



## Production of artificial seeds from somatic embryos of the galbanum plant

Arman Haghazari<sup>1</sup>, Mohammadreza Azimi<sup>2</sup>, Ali Amarlou<sup>3</sup>, Mahdis Baratifard<sup>4</sup>, Ehsan Mohsenifard<sup>2</sup>

1. MSc of Plant Genetics, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

2&5. Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

3. Associate Professor, Research Institute of Modern Biological Techniques, University of Zanjan, Zanjan, Iran

4. MSc Student of Plants Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT

#### Article history

Submitted: 2025-1-9

Revised: 2025-2-19

Accepted: 2025-4-5

### KEYWORDS

*Ferula gummosa*,  
artificial seed,  
synthetic seed,  
somatic embryo,  
sodium alginate,  
tissue culture

The *Ferula gummosa* plant is a perennial and valuable species from the *Apiaceae* family, native to Iran. The significance of this plant lies in its resin, known as galbanum. Dormancy of the seeds is one of the main challenges in its growth, taking at least 9 months under natural conditions. The aim of this experiment was to shorten the dormancy period of this plant using artificial seed technology. In this experiment, somatic embryos of *F. gummosa* at the heart-shaped and torpedo stages were obtained from leaf explants in an MS1/2 medium containing 1 mg/L of BAP hormone and 1 mg/L of NAA hormone. Additionally, the embryonic part of the seed was isolated and encapsulated using a 2% sodium alginate solution, resulting in the production of artificial seeds. The results showed that the encapsulated somatic embryos at the torpedo stage showed the greatest seedling length after 15 and 30 days, and the germination of these seeds was faster compared to other seeds. The seeds obtained from the embryonic part also showed acceptable results. The findings of this experiment indicate that considering the time required for producing artificial seeds of *F. gummosa*, this method is quicker and more suitable for the propagation of this plant.

\* Corresponding author: Arman Haghazari

✉ E-mail: arman.2423224@gmail.com





مقاله پژوهشی

تولید بذر مصنوعی از جنین سوماتیکی گیاه باریجه

آرمان حق نظری<sup>۱</sup>، محمدرضا عظیمی<sup>۲</sup>، علی عمارلو<sup>۳</sup>، مهدیس براتی فرد<sup>۴</sup>، احسان محسنی فرد<sup>۲</sup>

۱. کارشناسی ارشد رشته‌ی ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۲. دانشیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۳. دانشیار پژوهشکده فناوریهای نوین زیستی دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۴. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته‌ی بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

**چکیده:** گیاه باریجه (*Ferula gummosa*) گیاهی چندساله و ارزشمند از تیره‌ی چتریان و بومی کشور ایران است اهمیت این گیاه به دلیل وجود صمغ آن است که به آن گالبانوم میگویند. خواب بذر این گیاه یکی از مشکلات اساسی در رشد این گیاه است که در شرایط طبیعی حداقل ۹ ماه زمان می‌برد. هدف از انجام این آزمایش کوتاه‌کردن دوره‌ی خواب این گیاه با استفاده از فناوری بذر مصنوعی بود. در این آزمایش جنین‌های سوماتیکی گیاه باریجه در مرحله‌ی قلبی شکل و مرحله‌ی اژدری از ریزنمونه‌ی برگ در محیط کشت MS1/2 حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP و ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون NAA بدست آمد و همچنین قسمت جنینی بذر گیاه جدا شده و با استفاده از محلول آلزینات سدیم ۰.۲٪ کپسوله شدند و بذر مصنوعی این گیاه تولید شد. نتایج نشان داد جنین سوماتیکی کپسوله شده در مرحله‌ی اژدری بیشترین طول گیاهیچه را بعد از گذشت ۱۵ و ۳۰ روز داشت و جوانه‌زنی این بذرها نسبت به سایر بذرهای سریع تر بودند. بذرهای بدست آمده از قسمت جنینی نیز نتایج قابل قبولی نشان دادند. یافته‌های این آزمایش نشان دهنده‌ی این بود که با توجه به مدت زمان مورد نیاز برای تولید بذرهای مصنوعی باریجه این روش، روش سریع‌تر و مناسب‌تری برای ازدیاد این گیاه است.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۴۰۳-۱۱-۷  
 بازنگری: ۱۴۰۳-۱۱-۳۰  
 پذیرش: ۱۴۰۴-۱-۲۱

واژگان کلیدی:

باریجه، بذر مصنوعی، جنین سوماتیکی، آلزینات سدیم، کشت بافت

\*نویسنده مسئول: آرمان حق نظری

E-mail: arman.2423224@gmail.com

Journal homepage: jmpb.znu.ac.ir



## مقدمه

فناوری بذر مصنوعی یک حوزه فراگیر و نوپا در علوم کشاورزی و بیوتکنولوژی است که با استفاده از تکنولوژی های نوین، بهبود کیفیت و عملکرد بذر را امکان پذیر می سازد. این فناوری با ترکیب علوم ژنتیک، بیولوژی مولکولی و مهندسی ژنتیک، به منظور ایجاد بذرهایی با ویژگی های مورد نظر مورد استفاده قرار می گیرد (Hussein et al., 2024). بذر مصنوعی جنین سوماتیک، جوانه های گیاهی یا مریستم فعالی است که با استفاده از یک ماتریس مناسب پوشیده شده و شبیه بذر طبیعی است و قابلیت تبدیل به گیاه کامل را تحت شرایط درون شیشه ای یا برون شیشه ای دارد. این ماتریس ممکن است شامل مواد مغذی، کودها، علف کش ها و آنتی بیوتیک هایی باشد که به گیاه کمک می کنند تا در مراحل اولیه رشد به شرایط جدید عادت کند (Bapat & mhatre., 2005). سر شاخه های گیاهی جوانه زده و کپسوله شده و بخش های ریزوم نیز می توانند به عنوان بذرهایی مصنوعی معرفی شوند زیرا این

قابلیت را دارند که مانند بذرها رشد کنند. (Banerjee et al., 2012)

فناوری بذر مصنوعی راه های جدیدی را برای تکثیر گونه های گیاهی که تکثیر از طریق بذر در آن ها به دلیل اندازه کوچک بذر، خواب بذر یا هتروزیگوسیتی بذر ممکن نیست، گشوده است. گیاهان بدون بذر که برای رشد به تکنیک های قلمه زنی نیاز دارند یا بذرهایی که برای جوانه زنی به همزیستی با قارچ های میکوریزا نیاز دارند، می توانند به راحتی با بذرهایی مصنوعی تکثیر شوند (Gonzalez et al., 2003). فناوری بذر مصنوعی یک روش مؤثر و امیدوارکننده برای تکثیر انبوه گونه های گیاهی در حال انقراض و محصولات کشاورزی و باغبانی مهم است (Ali et al., 2012). برخلاف بذر طبیعی که حاوی جنین زیگوتی است، بذر مصنوعی از جنین سوماتیکی تولید می شود که از سلول سوماتیک یک والد واحد تشکیل شده است (حق نظری و عظیمی، ۱۴۰۱). بنابراین، این تکنیک می تواند به عنوان یک روش امیدوارکننده برای تکثیر گیاهان تراریخته و پلی پلوئیدها در گیاهان بدون بذر مورد استفاده قرار گیرد. این

بذرها مزیت هایی به ما ارائه می دهند از جمله افزایش عمر مفید، در دسترسی و محافظت در برابر عوامل استرس زا در محیط. بذرهای مصنوعی با قرار دادن جنین ها یا بافت های گیاهی در یک پوشش محافظتی ایجاد می شوند که کاربرد و حمل و نقل آن ها را آسان تر می کند (Brown et al., 2018). با این حال، تفاوت های متعددی بین بذرهای مصنوعی و بذرهای طبیعی وجود دارد که باید مد نظر قرار گیرد. یکی از تفاوت های اصلی بین بذرهای مصنوعی و بذرهای طبیعی، منشأ آن ها است. بذرهای طبیعی توسط گیاهان از طریق فرایند تلقیح تولید می شوند. آن ها شامل مواد ژنتیکی از هر دو گیاه والدین هستند که به تنوع و سازگاری گونه های گیاهی کمک می کند. از طرفی بذرهای مصنوعی با ترکیب بافت های گیاهی با مواد شیمیایی و در آزمایشگاه ایجاد می شوند. این فرایند ممکن است منجر به از دست دادن تنوع ژنتیکی و توانایی سازگاری در گیاهان حاصل شود (Meyer et al., 2017). یک عامل مهم دیگر قابلیت و نرخ جوانه زنی بذرهای مصنوعی نسبت به بذرهای طبیعی است. بذرهای

طبیعی در طول میلیون ها سال برای تحمل شرایط محیطی مختلف تکامل یافته اند و احتمال جوانه زنی بهتر و بیشتری دارند. در حالی که بذرهای مصنوعی ممکن است به دلیل استفاده از مواد شیمیایی دارای قابلیت و نرخ جوانه زنی پایین تری باشند. این می تواند منجر به کاهش تعداد گیاهان حاصله شود (Meyer et al., 2017). از طرفی گیاه باریجه یکی از گونه های گیاهی بسیار مهم و ارزشمند بومی کشورمان ایران است که به طور محدود در کشور های افغانستان، هند، پاکستان، ارمنستان و ترکیه رشد میکند (رضایی و همکاران، ۱۳۸۵). این گیاه از تیره چتریان بوده و منوکارپیک است اما گزارش هایی از پلی کارپیک بودن برخی ژنوتیپ های آن نیز موجود است (عمارلو و مظفریان، ۱۳۹۶). اسانس این گیاه در صنایع داروسازی، چسپ سازی، آرایشی و غذایی مورد استفاده قرار میگیرد. همچنین از صمغ این گیاه برای تولید شوینده های آنتی باکتریال، تولید ادکلن و در نساجی و نقاشی استفاده می شود (منتظری و همکاران، ۱۳۸۹). اثر درمانی این گیاه نیز در تسکین سندروم محرومیت از

