Iranian Journal of Field Crop Science
Vol 50, No 4, Winrer 2020 (201-208)
DOI: 10.22059/ijfcs.2019.277145.654587

علوم گیاهان زراعی ایران
دورۀ ۵۰، شمارۀ ۴، زمستان ۱۳۹۸ (ص۲۰۸-۲۰۱)

تولید بذر مصنوعی هیدراته گیاه بریش (*Hyparrhenia hirta* L.) از طریق کپسوله کردن جنین‌های رویشی

ریحانه پیروزی[۱]، فرزاد شریف زاده*[۲]، منصور امیدی[۳]

۱- کارشناس ارشد، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشیار و استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۵)

چکیده

گیاه بریش (*Hyparrhenia hirta* L.) یک گونه علفی مقاوم به خشکی و یکی از ذخایر ژنتیکی ارزشمند است که تولید ضعیف بذر در آن، سبب برخی مشکلات مرتبط با زادآوری طبیعی این گیاه شده است، بنابراین ریزازدیادی و تولید بذر مصنوعی از طریق جنین‌های سوماتیکی در این گیاه، ضروری و دارای اهمیت خاصی است. جهت بررسی اثر کپسوله کردن جنین‌های سوماتیکی با غلظت‌های مختلف آلژینات سدیم و کلسیم کلراید و همچنین زمان‌های مختلف تعویض یونی بر درصد خروج گیاهچه از جنین‌های کپسوله شده، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. تک جنین‌های رویشی بالغ به‌دست آمده از کشت‌های سوسپانسیون، در غلظت‌های دو، سه و چهار درصد آلژینات سدیم قرار داده شدند. تک جنین‌های موجود در محلول آلژینات سدیم، توسط سرنگ در غلظت‌های مختلف عامل کمپلکس‌کننده کلرید کلسیم با غلظت های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار چکانده شدند و در مدت زمان‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه تعویض یون پوشش‌دهی شدند. سپس جنین‌های کپسوله شده روی محیط کشت MS1/2 فاقد هرگونه تنظیم‌کننده رشدی کشت شدند و در اتاقک رشد و در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و تناوب ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی تا دو هفته نگهداری شدند و پس از این مدت، میزان خروج گیاهچه‌ها از پوشش آلژینات اندازه‌گیری شد. بالاترین درصد جوانه‌زنی و خروج گیاهچه‌ها ۶۰ درصد بود که با کاربرد سه درصد آلژینات سدیم به‌همراه غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید کلسیم با مدت زمان تعویض یونی ۴۰ دقیقه به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آلژینات سدیم، خروج گیاهچه، زمان تعویض یون، کلرید کلسیم، محیط کشت.

Production of hydrated artificial seed of Coolatai grass (*Hyparrhenia hirta* L.) by encapsulation of vegetative embryos

Reyhaneh Pirouzi[1], Farzad Sharifzadeh*[1], Mansoor Omidi[1]

1. Agronomy and Plant Breeding Department, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

(Received: March 16, 2019- Accepted: June 26, 2019)

ABSTRACT

***Hyparrhenia hirta* L. is a drought tolerant herbaceous species and one of the valuable genetic reserves. Poor seed production has caused some problems related to natural regeneration of this plant and micro-propagation and the production of artificial seeds through somatic embryos in this plant is necessity and especially important. A factorial experiment based on a completely randomized design with three replications was performed to consider the effect of encapsulation of somatic embryos with different concentration of sodium alginate and calcium chloride as well as different duration of ion exchange on seedling emergence percentage from encapsulated embryos. Single adult embryos derived from suspension cultures were placed in different sodium alginate concentrations of two, three and four percent. Single embryos in sodium alginate solution were injected by syringes in various calcium chloride complex at concentrations of 50, 75 and 100 mM, and were coated in different times of 20, 30, 40 and 50 minutes. The encapsulated seeds were cultured on MS 1/2 without any growth regulator and kept in a growth chamber at 22 °C and the period of 16/8 h (light/darkness) for two weeks and the emerged seedlings from the alginate coating were measured. The highest germination percentage and seedling emergence (60%) was obtained from 3% sodium alginate and 100 mg calcium chloride during 40 minutes of ion exchange time.**

Keywords: Calcium chloride, Culture media, ion exchange time, seedling emergence, sodium alginate.

