



علم او فن - علمي څېړنيزه مجله



تکنالوژی تخم مصنوعی

گل محمد آژیر^۱، غلام رسول فیضی^۲

^۱دیپارتمنت بایوتکنالوژی و تولید تخم، پوهنځی زراعت، پوهنتون کابل

^۲دیپارتمنت حفاظه نباتات، پوهنځی زراعت، پوهنتون کابل

ایمیل: naweed.hameed@gmail.com

خلاصه

تکنالوژی تخم مصنوعی برای این منظور انکشاف داده شده است که جنین‌های جسمی و سایر مواد تکثیر جسمی نباتات به حیث تخم به کار برده شده بتواند و کشت آنها در مقیاس تجارتي ترویج یابد. تخم مصنوعی به جنین‌های جسمی، پندک‌های شاخه‌های جدید، حجرات یا نسج اطلاق می‌شود که کپسول سازی شده و به قسم تخم بذری استعمال شده بتواند. در حال حاضر تخم مصنوعی نه تنها از جنین جسمی بلکه از یک تعداد زیاد مواد تکثیر جسمی تهیه شده می‌تواند. تکنالوژی تخم مصنوعی با استفاده از سیستم‌های کشت در تست تیوب تطبیق شده می‌تواند. کپسول سازی یک روش مروج و ضروری در تهیه تخم مصنوعی می‌باشد. کپسول سازی در هایدروژیل‌ها به خصوص در سودیم الجنیت عمده‌ترین روش در تولید تخم مصنوعی است. تحقیقات در مورد تولید تخم مصنوعی سریعاً در حال رشد است. تکنالوژی تخم مصنوعی برای تکثیر نباتات با روش تکثیر کوچک و در نگهداری جرم پلازم امکانات عظیم را پیش بینی می‌نماید که برای دستیابی به آنها در مقیاس تجارتي به تحقیقات بیشتر ضرورت می‌باشد. هدف این مقاله معرفی تکنالوژی تخم بذری به حیث یک عرصه جدید تحقیقات علمی است. همچنین این مقاله تلاش دارد تا پژوهشگران را برای کار بیشتر در این عرصه نوین تشویق نماید.

کلیمات کلیدی: تخم مصنوعی؛ جرم پلازم؛ جنین جسمی؛ کپسول سازی؛ مواد تکثیر جسمی

Synthetic Seed Technology

Gul Mohammad Ajir^{1*}, Ghulam Rasul Faizi²

¹Department of Biotechnology and Seed Production, Agriculture Faculty, Kabul University

²Department of Plant Protection, Agriculture Faculty, Kabul University

*Corresponding Author Email: naweed.hameed@gmail.com

Abstract

Synthetic seed technology has been developed to allow the commercial cultivation of somatic embryos and other plant propagules as seeds. Synthetic seeds refer to somatic embryos, new shoot buds, cells, or tissues that can be encapsulated and used as seeds. Currently, synthetic seeds can be prepared not only from somatic embryos but also from a large number of somatic propagation materials. Synthetic seed technology can be adapted using test tube culture systems. Encapsulation is a popular and necessary method for preparing synthetic seeds. Encapsulation in hydrogels, especially sodium alginate, is the main method for producing synthetic seeds. Research on synthetic seed production is rapidly growing. Synthetic seed technology for plant propagation by micropropagation and in the maintenance of germplasm predicts enormous possibilities that require further research to achieve

on a commercial scale. This article aims to introduce seed technology as a new field of scientific research. This article also attempts to encourage researchers to work further in this new field.

Keywords: Synthetic Seed; Germplasm; Somatic Embryo; Encapsulation; Somatic Propagation Material

مقدمه

تکنالوژی تخم مصنوعی به منظور استفاده موفقانه از جنین‌های جسمی و سایر مواد تکثیری به عنوان تخم در مزرعه یا گلخانه و کشت مکانیزه در مقیاس تجاری توسعه یافته است. این تکنالوژی شامل روش‌هایی برای تولید مواد مشابه تخم از جنین‌های جسمی، پندک‌های شاخه‌های جدید، نوک‌های انتهایی شاخه، و اجسام پروتوکورم مانند می‌باشد.

تخم مصنوعی به جنین‌های جسمی، پندک‌های شاخه‌های جدید، مجتمع حجرات، یا هرنسج دیگر که بطور مصنوعی کپسول سازی شده و به صفت تخم برای کشت استعمال شده بتواند دارای توانایی تبدیل شدن به یک نبات درتست تیوب و مزرعه یا گلخانه بوده و توانایی متذکره بعد از ذخیره نمودن نیز حفظ شود، اطلاق می‌شود. در اوایل تخم‌های مصنوعی صرف به جنین‌های جسمی که در تولید نباتات مزروعی و انتقال نباتات به مزرعه یا گلخانه دارای اهمیت اقتصادی می‌بود، اطلاق می‌گردید. ولی در گذشته نزدیک، سایر مواد تکثیر جسمی مانند پندک‌های شاخه‌های جدید، نوک‌های شاخه‌های جدید، کتله حجرات نابالغ تولید شده در عملیه جنین زایی و عضوزایی و غیره نیز در تولید تخم مصنوعی بکاربرده شد. بنابراین مفهوم تخم مصنوعی از مقید بودن به جنین زایی جسمی رها گردیده و نه تنها به استعمال (ذخیره و کشت) و محصول آن یعنی نبات کوچک بلکه به سایر روش‌های تکثیر کوچک مانند عضوزایی جسمی و سیستم اصلاح شده‌ای تکثیر پندک جانبی نیز ارتباط می‌گیرد (Hartmann et al., 2014).

تطبیق تکنالوژی تخم مصنوعی در تولید مواد دارای قابلیت حیات در مقیاس وسیع که قادر به تبدیل شدن به نباتات برای کپسول سازی باشند، کاربرد سیستم‌های کشت درتست تیوب را ایجاد می‌نماید. جنین زایی جسمی، عضو زایی و سیستم‌های پیشرفته‌ای تکثیر پندک جانبی روش‌های موثر برای تکثیر سریع و در مقیاس بزرگ سپیشیزهای ممتاز و مطلوب نباتی محسوب می‌گردد. از طریق همین سیستم‌ها یک تعداد زیاد از انساج جسمی یا پندک‌های شاخه جدید تولید می‌شوند و زمانی به حیث مواد بذری مؤثر بکار برده می‌شوند که ساختمان‌های نیرومند برای تکثیر نباتات بوده یا دارای مقدار کمی تنظیم کننده‌های نمویی بوده و یا با هیچگونه تنظیم کننده‌های نمویی معامله نشده باشد. بخاطر اینکه مواد تکثیر جسمی برهنه زمانیکه در معرض محیط طبیعی قرار بگیرند در مقابل خشکی ویتوجن‌ها حساس می‌باشند، باید در نظر داشت که برای کشت میخانیکی در مقیاس وسیع و برای افزایش بخشیدن در انتقال نبات در مزرعه یا در گلخانه (گرفته شده از تست تیوب) جنین‌های جسمی یا حتی سایر مواد تکثیر جسمی مفید در تولید تخم مصنوعی الزاماً به بعضی پوشش‌های محافظتی ضرورت می‌داشته باشند. کپسول سازی بهترین روش برای تأمین محافظت و تبدیل شدن مواد تکثیری جسمی گرفته شده از تست تیوب به تخم مصنوعی محسوب می‌گردد (Reddy et al., 2012).

