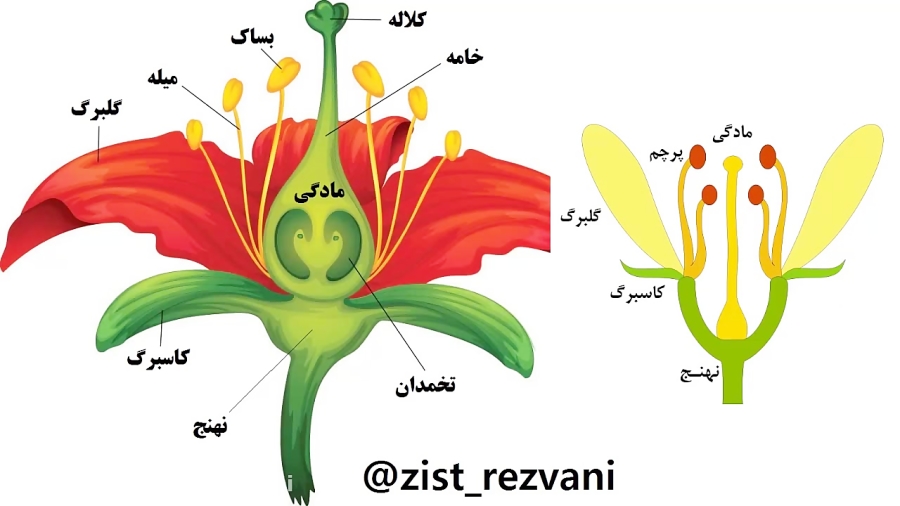
نام و نام خانوادگی : افسانه رحیمی

دانشگاه پیام نور مرکز پاکدشت

استاد : سرکار خانم کره ای

جنین‌زایی در نهاندانگان



**مقدمه**

رشد جنین در نهاندانگان به چندین مرحله تقسیم میشود. تخم به شکل نامتقارن به یک سلول آپیکال کوچک و سلول بازال بزرگ تقسیم میشود. الگوی سازمانی شکل گرفته در مرحله کروی و جنینی به مرحله لپه انتقال می‌یابد. رشد جنین در **تک لپه‌ای‌ها** و **دولپه‌ای‌ها** متفاوت میشود.

دولپه‌ای‌ها مراحل کروی، اسکتلار و کلئوپتیلار را سپری میکنند بسیاری از سیستم‌های کشت جنین زایی سوماتیک را به وسیله در معرض قرار دادن مداوم با **2و4\_دی‌کلروفنوکسی استیک اسید** القا و حفظ میکنند.

گزارش شده است که آبسیزیک اسید جنین زایی را در نهال ها القا میکند. بعد از شکل گیری کالوس، کشت دادن روی یک محیط کشت فاقد اکسین یا با اکسین کم، رشد جنین یا شکل گیری ریشه را بهبود خواهد داد.

در تک لپه‌ای‌ها قابلیت جنین‌زایی معمولا به بافت‌های با منشا جنینی یا مریستمی محدود شده است.

سلول‌های سوماتیک تک‌لپه‌ای‌ها خیلی زود تمایز میابد و سپس ظرفیت میتوزی و موفوژنیک را از دست میدهند.

تفاوت حساسیت به اکسین در رشد کالوس‌های جنینی میان ژنوتیپ‌های متفاوت گونه‌های یکسان نشان میدهد که پاسخ‌های اکسینی میتواند متفاوت باشد.

در گیاهان نهان دانه که لقاح مضاعف صورت میگیرد جنین حاصل آمیزش سلول‌های تخمزای n کروموزومی با یکی از سلول‌های آنتروزوئید n است. به عبارتی سلول تخمزای لقاح یافته یا تخم در درون تخمک از طریق فرآیند جنین‌زایی، جنین را در داخل بذر به وجود می‌آورد. چنین ساختمانی قطبی است به طوری که در یک سمت آن طرح‌های اولیه ساقه و اندام هوایی و در طرف دیگر آن طرح‌های اولیه ریشه‌چه وجود دارد.

در شرایط طبیعی هنگامی که بذر در محیط مناسب از نظر دما، رطوبت، اکسیژن و... قرار میگیرد، جنین با استفاده از آنزیم های موجود از ذخیره غذایی بذر و لپه‌ها، آندوسپرم و.. استفاده کرده و در هر دو جهت رشد و نمو پیدا میکند. همانند اندام های دیگر گیاه، از جنین میتوان به عنوان یک ریز نمونه در محیط کشت استفاده کرد.

گیاهان گلدار علاوه بر اینکه از رشد و نمو تخمک بارور شده تولید جنین میکنند، میتوانند از سلولها و بافت های رویشی یا سوماتیکی نیز ایجاد جنین بنمایند.

**ریخت شناسی در گل :**

* **گلبرگ** (petals) : به مجموعه گلبرگ و جام گل یا corola میگویند.
* **کاسبرگ** (sepals) : به مجموع کاسبرگ‌ها کاسه گل یا calyx میگویند.
* **پرچم** (stamens) : پرچم‌ها اندام نر گیاه که گرده تولید میکنند و تشکیل شده از بساک Anther میله پرچم Filamen هستند.
* **مادگی** (pistil) : مادگی اندام ماده گل که شامل کلاله Stigma، تخمدان Ovary میباشند.

**مگاسپور:**

در داخل بافت خورش سلولی به نام اکسپوریال ظاهر میشود که ظاهر توسعه یافته آن را از سلولهای مجاورش متمایز میکند. همراه با بزرگ شدن این سلول هسته آن نیز بزرگ میشود و سیتوپلاسم آن جهت آمادگی برای تقسیم شدن متراکم‌تر میشود.

اولین تقسیم (میتوز) به تولید سلول مادرمگاسپور یک جانبی منجر میشود که سلول جانبی به صورت غیر قابل تقسیم باقی می‌ماند و به زودی از بین میرود.

**سلول مادر مگاسپور** دیپلوئید کروموزومی میباشد و دارای کروموزوم‌های مشابه با گیاه والد میباشد این سلول تحت نقسیم دو مرحله‌ای میوز قرار میگیرد و این فرایند به تولید 4 سلول مگاسپور میگردد که هر کدام دارای نیمی از کروموروم‌های گیاه مادری هستند که به آنها سلولهای هاپلوئید میگویند.

معمولا سه سلول از سلول‌های مگاسپور از بین میروند و فقط یک سلول مگاسپور که دورتر از سوراخ سفت قرار دارد باقی می‌ماند.

**تشکیل کیسه جنینی (مگاگامتوژنز)**

به نمو کیسه جنینی یا گامتوفیت ماده از مگاسپور فعال (باقیمانده) را **مگاگامتوژنر** گویند.

در طی این فرایند در نتیجه تقسیم متوالی هسته سلول کیسه جنینی تولید میشود سه تقسیم متوالی صورت میگیرد که منجر به تولید 8 هسته هاپلوئید میگردد که این هسته ها در داخل کیسه جنینی در حال رشد سازمان پیدا میکنند و اطراف آنها دیواره و دستگاه تخم شکل میگیرد سه سلول متقاطر (آنتی پودال) در یک طرف سلول، دو سلول قطبی در نزدیکی مرکز کیسه و دستگاه تخم که شامل سلول تخمزا بین دو سلول قرینه یا سینرژید در انتهای کیسه جنینی قرار میگیرد.