*** Corresponding author E-mail: sharifz@ut.ac.ir**

مقدمه

حفظ و احیای پوشش گیاهی در منابع طبیعی از اهمیت بسزایی برخوردار است. برای دستیابی به این هدف، لازم است گیاهان سازگار با شرایط اکولوژیک یک منطقه مورد توجه قرار گیرند. کاربرد گونه‌های گیاهی بومی و سازگار در هر منطقه در مقابله با فرسایش خاک، از لحاظ اقتصادی و فنی از ارزش بالایی برخوردار است. گیاه نریشت، بریش یا ریش بز با نام علمی *Hyparrhenia hirta* L. گونه‌ای از گندمیان بومی آفریقا و اروسیا است که از این مناطق به دیگر قاره‌ها معرفی شده است. بریش از گیاهان ارزشمند و کلیدی مراتع و ماسه‌زارهای ایران است و گیاه اصلی تشکیل‌دهنده چراگاه‌های قدیم، در مناطق خشک خاورمیانه می‌باشد (**Robinson & Potts, 1950**). این گونه گیاهی، به‌دلیل تراکم و خصوصیات رویشی، دارا بودن سیستم ریشه‌ای قوی، افشان و کلافی، غالبیت اکولوژیک، نوع فرم رویشی (پیاز دار، ریزوم دار...) و قدرت سازگاری فوق العاده با شرایط دشوار محیطی نظیر کمبود رطوبت، دمای بالا، تجمع املاح در خاک، کمبود مواد آلی، نوسان‌های شدید دمایی در طول شبانه روز، وزش بادهای شدید و فرسایش بادی و آبی و ویژگی‌های خاص مورفولوژیکی، در مقایسه با سایر گیاهان متداول مورد استفاده جهت مقابله با فرسایش خاک، گونه‌ای کارآمدتر و موثر در مقابله با فرسایش خاک و منبع اصلی چرا برای حیواناتی ازجمله گاو، اسب، بز و گوسفند می‌باشد؛ بنابراین از گونه‌های گیاهی با ارزش مراتع و ماسه‌زارهای ایران و جز ذخایر ارزشمند ژنتیکی محسوب می‌شود (**Heydari & Doori, 2003**). تکثیر این گیاه از طریق ریزوم و بیشتر به روش غیرجنسی است و تجدید حیات آن از طریق بذر بسیار محدود است. با توجه به شرایط اقلیمی نامناسب رویشگاه (کمبود بارندگی و دمای بالا)، عموما کشت مستقیم بذر این گیاه موفق نمی‌باشد (**Moghimi, 2005**).

