

مطالعه‌ی جنین‌زایی سوماتیکی و تولید بذر مصنوعی از ارقام مختلف انگور (*Vitis vinifera* L.)

Study of Somatic Embryogenesis and Artificial Seed Production in Grapes (*Vitis vinifera* L.) Cultivars

فرشاد فلاح^۱، دانیال کهریزی^{۲*}، علیرضا زبرجدی^۳ و امیرارسلان احمدی^۴

تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۱۸

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۵

چکیده

تکثیر ارقام بی‌دانه انگور به روش بذر مصنوعی دارای اهمیت می‌باشد. به‌منظور بررسی تأثیر ارقام مختلف انگور و محیط کشت بر جنین‌زایی سوماتیکی و تولید بذر مصنوعی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. ریزنمونه برگ چهار رقم انگور در محیط پایه MS ۱/۲، و در چهار سطح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد کشت داده شد. نتایج نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری میان ارقام و سطوح تنظیم‌کننده رشد بر روی جنین‌زایی سوماتیکی وجود دارد؛ اما اثر متقابل آن‌ها در سطح (۵ درصد) معنی‌دار نشد. سطح تنظیم‌کننده رشد (۳/۸mg/l TDZ + ۰/۲mg/l NAA) بیش‌ترین جنین‌زایی (۶۵ درصد) را نشان داد. هم‌چنین اثر دو ترکیب هیدروژل کپسول بذر مصنوعی [(محیط کامل نمک‌های ماکرو B₅ و نمک‌های میکرو محیط MS به‌عنوان محیط اول کپسول)، (محیط ۱/۲ نمک‌های ماکرو محیط B₅ و نمک‌های میکرو محیط MS به‌عنوان محیط دوم کپسول)] و چهار رقم انگور بر میزان جوانه‌زنی بذور، موردبررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میان ارقام تفاوت معنی‌داری و میان دو محیط ترکیب کپسوله تفاوت بسیار معنی‌دار (سطح ۱ درصد) وجود دارد. در میان ارقام، رقم کریمسون سیدلس بیش‌ترین بذر جوانه‌زده شده (۶۵ درصد) را در تیمار محیط دوم کپسوله داشت. مقایسه میانگین جوانه‌زنی دو محیط کپسوله نشان داد که محیط اول کپسوله (۵۲/۶۲ درصد جوانه‌زنی) نسبت به محیط دوم کپسوله (۲۰/۶۲ درصد جوانه‌زنی) برای کپسوله کردن بذور مصنوعی ارقام انگور موجود در این بررسی مناسب است.

واژه‌های کلیدی: انگور بی‌دانه، بافت سوماتیک برگ، تنظیم‌کننده‌های رشد، ریزازدیادی، محیط کشت

۱، ۲، ۳ و ۴. به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استاد، دانشیار و مربی گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

Email: dkahrizi@razi.ac.ir

* نویسنده مسوول

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه کارشناسی ارشد می‌باشد.

مقدمه

انگور (*Vitis vinifera* L.) از مهم‌ترین محصولات باغی در سراسر دنیا است. به‌منظور افزایش کمیت و کیفیت انگور و ایجاد مقاومت نسبت به آفات و امراض و شرایط نامساعد محیطی لزوم اجرای برنامه‌های اصلاح انگور اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. یکی از روش‌های اصلاح، مهندسی ژنتیک می‌باشد. که این روش‌ها به دلایل کوتاهی طول دوره اصلاحی و اختصاصی بودن آن اهمیت فراوانی دارد محمود و همکاران (Mahmood *et al.*, 2013). تولید جنین یا کالوس جنین‌زا و باززایی گیاهچه لازمه هر پروژه مهندسی ژنتیک می‌باشد میلویت و همکاران (Maillo *et al.*, 2006). از جنین‌های سوماتیکی نه تنها در انتقال ژن، بلکه در پژوهش‌ها جهت القاء و استفاده از تنوع سوماکلونال داس و همکاران (Das *et al.*, 2002) و پیروس‌زدایی ارقام گامبین و همکاران (Gambino *et al.*, 2006) تشخیص ارقام جهش یافته فرانک و همکاران (Franks *et al.*, 2002) و مطالعه نحوه تمایز در گیاهان فرانسسیسکو و همکاران (Francisco *et al.*, 2006) استفاده شده است. تولید جنین سوماتیکی تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند ژنوتیپ/ولاه و همکاران (Olahe *et al.*, 2009) محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌ها (داس و همکاران، 2002) زمان جمع‌آوری ریزنمونه و نوع ریزنمونه قرار می‌گیرد گریباتو و همکاران، ویدال و همکاران (Griboabo *et al.*, 2004; Vidal *et al.*, 2009). جنین‌زایی سوماتیکی نمونه بارزی از ویژگی توانمندی سلول (Totipotency) و هم‌چنین یک سیستم باززایی است که منجر به تشکیل ساختارهای دو قطبی نظیر جنین از سلول‌های سوماتیکی می‌شود (ولاه و همکاران، 2009).

