۰ درصد مشاهده نمودند (۶۰). بنابراین توانایی رشد جوانه‌های انتهایی کپسوله شده تحت تاثیر غلظت آلژینات سدیم، دوره نگهداری و حضور یا عدم حضور مواد غذایی MS در دانه‌های آلژینات سدیم قرار گرفت.

تولید بذر مصنوعی در گیاه دارویی بومادران، با استفاده از قطعات میانگره را بررسی نمودند. به طوری‌که نتایج نشان داد استفاده از آلژینات سدیم ۲ درصد به همراه کلرید کلسیم ۵۰ میلی‌مولار به دلیل ویسکوزیته مناسب تولید شده بهترین غلظت جهت کپسوله نمودن قطعات گره می‌باشند (۵۷). تولید بذور مصنوعی را در گیاه ارکیده بررسی نمودند، بررسی‌ها نشان داد استفاده ازآلژینات سدیم ۳ در-صد و قرارگیری در محلول کلرید کلسیم ۱۰۰ میلی‌مولار به مدت ۳۰ دقیقه، دانه‌های یک فرم، گرد و شفاف و سختی را ایجاد می‌کند(۲۴).

آزمایشی به منظور ارزیابی تاثیر نوع آلژینات (آلژینات سدیم LF وLB) و غلظت آن (۰/۵، ۱/۵، ۲، ۳، ۴ درصد) با محیط پایه MS به عنوان آندوسپرم بر روی درصدجوانه-زنی و رشد جنین‌های رویشی کپسول شده یونجه اجرا کردند. در این بررسی درصد ریشه زایی و جوانه‌زنی جنین‌های رویشی کپسول شده (بذرهای مصنوعی)، در شرایط درون شیشه‌ای و بستر پیت ماس اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد بین نوع آلژینات مورد استفاده و غلظت‌های مختلف آنها تفاوت معنی‌داری وجود داشت(۱).

بهترین نوع و غلظت آلژینات با بیشترین درصد جوانه‌زنی جنین‌های کپسوله در هر دو محیط درون شیشه‌ای و پیت ماس مربوط به آلژینات سدیم نوع LF با غلظت ۲ درصد بود. بستر جوانه‌زنی بذور تولید شده نیز بر درصد جوانه-زنی و رویشی جنین‌ها تاثیر معنی‌داری داشت. به‌طوری‌که بالاترین درصد جوانه‌زنی (۸۴ درصد) در شرایط درون شیشه‌ای اندازه‌گیری شد.

استفاده از نوع محیط کشت، اندازه و نوع ریزنمونه در تولید بذر مصنوعی

اضافه کردن مواد مغذی و تنظیم کننده های رشد به ماده زمینه ای بعنوان آندوسپرم مصنوعی جهت کپسوله کردن سبب افزایش راندمان جوانه زنی و زیستایی جنین های سوماتیکی وپروپاگول های رویشی کپسوله شده می گردد.

ریز نمونه‌های رویشی تولید شده در شرایط درون شیشه‌ای تحت شرایط کنترل شده می‌توانند مستقیم تبدیل به گیاهچه شوند. اما اگر این نمونه‌ها از طریق کپسوله کردن یا پوشش

مصنوعی تبدیل به بذر مصنوعی شوند تطابق پذیری آن‌ها بیشتر شود و شبیه به بذر واقعی می‌شوند، بنابراین بهینه نمودن شرایط ماتریکس یکی از مراحل بسیار مهم در موفقیت تولید بذور مصنوعی می‌باشد (۳۹).

استفاده از مواد غذایی MS و تنظیم کننده‌های رشد در ماتریکس آلژینات و استریل کردن هر دو ماده کپسول کننده باعث افزایش قدرت زیست ریزنمونه‌های کپسول شده می‌شود. بهبود رشد را می‌توان به مواد غذایی موجود در آندوسپرم مصنوعی نسبت داد که به عنوان منبع کربن عمل می‌کند. افزایش میزان رشد گیاهان با انتخاب محیط کشت مناسب به همراه افزودن مواد غذایی و کربوهیدرات‌ها به ماتریکس کپسول کننده توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است. انتخاب ریز نمونه مناسب، در مراحل کاشت بر روی بسترهای کشت تجاری و انتقال و سازگاری گیاهچه-های رشد یافته تاثیری بسیار معنی‌داری دارد به طوری که عملکرد غده سیب‌زمینی، از نظر صفات تعداد غده و طول ساقه افزایش یافته است (۳۲).

مجد و همکاران ۱۳۹۰ کپسوله نمودن جنین های سوماتیکی را در تعدادی از ارقام پنبه را مورد بررسی قرار دادند. ریزنمونه‌های محور زیر لپه برای کالوس‌دهی به محیط کشت‌های MSB (شامل نمک‌های MS و ویتامین-های B5) همراه با توفوردی وKn (هر کدام ۰/۱میلی‌گرم بر لیتر)، ۰/۲میلی‌گرم بر لیتر IBA و ۰/۷۵گرم در لیتر منیزیوم و MS منتقل شدند.

کالوس‌های تولید شده جهت تحریک جنین‌زایی و بلوغ جنین‌ها به محیط MSB به اضافه کلرید منیزیوم (۰/۷۵گرم در لیتر) و نیترات پتاسیم (۱/۹ گرم در لیتر) انتقال یافتند. نتایج نشان داد که درصد و سرعت جوانه‌زنی جنین‌های سوماتیکی در محیط کشت MSB همراه با زاتین (۰/۱میلی‌گرم در لیتر) و زغال فعال ۲ گرم در لیتر افزایش یافت.