سه ماه در یخچال و در دمای ۴ درجه‌ی سانتیگراد نگهداری شده بودند، برای نرم شدن پوسته و تسهیل جداسازی جنین به مدت یک روز در آب مقطر قرار داده شدند. سپس این بذرها با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت پنج دقیقه و الکل اتانول ۷۰٪ به مدت یک دقیقه استریل شدند و سه بار با آب مقطر استریل شسته شدند. جنین این بذرها با استفاده از اسکالپل زیر هود لامینار جدا شد و به منظور دستیابی به گیاهچه در محیط MS1/2 کشت شدند و در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد در اتاقک رشد نگهداری شد. پس از گذشت یک ماه از کشت، از برگ‌های این گیاهچه‌ها ریزنمونه‌هایی با ابعاد ۱ سانتی‌متر تهیه شد و برای دستیابی به جنین سوماتیکی در محیط کشت MS1/2 حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP در شرایط استریل کشت شد و در دمای ۲۰ درجه و شرایط تاریکی قرار گرفت. ریزنمونه‌ها هر ماه در محیط کشت مشابه واگشت می‌شدند. پس از گذشت سه ماه این ریزنمونه‌ها جنین سوماتیکی تشکیل

مورفین است (Ramezani et al., 2001). همچنین فعالیت ضد صرع بذور این گیاه بر روی موش اثبات شده است (Sayyah et al., 2002). یکی از مشکلات رشد این گیاه، خواب عمیق بذرهاى آن است که در طبیعت حداقل ۹ ماه زمان میبرد. تحقیقات انجام شده نشان داده‌اند که خواب بذر در گیاه باریجه از نوع مورفوفیزیولوژیک عمیق و پیچیده است (رستمی و توکل افشاری، ۱۳۹۳). همچنین بهره‌برداری غیر اصولی و کنترل نشده از این گیاه باعث شده این گیاه در کشور در معرض انقراض قرار گیرد. از این رو تولید بذر مصنوعی این گیاه و تکثیر با این روش میتواند در کاهش طول دوره‌ی خواب بذور این گیاه موثر باشد.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به منظور بررسی امکان تولید بذر مصنوعی گیاه باریجه و امکان غلبه به خواب این گیاه با استفاده از این روش در پژوهشکده‌ی فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان انجام شد. در ابتدا بذرهاى گیاه باریجه‌ی توده‌ی استان فارس که از شهرستان آبادهی فارس جمع‌آوری شده بودند و به مدت

### تهیه‌ی محلول‌ها و روش کپسوله سازی

محلول آلژینات سدیم ۲٪ و محلول ۱۰۰ میلی مولار کلرید کلسیم آماده و با استفاده از اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه و به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. برای تهیه‌ی محلول آلژینات سدیم دو گرم از این ماده در ۱۰۰ میلی گرم آب مقطر اضافه شد و با استفاده از همزن مغناطیسی حل شد. سپس جنین‌های سوماتیکی و قسمت جنینی بذرها در محلول آلژینات قرار داده شده و به مدت پنج دقیقه درون ژل ماندند تا تمامی قسمت‌های جنین به ژل آغشته شوند. سپس با استفاده از لوله‌ی استریل جنین‌ها و بذرها از ژل آلژینات برداشته و با روش قطره چکانی در محلول کلرید کلسیم به منظور پلیمریزاسیون و سفت شدن کپسول‌ها شدند و به مدت ۱۵ دقیقه در این محلول قرار گرفتند، سپس این بذرها کپسوله شده برای شسته شدن یون‌های کلسیم به آب مقطر استریل منتقل شده و پنج دقیقه در آن ماندند و پس از آن بذرها خشک شده و در محیط MS1/2 کاشته شدند.

### تجزیه تحلیل داده‌ها و نرم افزارهای مورد استفاده

این آزمایش در قالب طرح کاملاً

داده و برای تولید بذر مصنوعی آماده شدند (شکل ۱ و ۲).

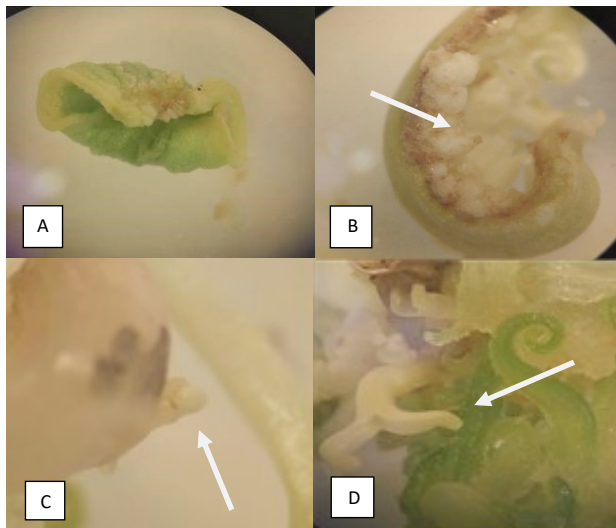
جداسازی جنین‌های بذری و جنین‌های سوماتیکی:

بذرهای باریجه به منظور نرم شدن و تسهیل جدا کردن قسمت جنینی به مدت ۲۴ ساعت در آب و در یخچال با دمای ۴ درجه‌ی سلنتیگراد قرار گرفتند، سپس این بذرها با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ به مدت پنج دقیقه و الکل اتانول ۷۰٪ به مدت یک دقیقه استریل و سه مرتبه با آب مقطر استریل شسته شدند. پوسته‌ی بذرها با استفاده از اسکالپل و پنس جدا شد و بخش آندوسپرم بذرها حذف شده و تنها قسمتی از بذر که شامل جنین بود باقی ماند. با توجه به این که خواب در گیاه باریجه علاوه بر شرایط فیزیولوژیک، تحت تأثیر شرایط مورفولوژیکی نیز هست (رستمی و توکل افشاری، ۱۳۹۳)، روی قسمت سرپوش بذر (tip cap) برشی ایجاد شد تا هیپوکوتیل بتواند پس از کشت به راحتی و بدون مانع رشد کند. همچنین جنین‌های سوماتیکی با استفاده از پنس و اسکالپل از روی کالوس‌ها جدا شدند و کپسوله شدند.

شده شامل طول گیاهچه بعد از ۱۵ روز و طول گیاهچه بعد از ۳۰ روز بودند که با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۶ آنالیز شدند. به منظور مقایسه‌ی میانگین‌ها از آزمون LSD و نرم‌افزار MstatC استفاده شد.

تصادفی با سه تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمار اول جنین‌های سوماتیکی قلبی شکل کپسوله‌شده، تیمار دوم جنین‌های سوماتیکی ازُداری کپسوله‌شده و تیمار سوم قسمت جنینی برش خورده و کپسوله‌شده‌ی گیاه باریجه بودند. صفات اندازه گیری

شکل ۱. تشکیل جنین سوماتیکی به صورت مستقیم

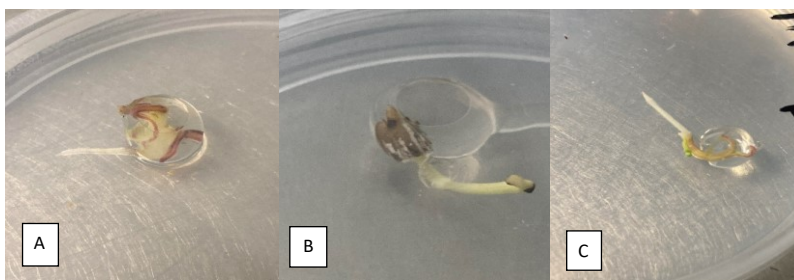


شکل ۲. مراحل جنین‌زایی سوماتیکی در گیاه باریجه. A: آغاز جنین‌زایی سوماتیکی - B: مرحله‌ی کروی - C: مرحله‌ی قلبی شکل - D: جنین ازُداری

## نتایج

نداشتند (شکل ۳) و در صورت جوانه‌زنی نیز رشد آن‌ها پس از گذشت حدود ۱۷ روز متوقف می‌شد. جوانه‌زنی بذرهای حاصل از جنین اژدری بعد از پنج روز آغاز شد، در صورتی که بذرهای حاصل از قسمت جنینی برش خورده بعد از گذشت هفت روز و تعدادی از بذرهای حاصل از جنین قلبی شکل بعد از ۱۱ روز شروع به جوانه زدن کردند. نتایج تجزیه واریانس این آزمایش بیانگر معنی داری هر دو صفت طول گیاهچه بعد از گذشت ۱۵ روز و طول گیاهچه بعد از گذشت ۳۰ روز با اطمینان ۹۵٪ بود (جدول ۱). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها هم نشان دهنده‌ی برتری بذرهای تولید شده از جنین‌های اژدری نسبت به دو تیمار دیگر بود.

نتایج این آزمایش نشان داد که با کپسوله کردن بوسیله‌ی آلژینات سدیم ۲٪ امکان تولید بذر مصنوعی و غلبه بر خواب گیاه باریجه که یکی از موانع اصلی در رشد این گیاه است وجود دارد. مشاهدات نشان داد که جنین سوماتیکی کپسوله شده در مرحله‌ی اژدری بهترین تیمار بود که نتایج مقایسه میانگین‌ها نیز این را تایید کرد. همچنین بذرهای تولید شده از قسمت جنینی برش خورده نیز نتایج قابل قبولی نشان دادند ولی جنین‌های سوماتیکی کپسوله شده در مرحله‌ی قلبی شکل رشد و جوانه‌زنی خوبی

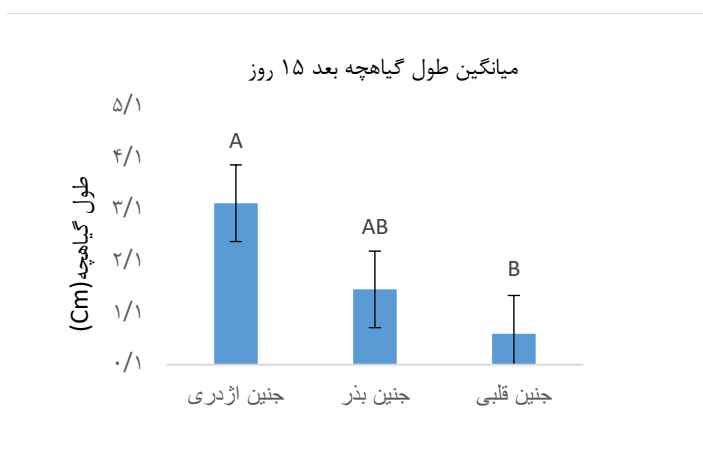


شکل ۳. A: جوانه‌زنی بذر حاصل از جنین اژدری- B: جوانه‌زنی بذر حاصل از قسمت جنینی- C: جوانه‌زنی بذر حاصل از جنین قلبی شکل