جنین سوماتیکی را می‌توان به‌عنوان تکنیکی کارآمد برای ازدیاد گیاه عاری از پاتوژن در گیاه انگور مورد استفاده قرار داد. یکی از مهم‌ترین موارد استفاده از جنین سوماتیکی در تولید بذر مصنوعی است (ولاه و همکاران، 2009؛ گامبینو و همکاران، 2004). بعد از تولید جنین سوماتیکی، کپسوله کردن، مرحله بعد در تولید بذر مصنوعی است (داس و همکاران 2006). ردبرگ و همکاران (Redenbaugh *et al.*, 1993) تکنیکی را برای کپسوله کردن هیدروژلی جنین‌های سوماتیکی یونجه ابداع کردند. از آن پس، کپسوله کردن در هیدروژل رایج‌ترین روش تولید بذر مصنوعی بوده است. چندین ماده از جمله پتاسیم آلزینات، سدیم آلزینات، آگار، ژلریت و غیره به‌عنوان هیدروژل آزمایش شده‌اند ولی ژل سدیم آلزینات مناسب‌تر از همه گزارش شده است. کپسول ژل آلزینات وظیفه حفاظت از بدنه برهنه جنین و تسهیل حمل و نقل را دارد. داس و

همکاران (2006) نشان دادند که جنین سوماتیکی انگور، محصور شده در آلزینات کلسیم دارای قدرت زیست مناسب و قابل قبولی می‌باشد و با توجه به نیاز غذایی خاص جنین، میزان ماده غذایی محصور شده در جنین حائز اهمیت می‌باشد.

محمود و همکاران (2013) ریزنمونه‌های برگ انگور ارقام شاهرودی، بی‌دانه سفید و یاقوتی جهت تولید کالوس در محیط MS به همراه یک میلی‌گرم در لیتر BAP و یک دهم میلی‌گرم در لیتر 2,4-D را کشت داده و کالوس به‌دست‌آمده را در محیط پایه MS دارای ۱۰ میلی‌گرم در لیتر فنیل‌آلانین، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر گلوتامین و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر آرژنین قرار داده و موفق به ایجاد جنین سوماتیک شدند. بیش‌ترین جنین‌زایی در مورد رقم شاهرودی در ۶۰ گرم در لیتر ساکاروز گزارش شد. داس و همکاران (2006) جنین سوماتیکی انگور، محصور شده در آلزینات کلسیم و دارای قدرت زیست تولید کردند. نیرالا و همکاران (Nirala *et al.*, 2007) آزمایش‌های مختلفی با استفاده از محیط ماکرو B₅ میکرو MS به‌عنوان محیط پایه و تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده ABA در شش سطح (صفر، ۰/۰۰۴، ۰/۰۰۲، ۰/۰۰۴، ۰/۰۲، ۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر) بر روی ارقام انگور به‌منظور کپسوله کردن جنین سوماتیکی انجام دادند. در بیش‌تر ترکیبات تنظیم‌کننده‌ها جنین‌های کپسوله شده رشد کردند و کارایی جنین‌زایی از ۸ تا ۷۸ درصد متغیر بود. داس و همکاران (2006) آزمایش‌های مختلفی با استفاده از محیط ماکرو B₅ میکرو MS به‌عنوان محیط پایه کپسوله کردن جنین انگور و تیمارهای مختلف ساکارز در چهار سطح (یک، سه، شش، نه درصد) انجام دادند. آن‌ها درصد جوانه‌زنی بذر مصنوعی را از ۵ تا ۹۲ درصد اعلام نمودند.