تکنالوژی کپسول سازی برای تولید تخم‌های مصنوعی یک تعداد از سپیشیزهای نباتی متعلق به مخفی البذر ها و ظاهر البذر ها بکاربرده شده است (Ravi et al., 2012). با آنهم تعداد انواع متذکره در مقایسه با تعداد مجموعی که برای آنها سیستم تکثیر در تست تیوب ایجاد شده است، خیلی اندک می‌باشد.

تولید تخم‌های مصنوعی چشم اندازه‌های جدید را در بایوتکنالوژی نباتی گشوده است. تکنالوژی تخم مصنوعی برای ترکیب دادن فواید تکثیر جسمی با فواید تکثیر توسط تخم و ذخیره طرح ریزی شده است. با وجود این حقیقت که تکنالوژی متذکره یک عرصه‌ای جالب و سریعاً در حال رشد تحقیق در کشت نسج و حجره نباتی می‌باشد، برای کاربرد عملی آن محدودیت‌های زیاد وجود دارد (Sanjoy et al., 2024). هدف از مرور حاضر معرفی تخم مصنوعی بحیث یک عرصه جدید تحقیقات علمی و تشویق دانشمندان برای انجام تحقیقات علمی بیشتر در این عرصه می‌باشد.

تهیه تخم مصنوعی

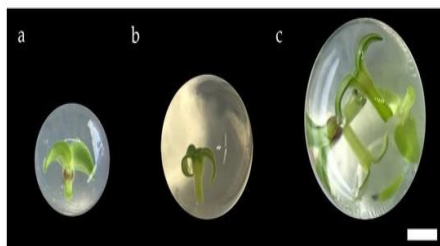
مانع اصلی در برابر تکنالوژی تخم مصنوعی متکی به این حقیقت بود که جنین‌های جسمی فاقد انساج فرعی مهم یعنی اندوسپرم و پوشش‌های محافظی می‌باشد که آنها را برای ذخیره و انتقال نامناسب می‌سازد. علاوه بر آن، تخم‌های مصنوعی اکثراً فاقد مرحله

استراحت محسوب گردیده وقادر به قرارگرفتن در معرض باختن رطوبت نمی باشند. بنابراین اولین هدف تحقیق تخم مصنوعی آن بود تا جنین های جسمی ای را تولید نماید که با جنین های تخم حقیقی از لحاظ خواص ذخیره وانتقال مشابه باشد، طوریکه آن ها به قسم یک واحد برای تکثیر جسمی و نگهداری جرم پلازم بکاربرده شده بتواند. برای نائل آمدن به اینگونه یک هدف تکنالوژی کپسول سازی به صفت اولین قدم عمده درتولید تخمهای مصنوعی انکشاف نموده است. بعداً این مفکوره به میان آمد که تخم مصنوعی کپسول سازی شده باید دارای مواد مغذی نمویی، مایکروارگانیزم های تحریک کننده نبات (مانند Mycorrhizae) ویا سایر اجزای بیولوژیکی ضروری برای انکشاف مناسب جنین به نبات باشد. یکتعداد حق ثبت اختراع که انکشاف مواد دارای مشابهت نسبی با تخم را احتوا می کند، انتشار یافته اند. گرچه موفقیت تکنالوژی تخم مصنوعی به کمیاب بودن و نامطلوب بودن کیفیت جنین های جسمی که تبدیل شدن آنها را به نباتات به مشکل مواجه می سازد، منحصر میگردد. انتخاب مواد پوششی برای ساختن تخم مصنوعی نیز یک عرصه مهم درتولید تخم مصنوعی می باشد. نظریه تکنالوژی ایجاد شده تاکنون، دونوع تخم مصنوعی موسوم به تخم های مصنوعی خشک (Desiccated synthetic seeds) و تخم های مصنوعی مرطوب (Hydrated synthetic seeds) شناخته شده است (Sharma, 2013).

تخم های مصنوعی خشک از جنین های جسمی برهنه یا کپسول سازی شده درپالی آکسی ایتلین گلیکول (Polyoxy Ethylen Glycol) تولید شده بعداً خشک ساخته می شوند. خشک سازی یا به صورت بطی در مدت یک یا دوهفته با استفاده از جعبه های کاهش دهنده رطوبت نستی یا با بازگذاشتن پتری دیش ها برای خشک شدن در بالای میز در طول شب انجام داده شده می تواند. اینگونه تخم های مصنوعی صرف در سپیش های نباتی ای تولید می شوند که جنین های جسمی آنها مقابل خشک شدن مقاوم باشند. برعکس تخم های مصنوعی مرطوب در سپیش های نباتی ای تولید می شوند که جنین های جسمی آنها مقابل خشک نمودن حساس و یا خشکی ناسازگار باشند. تخم های مصنوعی مرطوب با کپسول سازی جنین های جسمی در کپسول های هایدرو جیل تولید می شوند (Hung, 2012).

تخم های مصنوعی برای بار اول توسط Kitto و Janick در سال ۱۹۸۲ تولید گردید که مشتمل بر کپسول سازی جنین های جسمی زردک و سپس خشک ساختن آنها بود. از جمله مرکبات مختلف که برای کپسول سازی کرفس مورد امتحان قرار گرفته بود، Kitto و Janick پالی آکسی ایتلین که در آب بخوبی قابل حل بوده و برای تشکیل یک فلم نازک خشک گردیده، انکشاف مایکروارگانیزم ها را تقویت نموده و برای جنین زهری نمی باشد، را انتخاب نمود. جنینک و همکارانش گزارش داده اند که تخم های مصنوعی خشک با پوش نمودن یک مخلوط گلّس (Callus) و جنین های جسمی زردک در پالی آکسی ایتلین گلیکول تولید شده بود. مخلوط پوششی به منظور خشک نمودن برای چندین ساعت بالای Teflon surface در یک روپوش (hood) تعقیم شده قرارداد شد. سپس مخلوط خشک شده بالای یک وسط زرعیه یا محیط غذایی قرارداد شد تا مجدداً آب را جذب نماید و بعد ازان برای بقای جنین باهم آمیخته شد.