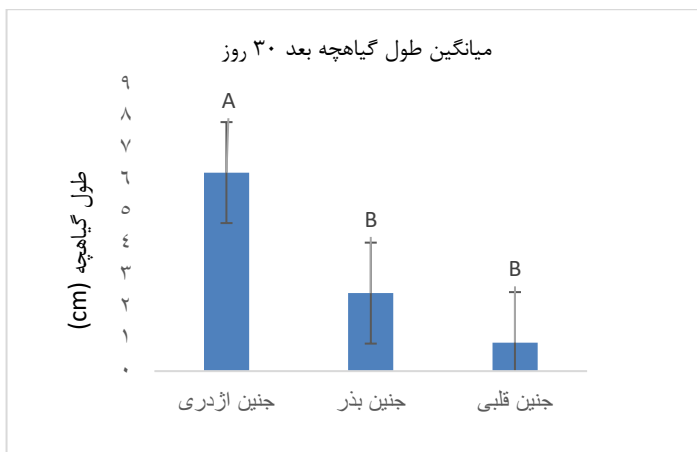
جدول ۱. تجزیه واریانس صفات طول گیاهچه بعد از ۱۵ و ۳۰ روز

میانگین مربعات			
منابع تغییر	درجه آزادی	طول گیاهچه بعد ۱۵ روز	طول گیاهچه بعد ۳۰ روز
تیمار	۲	۴/۹۷*	۲۲/۳۹*
اشتباه	۶	۰/۹۴	۲/۶۷

NS. \* و \*\* به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد



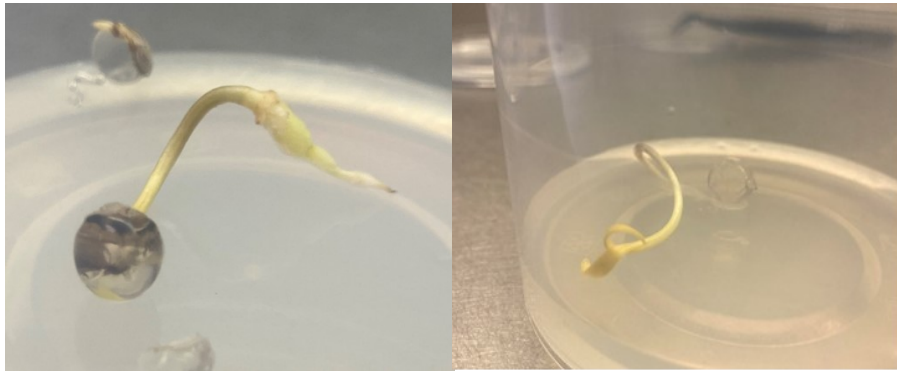
شکل ۴. نمودار مقایسه میانگین طول گیاهچه بعد از ۱۵ روز با آزمون LSD



شکل ۵. نمودار مقایسه میانگین طول گیاهچه بعد از ۳۰ روز با آزمون LSD

کپسوله شده ایجاد کرد، در حالی که تفاوت معنی داری بین گیاهچه‌های جنین اژدری کپسوله شده و قسمت جنینی برش یافته و کپسوله شده نبود. اما بعد از گذشت ۳۰ روز (شکل ۵) گیاهچه‌های حاصل از جنین سوماتیکی اژدری کپسوله شده (شکل ۶) با هر دو تیمار دیگر تفاوت معنی دار داشتند.

با توجه به جدول ۱ صفات طول گیاهچه بعد از ۱۵ روز و طول گیاهچه بعد از ۳۰ روز با اطمینان ۹۵٪ معنی دار بودند و این به این معنی است که بین تیمارهای مورد استفاده (جنین‌ها)، تفاوت وجود دارد. طبق شکل ۴، جنین اژدری کپسوله شده بعد از ۱۵ روز گیاهچه‌ی طویل تری نسبت به جنین قلبی شکل



شکل ۶. گیاهچه‌های حاصل از بذر مصنوعی (جنین اژدری) باریجه بعد از سی روز

جنین‌های سوماتیکی استفاده کرد. همچنین (مجد و همکاران، ۱۳۹۵) بذر مصنوعی گیاه زالزالک را با کپسوله کردن مریستم جوانه انتهایی شاخه‌های جوان و جوانه جانبی مجاور برگ‌ها تولید کردند ولی این بذرها درصد جوانه‌زنی کمی داشتند. با توجه به شرایط پیچیده رشد گیاه باریجه همچنین چند ساله بودن این گیاه استفاده از مریستم‌ها و نوک ساقه‌ی این