بافت خورش توسط پوششهای تخمدانی احاطه شده و از آنها تغذیه میکند.

سلول باقی مانده که تبدیل به کیسه جنینی میشود را مگامتوژنر گویند.

**میکروسپور**

در داخل بساک 4 سلول وجود دارد که از بقیه سلولها متمایزتر اند که به این سلولها ارکسپوری (2n) کروموزومی گفته میشود.

که این سلول ها در ابتدا طی تقسیم مماسی (میتوز) تولید دو سلول مادر میکروسپور (2n) و سلول حاشیه ای (2n) را میدهند.

هر کدام از سلولهای مادر میکروسپور به صورت جداگانه با تقسیم میوز تشکیل 4 سلول هاپلوئید (n) به نام سلول میکروسپورا را میدهند و هر سلول میکروسپور از طریق تقسیم میتوز 2 هسته را به وجود می آورند که یکی از هسته‌ها با مقداری سیتوپلاسم، سلول زایشی را به وجود می آورد و هسته دیگر با بقیه سیتوپلاسم تبدیل به سلول رویشی میشود.

هسته رویشی تا زمانی که روی تخمدان قرار میگیرد از کار می افتد و هسته زایشی با تقسیم میتوز تشکیل 2 دانه گرده به نام **آنتروزئید** را میدهد. آنتروزوئید با سلول تخمزا لقاح پیدا کرده و سلول تخم دیپلوئید را به وجود می‌آورد و آنتروزوئید دوم با هسته قطبی تلقیح پیدا میکند و آندوسپرم (3n) کروموزومی را به وجود می‌آورد.

**قوانین جنین‌زایی**

برای توصیف نمو جنین 4 قانون ارائه میشود :

قانون صرفه‌جویی : هیچ سلولی مازاد بر نیاز مطلق تولید نمیشود.

قانون مبدا : در هر گونه گیاهی حوالی تشکیل سلول به روش مشخص یا چنان نظمی ایجاد میشود که مبداء هر سلول را میتوان بر حسب یا بر اساس واحدهای پیشین مشخص کنیم.

قانون تعداد : تعداد سلولهای تولید مثل شده بر حسب گونه متفاوت اند و به سرعت تقسیم سلول‌های نسل مشابه بستگی دارد.

قانون مقصد : در حالت نمو طبیعی جنین، سلولها با تقسیمات کاملا جهت دار ایجاد میشوند و به نظر میرسد که بر اساس نقشی که ایفا میکنند در مکان‌های مناسب قرار میگیرند.

**آندوسپرم**

اندوخته غذای اصلی برای جنین بسیاری از گونه های گیاهی به‌خصوص تک لپه ای‌ها میباشد که طی نمو بذر و جوانه‌زنی موزد استفاده قرار میگیرد و در نهاندانگان از تلقیح یک هسته سلول اسپرم با هسته های دیپلوئید قطبی حاصل ازکیسه‌های جنین به وجود می‌آید که هسته تشکیل شده را تریپلوئید گویند.

و از اصلی ترین کارکردهای آندوسپرم از طریق تامین ذخایر غذایی برای کیسه جنین و ترکیب آندوسپرم مطابق با نیازهای جنین است، آندوسپرم را جنین غیرعادی نیز میگویند چون به صورت (3n) کروموزومی میباشد.

بافت خورش : از سلول‌های مریستمی به وجود می‌آیند (زایا) مدام در حال تقسیم هستند.

بافت خورش از زمان تشکیل ارکسپوریال تا کامل شدن مگاگامتوژنز (کیسه جنینی) برای تغذیه جفت استفاده میشود و در انتها تحلیل میرود و تغذیه جنین از آندوسپرم صورت میگیرد.

**نحوه آرایش تخمک**

نحوه آرایش تخمک‌ها در تخمدان را **تمکن** یا **جفت بندی** میگویند. که در گیاهان نهاندانه بر دو نوع میباشد:

**تمکن برگی** : تخمک ها بر روی برچه‌ها استقرار دارند و بر حسب اینکه بر روی چه قسمتی از برچه قرار بگیرند انواع مختلفی دارند.

**تمکن ساقه ‌ای** : استقرار تخمک‌ها بر روی نهج یا امتداد محور گل است و محل استقرار تخمک‌ها منشاء ساقه‌ای دارد.

از انواع تمکن‌های دیگر میتوان : تمکن کناری، تمکن محوری، سطحی، حاشیه‌ای، قاعده‌ای و تمکن تیغک دار را نام برد.

**تخمک‌ها بر اساس نحوه قرارگرفتن سفت با بند**

به پنج نوع تقسیم میشوند:

1) **راست‌گرد** : تخمک بالغ راست است و سفت در امتداد بند (به صورت طولی) قرار گرفته است.

2) **واژگون (واژگرا)** : متداولترین نوع تخمک در نهاندانگان تخمک 180 درجه خم میشود بطوری که سفت به بند نزدیک میشود.

3) **نیمه واژگون** : این نوع تخمک واژگراست، تخمک عمود بر بند و سفت و شالاز (بن) در یک خط راست سفت دورتر از ناف قرار دارد همانند تیره پامچال.

4) **آمفی تروپ** : هنگامی که انحنای جسم تخمک بیشتر از خمیدگی اندام تخمک در نوع خمگراست و کیسه رویانی شکل اسبی به خود

میگیرد که این نوع تخمک را آمفی تروپ میگویند. همانند تیره آلیسماتاسه‌آ

**انواع نمو آندوسپرم**

توسعه آندوسپرم نسبت به توالی تقسیم هسته و تشکیل دیواره سلولی به سه صورت دیده میشود :

1) **آندوسپرم سلولی (Cellular Endosperm)** : در این نوع آندوسپرم هر تقسیم هسته‌ای با تشکیل دیواره سلولی همراه است و کل آندوسپرم دارای سلول دیواره است.

2) **آندوسپرم هسته‌ای (Nuclear Endosperm)** : در این نوع آندوسپرم تقسیمات هسته‌ای با تشکیل دیواره سلولی همراه نیست و هسته بصورت آزاد باقی می‌ماند.

3) **آندوسپرم هلوبیال (Helobial Endosperm)** : این آندوسپرم حدواسط آندوسپرم هسته‌ای و سلولی است. تقسیم هسته در این نوع آندوسپرم معمولا به‌صورت آزاد باقی می‌ماند ولی در بخش های به‌خصوص نزدیک به سفت همراه با تشکیل دیواره سلولی است.

**مکنده آندوسپرم**

یکی از جنبه‌های قابل توجه در آندوسپرم در حال نمو ظرفیت آن در جذب مواد غذایی از بافت های اطراف و استفاده ار آن در رشد و نمو میباشد و از زاویه جمع‌ آوری کننده مواد غذایی که مکنده یا هوستورسا نامیده میشود و به داخل بافت‌های پوششی و حتی بافت تخمدان میرسند. وقتی که ذخیره نهایی اطراف تخلیه شد بازوهای مکنده آندوسپرم در اثر رشد بیشتر جنین و آندوسپرم کوچک شده و تحلیل میروند.