یک گروه دانشمندان در سال ۱۹۸۴ یک روش را برای کپسول سازی جنین های جسمی انفرادی ریشه در هایدرو جیل انکشاف دادند. از آزمون تاکنون کپسول سازی در هایدرو جیل بحیث عمده ترین روش در تولید تخم مصنوعی باقیمانده است. یکتعداد مواد مانند پتاشیم الجنیت، سودیم الجنیت، کاره جنین، آگر، جیل رایت، سودیم پکتیت و غیره بحیث هایدرو جیل مورد امتحان قرار گرفته است ولی مشهورترین آنها سودیم الجنیت می باشد. تخم های مصنوعی مرطوب متشکل از جنین های جسمی اند که در یک هایدرو جیل بطور انفرادی کپسول سازی شده اند (شکل ۱). برای تولید تخمهای مصنوعی مرطوب، جنین های جسمی با سودیم



شکل ۱: نمای تخم مصنوعی کپسول سازی شده
(Phanomchai et al., 2022).

الجنیت جیل (۵/۰ - ۵/۵ فیصد وزن بر حجم) مخلوط شده و در یک محلول نمک کلسیم (۳۰ - ۱۰۰ ملی مول کلسیم کلوراید- CaCl_2 ، ۳۰ - ۱۰۰ ملی مول کلسیم نایتریت- $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) انداخته می شود که در آن تعامل تعویض آیون ها صورت گرفته و آیون های سودیم با آیون های کلسیم تعویض گردیده، مهره ها یا کپسول های کلسیم الجنیت را تشکیل می دهند که اطراف جنین های جسمی را احاطه می نمایند. جسامت کپسول توسط قطر داخلی دهانک (Nozzle) پایپیت که قابل تغییر می باشد کنترل می گردد. سخت شدن کلسیم الجنیت توسط غلظت های سودیم الجنیت و کلسیم کلوراید و همچنین مدت

مخلوط نمودن تنظیم می‌گردد. اکثراً ۲ فیصد سودیم الجنیت جیل بایک محلول مخلوط شونده که دارای ۱۰۰ ملی مول آیون کلسیم (mM Ca^{2+}) باشد، استعمال گردیده وقناعت بخش محسوب می‌گردد (Rose, 2019).

تحقیقات علمی نشان داده است که در تولید تخم مصنوعی زردک، محلول ۱ فیصده سودیم الجنیت، ۵۰ ملی مول آیون های کلسیم (mM Ca^{2+}) و مدت ۲۰-۳۰ دقیقه برای سخت شدن کپسول های کلسیم الجنیت کافی می باشد. استعمال یک پاییت دارای دودهانک در آن جنین ها از طریق پاییت داخلی و محلول الجنیت از طریق پاییت خارجی جریان یابد، ضروری می باشد. در نتیجه جنین ها برای محافظت بهتر در مرکز مهره ها قرار میگیرند (Ravi, et al. 2012, Mandal, 2000).

در سال های اخیر سایر ساختمان های یک قطبی مانند نوک های انتهایی شاخه های جدید و پندک های جانبی شاخه های جدید، همچنین پروتوکورم ها و اجسام پروتوکورم مانند غیر قطبی و حتی کتله حجرات نابالغ (Undifferentiated calli) نیز در تولید تخم مصنوعی بکار برده می شوند. چنانچه ساختمان های مختلف در نباتات به مقصد تولید تخم مصنوعی در جدول ۱ (Hartmann, 2014) نشان داده شده است.

جدول ۱: لست انواع نباتاتی که در آنها برای تولید تخم مصنوعی تکنالوژی کپسول سازی بکار برده شده است

مواد تکثیر جسمی کپسول سازی شده	نام های علمی نباتات
SBs	<i>Actinidia deliciosa</i> (Kiwifruit)
SEs	<i>Arachis hypogaea</i> (Groundnut)
SEs	<i>Asparagus cooperi</i>
SBs	<i>Betula pendula</i> (Birch)
SBs	<i>Brassica campestris</i> (Mustard)
SEs	<i>Camellia japonica</i> L.
SBs	<i>Crataegus oxyacantha</i> (Hawthorn)
PLBs	<i>Cymbidium giganteum</i> (Orchid)
SEs	<i>Daucus carota</i> (Carrot)
PLBs	<i>Dendrobium wardianum</i> (Orchid)
SEs	<i>Eleusine coracana</i> Gaertn. (Finger millet)
SEs	<i>Eucalyptus citriodora</i> (Eucalyptus)
PLBs	<i>Geodorum densiflorum</i> (Lam) Schltr. (Orchid)
SBs	<i>Malus pumila</i> Mill. (Apple rootstock M.26)
SEs	<i>Mangifera indica</i> L. (Mango cv. Amrapali)
SEs	<i>Medicago sativa</i> (Alfalfa)
SBs	<i>Morus indica</i> (Mulberry)
SBs	<i>Musa</i> (Banana cv. Basrai)
SEs	<i>Pelargonium</i> □□ <i>domesticum</i> (Regal geranium)
SEs	<i>Pelargonium</i> □□ <i>hortorum</i> (Zonal geranium)
PLBs	<i>Phaius tankervillae</i> (Orchid)
SEs	<i>Picea abies</i> (Norway spruce)
SEs	<i>Picea glauca</i> (White spruce)
SEs	<i>Picea glauca</i> Engelmännii (Interior spruce)
SEs	<i>Picea mariana</i> (Black spruce)
SEs	<i>Pinus taeda</i>
Ems and EMs	<i>Pistacia vera</i> L. (Pistachio)
SEs	<i>Psidium guajava</i> (Guava)
SBs	<i>Rubus idaeus</i> L. (Raspberry)
SBs	<i>Rubus</i> (Blackberry cv. Jumbo, Veten)
SEs	<i>Santalum album</i> (Sandalwood)
SEs	<i>Solanum melongena</i> (Eggplant)
PLBs	<i>Spathoglottis plicata</i> (Orchid)
ABs	<i>Syringa vulgaris</i> L. (Lilac)
SEs	<i>Vitis vinifera</i> (Grape)
SBs	<i>Zingiber officinale</i> Rosc. (Ginger)

منبع: (Hartmann, 2014)

SEs- جنین های جسمی؛ SBs- پندک های شاخه های جدید؛ ABs- پندک های جانبی؛ EMs- کتله های حجرات در جریان تولید و انکشاف جنین؛ PLBs- اجسام پروتوکورم مانند.