با توجه به ارزش این گیاه از نظر زیست‌محیطی و از سویی مشکلات تکثیر آن از طریق سایر روش‌های جنسی (بذر حقیقی) و غیرجنسی (تکثیر قلمه و...)، ریز ازدیادی و تولید بذر مصنوعی در این گیاه از طریق کشت بافت ضرورت و اهمیت ویژه‌ای می‌یابد. تولید بذر مصنوعی، یکی از موارد با ارزش استفاده از جنین‌های سوماتیکی است (**Ehsanpour & Amini, 2000**). جنین‌های رویشی، به‌دلیل نداشتن هر گونه پوشش بذری، به‌وسیله خاصی برای جابه‌جایی در طی انبارداری و کشت مکانیکی نیاز دارند (**Redenbaugh *et al.*, 1987**). ایجاد حالت رکود از طریق پسابش و کپسول‌دار کردن، روش‌هایی برای دستیابی به این اهداف می‌باشد (**Neumann *et al.*, 2009**). در تحقیقی، کاربرد هیدروژل آلژینات سدیم برای تولید بذر مصنوعی مورد بررسی قرار گرفت و بذر مصنوعی هیدراته یونجه و گیاهی از تیره گندمیان تولید شد که البته بذرهای مصنوعی تولید شده دارای قابلیت بسیار کم تبدیل شدن به گیاهچه بودند (**Redenbaugh *et al.*, 1984**). از میان تمام ژل‌های مورد استفاده به‌عنوان مواد کپسوله کننده مانند آگار، آلژینات سدیم، کربوکسی متال سلولز، ژلرایت، پکتات سدیم و غیره، کپسول‌های آلژینات به دلیل داشتن خصوصیات برتر یون، ویسکوزیته مناسب، سمیت کم برای جنین رویشی، قدرت ژله‌ای شدن سریع و هزینه کم و قدرت انبارداری بلندمدت، به‌عنوان بهترین گزینه برای کپسوله کردن جنین‌های سوماتیکی انتخاب شده‌اند (**Saiprasad *et al.*, 2001**). محلول آلژینات سدیم در مجاورت نمک‌های کلسیم مانند کلریدکلسیم، به‌صورت جامد درمی‌آید؛ در این مرحله واکنش جایگزینی یون رخ می‌دهد و یون‌های سدیم توسط یون‌های کلسیم جایگزین می‌شوند و آلژینات جامد می‌شود. میزان سختی کپسول‌های تولید شده به غلظت آلژینات، غلظت محلول کلرید سدیم و مدت تماس آلژینات سدیم در محلول کلرید کلسیم بستگی دارد (**Sarmah *et al.*, 2010**). جنین‌هایی که توسط آلژینات پوشش‌دار شده اند می‌توانند شرایط نامساعد زمین را بدون خشک شدن تحمل کنند. سپس این بذرها نمو می‌یابند و همانند بذرهای حقیقی می‌توانند به‌طور مستقیم در گلخانه یا زمین کشت شوند (**Redenbaugh *et al.*, 1987**).

بذرهای مصنوعی باید مشابه با بذرهای طبیعی باشند و از قدرت جوانه‌زنی خوب و همچنین ذخیره طولانی مدت در رطوبت پایین برخوردار باشند. به‌طور معمول از بذر در کشاورزی و باغبانی برای ازدیاد گیاهان استفاده می‌شود. تولید بذر مصنوعی می‌تواند جایگزینی برای بذر معمولی باشد (**Sharifi *et al.*, 2010**). تولید بذرهای مصنوعی فقط درگونه‌های معدودی همچون هویج، یونجه و برخی از گل‌های زینتی صورت گرفته است (**Omidi *et al.*, 2014**).

سربی و مرادی (**Sorbi & Moradi, 2018**) پژوهشی را با هدف تعیین بهترین درصد آلژینات سدیم، کلرید کلسیم و زمان، برای پوشش‌دار کردن جنین‌های رویشی برای تولید بذر مصنوعی در ژنوتیپ‌های چویل اجرا کردند. در این تحقیق، جنین‌های رویشی به محیط کشت موراشیگ و اسکوگ کامل (**MS**) و مایع منتقل شدند و با آلژینات سدیم دو و سه درصد مخلوط شدند و در محلول کلرید کلسیم چکانده شدند و کپسول‌های آلژینات کلسیم طی مدت ۱۰ و ۳۰ دقیقه، تشکیل شد. یافته‌های آزمایش نشان داد که در رقم چهل‌چشمه، آلژینات سدیم دو درصد، کلرید کلسیم ۲۵ میلی مولار و مدت ۳۰ دقیقه و در رقم کوه گل، آلژینات سدیم سه درصد، کلرید کلسیم ۵۰ میلی مولار و زمان ۳۰ دقیقه برای تولید بذر مصنوعی با حداکثر جوانه‌زنی مطلوب بود.