قایمان و همکاران (۱۳۹۱) با هدف بررسی و تایید بافت شناختی مراحل رویان زایی سوماتیکی درگیاه وشا (به عنوان روش موثر در تکثیر گیاهانی که با محدودیت کشت مواجه هستند و نیز تولید بذر مصنوعی) به کمک روش‌های کشت بافت آزمایشی با هدف بهینه نمودن شرایط بستر کشت اجرا نمودند. در این آزمایش ریزنمونه-های مختلف را بر روی محیط کشت MS حاوی غلظت-های مختلف اکسین و سیتوکنین قرار دادند. پس از ۸ هفته، تولید کالوس‌های رویان‌زا بررسی شد. به طوری که مراحل مختلف نمو رویان‌های سوماتیکی پس از تهیه برش‌های میکروتومی از کالوس‌ها و با استفاده از روش بافت شناسی بررسی شد. نتایج نشان داد که از میان ریزنمونه‌های مختلف مورد بررسی، رویان‌های بذری موفق به تشکیل کالوس‌های رویان‌زا شدند. هورمون اکسین به طور موثر میزان رویان‌زایی را افزایش داد. بیشترین میزان تولید کالوس‌های رویان‌زا مربوط به محیط MS حاوی ۱ میلی-گرم در لیتر استیک اسید و ۰/۵میلی‌گرم لیتر BAP بود.

تولید بذر مصنوعی توسط ژنگ و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از جوانه‌های جانبی و برگ و پاجوش(ساقه نابجا) گیاه دندروبیوم از خانواده ارکیده، مورد مطالعه قرار گرفت. اثر استفاده از غلظت‌های مختلف مالتوز به همراه استفاده از هورمون‌هایBAP وKn ،زغال فعال، سدیم آلژینات و زمان تبادل یونی با استفاده مقایسات ارتوگونال روی صفت جوانه‌زنی مورد ارزیابی قرارگرفتند. نتایج نشان داد که مالتوز ۴٪، نسبت هورمون ۱۲ به ۱، زغال فعال۳ دهم در-صد، سدیم آلژینات ۴ درصد شرایط بهینه بودند.

میزان جوانه‌زنی به‌ترتیب برای سه ریزنمونه گیاهی مورد استفاده برابر ۷۴، ۹۵، ۸۴ درصد در شرایط بهینه بودند. پس از جوانه‌زنی میزان بقا نهال از بذر مصنوعی نیز به‌ترتیب برای سه نوع ریزنمونه ۲۱، ۸۲، ۲۴ درصد بود. همچنین نرخ نشت مالتوز از کپسول بذرمصنوعی پس از ۵ روز ذخیره‌سازی حدود ۵ درصد بود. پس از ذخیره بذور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ روز، درصد جوانه-زنی سه ریزنمونه به ترتیب ۶۳، ۷۲ و ۶۵ درصد بود.

تیکسرا دا و سیلوا (۲۰۱۳) کپسوله نمودن اندام‌هایی موسوم به PBLs (شبه پروتوکورم[1]) را در ارکیده سیمبیدیوم، به منظور تولید بذور مصنوعی بررسی نمودند. در این آزمایش از محیط کشت جدید TC[2]، به همراه ۰/۱میلی‌گرم برلیتر Kn و NAA[3]، ۲ گرم‌در لیتر تریپتوفان و ۲۰ گرم در لیتر ساکارز به منظور بررسی تاثیر نوع و اندازه ریزنمونه مورد ارزیابی قرار گرفت. پیش تیمارهای نیترات پتاسیم (۲۰۰ میلی‌مولار)، شیره نارگیل، نور و تاریکی کوتاه مدت (۱

[1] Protocorm
[2] Teixeira Cymbidium
[3] Naphthalene acetic acid

ماهه) و طولانی (۶ تا ۱۲ ماهه) و نگهداری در سرمای ۴ درجه سانتی‌گراد نیز بررسی گردید. نتایج نشان داد استفاده از شیره نارگیل به همراه محیط کشت TC، سبب بهبود جوانه‌زنی بذور مصنوعی در دوره سرمایی به مدت ۶ ماه در محیط کشت مایع گردید.

استفاده از مواد مغذی و تنظیم کننده رشد در آندوسپرم بذور مصنوعی

یکی دیگر از جنبه‌های بسیار مهم در تولید بذور مصنوعی تهیه آندوسپرم مصنوعی، حاوی ترکیبات و تنظیم کننده‌های رشد مورد نیاز به منظور جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها می‌باشد. نتایج تحقیقات نشان داده است که برای کنترل رشد و سهولت جوانه‌زنی جنین‌های سوماتیکی کپسوله شده، مشابه آندوسپرم با منشا جنسی می‌تواند حاوی یک یا چندین ترکیب مثل مواد مغذی، تنظیم کننده‌های رشد، آنتی‌پاتوژن‌ها، علف‌کش‌ها، کنترل کننده‌های زیستی، بیوکودها به منظور اطمینان از تبدیل بذور به گیاهچه و توسعه آن در مزرعه باشد که رشد را کنترل کرده و جوانه‌زنی بذور مصنوعی را تسهیل و سرعت می‌بخشد (۳۴).

بهینه نمودن شرایط محیط آندوسپرم بذور مصنوعی، باعث افزایش راندمان جوانه‌زنی، تبدیل و سازگاری گیاهچه‌های حاصل خواهد شد به طوری‌که انتخاب محیط کشت، محرک‌های رشد گیاهی مانند هورمون‌های تحریک کننده رشد ریشه و ساقه، محرک‌های دمایی و غیره کمک فراوانی به رشد گیاهچه‌ها می‌نمایند. محققان مختلف مواد مختلفی را برای تولید آندوسپرم مصنوعی توصیه کرده‌اند که هورمون‌های رشد اکسین و سیتوکنین و محیط کشت پایه MS از مهمترین آن‌ها می‌باشد به طوری‌که این مواد باعث افزایش راندمان بذور به منظور تولید گیاهچه‌های قوی‌تر و امکان رشد در محیط غیر آزمایشگاهی را فراهم می‌نماید (۵).