از ریزنمونه پرچم نیز برای تولید جنین سوماتیکی در انگور استفاده شده است (محمود و همکاران، 2013). ایراد اساسی ریزنمونه‌های زایشی تنوع ایجاد شده و محدود بودن زمان جمع‌آوری آن می‌باشد (داس و همکاران، 2002). از مزایای ریزنمونه‌های رویشی می‌توان در دسترس بودن این نوع از ریزنمونه‌ها در طی فصل رویش و عدم تنوع در جنین‌های حاصله دانست. از معایب آن می‌توان به پایین بودن بازدهی تولید جنین سوماتیکی از این ریزنمونه‌ها اشاره نمود. در بین ریزنمونه‌های رویشی ریزنمونه برگ بیشترین کاربرد را در تولید جنین سوماتیکی در انگور داشته است (محمود و همکاران، 2013؛ داس و همکاران، 2006).

با توجه به این‌که در ارقام بی‌دانه انگور بذر تولید نمی‌شود و به‌منظور تکثیر رویشی این ارقام، در این آزمایش جنین‌زایی سوماتیکی و تولید بذر مصنوعی از ارقام مختلف انگور بی‌دانه با

به منظور تحریک کالوس‌زایی بر روی رگرگ‌ها خراش‌هایی ایجاد گردید. برای اعمال تیمارها از آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار استفاده شد. ارقام انگور یا فاکتور A (چهار سطح) و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد یا فاکتور B (چهار سطح) فاکتورهای مورد مطالعه بودند. هر تکرار شامل یک پتری‌دیش به قطر ۱۰ سانتی‌متر و هر پتری‌دیش شامل پنج ریزنمونه در محیط پایه MS ۱/۲ بود. میزان آگار هفت گرم در لیتر و pH= ۵/۸ بود. انتخاب مقدار و نوع تنظیم‌کننده‌های رشد در طیف وسیعی صورت گرفت اما به علت عدم پاسخگویی مناسب ریزنمونه، فقط سطوح تنظیم‌کننده‌های که دارای واکنش مثبت بود در این بررسی آورده شد (جدول ۱).

استفاده از سطوح و انواع مختلف تنظیم‌کننده‌های گیاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جنین‌زایی

در این آزمایش چهار رقم انگور بی‌دانه (جدول ۱) از کلکسیون انگور پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی تهیه گردید. نمونه‌های مناسب برای کشت، از برگ‌های جوان حاصل از رشد در شرایط استریل درون شیشه‌ای (*In vitro*) جمع‌آوری شد. ریزنمونه برگ حاصله از جوانه کناری منتج شده از رشد در شرایط درون شیشه‌ای کاملاً استریل بودند. اندازه برگ‌ها حدود دو الی سه سانتی‌متر و فاقد علائم بیماری یا کمبود بودند. ریزنمونه‌های برگ به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم شدند و

جدول ۱: تنظیم‌کننده‌های رشد و ارقام انگور مورد بررسی به منظور القاء کالوس‌های جنین‌زا

Table 1: Growth regulators and grape cultivars used for embryogenic callus induction

فاکتور B (تنظیم‌کننده‌های رشد) Factor B (growth regulators)	فاکتور A (ارقام انگور) Factor A (grape cultivars)
b ₁ : Free	a ₁ : Thompson Seedless
b ₂ : 3.8 mg/l TDZ+ 0.2 mg/l NAA	a ₂ : Flame Seedless
b ₃ : 4.8 mg/l TDZ+ 0.2 mg/l NAA	a ₃ : Red seedless
b ₄ : 5.8 mg/l TDZ+ 0.2 mg/l NAA	a ₄ : Crimson Seedless

ورتکس با دور ۱۰۰rpm، به صورت قطره قطره چکانده شد و به مدت ۴۵-۴۰ دقیقه به همان صورت قرار گرفت. پس از گذشت این مراحل قطرات چکانده شده که حاوی جنین بودند سخت شده و بذر مصنوعی شکل گرفت. سپس بذور با آب مقطر شستشو داده و مجدداً در محلول کلسیم کلراید به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند که از سخت شدن پوسته اطمینان حاصل شود. تمام مراحل کپسوله کردن در زیر هود لامینار ایرفلو انجام پذیرفت. برای اعمال تیمارها از آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار استفاده شد، که در آن فاکتور A (در چهار سطح) ارقام انگور و فاکتور B (در دو سطح) محیط پایه‌ای ۱/۲ و کامل نمک‌های محیط (Gamborg's-B₅) به علاوه نمک‌های میکرو محیط MS (جدول ۲)، انجام شد.