پژوهش حاضر با هدف تعیین بهترین درصد آلژینات سدیم، کلرید کلسیم و تعیین زمان مناسب برای پوشش دار کردن جنین‌های رویشی جهت تولید بذر مصنوعی، افزایش جوانه‌زنی و قابلیت تبدیل جنین‌های سوماتیکی به گیاهچه در گیاه بریش انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار، در آزمایشگاه کشت بافت گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، در سال ۱۳۹۶ و به‌منظور تعیین مناسب ترین درصد آلژینات سدیم، کلرید کلسیم و زمان مناسب جهت پوشش‌دار کردن جنین‌های رویشی اجرا شد. عوامل آزمایش شامل آلژینات سدیم در سه سطح دو، سه و چهار درصد، کلرید کلسیم در سه غلظت ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰میلی‌مولار و زمان در چهار سطح ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه بودند.

به‌منظور تهیه بذرهای مصنوعی هیدراته، از تک جنین-های رویشی بالغ گیاه بریش (جنین‌های اژدری شکل) حاصل از کشت‌های سوسپانسیون استفاد شد. تولید بذرهای مصنوعی، نیازمند پوشش آلژیناتی است. برای تهیه این پوشش، ابتدا محیط کشت **MS1/2** بدون آگار و کلرید کلسیم تهیه شد و به‌جای آگار، از سدیم آلژینات دو، سه و چهار درصد استفاده شد. این محلول‌ها در اتوکلاو و با شرایط فشار یک اتمسفر و دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند. بعد از سرد شدن محیط‌های استریل، زیر لامینار ایرفلو و تحت شرایط استریل، جنین‌های اژدری شکل با محلول‌های آلژینات سدیم استریل شده مخلوط شدند و مخلوط حاصل توسط سرنگ، به‌صورت قطره قطره در محلول‌های کلرید کلسیم استریل شده به غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار چکانده شدند. این قطره‌ها به مدت ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه در محلول کلرید کلسیم و در حال شیک شدن باقی ماندند تا در اثر جایگزینی یون‌های سدیم با کلسیم، دانه‌ها سخت شوند. پس از سپری شدن زمان‌های موردنظر، محلول کلرید کلسیم دور ریخته شد و دانه‌های آلژینات تشکیل شده که حاوی تک جنین بودند، سه بار توسط آب مقطر استریل شسته شدند. سپس بذرهای مصنوعی توسط کاغذ صافی استریل خشک شدند (**Salimi *et al.*, 2011**) و بلافاصله پس از خشک شدن، تعداد ۱۰ بذر مصنوعی در ظرف کشت حاوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط جامد **MS1/2** که فاقد هرگونه تنظیم‌کننده رشدی بود کشت شدند و هر ظرف کشت به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. در نهایت، ظرف‌های کشت در اتاقک رشد و در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و تناوب ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی با میزان نور ۵۰۰ لوکس نگهداری شدند. بعد از گذشت دو هفته، درصد جوانه‌زنی بذرهای مصنوعی اندازه‌گیری شد.

تجزیه‌ی آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار **SAS 9.2** انجام شد. از نرم افزار **Minitab** برای ارزیابی نرمال

بودن داده‌ها استفاده شد و برای نرمال نمودن داده‌ها از تبدیل زاویه‌ای (**Arc SinX**) استفاده شد. مقایسه میانگین، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد و نمودار آن با استفاده از نرم افزار **Excel** ۲۰۰۷ رسم شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل غلظت‌های مختلف آلژینات سدیم، کلریدکلسیم و زمان تعویض یون روی درصد خروج جنین‌ها از پوشش ایجاد شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تاثیر تیمارهای مختلف پوشش‌دهی روی درصد خروج جنین‌ها از پوشش (درصد جوانه‌زنی)

Table 1. Variance analysis (mean squares) of the effects of different coating treatments on the embryo outflow percentage from the seed coat (germination percentage)

S.O.V	df	Mean squares of normalized data of Germination percentage
sodium alginate	2	563.89**
calcium chloride ($CaCl_2$)	2	196.79*
ion exchange time	3	253.66**
sodium alginate× $CaCl_2$	4	313.53**
sodium alginate× time	6	157.62**
$CaCl_2$× time	6	78.53*
sodium alginate × $CaCl_2$ × time	12	149.41**
Error	72	29.97
Cv(%)	-	17.94