تکنالوژی کپسول سازی هایدرو جیل برای تولید تخم های مصنوعی از مواد تکثیر جسمی متذکره نیز مفید می باشد. برای تولید تخم های مصنوعی از نوک های انتهایی شاخه های جدید و پندک های جانبی شاخه های جدید، اعضا متذکره اکثراً ابتدا به منظور تولید شدن ریشه با آکسین معامله شده و سپس قطعات کوچک آن ها (که تقریباً دارای ۴-۵ ملی متر طول می داشته باشند) مطابق روش که برای جنین های جسمی رشقه شرح داده شده است (Rose, 2019)، در سودیم الجنیت جیل کپسول سازی می شوند.

در یک تحقیق علمی بالای کيله وشاه توت، نباتات کوچک از کپسول سازی پندک های جانبی بدون کدام معامله نمودن خاص برای تشکیل ریشه بدست آمده بود. برای اجتناب از آلودگی بکتریایی یک مخلوط انتی بیوتیک (۰.۲۵ گرم فی لیتر) را که دارای Rifampicin (۶۰ ملی گرم)، Cefatoxime (۲۵۰ ملی گرم) و Tetracycline-HCl (۲۵ ملی گرم) بوده و در ۵ ملی لیتر Dimethylsulphoxide حل گردیده بود، بالای ماده جیل علاوه گردید. ذغال چوب فعال شده (۰.۱ فیصده) نیز برای جذب نمودن Polyphenol exudate های شاخه های کپسول شده کيله بالای ماده جیل علاوه گردید (Standardi et al. 2013).

دست آوردها و چشم اندازها

در تولید تخم های مصنوعی که از مواد تکثیر جسمی مختلف استفاده می شود برای هریک از مواد متذکره دست آوردها و چشم اندازها وجود دارد که اینک به صورت مختصر در مورد هر کدام آن ها به بحث می پردازیم.

جنین های جسمی

گرچه مواد تکثیر جسمی مختلف برای تولید تخم های مصنوعی مطالعه شده است، ولی جنین های جسمی بیشتر مطلوب شناخته شده اند (جدول ۱) زیرا ساختمان های متذکره دارای ریشه های جنینی (Radicles) و ساقه های جنینی (Plumules) هستند که اکثراً بدون معامله نمودن با کدام مواد قادر به انکشاف به ریشه و ساقه در یک مرحله می باشند. استعمال جنین های جسمی بقسم تخم مصنوعی بیشتر در حال عملی شدن است زیرا پیشرفت ها در تکنالوژی کشت نسج نباتی شرایط را برای تحریک و انکشاف جنین های جسمی در تعداد روبه افزایش انواع نباتی آماده می سازد. انواع مختلف تخم های مصنوعی با استفاده از جنین های جسمی تهیه شده اند که بعداً خشک ساخته شده اند یا کاملاً مرطوب باقیمانده اند، تخم های متذکره کپسول سازی شده اند یا نشده اند. ولی در صورتیکه جنین جسمی خشک ساخته شده و مقدار رطوبت آن مانند یک تعداد تخم های حقیقی در حدود ۱۰ فیصد باشد، سیستم تکثیر دارای یک فایده اضافی می باشد که بحیث یک سیستم نگهداری جرم پلازم استفاده می شود که برای یک مدت طولانی مواد تکثیر را بحالت استراحت نگهدارند (Rihan et al. 2017). همچنین جنین های جسمی خشک در سیستم تولید تجارتي و ذخیره نمودن برای کشت آینده امکان استفاده موثر از مکان و نیروی کار را فراهم می نماید. تلاش ها برای خشک سازی جنین های جسمی بعد از کپسول سازی و یا بدون کپسول سازی بعمل آمده است تا از پتانسیل متذکره استفاده بعمل آید، ولی موفقیت ها به استثنای رشقه (*Medicago sativa*) برای سایر نباتات نسبتاً محدود بوده است.

تحقیقات نشان داده است که در رشقه، جنین های جسمی مقاوم مقابل خشکی با استعمال آبسیسک اسید (ABA) تحریک گردید. سپس جنین های متذکره به اندازه خشک شدند که دارای ۱۰-۱۵ فیصد رطوبت بودند و حد اقل برای ۳ هفته بحالت خشک نگهداری گردیدند. ۶۵ فیصد از جنین های جسمی که تحت شرایط مناسب با تنظیم کنندگان نمو معامله شده بودند قابلیت حیات خود را حفظ نموده و مانند تخم های حقیقی جوانه زدند. جنین های جسمی مقاوم مقابل خشکی در رشقه همچنین با قرار گرفتن در معرض سطوح نیمه مهلکی فشارهای حرارت پایین، آب، مواد غذایی یا گرما تحریک شده اند. ولی اینگونه معاملات مقدماتی بالای بلوغیت جنین و قدرت نبات کوچک (Plantlet vigour) تأثیرات زیان آور داشت (Rose, 2019).

Hirosawa و Skamoto, Onishi در یک رهنمود که برای تولید تخم های مصنوعی ارائه شده است و مشتمل بر کنترل اتوماتیک در مراحل تولید و کپسول سازی می باشد. تصریح گردیده است که جوانه زدن و نمو عالی و همزمان تخم های مصنوعی در شرایط عملی کشت مانند کرد قوریه در یک گرین هاوس یا در یک مزرعه یک شرط ضروری برای کاربرد آنها در تکثیر جسمی نباتات است. نمو جنین های تولید شده ای کرفس وزردک در بایوریاکتورها (Bioreactors) با یکی از سه روش ذیل از صفر تا به ۵۳-۸۰ فیصد افزایش یافته می تواند (Ravi et al., 2012):