**نمو تخمک**

نمو تخمک داخل تخمدان، محلی است برای رشد و نمو گامتوفیت ماده، تلقیح با گامتوفیت نر، توسعه جنین و فعالیت‌های داخلی و خارجی هستند که این پوششها سرانجام به پوسته بذر (Testa) تبدیل میشوند. تخمک در حال نمو معمولا از طریق بند به جفت متصل میشوند و به صورت میله باریک و کوتاهی است که تخمک را به تخمدان وصل میکند. به زائده‌ای که روی تخمک قرار دارد و بعد از رسیدن از بند جدا میشود را شالاز (بن) گویند.

در برخی از ارقام بین بند و ناف فضایی وجو دارد که آن را رافه مینامند.

با آغاز تشکیل سلول تخم، بطور پیش رونده‌ای قطبی شدن در طول محور جنینی صورت میگیرد یک محور راسی پایه ای که بین دو راس ساقه و ریشه و یک محور شعاعی که از مرکز به سمت خارج گیاه در نظر گرفته میشود.

تقریبا تمام رویان (جنین) و در نتیجه گیاه بالغ از سلول راسی گیاه قبل از اینکه پروتودروم و آویز (بندآویز) کاملا تمایز پیدا کند، دو تقسیم عمودی و یک تقسیم افقی گویچه 8 سلولی یا اکتانت را به وجود می‌‎آورد و سلول پایینی نیز تقسیم میشود. اما تمام تقسیمات به صورت افقی و عمود بر محور جنینی است.

حاصل این تقسیمات رشته ای شامل 8 تا 9 سلول که آویز یا بند آویز یا **سوسپانسور** نامیده میشود که این بند آله رویان را به دستگاه آوندی گیاه متصل میکند. فقط یکی از سلول‌های مشتق شده از سلول پایه در رویان شرکت میکند که این سلول نزدیکترین سلول به رویان است که هیپوفیز نامیده میشود و در مراحل بعدی تقسیم میشود و ستونک یا بخش کروی کلاهک ریشه و یک بخش مریستم راسی ریشه در قسمت راس ریشه بنام مرکز آرام را به وجود می‎‌آورد.

اگر چه رویان در سراسر مرحله گویچه‌ای تقریبا کروی شکل است ولی به دنبال رشد رویان مرحله قلبی شکل اینجاد میشود و پس از آن در اثر رشد بیشتر لپه‌ها، مرحله قلبی شکل کامل شده و مرحله اژدی (مرحله 3 رویان زایی) قابل تشخیص است .

**سه ناحیه محوری دیده میشود**

1) **ناحیه راسی** : که مشتق شده از بخش راسی سلول ها که لپه ها و مریستم راسی ساقه را به وجود می‌آورد.

2) **ناحیه میانی** : که مشتق شده از سلول‌های بخش پایه که محور زیر لپه ریشه و بیشتر مریستم ریشه را ایجاد میکند.

3) **هیپوفیز** : که از بالاترین سلول‌های آویز مشتق شده و مابقی مریستم ریشه را که شامل مرکز آرام است را به وجود می آورد.

طرح رویان زایی در گیاهان تک لپه‌ای و دولپه‌ای متفاوت است.

**جنین زایی رویشی یا سوماتیک**

هنگامی که جنین از بافت‌ها یا سلول‌های غیرزایشی هاپلوئید (n کروموزومی) یا دیپلوئید (2n کروموزومی) به وجود آید به آن جنین‌زایی رویشی گفته میشود.

در واقع جنین زایی رویشی فرایندی است که طی آن سلول‌های رویشی (غیر گامتی) تمایز یافته و تشکیل ساختار دو قطبی شامل محور ریشه و ساقه میدهند. جنین‌زایی رویشی، مشابه جنین‌های زیگوتی بوده و میتوانند بالغ شده و جوانه بزنند.

تولید جنین رویشی به طور طبیعی در بین تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی توسط بافت خورشت و یا سلول‌های قرینه و یا سول‌های کناری برگ‌ها اتفاق می‌افتد.

تشکیل جنین یکی از مهم ترین مسیرهای القا باززایی از کشت بافت در شرایط کشت درون شیشه ای است که یا به طور مستقیم از سلول و یا از یک بافت تمایز یافته مثل ساقه یا جنین زایشی و یا به طور غیرمستقیم از طریق کشت کالوس، پروتوپلاست و سوسپانسیون سلولی به‌وجود می‌آید.

ساقه‌ها و ریشه‌ها تک‌قطبی (monopolar) هستند در حالیکه جنین‌های سوماتیک دو قطبی (bipolar) هستند که منجر به شکل‌گیری گیاه کامل بدون کشت روی چندین محیط کشت میشوند.

جنین‌زایی سوماتیک به عنوان یک مدل برای فهم و درک وقایع بیوشیمیایی و بیوفیزیکی در طول فرایند توسعه گیاه و همچنین به عنوان جزئی از پیشرفت‌های زیست فناورانه استفاده میشود. اولین استاد و مدارک جنین‌زایی سوماتیک به وسیله **استفوراد** و همکارانش در سال 1985 و راینر و همکارانش در سال 1959 با کشت‌های سوسپانسیون سلولی هویچ جمع‌آوری شد.

جنین زایی سوماتیک به دو طریق صورت میگیرد : مستقیم و غیرمستقیم.

جنین‌زایی مستقیم زمانی اتفاق می‌افتد که جنین به طور مستقیم از بافتی که یک کلون همسان ایجاد کرده است، آغاز میشود. در حالی که در جنین‌زایی غیرمستقیم بافت از سلول‌های تمایز نیافته یا تمایز یافته ناقص که بعدا به بافت های تمایز یافته تبدیل میشوند، منشا میشود.

**جنین‌زایی زایشی و رویشی**

جنین‌های رویشی در بعضی موارد با جنین‌های زایشی تفاوت نشان داده اند. در مراحل اولیه، پایه جنینی در جنین‌های رویش کمتر تولید میشود. بی‌استفاده بودن آن در شرایط In vitro میتواند یکی از دلایل آن باشد.

یک تفاوت مهم این میباشد که جنین‌های زایشی بعد ار تشکیل محورهای جنینی با مریستم‌های انتهایی آماده خواب میشوند، جنین‌های رویشی وارد این مرحله نشده و جنین‌زایی از سلول ابتدایی تا تشکیل گیاهچه بدون وقفه ادامه می‌یابد .

در شرایط زنده نیز تکامل تا مرحله تورپد و مشابه جنین‌زایی رویشی است. اما در مراحل انتهایی، توسعه جنین‌ های رویشی، خصوصا برنامه توسعه مریستم ها، مسیری را طی میکند که شباهت بیشتری به اندام زایی دارد.

**ویژگی سلول های جنین**

تمام سلول‌های رویشی در یک گیاه حاوی تمام اطلاعات ژنتیکی لازم برای ایجاد یک گیاه کامل میباشند. تنظیم زمان و مکان بیان ژن‌ها، اجازه تمایز به ارگان های مختلف حین رشد گیاه را میدهد.