** و * به‌ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال یک و پنج در صد.

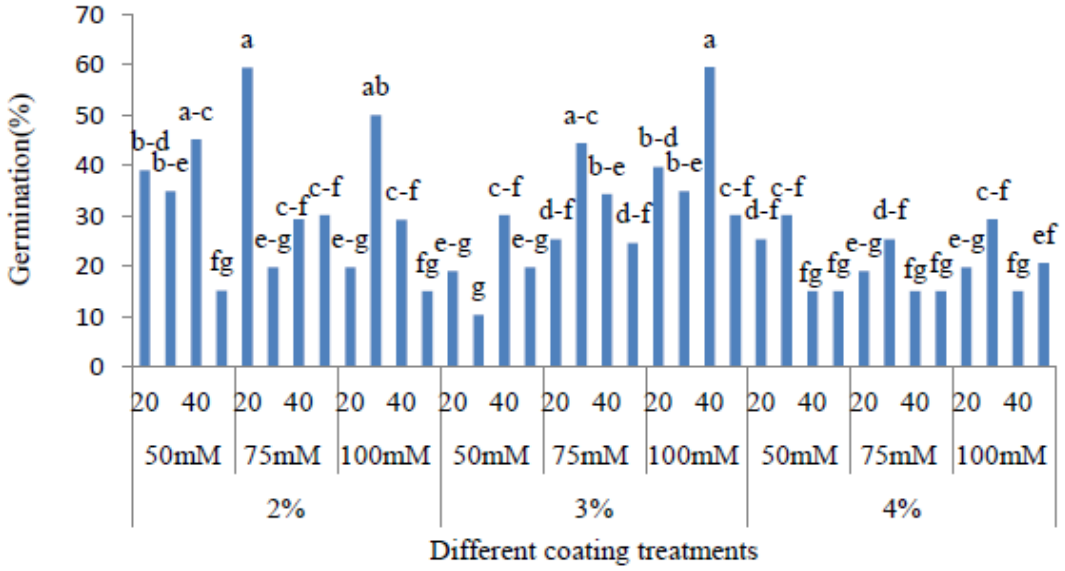
**** and *: significant at 1% and 5% of probability levels, respectively.**

بالاترین درصد خروج جنین‌ها (۶۰ درصد) زمانی حاصل شد که جنین‌ها با محلول سه درصد آلژینات سدیم پوشش‌دار شدند و به مدت ۴۰ دقیقه درون محلول ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید کلسیم قرار گرفتند. همچنین درصد خروج جنین‌هایی که با استفاده از آلژینات سدیم دو درصد پوشش داده شدند و به مدت ۲۰ دقیقه درون محلول ۷۵ میلی‌مولار کلرید کلسیم قرار گرفتند نیز ۶۰ درصد بود اما دانه‌های تشکیل شده در غلظت دو درصد آلژینات سدیم، دانه‌های نرمی بودند، به‌طوری‌که برداشت دانه‌ها با پنس جهت کشت در محیط کشت **MS1/2** سبب شکاف خوردن آن‌ها شد و درصد خروج بالا در این غلظت، به کم بودن سختی دانه‌ها مربوط بود. دانه‌های آلژینات حاصل از غلظت چهار درصد در تمامی غلظت‌های کلرید کلسیم و چهار زمان تعویض یون، تفاوت محسوسی از لحاظ خروج جنین نشان ندادند. با توجه به کاهش قابل توجه درصد خروج جنین‌ها، با بالاتر رفتن درصد آلژینات (غلظت‌های بیشتر از سه درصد)، آلژینات سدیم سه درصد، محلول کلرید کلسیم ۱۰۰ میلی مولار و مدت زمان تعویض یون ۴۰ دقیقه به دلیل دارا بودن بالاترین درصد خروج جنین‌های رویشی، محافظت بهتر از جنین و تشکیل دانه‌هایی با شکل منظم‌تر، به‌عنوان بهترین تیمار جهت پوشش‌دهی جنین‌های رویشی انتخاب شد (شکل۱ و ۲).