تولید بذر مصنوعی

آزمایش کپسوله کردن جنین‌های سوماتیکی با استفاده از سدیم آلزینات ۲ درصد (سیگما) به علاوه محیط کشت نمک‌های ماکرو محیط B₅، نمک‌های میکرو، ویتامین‌های محیط MS و هشت گرم در لیتر آگار با pH= ۵/۸ صورت گرفت. برای سخت شدن از محلول ۱۰۰ میلی‌مول کلسیم کلراید (CaCl₂) با آب مقطر دوبار تقطیر استفاده شد. برای ایجاد محیط اطراف جنین به منظور کپسوله کردن جنین‌های برش یافته و آبگیری شده (با استفاده از قرار دادن جنین روی کاغذ صافی)، به محلول حاوی نمک‌های ماکرو محیط B₅، نمک‌های میکرو، ویتامین‌های محیط MS و سدیم آلزینات اضافه گردید. سپس مخلوط ایجاد شده در محلول کلسیم کلراید که در حال چرخش توسط

جدول ۲: فاکتورهای مورد بررسی در کپسوله کردن جنین‌های سوماتیکی در ارقام انگور بی‌دانه

Table 2: Investigated treatments in encapsulation of somatic embryos in seedless grape cultivars

فاکتور B (تنظیم‌کننده‌های رشد) Factor B (growth regulators)	فاکتور A (ارقام انگور) Factor A (grape cultivars)
b ₁ : محیط ۱/۲ نمک‌های ماکرو B ₅ و نمک‌های کامل میکرو MS b ₁ : 1/2 strength Gamborg's B ₅ macronutrients and full strength micronutrition MS	a ₁ : Thompson Seedless a ₂ : Flame Seedless a ₃ : Red Seedless a ₄ : Crimson Seedless
b ₂ : محیط کامل نمک‌های ماکرو B ₅ و نمک‌های میکرو MS b ₂ : Full strength Gamborg's B ₅ macronutrients and micronutrition MS	

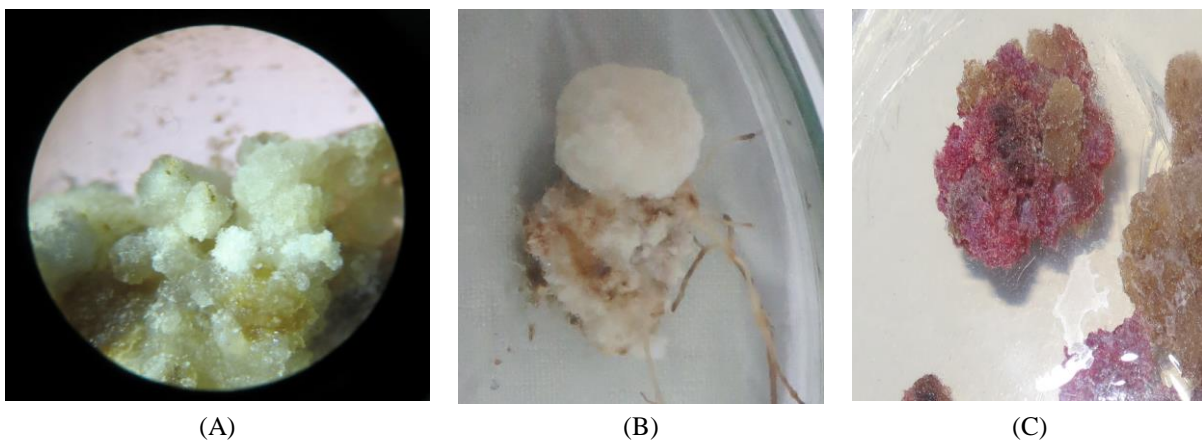
جنین‌زایی می‌باشند (شکل ۱ قسمت B و A). کالوس‌های جنین‌زا که جنین‌های یکسانی از لحاظ رشد داشته‌اند جدا شده و برای مراحل تولید بذر مصنوعی آگیری شدند (شکل ۲).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس درصد جنین‌زایی نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد میان ارقام و سطوح تنظیم‌کننده رشد وجود دارد اما اثر متقابل آن‌ها از نظر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۳). با توجه به غیرمعنی‌دار شدن اثر متقابل سطوح تنظیم‌کننده و ارقام انگور می‌توان این سطوح تنظیم‌کننده‌های رشد را برای جنین‌زایی سوماتیکی سایر ارقام نیز توصیه نمود.