القا جنین زایی رویشی شامل خاتمه الگوی بیان ژن‌های موجود در بافت ریز نمونه و جایگزینی برنامه بیان ژن‌های جنین‌زایی در آن سلول‌ها میباشد. این رویه ابتدا توسط شارپ و همکارانش و اوران و همکارانش بیان شد که کلمه [[1]](#footnote-1)IEDC را برای سلول‌های تمایز یافته که جنین‌زایی در آنها القا شده به کار بردند.

این عبارت نشان دهنده‌ی یک سلول جنینی میباشد که از یک سلول (تمایز یافته) غیر جنینی ایجاد شده است. آن دسته از سلول‌های جنینی که ژن های جنین‌زایی را بعدا بیان میکنند، [[2]](#footnote-2)PEDC خوانده میشوند و مبین سلول‌های پیش جنینی میباشند.

برای باززایی، IEDC و PEDC عملا مشابه هم هستند و ممکن است هر دو را تحت یک عنوان به نام EDC یا سلول‌های تعیین شده جنین را بنامیم. یا به طور ساده تر EC یا سلول‌های جنینی خطاب کنیم.

برای به دست آوردن جنین زایی رویشی با توجه به نوع بافت ریز نمونه که PEDC میباشد یا سلول‌های غیر EC تیمارها فرق خواهند داشت.

در نوع اول، یک محرک برای تقسیم سلول کافی است تا جنین رویشی روی بافت ریزنمونه در پروسه‌ای که جنین‌زایی مستقیم مینامند تشکیل شود. در صورتی که یک بافت غیر EC، باید تحت تقسیمات میتوزی در حضور یک اکسین قرار بگیرد.

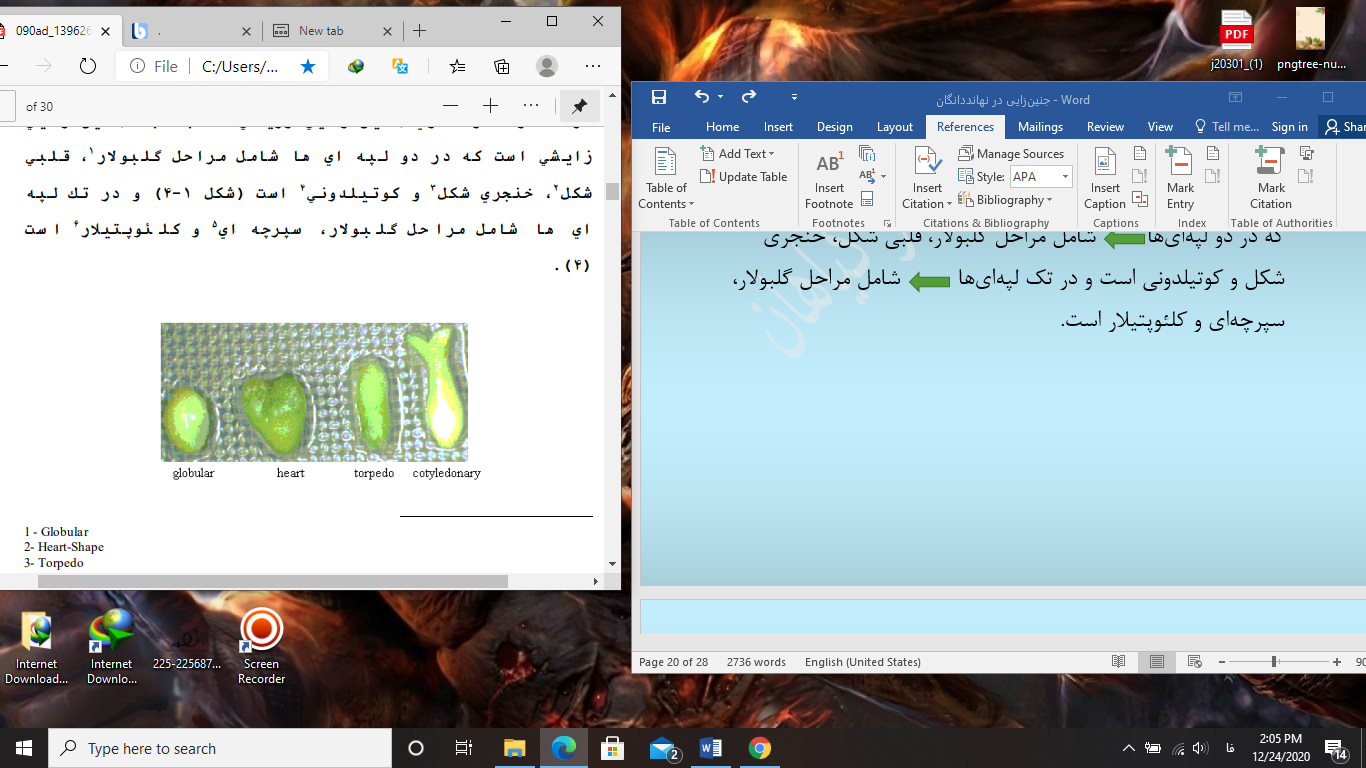
سلول‌هایی که از این تقسیمات حاصل میشوند به شکل کالوس ظاهر میشوند و عنوان باززایی غیرمستقیم به آنها اطلاق میگردد تا نشان داده شود که یک فاز کالوسی بین گیاه اصلی و ظهور رویشی وجود دارد.

**بافت‌های مورد استفاده برای جنین‌زایی**

تغییر ژنتیکی گیاهان و کلون کردن ژن از ابزارهای بسیار مهم در بهبود محصولات به‌شمار میروند. هرچند که ایجاد یک تکنیک موثر برای باززایی و کشت بافت اولین گام در استفاده از این تکنولوژی جدید میباشد. جنین ‌زایی رویشی در تعداد زیادی از گونه های گیاهی ایجاد شده است. اگر چه تبدیل این جنین‌ها به گیاهان کامل کاربرد جنین‌زایی را محدود میسازد. تا به امروز انواع مختلفی از ریزنمونه‌ها برای ایجاد جنین رویشی استفاده شده اند از قبیل برگ، کوتیلدون‌های نابالغ، محورهای جنینی نابالغ و بالغ، جنین بالغ و... .

**مراحل جنین‌زایی رویشی در گیاهان تک‌لپه و دولپه**

مراحل رشد و نمو جنین‌زایی رویشی مشابه با جنین‌زایی زایشی است که در دو لپه‌ای‌ها شامل مراحل [[3]](#footnote-3)گلبولار، [[4]](#footnote-4)قلبی شکل، [[5]](#footnote-5)خنجری شکل و [[6]](#footnote-6)کوتیلدونی است و در تک لپه‌ای‌ها شامل مراحل گلبولار، [[7]](#footnote-7)سپرچه‌‌ای و [[8]](#footnote-8)کلئوپتیلار است.