مهم‌ترین عامل در تعیین سختی دانه‌های آلژینات تشکیل شده، غلظت آلژینات سدیم می‌باشد و غلظت محلول کلرید کلسیم (محلول کمپلکس کننده)، عامل تعیین‌کننده دیگری است که در درجه دوم اهمیت قرار دارد و در نهایت، زمان تعویض یون بسیار تعیین‌کننده است. جنین‌های تولید شده در شرایط این‌ویترو[1] می‌توانند مستقیما تحت شرایط کنترل شده به گیاه تبدیل شوند. جنین‌های سوماتیک که به‌صورت انفرادی در داخل دانه‌های آلژینات قرار می‌گیرند، برای تولید انبوه و اقتصادی گیاهان برتر، مفید می‌باشند و جابجایی و عرضه آسان را تسهیل می‌نمایند (**Bewley and**

[1] **In vitro**

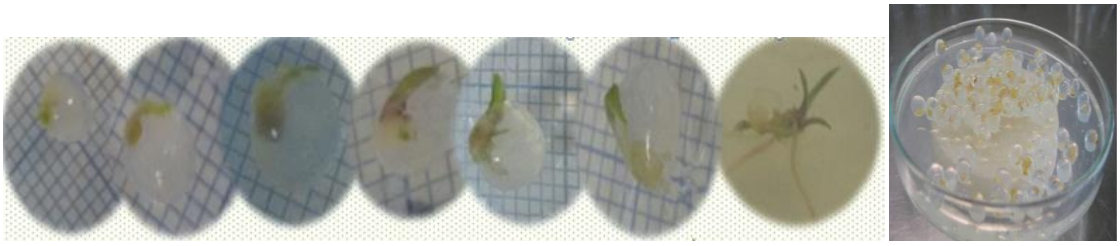
Black, 1985) مهم‌تر این‌که جنین‌های داخل آلژینات می‌توانند برای مدت‌های طولانی، بدون از دست دادن قدرت باززایی ذخیره شوند (**Fujji *et al.*, 1987**). بافت، شکل، قطر و شفافیت کپسول‌ها از دیدگاه مورفولوژی، بستگی به ترکیبات مختلف آلژینات سدیم و کلرید کلسیم دارد (**Naik & Chand, 2006**). غلظت آلژینات سدیم و کلرید کلسیم استفاده شده و زمان تیمار، پارامترهای مهم در تعیین نفوذپذیری، مقاومت و سختی دانه‌های حاصل می‌باشند (**Biradar, 2008**). در مطالعه‌ای عنوان شد که آلژینات سدیم سه درصد و قرارگیری در محلول ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید کلسیم به مدت ۳۰ دقیقه، دانه‌های یک فرم، گرد، شفاف و سفتی ایجاد می‌کند (**Hung & Trueman, 2011**).



شکل ۱- مقایسه میانگین درصد خروج جنین‌ها از پوشش (جوانه‌زنی) تحت تاثیر تیمارهای مختلف پوشش‌دهی شامل سطوح مختلف آلژینات سدیم (دو، سه و چهار درصد)، غلظت‌های مختلف کلرید کلسیم (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰میلی‌مولار) و چهار زمان تعویض یون (۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ دقیقه). ستون‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد تفاوت معنی دار در سطح پنج درصد بر اساس آزمون چند متغیره دانکن می‌باشند.

Figure1. Means comparison of the embryo outflow percentage from the coating (germination percentage) under different coating treatments including different levels of sodium alginate (2, 3 and 4%), different concentrations of calcium chloride (50, 75 and 100 milli molar) and four ion exchange times (20, 30, 40 and 50 minutes). Columns with at least one common letter have no significant difference at 5% level based on Duncan's multivariate test.