## بحث

بذرهای مصنوعی را می‌توان با کپسوله کردن قسمت‌های مریستمی گیاهان، جوانه‌های جانبی، نوک ساقه و جنین‌های پیکری تولید کرد. در آزمایشی (مرادی و همکاران، ۱۳۹۵) بذر مصنوعی گیاه آفتابگردان را با کپسوله کردن نوک ساقه تولید کردند و نشان دادند از این ریزنمونه می‌توان به عنوان جایگزین

جنین سوماتیکی ایجاد میکند. همچنین (Roozbeh et al., 2012) در گیاه آنگوزه که گیاه دیگری از جنس *Ferula* است، ریزنمونه‌ی برگ و استفاده از ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر KIN در محیط B5 را برای جنین‌زایی مستقیم مناسب دانستند. نتایج این آزمایش نیز این را تایید کرد که استفاده از ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون اکسین و ۱ میلی‌گرم هورمون سیتوکینین نتایج مطلوبی روی جنین‌زایی سوماتیکی مستقیم جنس *Ferula* دارد. در آزمایشی دیگر (قاسمیان و همکاران ۱۳۹۱) نیز در گیاه وشا که گیاه دیگری از جنس *Ferula* است، روش مستقیم و استفاده از ریزنمونه‌ی جنین و ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون NAA همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA را برای جنین‌زایی مناسب دانستند و این گیاه پس از گذشت دو ماه در این شرایط جنین سوماتیکی ایجاد کرد. در نهایت با استفاده از روش و غلظت هورمونی مناسب و کوتاه‌تر کردن طول دوره‌ی جنین‌زایی سوماتیکی میتوان بذر مصنوعی را در زمان کمتری تولید کرد و باعث بهینه‌سازی این بذرها شد.

گیاه به منظور تولید بذر مصنوعی روش مناسبی نبوده و تهیه‌ی ریزنمونه از این قسمت‌ها کار ساده‌ای نیست به همین دلیل در این آزمایش امکان تولید این بذرها با استفاده از جنین‌های سوماتیکی و قسمت‌های جنینی بذر بررسی شد. در این آزمایش به منظور دستیابی به جنین سوماتیکی گیاه باریجه از روش مستقیم و غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP و ریزنمونه‌ی برگ استفاده شد. در آزمایشی دیگر برای دستیابی به جنین سوماتیکی از روش غیر مستقیم و ریز نمونه‌ی جنین برش‌یافته استفاده کردند بدین صورت که در ابتدا جنین برش‌یافته به منظور تولید کالوس در محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر هورمون BAP کشت و سپس به محیط حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA منتقل شد (Bernard et al., 2007) که استفاده از این روش زمان بیشتری نسبت به روش مورد استفاده در این آزمایش میبرد. استفاده از روش غیرمستقیم برای جنین‌زایی سوماتیکی حداقل ۴ ماه زمان میبرد در حالی که روش مستقیم که در این آزمایش انجام شد، حداکثر تا ۳ ماه

تعیین غلظت مناسب ژل آلژینات سدیم یکی دیگر از فاکتورهای مهم در تولید بذره‌های مصنوعی است، غلظت مناسب آلژینات برای کپسوله کردن بسته به گیاه مورد استفاده و بافت مورد استفاده برای تولید بذر متفاوت است. در این آزمایش برای تهیه‌ی بذره‌های مصنوعی از ژل آلژینات سدیم ۲٪ و جنین سوماتیکی استفاده شد و بذره‌های تولید شده با این غلظت آلژینات سدیم نتایج قابل قبولی نشان دادند که این موضوع با نتایج آزمایشی دیگر (سربی و مرادی ۱۳۹۷) که بذر مصنوعی هیدراته را برای گیاه دارویی چویل و از جنین سوماتیکی تولید کردند همخوانی دارد. در آزمایشی دیگر برای تولید بذر مصنوعی از جنین سوماتیکی گیاه آفتابگردان از آلژینات سدیم ۳٪ استفاده شد و نتایج قابل قبولی داشت (مرادی و همکاران، ۱۳۹۴). همچنین نتایج آزمایش (Badreldin.,2013) روی اثر غلظت‌های مختلف ژل آلژینات برای تولید بذر مصنوعی توت‌فرنگی نشان داد که استفاده از غلظت ۲٪ باعث ضعیف شدن کپسول‌ها و قهوه‌ای شدن نوک ساقه‌چه می‌شود و استفاده از غلظت ۴٪ باعث سفت شدن کپسول‌ها و رشد

نکردن پروپاگول‌ها میشود بنابراین غلظت ۳٪ را برای تولید بذر مصنوعی توت‌فرنگی مناسب دانست. این نتایج تایید میکنند که تعیین غلظت مناسب ژل آلژینات به منظور کپسوله کردن بذر مصنوعی تحت تأثیر عواملی مانند گونه‌ی گیاهی، ژنوتیپ، سن گیاهچه‌ای که از آن به عنوان ریزنمونه استفاده شده و بافت ریزنمونه‌ای که برای تولید بذر، کپسوله میشود است. (Sharma et al.,2013)