مراحل مختلف جنین ‌زایی در گیاهان دو لپه‌ای

**مراحل کلی در جنین زایی رویشی**

مراحل مختلفی در جنین زایی رویشی وجود دارند که به شرح زیر است:

1- مرحله اول در جنین زایی، مرحله القا میباشد. القا با قرار دادن ریزنمونه ها بر محیطی که حاوی غلظت‌های بالای اکسین میباشد، انجام میشود. اکسین ها با مستعد کردن سلول‌ها برای وارد شدن به مرحله تمایز نقش خود را ایفا می‌کنند. غلظت اکسین بسته به نوع ریز نمونه و محلی که ریزنمونه از پایه مادری خود جدا شده دارد.

2- بعد از القا تمایز اتفاق می‌افتد که در این مرحله ریز نمونه ها به محیط‌های حاوی غلظت پایین از اکسین و در حضور ستوکینین منتقل میشوند در این مرحله سلول‌های مستعد تمایل دارند به مرحله بدون تمایز برگردند که بتوانند توسط هورمون‌های گیاهی موجود در محیط کشت زیاد شوند تا جنین‌های رویشی را ایجاد کنند.

3- فاز سوم، بلوغ میباشد. در اینجا جنین‌های رویشی به محیط کشت با غلظت پایین هورمون منتقل میشوند.

جنین‌ها مشابه مراحل جنین‌زایی در بازدانگان، تک‌لپه‌ها و دولپه‌ها رشد میکنند که شامل مراحل گلبولی، قلبی، تورپدو و کوتیلدونی میباشد.

4- نتیجه بلوغ تکثیر بذور میباشد. رشد و توسعه جنین‌های رویشی مشابه بذور گرفته شده از ترکیب گامت‌های زایشی میباشد با این تفاوت که جنین‌های رویشی از نظر ژنتیکی گیاهانی مشابه پایه مادری ایجاد میکنند. بدوری که از جنین‌های رویشی به وجود می‌آیند می‌توانند وارد مرحله خواب شوند یا نشوند.‌

**عوامل تاثیرگذاری بر جنین‌زایی رویشی**

عوامل و مکانیزم کنترول کننده تمایز سلول‌ها در جنین‌های رویشی نسبتا مبهم میباشند. این ترکیب‌ها به وسیله‌ی چونگ و همکارانش شناسایی شدند. که شامل پلی‌ساکاریدهای متنوع، آمینواسیدها، تنظیم‌کننده‌های رشد، ویتامین‌ها، ترکیبات با وزن ملکولی کم و پلی پپتیدها میباشند. چندین مولکول پیام رسان شناخته شده اند که بر شکل‌گیری جنین‌های سوماتیک تاثیر گذاشته یا آنها را کنترول میکنند.

این مولکولها نیز شامل پروتئین‌های خارج سلولی، پروتئین های آرابینوگالاکتانو و لیپوکیتواولیگوساکاریدها میباشند. دما و نور هم چنین میتوانند روی بلوغ جنین رویشی اثر کنند.

**از جمله فاکتورهای موثر بر القا جنین‌زایی**

1. **نقش اکسین‌ها** وقایع متعددی برای تبدیل یک سلول به مرحله EC اتفاق میافتد. یکی از تغییرات ابتدایی، خاتمه الگویی بیان ژن‌های موجود و جایگزینی آن با یک برنامه جنین زایی میباشد. یکی از مکانیزم‌های ممکن برای توقف بیان ژن، متیلاسیون DNA میباشد که در یکی از مطالعات، ارتباط آن با مقدار اکسین خارجی بررسی شده است. به نظر میرسد که وجود اکسین در محیط کشت برای نمو جنین‌زایی ضروری است و بافتی که متناوباً در محیط کشت بدون اکسین قرار گیرد نمیتواند تشکیل جنین دهد. تیمار در اکسین در غلظت‌های بالا برای تمایز زدایی و به دست‌آوردن [[9]](#footnote-9)توتیپوتنسی لازم میباشد.

گیاهچه‌های هویچ به دست آمده از جنین زایی رویشی جنین‌هایی را به طور مستقیم از سلول‌های اپیدرمی ساقه ایجاد میکنند که این امر در گیاهان به دست آمده از جنین‌های زایشی مشاهده نشده است. انواع مختلفی از اکسین‌ها برای این منظور استفاده میشوند، از جمله اکسین طبیعی IAA و اکسین‌های مصنوعی مثل NAA و 2,4-D که آخری موثرترین و رایج ترین اکسین مورد استفاده برای جنین‌زایی رویشی در هویچ میباشد. اکسین طبیعی (IAA) در غلظت‌های پایین (10-6) باعث انتقال قطبی در سلول‌های مجاور میشود، در غلظت‌های بالاتر (10-5M) انتقال قطبی میشود و IAA به آرامی در تمام جهان پخش میشود. در طبیعت تغییر از غلظت کم به غلظت بالای اکسین مانع انتقال قطبی گردیده و باعث شروع پروسه اندام زایی میشود. مثال‌‌های دیگر نظیر تشکیل گال و ایجاد تومور میباشد که بستگی به حضور اکسین دارند. لوشیاوا و همکارانش در سال 1989 متوجه شدند که ارتباطی بین اکسین‌ها، 2,4-D می‌تواند به بیشترین غلظت درون سلولی مثل یک اکسین آزاد برسد این هورمون بیشترین تاثیر را در متیلاسیون و فعالیت اندام زایی دارد. اگر اکسین محیط باقی بماند امکان دارد توسعه جنین زایی در مرحله گلبولار متوقف شود.

قابل توجه است که اکسین روی سلول‌های تمایز یافته ریزنمونه اثر گذاشته و از طرفی باعث تمایز زدایی و از طرف دیگر باعث تشکیل جنین میشود. این امر این گونه قابل توجیه است که PEM هایی که تولید شده‌اند به اکسین حساس میباشند. حساسیت به اکسین زمانی که جنین‌ها در حضور اکسین برنامه‌های تمایز یافتن خود را متوقف کرده و به حالت بدون تمایز برمیگردند. در این مرحله بعدی (Post-glbular) دوباره به دست خواهد آمد.

1. **نقش سیتوزین ها** زمانی که تمام مباحث بر روی نقش اکسین‌ها در القا جنین زایی متمرکز شده‌اند، برای به دست آوردن جنین‌های رویشی از جنین‌های زایشی نابالغ در بسیاری از گونه‌ها شامل بازدانگان و تهاندانگان کاربرد سیتوکینین‌ها به تنهایی بنیانگذاری شده اند. جنین‌زایی از جنین‌های بذری نارس یک نتیجه غیر قابل انتظار نمی‌باشد. زمانی که جنین‌های بذری بالغ به عنوان ریزنمونه استفاده میشود، مصرف سیتوکینین به همراه اکسین برای تشکیل جنین رویشی در نوئل نوروژی لازم میباشد. زمانی که یک تمایز زدایی وسیع قبل از تشکیل EC در بافتی مثل گیاه یونجه، باید انجام شود،

حضور سیتوکینین میتواند تعداد جنین‌های رویشی به دست آمده را افزایش دهد. غلظت‌های بالای سیتوکینین داخلی در بافت‌های برگی Orchad grass با عدم پاسخ دهی به جنین‌زایی مرتبط میباشد. ارزیابی نقش دقیق سیتوکینین‌ها در طول پروسه القا مشکل می‌باشد. سیتوکینین‌هایی از قبیل کینتین یا بنزیل آمینوپروین (BAP)، در شروع تشکیل جنین رویشی در تعدادی از گونه‌های چوبی مفید میباشد آنها معمولا با اکسین در محیط القا بکار برده میشوند. گزارش هایی که نشان دهنده آنالیز سیتوکینین در طول جنین‌زایی رویشی در گیاهان چوبی باشد، کم است. در کشت‌های زیره سیاه، غلظت‌های کم زآتین رسیدگی را تحریک میکند. زآتین در ترکیب با NAA، تشکیل جنین رویشی را به طور مستقیم، از سلول‌های به دست آمده از پروتوپلاست بدون فاز حدواسط کالوس‌زایی، تحریک میکند.