استفاده از مواد غذایی در کپسول‌های آلژینات جوانه‌های حاصل از شاخه‌های تکثیر شده در شرایط درون شیشه‌ای زیتون یک مسئله مهم در ارتباط با حفاظت ژرم پلاسم و تکنولوژی بذر مصنوعی است. ساکاموتو و همکاران (۱۹۹۲) گزارش دادند با اضافه کردن ترکیبات غذایی و هورمون‌های گیاهی به ماتریکس کپسوله کننده در توت تعداد بذرهای جوانه‌زده افزایش یافت، به طوری که جنین‌های کپسوله شده در ماتریکس حاوی مواد غذایی در مقایسه با جنین‌های کپسوله شده در ماتریکس فاقد مواد غذایی به ترتیب ۵۲ و ۳۶ درصد تبدیل به گیاهچه شدند.

فرضیه کپسوله کردن ریزنمونه‌های حاصل از کشت بافت در ژل غذایی یک ایده جدید برای تحقیق بر روی بهبود راندمان تولید بذر مصنوعی می‌باشد همچنین تلفیق میکوریزا، آفت‌کش‌ها و کودها با کپسول میزان جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌ها را افزایش می‌دهد (۶۳).

دانسو (۲۰۰۳) با بررسی بر روی تولید بذور مصنوعی در گیاهان دارویی، شابیزگ و ارجنگ بیان نمودند استفاده از تنظیم کننده‌های رشد در ماتریکس آلژینات باعث توسعه شاخه‌های اولیه از ریزنمونه‌های کپسول شده را می‌گردد.

بخت و همکاران (۲۰۰۶) گزارش نمودند بیشترین درصد تبدیل و سازگاری گیاهچه‌های حاصل از تولید بذور مصنوعی در سیر، با شرایط مزرعه در استفاده از ۲ میلی‌گرم در لیتر از هورمون‌های NAA و ABA مشاهده گردید. بذرهای مصنوعی دارای آندوسپرم مصنوعی حاوی مواد غذاییMS ، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱/۲۵٪ زغال فعال، حداکثر جوانه‌زنی (۳۰ درصد) و تبدیل ۲۷ درصد را در برنج هیبرید، نشان دادند (۱۴).

احمد و همکاران (۲۰۱۳) نوک شاخه‌های بدست آمده از کشت در شرایط درون شیشه‌ای گلابی را با استفاده از آلژینات سدیم ۳ درصد کپسول نمودند. آن‌ها در آزمایش خود تاثیر تنظیم کننده‌های رشد در غلظت‌های مختلف، نوع محیط، غلظت محیط کشتMS ، افزایش مقدار ساکارز و مدت زمان نگهداری را در توانایی جوانه‌زنی و رشد نوک شاخه‌های کپسوله شده را در افزایش راندمان تبدیل، رشد و سازگاری گیاهچه‌های حاصل از رشد بذور را مثبت ارزیابی نمودند.

بیرادار و همکاران (۲۰۰۸) به منظور توسعه تکثیر غیر جنسی و جنین‌زایی سوماتیکی در نیشکر به منظور تولید بذر مصنوعی پژوهشی را به صورت آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، بر روی رقم نیشکر COC-۶۷۱ انجام دادند.

در این مطالعه سه سطح هورمون BAP (۰/۵، ۱و ۲ میلی‌گرم درلیتر) استفاده شد و بهترین سطح ۲ میلی‌گرم درلیتر و ۷۲ درصد استقرار مریستم در محیط کشت بوده و

حداکثر تکثیر ساقه در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP و برابر ۲۱/۸۴ درصد ثبت گردید. ریشه دار شدن در دو تیمار ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA به ترتیب ۷۰ و ۸۰ درصد گزارش شد. همچنین برای بذوری که در کپسوله کردن آن‌ها محیط کشت پایه MS استفاده گردید حدود ۲۲ درصد جوانه‌زنی پس از ۱۰ روز ثبت شد. بیشترین درصد جوانه‌زنی (حدود ۸ درصد) برای محیط کشت پایه و ۳۰ درصد خاک پیت و ۱۵ روز بعد از کاشت بدست آمد.

بابا زاده بدوستان و همکاران (۱۳۹۱) استفاده از ۱ میلی‌گرم در لیترKn به همراه ۱/۵ میلی‌گرم در لیترBAP در محیط آندوسپرم بذور مصنوعی زنجبیل بهترین ترکیب تیماری گزارش کردند. به منظور تولید بذر مصنوعی ریز ساقه‌ها را در محلول ۴ درصد حجمی سدیم آلژینات با کلسیم کلراید ۱۰۰ میلی‌مولار قرار داده شدند. بذرهای مصنوعی ۷ تا ۱۴ روز در محیط پایه MS قرار داده شدند. نتایج نشان داد در-صد جوانه‌زنی بذرهای تولیدی با استفاده از ۳ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP افزایش یافت. به طوری‌که بعد از ۷ و ۳۰ روز ذخیره سازی بیشترین جوانه-زنی بذور مربوط به همین تیمار بود. باززایی کامل نیز به مدت ۳ تا ۴ هفته از این بذرهای جوانه زده امکان پذیر گردید.

جوانه زنی و کاشت بذور مصنوعی در بسترهای کشت و گلخانه

سازگاری گیاهچه‌های حاصل از جوانه‌زنی بذور مصنوعی یکی از مراحل مهم در مطالعات کشت بافت می‌باشد. دما و رطوبت فاکتورهای کلیدی هستند که میزان بقا گیاهچه را در گلخانه کنترل می‌کنند. بزرگترین مشکل مربوط به کاهش رطوبت نسبی از مقدار نزدیک به ۱۰۰ درصد در محیط کشت بافت به مقادیر بسیار کمتر در محیط گلخانه است. فقدان اپی‌کوتیکول مومی در شاخه‌های کشت بافتی منجر به از دست دادن بیش از حد آب می‌شود (۳۴).