همچنین زمانی که بذرها به منظور پلیمره شدن در محلول کلرید کلسیم می‌مانند نیز در کیفیت بذر تأثیر دارد. در این آزمایش بذرها به مدت ۱۵ دقیقه در کلرید کلسیم ماندند و این مقدار زمان باعث ایجاد پوشش مناسبی برای بذرها بود، این پوشش به اندازه‌ای نرم نبود که بذر رطوبت خود را از دست بدهد و به اندازه‌ای سخت نبود که مانع جوانه‌زنی بذرها شود. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که قرار دادن بذره‌های مصنوعی گیاه سیر به مدت ۱۰ دقیقه در محلول کلرید کلسیم باعث شد که هیچ کدام از بذرها جوانه نزنند در حالی که ۳۰ دقیقه قرار گرفتن در محلول کلرید کلسیم باعث جوانه‌زنی تعداد زیادی از بذرها شد (Bekheet,2006).

سریع تر گیاه شود که در نهایت باعث میشود گیاه به صورت اتوترف و بدون وابستگی به کپسول رشد کند.

### نتیجه گیری کلی

در این آزمایش از جنین های سوماتیکی در مراحل قلبی شکل و مرحله اژدری و همچنین قسمت جنینی بذر به منظور تولید بذر مصنوعی استفاده شد و نتایج نشان داد استفاده از جنین سوماتیکی در مرحله اژدری مناسب ترین تیمار جهت تولید بذر مصنوعی است. به منظور کپسوله کردن بذر ها از آلژینات سدیم با غلظت ۰.۲٪ استفاده شد و بذر ها در محلول ۱۰۰ میلی مولار کلرید کلسیم به مدت ۱۵ دقیقه پلیمره شدند که این روش، روش مناسبی برای تولید بذر مصنوعی این گیاه بود. با توجه به هدف این آزمایش که کوتاه کردن دوره خواب و غلبه بر مشکلات جوانه زنی در گیاه باریجه بود، استفاده از فناوری بذر مصنوعی توانست به صورت مطلوبی بر خواب این گیاه غلبه کند و خواب این گیاه را که در شرایط طبیعی تا ۹ ماه زمان میبرد را به حدود ۷ روز برساند. بنابراین به منظور بهینه سازی بذر های مصنوعی باید روی افزایش کیفیت

با توجه به اینکه آزمایش های انجام شده روی بذر های مصنوعی در شرایط کشت بافتی و استریل انجام شده، کشت این بذر ها در خاک می تواند محدودیت هایی از قبیل آلوده شدن بذر و همچنین خشک شدن و از بین رفتن کپسول بذر را پس از گذشت مدتی از کشت همراه داشته باشد. استفاده از آنتی بیوتیک هایی نظیر timentin, carbenicillin, cefotaxime, kanamycin که در کشت بافت برای کنترل آلودگی استفاده می شوند و برای گیاه سمیت ندارند (اثنی عشری و خسروشاهی، ۱۳۹۲) در ماتریکس بذر ها میتواند تا حدودی باعث کنترل آلودگی در این بذر ها شود. همچنین با تسریع رشد بذر ها و استقرار سریعتر گیاهچه میتوان مشکل خشک شدن کپسول را تا حدودی برطرف کرد. بررسی ها نشان داده که بسیاری از جوانه ها و بذر ها در حالت خواب حاوی مقادیر بالایی هورمون آبسزیک اسید (ABA) اند و شکستن خواب آن ها مستلزم حذف این هورمون است که این امر با استفاده از هورمون GA<sub>3</sub> انجام می شود (طباطبایی و امیدی، ۱۳۸۸) بنابراین استفاده از این هورمون در ماتریکس بذر ها می تواند باعث تسریع جوانه زنی بذر و رشد

جنین‌های سوماتیکی و همچنین استفاده از مواد غذایی در ماتریکس بذرها تحقیقاتی انجام داد همچنین استفاده از قارچ‌کش‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها در ماتریکس بذر میتواند امکان کشت مستقیم در مزرعه را بدهد.