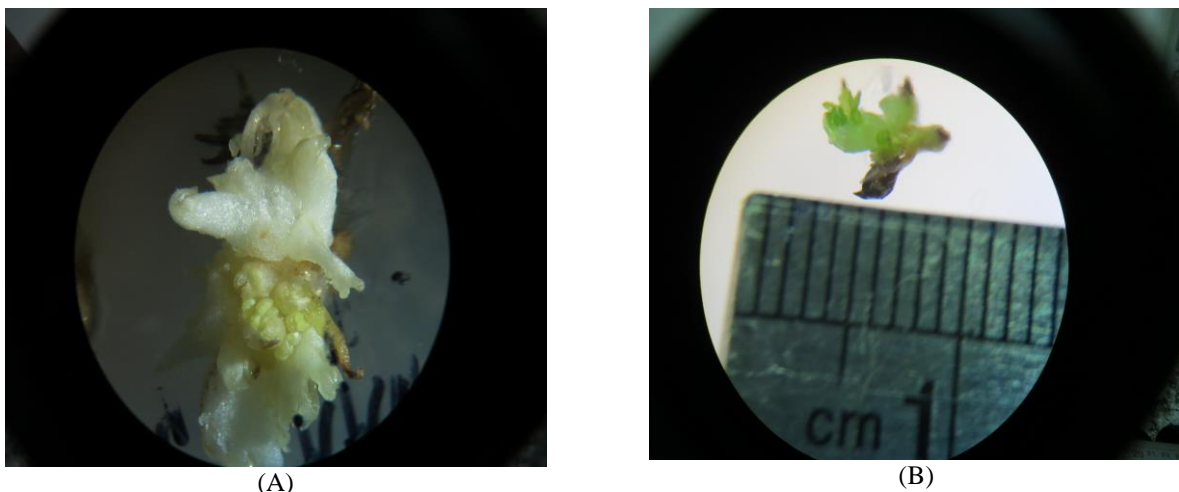
تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS (22) و SAS (9.1) انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن و در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

کالوس‌هایی که دارای رشد مناسب، رنگ سفید مایل به کرم و بافت کلوخه‌ای بودند از بین کالوس‌های انتخاب شده و مجدداً در محیط قبلی خود واکشت شدند. کالوس‌های جنین‌زا دارای ساختار کلوخه‌ای، بافت انسجام یافته و نسبتاً سخت‌تر بودند که در شکل ۱ قسمت (C) این نوع ساختار دیده می‌شود. اما کالوس دارای بافت پودری و کالوس آبدار و نرم فاقد توانایی



شکل ۱: انواع کالوس به دست آمده در انگور (A) کالوس فشرده و کلوخه‌ای (جنین‌زا) (B) کالوس آبدار (C) کالوس پودری
Fig. 1: Types of drived callus in grape A) Mass compact callus (embryogenic) B) Hydrous callus C) Powdery callus



شکل ۲: کالوس جنین‌زای به دست آمده (A) و جنین جدا شده از کالوس (B) در انگور
Fig. 2: Resulted embryogenic callus (A) and separated embryo from callus (B) in grape