1. **اسید‌آبسیزیک (ABA)** ABAنقش مهمی را در طول جنین زایی زایشی و رویشی بازی میکند، این بازدارنده رشد، به طور طبیعی مانع وقایع مورفولوژیکی خاص در هنگام جنین زایی رویشی میشود.

ABA هم چنین علاوه بر اینکه بر روی رسیدگی جنین‌های رویشی موثر است مانع رشد جنین غیر طبیعی، شامل کوتیلدون نیز میشود.

ABA سبب رشد و نمو طبیعی در جنین‌های رویشی در In vitro از طریق تحریک تجمع مواد ذخیره‌ای شده و با تحریک جنین‌های رویشی lauca و Picea glavca مانع جوانه زنی پیش از موعد میشود. غلظت‌های مورد نیاز برای ABA متفاوت است و به مقدار زیادی به گونه گیاهی بستگی دارد. همراه با غلظت بالای ساکارز و یا پلی اتیلن گلیکول (PEG)، اثر تحریک کننده بر روی رسیدگی جنین رویشی در Hereabrasiliensis، Aesculum hippocastanum دارند. در بعضی موارد مشاهده شده است که جنین‌های رویشی در محیط کشت دچار یک حالت خشک شدگی میشوند که در این مورد هورمون ABA، تاثیر مناسبی را اعمال میکند.

1. **اتین** در مورد اثر اتیلن روی رشد و نمو جنین رویشی در گونه‌های مختلف نتایج متفاوتی به دست آمده است.

نیترات نقره بازدارنده عمل اتیلن است. اتیلن تشکیل جنین‌های رویشی را در Picea glavca تحریک میکند.

در حالی که اتفن که یک منبع خارجی اتیلن است، تشکیل جنین رویشی را کاهش میدهد در آزمایشی دیگر، غلظت کم (0/01-1 mg/l) اتیلن جنین زایی را در کالوس Citrus sinensis افزایش داده، لذا احتمال میرود عکس العمل اتیلن تحت تاثیر ژنوتیپ باشد.

1. **جیبرلین‌ها** این ترکیبات تنظیم کننده رشد، به ندرت در جنین زایی رویشی استفاده میشود. GAL میتوان مانع جنین زایی در کشت‌های سوسپانسیونی هویچ گردد، با وجود این در جنین‌های Carawag، GA3 میتواند رسیدگی جنین را در ترکیب با ABA تحریک کند و با زآتین در تعدیل مسیر رشد و نمو اثر متقابل دارد.
2. **ژنوتیپ و خصوصیات ریزنمونه** علاوه بر نوع ریزنمونه‌ و تیمارهای هورمونی، تعدادی فاکتورهای دیگر نیز بر القا مرحله جنین‌زایی مؤثرند که شاید مهم ترین آنها ژنوتیپ گیاه میباشد.

جنین زایی رویشی نیز مانند جنین زایی زایشی شامل مسیرهای ژنتیکی مشابه میباشد و جنین‌زایی رویشی باید یک پدیده طبیعی برای تمام گیاهان بذری باشد.

اما ژنوتیپ‌های به خصوص بین گونه‌های مختلف ظرفیت جنین‌زایی متفاوتی دارند. چنین تفاوت های ژنتیکی در ظرفیت جنین زایی در فعال کردن عناصر کلیدی در مسیرهای جنین زایی مؤثرند. به اضافه این که، ژنوتیپ های به خصوص ممکن است نیازهای منحصر به فردی برای بهترین ظرفیت باززایی داشته باشند. برای مثال ژنوتیپ‌های متفاوت سویا در غلظت‌های متفاوت ساکارز بهتر عمل میکنند. در عمل، یک بافت ریزنمونه میتواند هر جایی از مسیر بین مرحله PEDC و غیر EC بسته به سن آن گرفته شده باشد.

این امر در سهولت و مستقیم بودن جنین‌زایی ممکن است تاثیر داشته باشد. این امر میتواند توضیح دهد که چرا تفاوت‌هایی در ظرفیت جنین‌زایی در بافت های ریزنمونه‌های متفاوت مشاهده میشود. برای مثال سلول‌های پیرتر در ریزنمونه‌های سویا و گونه‌های گوجه ‌فرنگی نسبت به سلول‌های جوان‌تر،

جنین‌های غیرنرمال بیشتری را تولید میکنند. سلامت و قدرت رشد ریزنمونه نیز بر جنین زایی موثر است. در سویا محل یکه ریزنمونه از گیاه تهیه میشود مهم است.

بیشترین جنین زایی زمانی تشکیل میشود که لپه‌های جدا شده بیشترین جنین زمانی تشکیل میشود که لپه‌های جدا شده طوری روی محیط قرار داده شوند که قسمت دور از محور ساقه آنها با محیط تماس پیدا کند.

1. **محتویات محیط کشت الف)** در گرده horsenettle حداقل غلظت ca2+ برای القا جنین زایی رویشی نیاز است و استفاده از یک ماده حامل یون برای ازدیاد یون‌های کلسیم آزاد داخل سلولی، تعداد دانه‌های گرده مولد را دو برابر می‌نماید. شاید این امر به دلیل تعدیل علائم ضروری انتقال باشد. کلسیم همچنین، جنین‌زایی رویشی در هویچ را افزایش داد. **ب)** ساکارز و اکسین با یکدیگر اثر متقابل دارند. غلظت اپتیمم یکی بستگی به غلظت دیگری دارد. برای القا جنین زایی رویشی لوبیای Scarlet runner گلوکز نسبت به ساکارز اهمیت بیشتری دارند.

برای جنین زایی رویشی از کالوس نوسلار پرتقال در مقایسه با ساکارز، گالاکتوز و لاکتوز اهمیت بیشتری دارد در حالی که به طور معمول ساکارز نسبت به گلوکز و فروکتوز پر اهمیت‌‌تر است.

**ج)** اهمیت آمونیوم و نیترات و به طور کلی کاهش نیتروژن در سایر سیستم‌های جنین زایی نظیر هویچ و نوئل گزارش شده است. القا جنین زایی رویشی معمولا به غلظت‌های کمی از آمونیوم در محیط احتیاج دارد. اهمیت ذخیره نیتروژن در طول جنین زایی به علت نیاز به سنتز اسید نوکلئیک و پروتئین در طول این دوره میباشد یا ممکن است بر اثر آن در PH بستگی داشته باشد. نیترات هم با تنظیم اسیدیته محیط به دلیل یون‌های آمونیوم به تولید جنین در هویچ کمک میکند.