گیاهچه‌هایی که در شرایط درون شیشه‌ای از رشد خوبی برخوردارند قوی‌تر بوده و پس از انتقال به شرایط بیرون شیشه‌ای رشد بهتری را دارند. به طوری که برگ‌های گسترش یافته بزرگ‌تر در ریزنمونه‌های کپسول شده در ماتریکس حاوی مواد غذایی در مقایسه با برگ‌های بیشتر اما کوچک‌تر حاصل از رشد نمونه‌های کپسول شده در آلژینات سدیم حاوی تنظیم کننده‌های رشد، در شرایط بیرون شیشه‌ای پایدارتر بوده و از گیاهچه‌ها تا ظهور برگ-های جدید محافظت می‌کند (۶۱).

انتقال بذور مصنوعی به شرایط گلخانه و مزرعه‌ای نیازمند ایجاد شرایط مناسب به منظور مواجه با حداقل شرایط تنش می‌باشد. کنترل نگهداری ریزنمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد باعث اعمال تنش دمایی به آن‌ها می‌شود. قرار گرفتن گیاه در دمای پایین منجر به خروج آب از سلول‌ها و از دست رفتن آب سلول می‌گردد، بنابراین تحمل به دمای پایین همبستگی بالایی با تحمل به از دست دادن آب در اثر خشکی و شوری دارد. در شرایط تنش گیاه جهت جلوگیری از آسیب به سلول‌ها و بافت‌ها با افزایش تولید اسمولیت‌های سمی در تنظیم اسمولاریته دارد که ساخت این اسمولیت‌ها نیاز به صرف انرژی دارد. همچنین در شرایط تنش میزان ساخت و تولید رادیکال‌های آزاد نیز افزایش می‌یابد که صرف انرژی برای از بین بردن این تولیدات نامطلوب باعث کاهش رشد گیاه پس از رفع تنش و قرارگیری در شرایط مطلوب می‌شود(۸ و ۲۶).

دوباریا (۱۹۹۴) عنوان کرد درجه حرارت حدود ۲۴ تا ۲۶ درجه‌سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ تا ۹۰ درصد، منجر به مشاهده حداکثر میزان بقا در بذور مصنوعی (۸۰ درصد) و به مقدار کمتر (۷۲ درصد) در ریز نمونه‌های کپسوله نشده بود. این اختلاف ممکن است به دلیل نحوه تکثیر و یا ناشی از عوامل محیطی باشد. جوانه‌زنی بذرهای مصنوعی در شرایط مزرعه دشوار است. اما به هنگام استفاده از خاک استریل شده و مواد غذایی MS جوانه‌زنی ۳۰ درصدی در آن‌ها مشاهده شد.

در تحقیقی نوک ساقه‌های چهار رقم سیب‌زمینی برای مدت دو روز در محیط MS پیش کشت شدند. سپس در آلژینات سدیم برای تولید بذر مصنوعی کپسوله شدند. به-طوری که باززایی و رشد مجدد در محیط کشت پایه انجام گرفت سپس در دمای ۴ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۹۰ روز قرار داده شدند. نتیجه کار باززایی و رشد ۱۰۰ درصدی بود اما برای تیمار دمایی شاهد (بدون ذخیره-سازی در دمای خاصی و انتقال مستقیم به خاک) رشد مجدد کمتر از ۱۰۰ درصد بود (نیند و همکاران، ۲۰۰۳). در پژوهشی در مورد مرکبات، بذرهای مصنوعی تولید شده

در آندوسپرم مصنوعی در محیط حاوی پرلیت به خوبی رشد نمودند (۱۵).

طولانی‌تر شدن دوره ماندگاری و سازگاری بذور جوانه‌زده گیاه دارویی پودوفیل (بهار سیب) را بر روی بستر پرلیت با استفاده از ۰/۰۲ مولار سوربیتول گزارش کردند. همچنین در سیستم ریشه‌ای گسترده‌تر و قوی‌تر گیاهچه‌های حاصل از ماتریکس ژلی حاوی تنظیم کننده‌های رشد نیز به جذب مواد غذایی، استقرار و رشد گیاهچه‌ها در شرایط بیرون شیشه‌ای کمک می‌کند(۶۰).

ریزکالاو همکاران (۲۰۱۲) افزایش ماندگاری و سازگاری بذور جوانه‌زده چغندرقند را بر روی بستر کوکوپیت با استفاده از ۰/۰۵ مولار مانیتول گزارش کردند. شارما و شهرزاد (۲۰۱۳) بهترین شرایط سازگاری گیاه دارویی مریم گلی را در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد در بستر مخلوط خاک باغچه، کمپوست و شن با نسبت (۱:۱:۲) گزارش کردند. **نگهداری و میزان بقاء بذرهای مصنوعی**

امروزه امکان ذخیره‌سازی بذور مصنوعی بذور مصنوعی در ظروف اتوکلاو شده بدون استفاده از محیط کشت و یا استفاده از محیط کشت در دماهای ۴ و۱۰ درجه سانتیگراد در تاریکی وجود دارد. به طوری‌که قابلیت ذخیره بذور مصنوعی به این روش ۱۸۰ روز در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد و ۲۷۰ روز در دمای ۴ درجه سانتیگراد است با امکان باززایی ۱۰۰ درصد گزارش شده است (۴۲).

کپسوله نمودن بذور مصنوعی با استفاده از آلژینات سدیم تکنیکی است که توسط آن می‌توان ریزنمونه‌ها را خارج از فصل نیز انتقال داد. ذخیره سرمایی قیمت نگهداری ژرم پلاسم را به دلیل کاهش نیاز به اعمال آزمایشگاهی به دلیل واکشت کم‌تر کاهش می‌دهد. کاهش قدرت جوانه‌زنی بذر-های مصنوعی در شرایط بیرون شیشه‌ای توسط محققان مختلف نیز گزارش شده است (۶۴).