- کشت جنین‌ها برای ۷ روز در یک وسط زرعیه دارای فشار آزماتیک بلند (دارای ۱۰ فیصد Mannitol) تحت ۱۶ ساعت طول روز با ۳۰۰ لکس تشعشع برای تحریک انکشاف جنین. این روش جسامت جنین‌ها را از ۱-۳ میلی متر تا به ۸ میلی متر و مقدار کلوروفیل آنها را افزایش بخشید.
- خشک نمودن جنین‌ها برای پایین آوردن رطوبت آنها از ۹۵-۹۹ فیصد به ۸۰-۹۰ فیصد از طریق نگهداری آنها برای مدت ۷ روز بالای ۷-۲ لایه کاغذ فلتر تحت ۱۶ ساعت روشنایی و در تشعشع $14 \mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$
- بعد از خشک نمودن کشت در وسط زرعیه اس اچ (SH) حاوی مواد ذیل: ۲ فیصد ساریتول، ۱... میلی گرام فی لیتر BAP و ۱... میلی گرام فی لیتر GA3، در هوای غنی شده با ۲ فیصد کاربن دای اکساید، تحت ۱۶ ساعت روشنایی در ۲۰ درجه سانتی گرید برای ۱۴ روز تا طبیعت آتوتروفیک و غذای ذخیره‌ای را پیدا نماید. کیفیت مهره‌ها نیز توسط انداختن ۳ فیصد سکروز بالای آنها، پوش نمودن مایکروکپسول‌ها با مخلوط قارچ کش‌ها که دارای ۸ فیصد Elvax ۴۲۶۰ و موم زنبور عسل و ۱، ۰ فیصد Topsin M بود، تغییر داده شده بود. برای کمک به سبز شدن مرستیم‌های ساقه و ریشه هنگام جوانه زدن جنین Onishi, Sakamoto, و Hirosawa جیل کپسول‌های را ساختند که در شرایط مرطوب خود بخود تجزیه می‌گردیدند. عملیه متذکره مشتمل بود بر خوب شستن مهره در زیر آب نل، سپس غوطه نمودن آنها در یک محلول ۲۰۰ میلی مول پتاشیم نایتریت برای ۶۰ دقیقه و بر طرف نمودن نمک از آنها توسط شستن آنها در زیر آب نل برای مدت ۴۰ دقیقه. اینگونه تخم‌های مصنوعی بعد از کشت نمودن در گلخانه در ظرف دوهفته ۵۰ فیصد جوانه زدن را نشان دادند.

در انواع درختان مانند *Santalum album*, *Pistacia vera* و *Mangifera indica* نیز برای تولید تخم مصنوعی، جنین‌های جسمی کپسول شده‌اند. ولی به تحقیقات بیشتر نیاز است تا طرز العمل‌ها برای تولید تخم‌های مصنوعی دارای قابلیت حیات که بتواند برای مدت طولانی تر ذخیره گردیده و از نظر تجارتي بادوام باشد، تعدیل گردد (Standardi et al., 2013).

پندک‌های جانبی شاخه‌های جدید و نوک‌های انتهایی شاخه‌های جدید

در بسیاری از سپشیزهای نباتی شامل جدول ۱ پندک‌های جانبی شاخه‌های جدید و یا نوک‌های انتهایی شاخه‌های جدید که یک قطبی بوده و دارای مرستیم ریشه نمی‌باشند نیز برای تولید تخم‌های مصنوعی کپسول سازی شده‌اند. چون ساختمان‌های متذکره دارای مرستیم‌های ریشه نمی‌باشند، آنها باید قبل از کپسول سازی برای تولید ریشه تحریک شوند. مؤلفین مختلف توضیح داده‌اند که چگونه پندک‌های کپسول سازی شده‌ای کیله و شاه توت بدون اینکه برای تشکیل ریشه با کدام مواد خاص معامله شوند به نباتات کوچک انکشاف یافند. در گزارشات مختلف Piccioni و Capuano، Standardi و Piccioni موضوع جوانه زدن و نمو پندک‌های شاخه جدید سبب گرفته شده از نبات مادری M.26 را شرح داده‌اند که برای تحریک ریشه زدن ۳-۶ روز بعد از معامله نمودن با IBA (۶، ۲۴ میلی مول) کپسول سازی شده بود. Capuano و همکارانش وضعیت‌های متفاوت تبدیل شدن تخم‌های مصنوعی تهیه شده از قطعات کوچک پندک‌های جانبی و قسمت‌های انتهایی شاخه‌های جدید را تشخیص داده‌اند. علما موصوف گزارش داده‌اند که جوانه زدن و نمو تخم‌های مصنوعی بدست آمده از قطعات پندک‌های جانبی نبات مادری سبب M.26 اکثراً با سرعت خیلی پایین (فقط ۲۵ فیصد) بمشاهده رسید که به تعقیب آن کشت برای آغاز نخستین ریشه (RPI) و ۶ روزه نگهداری در سرما صورت گرفت. در مقابل، جوانه زدن و نمو قطعات انتهایی که در ۶، ۲۴ میلی مول IBA معامله گردیده بود بدون ۳ روزه نگهداری در سرما به ۸۵ فیصد رسید. نتایج متذکره مناسب بودن اینگونه اکسپلانت‌ها را برای کپسول سازی و تولید تخم مصنوعی تأیید می‌نماید (Capuano, G. Et al., 198). ضمناً، نتایج متذکره بکاربرد اکسپلانت‌های یک قطبی کپسول سازی شده مانند پندک‌های تکثیر شده با روش‌های تکثیر کوچک را برای تکنالوژی تخم مصنوعی تشویق می‌نماید. این نوع کپسول‌ها در تبادله مواد تعقیم شده بین لابراتوارها بخاطر جسامت کوچک و سهولت نسبی در انتقال ساختمان‌های متذکره و یا در نگهداری جرم پلازم با روش‌های مناسب نگهداری و یا در صورتیکه انکشاف نبات در جریان تکثیر، تشکیل ریشه، طویل شدن ساقه و غیره بصورت درست هدایت گردد، حتی در تکثیر نباتات و قوریه‌ها مفید بوده می‌تواند.

کنده‌های حجرات جنینی

کنده‌های حجرات جنینی پایدار و مجدداً تولید شونده برای نباتات دارای تکثیر جسمی و برای مطالعات تغییر شکل ارثی یک افزارجالب را تشکیل می‌دهد. ولی نگهداری دراز مدت کنده‌های حجرات جنینی در کلچر تیوب‌ها یا بایوریاکتورهای که بصورت

میخانیکی تکان داده می‌شوند انتقال مکرر انساج را در وسط زرعیه جدید ایجاب می‌نماید که هم به کارگر زیاد نیاز داشته و هم گران تمام می‌شود. برای فائق آمدن بر مشکلات متذکره، کتله‌های حجرات جنسی *Pistacia vera* با استفاده از روش Redenbaugh و همکارانش در سودیم الجنیت جیل کپسول سازی شده و بعد از معامله نمودن با BAP در ۴ درجه سانتی گرید نگهداری گردید (Reddy, et al. 2012).

پروتوکورم‌ها یا اجسام پروتوکورم مانند

دراورکیده‌های مانند، *Dendrobium wardianum*، *Geodorum densiflorum* و *Phaius tonkervillae* تخم‌های مصنوعی با کپسول سازی پروتوکورم‌ها یا اجسام پروتوکورم مانند در سودیم الجنیت جیل تولید شده‌اند (Hung, C., et al. 2012). Corrie و Tandon در سال ۱۹۹۳ گزارش داده‌اند که پروتوکورم‌های کپسول سازی شده‌ای *Cymbidium giganteum* بمجرد انتقال به وسط زرعیه مغذی یا مستقیماً در ریگ و خاک تعقیم شده به نباتات کوچک سالم تبدیل شدند. آن‌ها دریافتند که فریکوینسی جوانه زدن و نمو بسیار بلند بود یعنی اینکه در تست تیوب ۱۰۰ فیصد، در ریگ ۸۸ فیصد و در مخلوط ریگ و خاک ۶۴ فیصد بود. روش‌های متذکره این امکان را میسر ساخت تا پروتوکورم‌های رویانیده شده در شرایط تعقیم شده مستقیماً به خاک انتقال داده شود و از مصارف تربیه نباتات کوچک در تست تیوب‌ها و توافق دهی بعدی آنها اجتناب بعمل آید.