## منابع

- در توده‌های باریجه، گیاهشناسی ایران، ۲۳-۱، ص ۴۸-۵۵
- اثنی عشری.م. زکایی خسروشاهی.م. (۱۳۹۲). راهنمای جامع کشت بافت گیاهی. انتشارات دانشگاه بوعلی سینا، همدان. ص ۶۶
- حق نظری.آ، عظیمی.م، (۱۴۰۱). نگاهی به فناوری بذر مصنوعی و بررسی چالش‌های آن، زیست فناوری گیاهان دارویی، ۸-۱. ص ۱۱۰-۱۲۵
- رضایی.م، برنارد.ف، شفیعی دارابی.س. (۱۳۸۵). باریجه. مجله تحقیقات گیاهان دارویی ایران. ۱۷. ۱-۷۳
- رستمی.م، توکل افشاری.ر. (۱۳۹۳). تعیین نوع خواب بذر گیاه باریجه توده ی دماوند و نیاز های بذر برای شکست خواب، ۴۵-۲، ص ۲۶۳-۲۵۵
- سربی.ا. مرادی.ع. (۱۳۹۷). تولید بذر مصنوعی هیدراته در گیاه دارویی چویل از طریق کپسوله کردن جنین رویشی. مجله ی پژوهش های گیاهی جلد ۳۱. شماره ۱. ص ۱۰۸-۱۱۸
- طباطبایی.ب.ا. امید.م. (۱۳۸۸). کشت بافت و سلول گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ص ۱۰۷
- عمارلو.ع، مظفریان.و.ا. (۱۳۹۶). اولین گزارش از بررسی و معرفی پلی کاری
- قاسمیان.خ. ناظری.س. چهرگانی.راد.ع. میرزایی.ا. (۱۳۹۱). تولید کالوس رویان زا از رویان بذری گیاه وشا. مجله ی پژوهش های گیاهی ۲۸-۲. ص ۳۶۴-۳۷۳
- مجد.ا. زندی.ن. اربابیان.ص. شریفنیا.ف. (۱۳۹۵). بررسی مقایسه ای تولید بذر مصنوعی دو گونه سرخ ولیک (زالزالک) از راه کشت مریستم و رویان های پیکری. سلول و بافت. جلد ۷. شماره ۲. ص ۱۲۱-۱۲۹
- مرادی.س. پورداد.س.س. عظیمی.م. حبیبی.ف. ذولنوریان.ح. (۱۳۹۴). اثر ترکیب ماتریکس آلژینات بر میزان رشد بذر های مصنوعی حاصل از کپسوله کردن جنین های سوماتیکی در دو هیبرید ایرانی آفتابگردان. به زراعی نهال و بذر ۳۲-۲. ص ۵۷-۷۳
- مرادی.س. پورداد.س.س. عظیمی.م. حبیبی.ف. ذولنوریان.ح. (۱۳۹۵). تولید بذر مصنوعی از طریق کپسوله کردن نوک شاخه ها در دو هیبرید ایرانی آفتابگردان. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی. ش ۱۷. ص ۱۷۴-۱۸۳

- storage of *Curcuma amada* Roxb. Synseed on Luffa sponge matrix and RAPD analysis of the converted plantlets. *Industrial Crops and Product*. 1:383-388
- Bekheet, S.H.(2006), A synthetic seed method through encapsulation of in vitro proliferated bulblets of garlic (*Allium sativum* L.). *Arab. J. Biotech*, 9(3): 415-426.
  - Bernard F, Bazarnov H, Javadi L, Shafieidarabi A, Sheidai M.(2007), *Ferula gummosa* embryonic culture and karyological changes. *Pakistan journal of biological sciences* ,10(12),1977-1983
  - Brown.l.jones.m (2018). somatic embryo seed production:methods and applications in plant propagation.biotechnology advances.vol.18.no3 :395-416
  - Gonzalez-Arno MT, Juarez J, Ortega C, Navarro L.(2003), Duran-Vila Cryopreservation of ovules and somatic embryos of citrus using the encapsulation-dehydration
  - منتظری.ف،ایمانی.ن،امیدی.م.(۱۳۸۹). مقایسه روشهای مختلف کشت بذر و جنین و بررسی اثر زغال فعال در بهینه سازی کشت درون شیشه گیاه دارویی باربچه. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران.جلد۲۶.شماره ۴. ۵۸۳-۵۹۵
  - Ali A, Gull I, Majid A, Saleem A, Naz S, Naveed NH.(2012) ,In vitro conservation and production of vigorous and desiccate tolerant synthetic seeds in *Stevia rebaudiana*.. *J Med. Plants Res.*; 6:327-1333.
  - Badr-Elden, A.. (2013), An Effective Protocol for in vitro Storage and ex vitro Re-Growth of Strawberry Capsules. *Atlas. J. of Chemis and Biochemist.*, 1(2):30-38.
  - Bapat VA, Mhatre M.(2005). Bioencapsulation of somatic embryos in woody plants. In protocol FPR somatic embryogenesis in woody plants; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 539-552
  - Banerjee S, Singh S, Pandey H, Pandey P, Rahman L.(2012), Conservation and

- pentylene-triazole and electroconvulsive shock in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 82(3): 105-109.
- Sharma, S. Shahzad, A. J.A. (2013). Teixeira da silva Synseed technology- A complete synthesis, *Biotechnology Advances*, V 33. P 186-207.
  - Hussein, i, abed. b (2024), alalwani. anmar. artificial seeds technology: a review. *anbar journal of agricultural sciences*; 21(2): 136-147
  - Meyer, b, schmid. m . (2017) artificial seeds: methods and applications. *springer* 7.(4)-71
  - Ramezani, M., Hosseinzade, H. and Mojtahedi, K. (2001), Effects of *Ferula gummosa* Boiss. Fraction on morphine dependence in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 77(1): 71-75
  - Roozbeh, S . Otroshy, M Bozorgipoor, R . Ebrahimi, M . Moeini Najafabadi, A . Struik. P.C. (2012), Micropropagation of *Ferula assa-foetida* L. (a medicinal plant) via direct somatic embryogenesis. *acta hort.* 964-18; 143-152
  - Sayyah, M., Mandgary, A. and Kamalinejad, M., (2002). Evaluation of the anticonvulsant activity of the seed acetone extract of *Ferula gummosa* against seizures induced by technique. *Cryo Letters*. 24:85-94.