بذور مصنوعی ارکیده را می‌توان ۱۸۰ روز در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد، بدون آن‌که بقا آن کاهش یابد ذخیره نمود. بذرهای مصنوعی تولید شده در جو نیز ظرفیت جوانه‌زنی خود را به مدت ۶ ماه حفظ کردند در حالی که جنین‌های کپسوله نشده بعد از دو هفته ذخیره زنده نماندند. بازینت و همکاران (۱۹۹۲) گزارش کردند نسبت باززایی هویج بعد از ذخیره کاهش یافته که می‌تواند به دلیل از دست رفتن قدرت زنده‌مانی ناشی از محدودیت نفوذ اکسیژن باشد.

چیتا و دوی (۱۹۹۶) مشاهده کردند که جوانه‌زنی گونه-های ارکیده با افزایش مدت دخیره کاهش پیدا می‌کند. به-طوری‌که بعد از دخیره در دمای اتاق جوانه‌زنی پایین بوده (۱۰ تا ۲۰ درصد) در حالی که در صورت ذخیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بعد از ۶۰ روز ۵۰ درصد جوانه‌زنی مشاهده شد، این امر به تبادل ژرم پلاسم را تسهیل کرده و به تکثیر تجاری ارکیده‌ها کمک می‌کند. بذرهای مصنوعی نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ روز، ۱۰۰ درصد جوانه زدند، در حالی‌که جنین‌های سوماتیکی کپسوله نشده بعد از ۳۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد فاقد قدرت بقا بودند.

بذرهای مصنوعی توت که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ و ۴ ماه ذخیره شده بودند، بدون کاهش معنی‌دار پتانسیل تبدیل، تحت شرایط درون و بیرون شیشه‌ای تبدیل به گیاهچه شدند (۵۸). حافیظ و همکاران (۲۰۰۷) جهت تهیه بذر مصنوعی، شاخه‌های بدست آمده از شرایط درون شیشه‌ای زیتون را در آلژینات سدیم کپسوله کرده، سپس بذور حاصل را در شرایط سرما (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) و دمای اتاق (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) با فواصل نگهداری ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز جهت برآورد و مقایسه تبدیل و رشد بذور مصنوعی نگهداری کردند.

رای و همکاران (۲۰۰۸) مطالعه‌ای تحت عنوان کپسوله کردن نوک شاخه‌های گواوا (معروف به زیتون محلی) برای نگهداری کوتاه مدت و مبادله ژرم پلاسم انجام دادند. آن‌ها کپسول‌ها را در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد برای زمان‌های متفاوت، ۰، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ روز نگهداری نمودند. بعد از این مدت باززایی کپسول‌ها را بر روی محیط MS حاوی ۳ درصد ساکارز بدون تنظیم کننده رشد صورت گرفت که جهت ریشه‌زایی به محیط حاوی تنظیم کننده‌های رشد منتقل شدند. ماتریکس ژلی آلژینات سدیم ۳ درصد و کلرید کلسیم ۱۰۰ میلی‌مول جهت تشکیل دانه‌های ژلی مناسب بودند. کپسول‌ها به مدت ۳۰ روز با مدت زنده‌مانی ۲۵ درصد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قابل نگهداری بودند.

با توجه به این‌که بهترین دما در اغلب گیاهان به منظور ذخیره‌سازی بذور مصنوعی کپسوله شده با استفاده از آلژینات سدیم ۴ درجه سانتی‌گراد گزارش شده است اما استفاده از دماهای بالا به منظور ذخیره‌سازی و جوانه‌زنی بذور بعد از آن نیز در تعداد کمی از گیاهان مناسب گزارش شده است. ساندراجا و همکاران (۲۰۱۰) جوانه‌زنی و رشد ۱۰۰ درصدی بذور مصنوعی زنجبیل در شرایط نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد را گزارش کرده اند.

ذخیره سازی بذرهای مصنوعی گیاه دندروبیوم در پارافین مایع می‌تواند در طولانی‌تر شدن دوره ذخیره‌سازی بذور مصنوعی موثر واقع شود. به طوری که با افزایش کاربندازیم به میزان ۸۰۰ppm در کپسول بذور، میزان جوانه‌زنی برای سه نوع ریزنمونه جوانه جانبی و برگ و پاجوش گیاه به ترتیب ۷، ۱۵ و ۷ درصد گزارش شدند (۶۷). هانگ و ترومان (۲۰۱۲) امکان نگهداری و رشد جوانه‌های انتهایی کپسوله شده را در اکالیپتوس به مدت ۱۲ ماه در دماهای زیر ۱۴ درجه سانتی‌گراد و صفر گزارش کرده اند.

منابع

۱. ابراهیمی م، پزشکی نجف آبادی ع، خیام نکویی م، کدخدایی س، ۱۳۹۲. بررسی تاثیر نوع و غلظت کپسول های آلژینات سدیم در جوانه‌زنی و رشد بذرهای مصنوعی یونجه، پژوهش و سازندگی، ۱۰۱: ۵۵-۳۸.

۲. بابا زاده بدوستانی ا، یوسف پور دخانیه ا، رضانژاد امیر دهی س، بابازاده بدوستانی ع، ۱۳۹۱. ایجاد بذور مصنوعی پوشش‌دار از جنین‌های سوماکلونال زنجبیل. ویژه نامه دوازدهمین کنگره ژنتیک ایران، تهران، ۱ تا ۳ خرداد، ص ۸-۱.

۳. زینالی م، قادریان م، ملکی زنجانی ب، مقدم آقاجری ش، جعفر لو م. ۱۳۹۱. تولید، ذخیره و باززایی جنین‌های سوماتیکی کلزا (*Brassica napus* cv. *Tallayeh*) کپسوله شده در دانه‌های سدیم آلژینات، دوازدهمین کنگره ژنتیک ایران، تهران، ۱ تا ۳ خرداد. ص ۶-۱.