کاربرد تخم‌های مصنوعی بطور خاص نوید بخش بنظر می‌رسد. کپسول سازی، ذخیره و کشت مجدد مواد هوموژینس تولید کتلوی انواع ممتاز نباتی را بشکل اتوماتیک امکان پذیر می‌سازد. چندین مورد استعمال بالفعل تخم‌های مصنوعی نباتات مانند نباتات جنس سترس، انواع انگور، آم و غیره که دارای تکثیر جسمی بوده و مراحل جوانی آنها طولانی می‌باشد، وجود دارد. موثریت کشت اینگونه نباتات با استفاده از تخم مصنوعی بعوض قلمه‌ها از لحاظ نظری می‌تواند افزایش یابد. تخم‌های مصنوعی برای نگهداری جرم پلازم انگور و سایر نباتات مشابه آن خیلی مفید ثابت شده است.

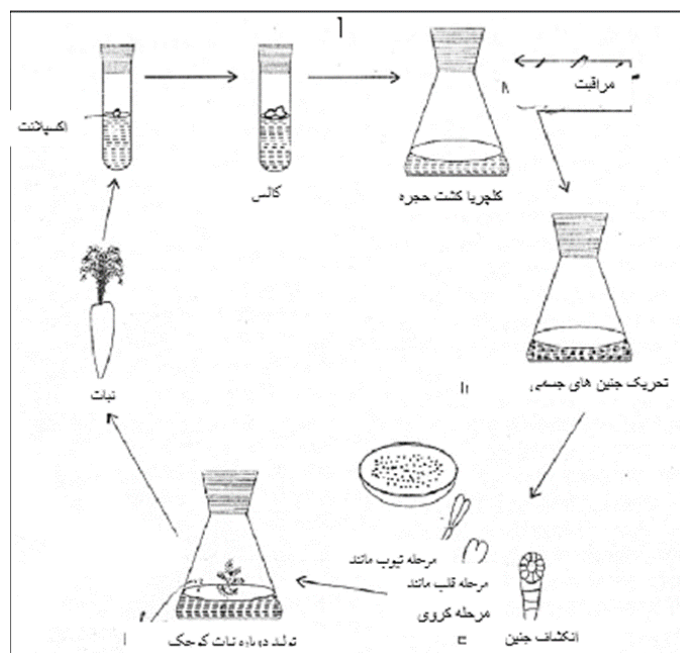
محدودیت‌ها

با وجود اینکه نتایج تحقیقات تشدید در عرصه تکنالوژی تخم مصنوعی برای تکثیر یکتعداد سپیشیزهای نباتی (جدول ۱) امید بخش بنظر می‌رسد، تطبیق عملی تکنالوژی متذکره بخاطر دلایل عمده ذیل محدود ساخته می‌شود (Bordolui, 2024).

- ✓ تولید شدن محدود مواد تکثیر جسمی دارای قابلیت حیات که برای تولید تخم مصنوعی مفید باشند.
- ✓ انکشاف غیر نورمال (Anomalous) و غیر همزمان جنین‌های جسمی.
- ✓ بلوغیت غیر منظم جنین‌های جسمی که آنها را برای جوانه زدن و انکشاف به نباتات نورمال غیر مؤثر می‌سازد.
- ✓ فاقد استراحت بودن جنین‌های جسمی و عدم مقاومت آنها مقابل سترس که ذخیره نمودن تخم‌های مصنوعی را محدود می‌سازد.

✓ جوانه زدن و نموی ضعیف جنین‌های جسمی ظاهراً نورمال و سایر قسمت‌های کوچک نبات به نباتات کوچک که

ارزش‌های تخم‌های مصنوعی و در نهایت خود تکنالوژی متذکره را محدود می‌سازد.



شکل ۲: پروتوکول برای تشکیل جنین جسمی زردک (George et al., 2008).

انکشاف تخم مصنوعی ایجاب می‌نماید تا عملیه تشکیل جنین جسمی از اکسپلانت‌ها گرفته تا تولید جنین، انکشاف جنین و همچنین بلوغیت آن‌ها بعد کافی کنترل گردد (شکل ۲).

جنین‌های جسمی بالغ باید قادر باشند تا از داخل کپسول یا پوشش نیش زده و به نباتات نورمال و قوی تبدیل شوند. در عده ای از تحقیقات علمی تلاش بعمل آمده است تا کیفیت و کمیت جنین‌های جسمی از طریق تغیر دادن شرایط کشت مانند ترکیب وسط زرعیه، تنظیم کنندگان نمو (انواع و غلظت آن‌ها)، وضعیت فیزیکی وسط زرعیه و همچنین شرایط در تست تیوب‌ها (Incubation conditions) مانند درجه حرارت و تشعشع و غیره برای رویانیدن اصلاح گردد.

گرچه کمیت بزرگ جنین‌های جسمی در بسیاری از سپیش‌های نباتی می‌تواند به سرعت تولید گردد ولی

بدست آوردن نباتات نورمال بخاطر بلوغیت غیر منظم یا غیر همزمان آن‌ها دشواری باشد. بنابراین بلوغیت جنین‌های جسمی که سرانجام سرعت جوانه زدن و نمو را کنترل می‌نماید یکی از عمده ترین محدودیت‌ها در تولید تخم مصنوعی می‌باشد. Attree و همکارانش در سال ۱۹۹۲ هنگام مطالعه تأثیرات انواع مختلف Osmotica بالای بلوغیت جنین‌های جسمی صنوبر (Spruce) واضح ساخته‌اند که موجودیت سطح بلند سکروز (یعنی نفوذ Osmotica) در وسط زرعیه حاوی ABA (عدم نفوذ Osmotica) بلوغیت را مانع می‌گردد، در حالیکه موجودیت PEG با ABA شدت و همزمان بودن بلوغیت جنین جسمی را بصورت شگفت انگیز افزایش می‌بخشد. تجزیه بایو کیمیای جنین‌های جسمی متذکره در مقایسه با جنین‌های که بدون PEG بالغ شدند یک افزایش قابل ملاحظه را در ذخیره پروتین‌ها و شحمیات، نشان داد.