1. **شرایط محیطی** جنین زایی رویشی به مقدار کمی تحت تاثیر شرایط محیطی می‌باشد. القا جنین رویشی در بادمجان در نور کامل صورت میگیرد. برخلاف آن، القا جنین رویشی در Popular، Podophylum احتیاج به تاریکی مطلق دارند. در نوئل نوروژی جنین زایی در تاریکی مطلق اتفاق می‌افتد به شرط این که آمونیوم در محیط کشت وجود داشته باشد.

با حذف آمونیوم القا جنین زایی در نور ممکن بود. افزایش نور قرمز و کاهش نور آبی برای القا جنین در خرما ضروری میباشد. نور سبز و قرمز با تاریکی اثر مؤثر و مشابهی در جنین زایی هویچ داشتند در حالی که نور سفید و آبی ممانعت کننده جنین زایی بودند.

در کل گیاهان از نظر شرایط فیزیکی مثل نور و درجه حرارت برای القا کالوس با یک دیگر متفاوتند به طوری که بعضی از گیاهان در نور و بعضی در تاریکی کالوس بیشتری تولید میکنند.

**کاربردهای جنین‌ زایی** جنین های رویشی هم در آزمایشگاه و هم به صورت تجاری قابل استفاده میباشند. کاربردهای تجاری آن میتواند برای تولید بذور با صفات مطلوب یا تولید وارریته‌های بدون بذر مثل انگور و یا پرتقال قابل استفاده باشد.

1- تولید بذر مصنوعی: یکی از موارد با ارزش ایجاد جنین رویشی که توسط ردنباخ و همکارانش طی سال‌های 1993-1991 ایجاد شده، ساخت بذر مصنوعی است. در این روش جنین‌های رویشی را بوسیله پوشش‌های هیدورژل-آلژنیات سدیم – پوشش دار میکردند تا بذور مصنوعی را ایجاد کنند.

در این موارد باید جنین در مقابل خشکی شدید محافظت شود و قدرت جوانه زنی آن نیز حفظ گردد. گاهی به جای پوشش دار کردن جنین آن را در یک محیط کشت مایع کشت مینمایند.

2- یکی از مزیت های ایجاد جنین های سوماتیک این است که با دستکاری‌های ژنتیکی بر روی جنین‌های تولید شده میتوان از آن در اصلاح نباتات و مهندسی ژنتیک گیاهان استفاده کرد. 3- پیشرفت سریع در سیستم های جین زایی رویشی اجازه کار فراوان و کاربردهای تجاری به ویژه برای تکثیر کلون ها در In vitro را میدهد.

**مواردی از جنین‌زایی رویشی در گیاهان مختلف**

* **جنین زایی رویشی در انگور :** علت استفاده از تکنیک های کشت بافت برای انگور به شرح زیر است :

1- ایجاد پایه‌های عاری از ویروس

2- جستجوی درون شیشه‌ای برای مقاومت به استرس‌های زنده و غیر زنده

3- نگهداری طولانی مدت ژرم پلاسم در شرایط In vitro

4- ریزپیوند پیوندکها به ارقام پایه

5- تولید و تغییر مواد گیاهی بدون ویروس

6- ازدیاد سریع مواد گیاهی

کشت جنین، گرده و جنین زایی رویشی از تکنیک‌های کشت بافت میباشند که برای انگور استفاده میشود. از بین این روش‌ها جنین زایی رویشی را توضیح میدهیم. مولینز و سرینیوا سنگ اولین بار جنین‌زایی رویشی در V.vinifera را گزارش کردند. آن ها تخمک‌های غیر بارور V. vinifera var. carbent sauvignon را در محیط Nitsch and white حاوی BA(5-10 µm) و NAA(5-25µM) کشت کردند که منجر به تشکیل کالوس و نهایتا جنین زایی رویشی شد. جنین زایی در چندین گونه انگور به خوبی پایه گذاری شده اما واکنش بین ژنوتیپ ارقام کشت شده بسیار متغییر است.

****

مراحل مختلف جنین زایی در انگور (Vitic vinifera)

* **جنین زایی رویشی**Turbinicarpus pseudomacrocheles

یکی از اعضای خانواده کاکتوس میباشد که مورد تهدید قرار گرفته است و جزء پیمان بین الملی گونه های وحشی جانوری و گیاهی مورد تهدید قرار گرفته [[10]](#footnote-10)(CITES) میباشد.

– لاین های شامل Strombocacti شامل 10 جنس و 27 گونه است که توسط محققان از سراسر دنیا گردآوری شده، که فقط 3 مورد از آن در شرایط In vitro تکثیر یافته است. تولید شاخه جانبی Aztekium و Leuchtembergia principis توسط رودریگز-کری و روبلو در 1992 و استارلینگ در 1995 گزارش شده است.

– اخیرا تورس-مونز و رودریگز-کری در 1996 تولید گیاه از

T.pseudomarochele را از طریق جنین زایی رویشی غیرمستقیم بر MS جامد کامل شده با ویتامین‌های L2، 2,4-D(3mg/l)، NAA(2mg/l)، KIN(2mg/l)، L-glotamin(500mg/l)، casein(250mg/l) و آگار 8g/l گزارش دادند.

– بعد از چهار هفته، جنین زایی رویشی در محیط های سوسپانسیونی و کالوس‌های جنین‌هایی که به شکل کرم های زرد رنگی بودند ایجاد شدند.

این کالوسها حاوی پیش جنین‌ها مشابه و بدون هورمون که با فیتاژل 5g/l بجای آگار جامد شده بودند منتقل شدند. بعد از 16 هفته شروع به تکثیر و توسعه برای تشکیل گیاهچه‌های کامل کردند.

* جنین زايي رويشي درCanary Island data palm نوک شاخه و جنینهای بذری به عنوان ریزنمونه ازPheonix canariensis تهیه شد و در محیط MS کامل شده با Picloram(100mg/l) و Kinetin(9.5mg/l) یا 2,4-D(45.25mg/l) یا 2,4-D(10.8mg/l) و 2ip(9.8mg/l) قرار داده شد.

این ریز نمونه‌ها بعد از 12 هفته در شرایط تاریکی و دمای 28 درجه سیلسوس کالوس‌هایی با ساختار بسیار فشرده، زرد رنگ پریده وکروی ایجاد کردند. ازدیاد کالوس روی محیط MS همراه با 2,4-D(2.26mg/l) و Kinetin(0.83mg/l) و ABA(2mg/l) باکشت‌های منظم هر 3 الی 4 هفته یکبار، انجام شد.

توسعه جنین رویشی به وسیله 2 ماه کشت در محیط MS مایع کامل شده با BA(1mg/l) و Kinetin(0.46mg/l) برای توسعه ساخته انجام گرفت. جنین‌های ایجاد شده به محیط پایه با BA(0.45mg/l) و NAA(0.06mg/l) برای توسعه ریشه و شاخه منتقل شدند. گیاهان تازه به دست آمده در محیط MS بدون هورمون توسعه یافتند، اما درصد آنها باید بهینه شود.