۴. قاسمیان خ، ناظری س، چهرگانی راد ع ا، میرزایی اصل ا. ۱۳۹۱. مراحل رویان زایی سوماتیکی حاصل از رویان بذری در گیاه وشا (*Dorema ammoniacum* D.). سلول و بافت، ۳(۱): ۲۷-۲۱.

۵. قمبرعلی باغنی، س (۱۳۹۴) مطالعه تولید بذر مصنوعی در دو رقم سیب زمینی از طریق کپسوله کردن جوانه های جانبی. رساله کارشناسی ارشد.

۶. قمبرعلی، س، شعفی، ب، موسوی، س، عبداللهی، م، ساری خانی، ح. ۱۳۹۷. ریز ازدیادی گیاه دارویی استویا (*Stevia rebaudiana Berton*) از طریق کشت دو ریزنمونه جوانه‌انتهایی. مجله پژوهش‌های سلولی و ملکولی (مجله زیست شناسی ایران). جلد ۳۲.

۷. مجد ا، احساندار ش، چوگان ر، عبدی ح ر. ۱۳۹۰. تولید بذر مصنوعی بوسیله کپسوله کردن رویان‌های پیکری در گیاه سیب-زمینی (*Solanum tuberosum* L.). فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران، ۴: ۷۶-۶۸.

۸. شعفی، ب (۱۳۹۵) مطالعه عوامل موثر در تولید و نگهداری بذر مصنوعی در گیاه استویا، دانشگاه بوعلی سینا. رساله کارشناسی ارشد.

۹. شعفی،ب، قمبرعلی، س (۱۳۹۷). تکنیک‌های کاربردی کشت بافت گیاهی. جلد اول. انتشارات حکایت قلم نوین. تهران.جلد اول.

۱۰. کاکایی، م، مظاهری لقب، عبداللهی، م، موسوی، س.(۱۳۹۲). مطالعه حفاظت انجمادی بذور کلزا (*Brassica napus* L.) به روش شیشه ای شدن. فن آوری زیستی در کشاورزی. جلد۴. ص ۳۳-۳۹.

11. Abdollahi, M, Chardoli, Z.2017.Improvement in androgenic response of borage (Borago officinalis L.) cultured anthers using antibrowning agents and picloram. Turkish journal of biology 41 : 354-363.

12. Abdollahi, M, Mossavi, S.2015.Induction of androgenesis and production of haploid embryos in anther cultures of borage (Borago officinalis L). PLANT CELL TISSUE AND ORGAN CULTURE 122: 321-329.

13. Ahmed Abbas Nower, (2013). "*In vitropropagation and synthetic seeds production, an efficient methods for Stevia rebaudiana Bertoni*". Sugar Tech, 16(1): 100-108.

14. Arun Kumar، M.B.، Vakeswaran، V. and Krishnasamy، V. 2005. *"Enhancement of Synthetic Seed conversion to seedling in hybrid rice"*.Plant Cell Tiss. Organ.Cult.81: 97-100.

15. Antonietta GM, Micheli M, Pulcini L, Stardardi A, 2007. "*Perspectives of the encapsulation technology in the nursery activity of Citrus caryologia*". 60(1-2): 192-195.

16. Baskaran, A Kumari, J Van Staden (2015). "*Embryogenesis and synthetic seed production in Mondia Whitei*". Plant Cell, Tissue and Organ Cult, 35:120-132.

17. Bazinet، C.، Kersulec، A.، Dufrene، V.، Timbert، R.، Hervagault، J.F and Barbotin، J.N. 1992. "*Physiological somatic embryos (Daucus carota L.)"*. Behavior depending on the storage condition. Biotechnology. 92: 139.

18. Biradar S, 2008. "*Development and evalution of synthetic seed in sugarcane, M.S.C."* Dissertation Department of Agronomy University of Agricultural Science, Dharwad, India: 100-106.

19. Badaran A.E, Mohamed R.A. Abd Alhady, Wffa A, Hassan (2015). "*In vitro evaluation of some traits in Stevia rebaudiana (Bertoni) under drough stress and their relationship stevioside conten".* American Journal of Plant Sciences, 6: 746-752.

20. Bustam, S., Sinniah, U.R., Kadir, M.A., Zaman , F.Q. and Subramaniam, S. 2013. "*Selection of optimal stage for protocom-like bodies and production of artificial seeds for direct regeneration on different media and short term storage of Dendrobium shavin white"*. Plant Growth Regulation. 69: 215-224.

21. Chetia، S. and Devi، J. 1996. "*Regeneration of three orchid species from artificial seeds"*. In Souvenir Nation. Symp. Hort. Biotechnol.، Hort. Sco. India and IIHR، Bangalore، P. 6.

22. Divakaran SP, Nair AS (2011). "*Somatic embryogenesis from bract cultures in diploid Musa acuminate cultivars from Sout India".* Sci Hortic, 131: 99-102.

23.Dobariya، K.L. 1994." *Investigation on in vitro morpgogensis and somaclonal variation in sugarcane (Saccharum Spp. Hybrid)"*.Ph.D. Thesis، Submitted to Uni. Agric. Sci.Dharwad (India).

24. Devendra, B.N., Srinivas, N. and Naik, G.R. 2011."*Direct somatic embryogenesis and synthetic seed production from (Tylophora indica Burm f.j) Merrill an endangered".* Medicinally Important Plant. Int. J. Biol, 7: 216-222.

25. Fatima N, Ahmad N, Anis M, Ahmad I (2013). "*Animproved in vitro encapsulation protocol, biochemical analysis and genetic integrity used DNA based molecular markers in regenerated plants of withania somnifera L."* Ind Crop Prod 50: 460-477.

26. Felek W, Mekibib F, Admassu B (2015). "*Optimization of explant surface sterilization coundition for field grown peach (Purnus Persica L. Batsch.cv.Garnem) intended for in vitro culture".* Afr J Biotechnol, 14: 657-660.