برای کاربردهای تجارتي، جنین‌های جسمی باید به سرعت جوانه زده و قادر به انکشاف به نباتات باشد که سرعت انکشاف آن اگر بیشتر از تخم حقیقی نباشد اقلاً تا حدودی مشابه به تخم حقیقی باشد. برای دستیابی به جوانه زدن و نموی جنین‌های جسمی به نباتات کوچک و فایق آمدن بر تأثیرات مضره عملیه مکرر تشکیل جنین جسمی و همچنین انکشاف غیر نورمال جنین‌های جسمی هنگام جوانه زدن آن‌ها، مهیا ساختن شرایط محیطی و غذایی مناسب ضروری پنداشته می‌شود. مالتوز برای بهبود بخشیدن جوانه زدن و نموی جنین‌های جسمی رشفه با ارزش شناخته شده است. از نظر دورنمای یک تخم مصنوعی، علاوه نمودن سکروز در وسط زرعیه در تعداد زیاد از سپیش‌های نباتی برای قابلیت حیات جنین‌های جسمی، انکشاف بعدی، بلوغیت و جوانه زدن آنها ضروری پنداشته می‌شود.

در یک سیستم کشت در تست تیوب‌ها (Invitro culture) جنین‌های جسمی تفاوت زیاد را در مارفولوژی و بالنتیجه در عکس العمل‌های آن‌ها نشان می‌دهند که کاربرد تکنالوژی تخم مصنوعی را تا اندازه زیاد محدود می‌سازد. تحقیقات علمی نشان داده است که معامله نمودن مداوم ABA تشکیل جنین‌های جسمی دارای مشیمه‌های غیر نورمال را افزایش می‌بخشد ولی در بعضی نمونه‌ها معلوم گردیده است که ABA انکشاف نورمال جنین‌های زایگوتی و جسمی را در تست تیوب بهبود بخشیده است. معامله نمودن سایتو کینین نیز تعداد جنین‌های جسمی دارای چندین مشیمه را افزایش می‌بخشد (Rihan et al., 2017).

گمان برده می شود که انکشاف مارفولوژیکی جنین های جسمی توسط هورمون های داخلی تنظیم می شود. انتی آکسین ها بالای انتقال آکسین دوقطبی که انکشاف جنین را کنترل می نماید تأثیر می داشته باشد. برای آغاز دومشیمه، انتقال یک آکسین دوقطبی درجنین برای یک مدت کوتاه درمرحله کروی ضروری پنداشته می شود و نابه هنجاری های انکشافی بخاطرتقسیمات حجروی درقسمت های مرستما تیک قبل ازمتمايزشدن انتهای ساقه ومشیمه ها صورت می گیرد. ولی نابه هنجاری های انکشافی برای جنین های جسمی طبیعی نیستند، زیرا جنین های زایگوتی زمانیکه از تخم جدا ساخته شده ودرتست تیوب قرارداده شوند نیز بی نظمی های مشابه را نشان می دهند.

در بسیاری ازسپشیزهای نباتی معلوم شده است که جنین های جسمی مقابل خشک نمودن حساس می باشند. خشک نمودن جنین های جسمی را مضرر می سازد و در انواع حساس مقابل خشکی مانع جوانه زدن و تبدیل شدن آنها به نباتات می گردد. با آنهم در بعضی انواع، خشک نمودن و مرطوب نمودن مجدد در تحریک جوانه زدن و نمو با فریکونسی عالی جنین های جسمی به نباتات کوچک مفید شناخته شده است. خشک نمودن تدریجی جنین جسمی رشفه با ازدست دادن آب بصورت خطی و تصاعدی عکس العمل بهتر نشان داده و در مقایسه با خشک نمودن غیرکنترول شده کیفیت جنین ها را بهبود بخشید. متشابهاً، خشک نمودن شدت جوانه زدن سویابین را نیز بهبود می بخشد (Raza, 2020). Attree و همکارانش و در سال ۱۹۹۲ گزارش داده اند که جنین های جسمی صنوبر که در موجودیت PEG و ABA به بلوغیت رسیدند مقابل رطوبت های پایین بسیار مقاوم بودند. مطابق گزارش علما موصوف اینگونه جنین های جسمی نزدیک به ۵۰ فیصد رطوبت داشتند که بعد از خشک نمودن رطوبت آنها به ۱۰ فیصد می رسید. جنین های متذکره در منفی ۲۰ درجه سانتی گرید برای یک سال ذخیره شده بودند و بعد ازان بدون ضایعات در قابلیت حیات آنها آب را جذب نموده و موفقانه جوانه زدند.

مواد پوششی نیز می تواند موفقیت تکنالوژی تخم مصنوعی را محدود سازد و در حال حاضر هیچکدام از روش های کپسول سازی جنین که قبلاً تشریح شده است بطور کامل قناعت بخش نمی باشد. ذخیره نمودن کپسول های مرطوب بخاطر ضرورت تنفسی جنین بیشتر مشکل می باشد. یک معضله دومی اینست که کپسول ها بدون نگهداری در یک محیط مرطوب یا پوش شده با غشا جذب کننده آب، بسرعت خشک می شوند. کپسول های کلسیم الجنیت برای انتقال مشکل می داشته باشد زیرا کپسول های متذکره خیلی مرطوب بوده و اندکی برای چسپیدن بیکدیگر متمایل می باشند. کپسول های کلسیم الجنیت نیز زمانیکه در اتموسفیر محاصره شده قرارداده شود آب را بسرعت ازدست داده و در ظرف چندین ساعت به قرص های سخت تبدیل می شوند. پرابلم های متذکره توسط پوش نمودن کپسول ها با (Ethylene vinyl acetate acrylic acid terpolymer, Du Pont, USA) Elvax 4260 مرفوع شده می تواند. Rihan و همکارانش در سال ۲۰۱۷ گزارش داده اند که با انتخاب نمودن مواد پوششی مناسب برای کپسول سازی بر محدودیت های ناشی از مواد پوششی غلبه حاصل شده می تواند. نظربه گزارش علما موصوف مواد پوششی باید برای جنین مضر نبوده، برای محافظت جنین به اندازه کافی ملایم بوده و به جوانه زدن اجازه بدهد و بخاطر رفتار خشن هنگام تولید، ذخیره، انتقال و کشت به اندازه کافی بادوام باشد.