در پژوهش دیگری در غلظت سه درصد آلژینات سدیم بهترین نتایج به‌دست آمد. در این پژوهش کپسول‌های حاصل از غلظت دو درصد آلژینات سدیم، شکننده و دارای شکل نامرتب بوده، درحالی‌که در غلظت چهار درصد، کپسول‌ها هم اندازه اما بسیار سفت بودند (**Rai *et al.*, 2008**). گزارش شده است که درصد جوانه‌زنی جنین‌های سوماتیکی کپسوله شده، به‌طور معنی‌داری تحت‌تأثیر غلظت آلژینات سدیم و مدت زمان قرارگیری در کلرید کلسیم قرار دارند (**Malabadi & Van-staden, 2005; Block, 2003**). غلظت سه درصد آلژینات سدیم برای کپسوله کردن اندام‌های هوایی گیاه ***Rhododendro moddeni*** نیز پیشنهاد شده است (**Singh *et al.*, 2009**). همچنین در مطالعات دیگری سارکا و نایک (**Sarka & Naik, 1988**) برای کپسوله کردن ***Solanum tubersom*** و نایک و چند (**Naik & Chand, 2006**) برای گیاه ***Punica granatum***، غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید کلسیم را بهترین غلظت برای ایجاد کپسول‌های یکنواخت و شفاف معرفی کردند.



الف ب

شکل ۲- الف) بذور مصنوعی تولید شده از طریق پوشش‌دهی جنین‌های سوماتیکی با غلظت‌های مختلف آلژینات سدیم و کلرید کلسیم، ب) جوانه‌زنی بذرهای مصنوعی

Figure 2. A) Synthetic seeds produced through encapsulation of somatic embryos with different concentrations of sodium alginate and calcium chloride. B) Germination of synthetic seeds.

نتیجه‌گیری کلی

باتوجه به این‌که درصد خروج جنین‌ها از پوشش بذور مصنوعی، تحت تأثیر سه عامل سطح آلژینات، غلظت محلول کلرید کلسیم و مدت زمان لازم جهت تعویض یونی قرار دارد، برترین پوشش‌دهی در این مرحله (۶۰ درصد خروج جنین از پوشش) با کاربرد سه درصد آلژینات سدیم به‌همراه غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید کلسیم و ۴۰ دقیقه زمان تعویض یون به‌دست آمد. افزایش سطح آلژینات سدیم و مدت زمان تعویض یون، موجب افزایش سختی پوشش بذور مصنوعی و کاهش خروج جنین‌ها از پوشش می‌شود. با توجه به این‌که هدف از تولید بذر مصنوعی، یافتن جایگزینی برای بذر حقیقی است که دارای مشکلات جوانه‌زنی می‌باشد، انتظار می‌رود نتایج تحقیقات حاضر، کمک مؤثری به تکثیر این گونه گیاهی نماید. البته حفظ خصوصیات مطلوب این گیاه در زمان تکثیر از طریق جنین‌های سوماتیکی باید مورد تحقیق و بررسی قرار گیرد. همچنین در جهت یافتن راه حلی برای افزایش کیفیت جنین و نسبت رشد مناسب در شرایط درون شیشه و مزرعه نیز باید تحقیقات لازم انجام شود. به‌علاوه بررسی اثر عوامل محیطی بر توان زیست بذرهای مصنوعی و پی بردن به شرایط مناسب برای حفظ سلامت این بذرها، از نکات حساس و قابل توجهی است که در تولید بذرهای مصنوعی باید مورد توجه قرار گیرد.

REFERENCES

1. **Bewley, J. D. and Black, M. (1985). *Seeds: Physiology of Development and Germination (ed)*. New York, USA: Plenum Press. 451Pp.**
2. **Biradar, S. (2008). *Development and evaluation of synthetic seed in sugarcane* (*Doctoral dissertation, UAS, Dharwad)*.**
3. **Block, W. (2003). Water status and thermal analysis of alginate beads used in cryopreservation of plant germplasm. *Cryobiology*, 47(1), 59-72.**
4. **Ehsanpour, A. A. & Amini, F. (2000). *Plant tissue culture.* Isfahan University Jihad Publication, 144pp. (in Persian).**
5. **Fujii, J. A. A., Slade, D. T., Redenbaugh, K., & Walker, K.A. (1987). Artificial seeds for plant propagation. *Trends in Biotechnology*, *5*(12), 335-339.**
6. **Heydari Sharif Abad, H. & Doori, M. A. (2003). Fodder plants (Poaceae), *Forest and Rangeland Research Institute*, No. 324. (in Persian).**
7. **Hung, C. D., & Trueman, S. J. (2011). Encapsulation technology for short-term preservation and germplasm distribution of the African mahogany *Khaya senegalensis. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 107(3), 397-405.**
8. **Malabadi, R. B., & Van Staden, J. (2005). Storability and germination of sodium alginate encapsulated somatic embryos derived from the vegetative shoot apices of mature *Pinus patula* trees. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 82(3), 259-265.**
9. **Moghimi, J. (2005). *Introduction of some important species of rangelands suitable for the development and improvement of Iranian rangelands*, Aaron Publication. 672 Pp. (in Persian).**