27. Ghanbarali, M.R. Abdollahi. H. Zolnorian. Sayyed saeed Moosavi, 2016. "Optimization of the conditions for production of synthetic seeds by encapsulation of axillary buds derived from minituber sprouts in potato (Solanum tubersum)'. Plant Cell Tiss Organ Cult.

28. German MA, Micheli M, Chiancone B, Macaluso L, Standardi A, 2011. "*Organnogenesis and encapsulation of in vtro-derived propagules of Carrizo citrange (Citrus sinensis L. osb.x Poncirus trifoliate (L.) Raf)".* Plant Cell Tissue Organ Cult, 106:229-307.

29. Hafize, A.I., Micheli, M. and Stardardi, A. 2007. "*Encapsulation of in vtro-drive explants of olive (Olea europea L. cv. Moraiolo). II,effect of storage on capsule and derived shoots performance".* Hort Sci, 113: 286-292.

30. Hung CD, Truman Sj (2011c). "*Encapsulation technologhy short-term preservation and germplasm distribution of the African mahogany khaya senegalensis".* Plant Cell Tiss Organ Cult, 107: 397-405.

31. Hung CD, Truman SJ (2012a). " *Alginate encapsulation of shoot tips and nodal segments for short-term storage and distribution* of *the eucalypt Corymbia torelliana 9 C.citriodora"*. Acta Physiol Plant 34:117-128.

32. Khayatenzhad M, Shahriari R, Gholamin R, 2011. "*Correlation and path analysis between yield and yield components in potato (Solanum tubersum L.)".* Middle-East Journal Scientific Research, 7(1): 17-21.

33. Kulus D, Zalewska M (2014). "*In vitro plant recovery from alginate encapsulated chrysanthemum ×grandi florum (Ramat.) kitam shoot tips".* Prop Orn Plants, 14: 3-12.

34.Jamuna, S., Paulsamy, S. and Karthika, K, 2013b. "*In vitro antitungal activity of leaf and root extracts of the medicinal plant, Hypochaeris rodicata L". Int J Pharmacy Pharmacev Sci, 5(3): 758-761.*

35.Mazur K, Buchner R, Bonn M, Hunger J (2014). "*Hydration of sodium alginate in aqueous solution".* Macromolecules, 47(2): 771-776.

36. Mahendran, N.Parimola Devi and V. Narmatha Bai, 2014. "*Encapsulation of protocorm of Cymbidium bicolor Lindl for short term storage and germplasm exchange".* Journal Of Ommental Plants, Volume (4): 205-215.

37. Malabadi، R. and J.Van Staden، 2005. *"Storability and germination of sodium alginate encapsulated somatic embryos derived from vegetative shoot apces of mature Pinus patula trees"*. Plant Cell Tiss. Organ cult. 82: 259-265.

38. Mahendran, N.Parimola Devi and V. Narmatha Bai, 2014. "*Encapsulation of protocorm of Cymbidium bicolor Lindl for short term storage and germplasm exchange".* Journal Of Ommental Plants, Volume (4): 205-215.

39. Mousavi-Anzabi, S.H., 2013. "*In vitro plant regeneration from alginate-encapsulated somatic embryos of rapeseed (Brassica napus cv. Tallayeh)".* IWT.J.Trad.Herb Medic.Vol, 1(1): 13-18.

40. Monja-Mio, K.M., and M.L. Robert. 2013. "*Direct somatic embryogenesis of Agave four croydes Lem, through thin cell layer technique".* In vitro cellular developmental Biology 49: 541-549.

41. Najafi, S, Abdollahi, M, Mossavi, S.2016.Induction and development of anther-derived gametic embryos in cucumber (Cucumis sativus L.) by optimizing the macronutrient and agar concentrations in culture medium. Turkish journal of biology 40: 571-579.

42. Palanyandy SR, Gantait S, Surauthrau P, Sinniah UR, Subramaniam S (2015). "*Storage of encapsulated oil palm polyem bryoids, influence of temperature and duration".* In vitro Cell Dev Biol Plant, 51: 118-124.

43. Priya، B.T. and Shakila، A. 2003. *"Synthetic Seed production in banana"*. Adv. Plant Sci. 16(1): 219-222.

44. Perveen S., Anis, M. 2014. "*Encapsulation of inter node regenerated adventitious shoot bude of Indian Siris in alginate beads for temporary storage and two fold clonal plant production".* Acta Physiologiae Plantarum, 36, 2067-2077.

45. Preethi, *D.,T.M. Sridhar, and C.V. Naidu. 2011. "Carbohydrate concerntration influences on in vitro plant regeneration in Stevia rebaudiana".* Journal of Phytology 3: 61-64.

46. Ravi D، Anand P.2012. *"Production and Application of Artificial seeds"*: A Review. International Research Journal of Biological Sciences، 1(5): 74 – 78.

47. Rai، M.K.، Jaiswal، V.S. and Jaiswal، U. 2009." *Encapsulation of shoot tips of guava (Psidium guajava L.) for short term storage and germplasm exchange"*. Hort. Sci: 118: 33-38.

48. Rihan، Hail Z.، Al - Issawi، M.، Burchet، S. and Fuller، M.P. 2015." *Encapsulation of Cauliflower (Brassica Olerace Var Botrytis) micro shoot as artificial seeds and their conversion and growthin commercial substrates"*. Plants Cell Tiss. Organ. Cult. 107: 243 – 250.

49. Rizkalla, A. A, A.M. Badr-Elden, M.E. Ottai, M.I. Nasr and M.N.M.Esmail,(2012). "*Development of artificial seed technology and preservation sugar beet".* Sugar Tech, 14(3): 312-320.

50. Redenbaugh، K.، Paasch، B.D.، Nichel، I.W.، Kosslu، M.W.، Viss، P.R. and Walker، K.a. 1986، "*Somatic Seeds:' Encapsulation of asexual embryo"*. Biotch. 4: 797 – 801.