**مشکلات مرتبط با جنین زایی سوماتیک**

* شانس بالای جهش
* مشکل بودن روش
* از دست دادن توانایی باززایی
* درصد بالای شاخه آلبینو در طول باززایی
* امکان پذیر نبودن تمام گونه‌های به طوری که کاربرد آن هریک از گونه‌ها باید بهینه‌سازی شود.

**منابع**

1. http://www.accessexcellence.org/LC/ST/st2bgplant.html Plant Tissue Culture
2. b E.F. George et al. (eds.), Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition, 335-354.
3. Quiroz-Figueroa, F. R. , Rojas-Herrera, R. , Galaz-Avalos, R. M. , and Loyola- Vargas, V. M. 2006. Embryo production through somatic embryogenesis can be used to study cell differentiation in plants. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 86: 285–301.
4. Reinert J (1959) Uber die kontrolle der morphogenese und die induktion von adventivembryonen an gew- ebekulturen aus karotten. Planta 53:318–333
5. Steward, F.C. , Mapes, M.O. , and Smlth, J. (1958). Growth and organized development of cultured cells. I. Growth and division of freely suspended cells. Am. J. Bot. 45, 693-703.
6. Sharp et al. (1980). In: Horticultural Reviews,Vol. 2. (janick, J. , ed.). AVI Publishing Co, Westport, Conn. , USA, p. 268.
7. Warren, G.S. , Fowler, M.W. 1981. Physiological interactions during the initial stages of embryogenesis in cultures of Daucus carota L. New Phytol 87:481-486.
8. Chung, W. , Pedersen, H. , Chin, C-K. 1992. Enhanced somatic embryo production by conditioned media in cell suspension cultures of Daucus carota. Biotechnol Lett 14:837-840
9. Jiménez V.M. , Guevara E. , Herrera J. and Bangerth F. 2001. Endogenous hormone levels in habituated nucellar Citrus callus during the initial stages of regeneration. Plant Cell Rep. 20: 92–100
10. Beardmore, T.L. ; Wetzel, S. ; Regan, S.M. 1997. Poplar seed storage proteins. Chapt. 17, p. 131–142 in Klopfenstein, N.B. ; Chun, Y.W. ; Kim, M.S. ; Ahuja, M.R. (Eds.), Dillon, M.C. ; Carman, R.C. ; Eskew, L.G. (Tech. Eds.) 1997. Micropropagation, genetic engineering, and

molecular biology of Populus. USDA, For. Serv. , Rocky Mountain Res. Sta. , Fort Collins CO, Gen. Tech. Rep. RM-GTR-297.

1. Flinn, B.S. ; Roberts, D.R. ; Webb, D.T. ; Sutton, B.C. 1991. Storage protein changes during zygotic embryogenesis in interior spruce. Tree Physiol. 8:71–81. (Cite in Beardmore et al. 1997).
2. Von Arnold S, Sabala I, Bozhkov P, Dyachok J and Filonova L (2002) Developmental pathways of somatic embryogenesis. Plant Cell Tiss Org. Cult. 69: 233–249
3. Jime ́nez VM, Thomas C (2005) Participation of plant hormones in determination and progression of somatic embryogenesis. in: Mujib A, Šamaj J (eds) Somatic embryogenesis. Springer, Berlin, pp 103–118.
4. Fehér, Attila. Why somatic plant cells start to form embryos? In: Mujid, Abdul and Samaj, Josef. eds. Somatic Embryogenesis. Plant Cell Monographs, Springer; Berlin/Heidelberg, 2005, vol. 2, p. 85-101
5. Von Arnold S, Sabala I, Bozhkov P,

Dyachok J and Filonova L (2002) Developmental pathways of somatic embryogenesis. Plant Cell Tiss Org. Cult. 69: 233–249

16- Capuana, M. and Debrgh, P. C. 1997. Improvement of the maturation and germination of norse chestnut somatic embryos. Plant Cell Tiss. Org. clut., 48:23-29.

17- Dennis, J., Gray, B. and Purohit, A. 1991. Somatic embryogenesis and development of Synthetic technology. Critical reviews inplant sciences. 10(1):33-61.

18- Dunstan, D. and Tavtorus, T. E. 1995. Somatic embryogenesis in woody plants. In vitro embryogenesis in plants. PP. 471-538.

19- Karkonen, A. 2001. Plant tissue cultures as modols for tree physiology: somatic embryogenesis of tilia cordata and lignin biosynthesis in Picea abies suspention cultures as case studies.

Department of Biosciences division of plant physiology university of Helsinki.

20- Kumar, K. 2003. Methods in Plant & Tissue culture. PP. 231-251.

21- Latiaung L. T., Baiocco M., Hug B., Mezzetti B., Santilocchi R. and Rosati P. 1999. Somatic embryogenesis in Canary Island data palm. Plant cell, Tissue and Organ culture. 56:1-7.

21- Mchew, K. 2000. Chiekpeas: Production, uses and exports. Brie fing. No. 19. 31

22- Nezamabadi, 2000. Phase of somatic embryogenesis in carrot (Daucus Cartotal L.) culture and the role of nitrogen forms for embrgo development. Institute of plant nutrition development of tissue culture, Justus Liebig university, Giessen, Germany.

23- Raxadan, M. K. 1999. An Introduction to plant tissue culture . Oxford of IBH publish. Chate ten.

24- Santanen, A. 2000. Polyamine metabolism during development of somatic and zygotic

embryos of Picea abies (Norway spurce). Department of Bio sciences division of plant physiology university of Helsinki.

25- Santacruz-Ruvalcaba, F., Gutierrez-Mora, A., and Rodriguez-Garay, B. (?). Centro de Investigacion y Asistencea en technologia y Diseno de Estado de Jalisco, A. C.

26- Thorpe, T. A. 1995. In vitro embryogenesis in plant Kluwer Academic Publisherrs, Dordrecht. Chapte. Five.

27- Vasil, I. 1994. Antomation of plant propagation. Plant Cell, Tissue, Organ culture. 34:105-108.

28- Venkatachalam, P., Geetha, N., Khandelwal, A., Shalia, M. S. and Lakshmi sita G. 1998. Induction of direct somatic embryogenesis and plant regeneration from mature cotyldon explants of Arachis hypogaea L. Departmaent of Micorobiology and cell Biology, Indian Institute of Science.



موفق و سربلند باشید

1. Induced Embrygcnic Determined Cell [↑](#footnote-ref-1)
2. Pre-Embryogenic Determined Cell [↑](#footnote-ref-2)
3. - Globular [↑](#footnote-ref-3)
4. - Heart-Shape [↑](#footnote-ref-4)
5. - Torpedo [↑](#footnote-ref-5)
6. - Cotyledononary [↑](#footnote-ref-6)
7. - Scutellar [↑](#footnote-ref-7)
8. - Coleoptilar [↑](#footnote-ref-8)
9. - Totipotencey [↑](#footnote-ref-9)
10. - convention on International trade in Endangered Species [↑](#footnote-ref-10)