غلظت مواد پوششی نیز یک عامل عمده محدود کننده برای تکنالوژی تخم مصنوعی می باشد. پوش باید دارای مواد مغذی، تنظیم کنندگان نمو و سایر اجزای ضروری برای جوانه زدن و نمو بوده و با استفاده از ماشین آلات موجود زراعتی قابل کشت باشد. گرچه تعداد زیاد مواد پوششی برای کپسول سازی جنین های جسمی امتحان شده اند، سودیم الجنیت بدست آمده ازالجی نضواری بهترین آنها ارزیابی گردیده و در حال حاضر وسیعاً بکار برده می شود. الجنیت بخاطر سهولت آن در تشکیل کپسول و همچنین بخاطر زهریت کم آن برای جنین انتخاب شده است. استحکام مهره جیل، جنین شکنند را در هنگام انتقال محافظت می نماید. کپسول جیل بحیث یک مخزن مواد غذایی (مانند اندوسپرم مصنوعی) که به بقا و سرعت نمو جنین مساعدت می نماید، بالفعل ایفای وظیفه نموده می تواند.

نتیجه گیری

تکنالوژی تخم مصنوعی تکثیر نباتات را با سرعت زیاد و در مقیاس وسیع امکان پذیر می سازد. در این تکنالوژی از مواد تکثیر جسمی مختلف تخم مصنوعی تهیه می شود که با تخم حقیقی نسبتاً مشابه است. سرعت و مقیاس تکثیر نباتات با استفاده از تکنالوژی تخم مصنوعی در مقایسه با روش های سنتی تکثیر نباتات چندین مرتبه بیشتر است. با وجود فعالیت های تحقیقاتی قابل توجه در مورد تخم مصنوعی در سال های اخیر، چندین پرابلم عمده در رابطه با تجارتی ساختن آن باقی مانده است. اولین شرط برای کاربرد عملی

تکنالوژی تخم مصنوعی تولید مواد تکثیر جسمی بلند کیفیت درمقیاس وسیع است که در حال حاضر یک عامل عمده‌ای محدود کننده می باشد. عوامل فرعی جوانه زدن ضعیف تخمهای مصنوعی عدم موجودیت ذخیره مواد غذایی و آکسیجن، هجوم میکروب‌ها و صدمات میخانیکی جنین‌های جسمی می باشد. درحقیقت، جوانه زدن و نمو عمده‌ترین عرصه تکنالوژی تخم مصنوعی است و تاکنون یکی از عوامل محدود کننده کاربرد تجارتي این تکنالوژی باقیمانده است. یکی از موارد استعمال آینده تخم‌های مصنوعی نگهداری جرم پلازم در درجه حرارت پایین‌تر از صفر می باشد. هم تخم‌های مصنوعی مرطوب ساخته شده با کلسیم الجنیت و هم تخم‌های خشک ساخته شده با پالی ایتلین گلايکول بمقصد فوق الذکر بکاربرده شده می تواند ولی احتمالاً قبل از نگهداری در درجه حرارت پایین‌تر از صفر درجه سانتی گرید یک اندازه خشک نمودن مفید خواهد بود. تکنالوژی تخم مصنوعی پتانسیل عظیم را برای تکثیر کوچک و نگهداری جرم پلازم پیشکش می نماید، ولی برای تکمیل نمودن این تکنالوژی طوریکه درمقیاس تجارتي بکارشده بتواند، به تحقیقات بیشتر نیاز می باشد.

منابع

1. Attree SM, Pomeroy MK, Fowke LC (1992) Manipulation of conditions for the culture of somatic embryos of white spruce for improved triacylglycerol biosynthesis and desiccation tolerance. *Planta* 187: 395–404.
2. Capuano, G., Piccioni, E., & Standardi, A. (1998). Effect of different treatments on the conversion of M. 26 apple root-stock synthetic seeds obtained from encapsulated apical and axillary micropropagated buds. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73(3), 289-297.
3. Corrie, S. and Tandon, P. (1993) Propagation of *Cymbidium giganteum* Wall, through high high-frequency conversion of Encapsulated Protocorms under In Vivo and In Vitro Conditions. *Indian Journal of Experimental Biology*, 31, 61-64
4. George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2008). *Plant Propagation by Tissue Culture (Vol. 1 & 2)*.
5. Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., Geneve, R. L., Hartmann and Kester's. (2014). *Plant Propagation Principles and Practices*, 8th edition. New York: Pearson Education Limited; 670–724.
6. Hung, C., & Trueman, S. (2012). Alginate encapsulation of shoot tips and nodal segments for short-term storage and distribution of the eucalypt *Corymbia torelliana* × *C. citriodora*. *Acta Physiol. Plant.* 117–128. [Google Scholar] [Cross-Ref].
7. Kitto, S.K. & Janick, J. (1982). Artificial Seed coat or Polyox for Asexual Embryos. *Horticultural Science*, 17, 488.
8. Mandal J, Pattnaik S, Chand Pk (2000), Alginate encapsulation of axillary buds of *Ocimum americanum* L. *In vitro cell Dev Biol Plant*, 36, 287-292.
9. Phanomchai, S., Bodhipadma, K., Noichinda, S., & Leung, D. W. M. (2022). Short-Term Storability of Alginate Encapsulated Persian Violet Microshoots for Germplasm Exchange. *Plants*, 11(2), 185. <https://doi.org/10.3390/plants11020185>
10. Ravi, D., Anand, P. (2012). Production and application of artificial seeds: A review. *International Research Journal of Biological Sciences*. 1(5). 74–78.
11. Raza, G., Singh, M. B., & Bhalla, P. L. (2020). Somatic embryogenesis and plant regeneration from commercial soybean cultivars. *Plants*. 9(1). 38. <https://doi.org/10.3390/plants9010038>
12. Reddy, M. C., Murthy, K. S. R., & Pullaiah, T. (2012). Synthetic seeds: A review in agriculture and forestry. *Afr. J. Biotechnol.* 14254–14275. [Google Scholar]
13. Rihan, H. Z., Kareen, F. El-Mahrouk, M. E., & Fuller, M. P. (2017). Artificial seeds (Principle, aspects, and applications). *Agronomy*. 71. <https://doi.org/10.3390/agronomy7040071>
14. Rose, R. J. (2019). Somatic embryogenesis in the *Medicago truncatula* model: Cellular and molecular mechanisms. *Frontiers in Plant Sciences*. 267. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00267>
15. Sanjoy, K. B. (2024). Prospects and Limitations of Synthetic Seeds. *Research and Reviews: Journal of Environmental Sciences*. 6(3). 6–16.
16. Sharma, S., Shahzad, A., & Da Silva, J. A. T. (2013). Synseed technology—A complete synthesis. *Biotechnol. Adv.* 186–207. [Google Scholar] [CrossRef] [PubMed]
17. Standardi, A., & Micheli, M. (2013). Encapsulation of in vitro-derived explants: An innovative tool for nurseries. *Methods Mol. Biol.* 397–418. [Google Scholar] [PubMed]