51. Sanaie, H, Abdollahi, M, Mirzaie Asl, A, Mossavi, S. 2017. Production of doubled haploid plants from anther cultures of borage (Borago officinalis L.) by the application of chemical and physical stress. PLANT CELL TISSUE AND ORGAN CULTURE 130: 369–378.

52. Sharma S, Shahzad A, Teixeira da Silva JA (2013). "*Synseed technologhy-a complete segment for propagation, short-term conservation and germplasm exchange and distribution of Eclipta alba (red medicinal L.)".* Acta Physiol Plant, 32: 607-610.

53. Sharma، Sh. And Shahzad، A. 2012. "*Encapsulation technology for short- term storage and conservation of woody climber Decaepis hamilttoui Wight and Aru"*.Plant Cell Tiss. Organ. Cult. 111*:* 191-198.

54. Saiprasad، G.V.S. 2001. *"Artificial Seed and their application"*. Resonance. pp: 39-47. 54.

55. Sakamoto، Y.، Umeda، S. and Ogishima، H. 1991. *"Seed comprising a sustained release granule*". U.S. Patext. 50: 010،865.

56.Sundaraj SG, Agrawal A, Taygi RK (2010). "*Encapsulation for in vitro short-term storage and exchange of gine (Zingiber officinal Rosc.) germplasm".* Sci Hoticult, 125: 761-766.

57. Sujatha, M., Vijay, SH., Vasvi, S., Sivaraj. N. and Rao, S.N. 2012. "*Combination of thidiazuron and isopenteny lodenine promotes highly efficient adventitious shoot regeneration from cotyledons of mature Sunflower (Helianthus annus L.) seeds".* Plant Cell Tiss Organ Cult, 111: 359-372.

58. Sunikumar, K.K., Sudhakara, K. and Vijayakumar, N.K, 2000. "*Attempt to improve storage life of Hopes parviflora seeds through synthetic seed production".* Sees Res, 28(2): 126-130.

59. Standardi, A, Micheli M (2013). "*Encapsulation of in vitro derived explants, aninovative tool for nurseries".* Methods Mol Biol, 11013: 397-418.

60. Singh, S., Manojk., Rai, P., Sarita Pandey, V.S. and Jaiswal, U., 2010. " *Plant regeneration from alginate-encapsulated shoot tips of (Spilanthes acmelia L.), murr., a medicinally important and herbal pesticidal plant species".* Acta physiol. Plant, 31: 649-653.

61. Teixeira Da Silva JA, Kix H, Engelrnann F (2015). "*Chrysanthemum low-temperature storage and cryopreservation, a review".* Plant Cell Tissue Organ Cult, 120:423-440.

62. Tiyagarajan, M., and P. Venkata Chalam, 2012. "*Large scale in vitro propagation of Stevia*

rebaudiana (Bert) for commercial application" farmaceutically important and antidiabetic medicinal herb". Industrial Crops and Products, 37: 111-117.

63. Thobunluepop, P.E. Pawelzik and Vearaslip, S. 2009. "*Possibility of sweet corn synthetic seed production".* Pak. J. Biol. Sci, 12: 1085-1089.

64. Varshney A, Anis M (2014). "*Synseed conceptiav for short-term storage, germplasm exchange and potentialities of regeneration genetically stable plantlets of desert data trec (Balaui tes aegyp tiaca Del.)".* Agro for Syst, 88: 321-329.

65. Verma SK, Raj MK, Asthana P, Jaiswal VS, Jaiswal U (2010). "*In vitro plantlets from alginate- encapsulated shoot tips of Solanum nigrum* L. Sci. Hortic. 124:517-521.

66. Yang,Z.,Yunfeng,Z.,Yan,s.2011.*"Factors offecting germination and propagators of artificial seeds of Dendrobium candidum*.International conference on Agricultral and Biosytems EngineeringAdvances in Biomedical Engineering vols.1-2.

67. Zhang YF، Yan S. 2011. "*Factors affecting germination and propagators of artificial seeds of Dendrobium Candidium.* Advances in Biomedical Engineering، 1-2: 404 – 410.A

68. Zych, M., FurmanowA, M., Patan, A.K., Lowicka, A., Derger, M. and Mendlewska, S, 2005. "*Micropropagation of (Rhodiola kirilowii) plant using encapsulated axillary buds and callus".* Act. Biol. Crac.boot, 47(2): 83-87.

Production and maintenance of artificial seeds in plants

Shaafi B.[1], Moosavi. S.S.[2] and Ghanbarali Baghney S.[2]

[1] Dept.of Genetic Engineering and Plant Breeding, Razi University of Kermanshah, Kermanshah, I.R. of Iran

[2] Dept.of Genetic and Plant Breeding, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

Abstract

Artificial seed production in plants with poor seedling production or low seed vigor is an efficient method, so this technology is an excellent method for keeping selected germplasm, reproduction of rare hybrids, genotypes Different plants and transgenic plants that are expensive and inaccessible. Synthetic seed is in fact the use of propagation units such as somatic embryos, propagules such as (lateral buds, nodules and end buds) or meristic portions that can be encapsulated in the coating Hydrogel alginate to germinate and transform into a real seed with the aim of adapting seedlings grown under laboratory or field conditions. Optimization of endosperm conditions in artificial seeds increases germination efficiency, conversion and adaptation of seedlings. Selection of culture medium, plant growth promoters such as root and stem stimulating hormones, stimulants Temperature, etc., help to grow seedlings. Different researchers have suggested different materials for the production of artificial endosperm that the growth hormones of auxin and cytokinin and MS medium are the most important ones, as these substances increase seed efficiency in order to produce seedlings It is stronger and more capable of growing in non-laboratory environments.

Key words: Synthetic seed, Somatic embryos, Propagols, Synthetic endosperm, Germination efficiency stimulants