10. **Naik, S. K., & Chand, P. K. (2006). Nutrient-alginate encapsulation of in vitro nodal segments of pomegranate (*Punica granatum* L.) for germplasm distribution and exchange. *Scientia Horticulturae,* 108(3), 247-252.**
11. **Neumann, K. H., Kumar, A. & Imani, J. (2009). *Plant cell and tissue culture-A tool in Biotechnology: Basics and Application*. Springer Science & Business Media. 332 Pp.**
12. **Omidi, M, Sayed-Tabatabaei, B. E, & Dehghan-Nayeri, F. (2014). *New concepts in plant tissue culture.* University of Tehran Press. 350 Pp. (in Persian).**
13. **Rai, M. K., Jaiswal, V. S. & Jaiswal, U. (2008). Encapsulation of shoot tips of guava (*Psidium guajava* L.) for short-term storage and germplasm exchange. *Scientia Horticulturae,* 118(1), 33-38.**
14. **Redenbaugh, K., Nichol, J. W., Kossler, M. E. & Paasch, B. D. (1984). Encapsulation of somatic embryos and for artificial seed production. *In Vitro Cell Development Biology- Plant,* 20:256–7.**
15. **Redenbaugh, K., Slade, D., Viss, P. & Fujii, J. A. (1987). Encapsulation of somatic embryos in synthetic seed coats, *HortScience,* 22:803– 809.**
16. **Robinson, B. P. & Potts, R. C. (1950). The history of *Hyparrhenia hirta* and studies of its flowering habits and seed production 1. *Agronomy Journal,* 42(8), 395-397.**
17. **Saiprasad, G. V. S. (2001). Artificial seeds and their applications. *Resonance, 6*(5), 39-47.**
18. **Salimi, Z., Sharifzadeh, F., Omidi, M., Zare, A. & Oladzadeh, A. (2011). Production of synthetic seeds of *Hyparrhenia hirta* L. for the first time in the world. *Second National Conference on Seed Science and Technology*.pp: 2233-2235.**
19. **Sarkar, D. & Naik, P. S. (1997). Nutrient encapsulation of potato nodal segments for germplasm exchange and distribution. *Biologia Plantarum,* 40(2), 285-290.**
20. **Sarmah, D. K., Borthakur, M. & Borua, P. K. (2010). Artificial seed production from encapsulated PLBs regenerated from leaf base of *Vanda coerulea* Grifft. ex. Lindl.–an endangered orchid. *Current Science,* 98(5):686-690.**
21. **Sharifi, A, Moshtaghi, N & Bagheri, A. (2010). *Plant tissue culture application of some crops, orchards and ornamentation.* Mashhad's Jahad University Press. 479 Pp. (in Persian).**
22. **Singh, S. K., Rai, M. K., Asthana, P., Pandey, S., Jaiswal, V. S. & Jaiswal, U. (2009). Plant regeneration from alginate-encapsulated shoot tips of *Spilanthes acmella* (L.) Murr., a medicinally important and herbal pesticidal plant species. *Acta Physiologiae Plantarum,* 31(3), 649-653.**
23. **Sorbi E. & Moradi A. (2018). Synthetic hydrated seed production in medicinal plant of Chavil (*Ferulago angulata* L.) through encapsulation of somatic embryos. *Journal of Plant Re*search, 31(1), 232-241.**