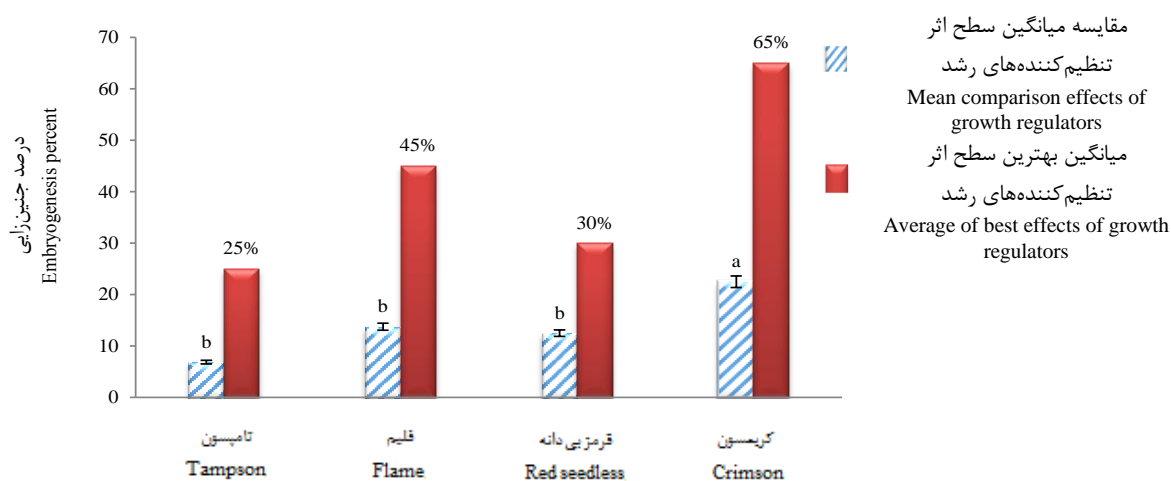
جدول ۳: تجزیه واریانس بررسی تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد و ارقام انگور بر درصد جنین‌زایی در ارقام انگور بی‌دانه

Table 2: Analysis of variance of effects of grape cultivars and growth regulators for the treatments for embryogenesis percentage

میانگین مربعات Mean squares	درجه آزادی df	منبع تغییرات Source of variation
10.25**	3	رقم (C) Cultivar (C)
127.77**	3	تنظیم‌کننده رشد (H) Growth regulators (H)
0.22 ^{ns}	9	تنظیم‌کننده رشد × رقم C × H
28.94	48	خطا Error
9.46		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

** و ns: به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن تیمار در سطح احتمال ۱ درصد و غیرمعنی‌دار

** and ns: The respectively show significant ($p < 0.01$) and non-significant



شکل ۳: مقایسه میانگین و میانگین بهترین سطح اثر تنظیم‌کننده‌های رشد ارقام انگور بر درصد جنین‌زایی (در سطح احتمال ۱ درصد)

Fig. 3: Mean comparison and average of best effects of growth regulators on embryogenesis percentage in grape cultivars ($p \leq 0.01$)

مقایسه میانگین میزان جنین‌زایی نشان داد که رقم کریمسون سیدلس در بهترین سطح تنظیم‌کننده رشد (۳/۸mg/l TDZ + ۰/۲mg/l NAA) با میانگین ۶۵ درصد بیش‌ترین درصد جنین‌زایی را داشت (شکل ۳).
نتایج حاصل از تجزیه واریانس ارقام و محیط کپسول بذر مصنوعی نشان داد که میان ارقام در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری وجود دارد و میان دو محیط کپسوله (محیط کامل نمک‌های ماکرو B₅ و نمک‌های میکرو محیط MS و محیط ۱/۲ نمک‌های ماکرو محیط B₅ و نمک‌ها میکرو محیط MS) تفاوت بسیار معنی‌داری (سطح ۱ درصد) وجود دارد و اثر

متقابلی میان ارقام و محیط کپسوله کردن در این آزمایش مشاهده نشد (جدول ۴). با توجه به این‌که واکنش ارقام در محیط‌های مختلف کپسوله کردن دارای آهنگ تغییرات یکسانی می‌باشند؛ یعنی تغییرات آن معنی‌دار نبوده لذا اثر متقابل ارقام در محیط کپسوله کردن معنی‌دار نشده است. همچنین میانگین مربعات این اثر متقابل (۰/۴۳) کم‌تر از میانگین مربعات خطا آزمایش (۲/۷) است. پس مقدار F محاسبه شده کم‌تر از یک می‌باشد. به همین دلیل این اثر متقابل معنی‌دار نشده است.

جدول ۴: تجزیه واریانس بررسی محیط کپسوله کردن و ارقام انگور بر درصد جوانه‌زنی بذور مصنوعی

Table 4: Analysis of variance for effects of encapsulation medium and grape cultivar on artificial seed germination

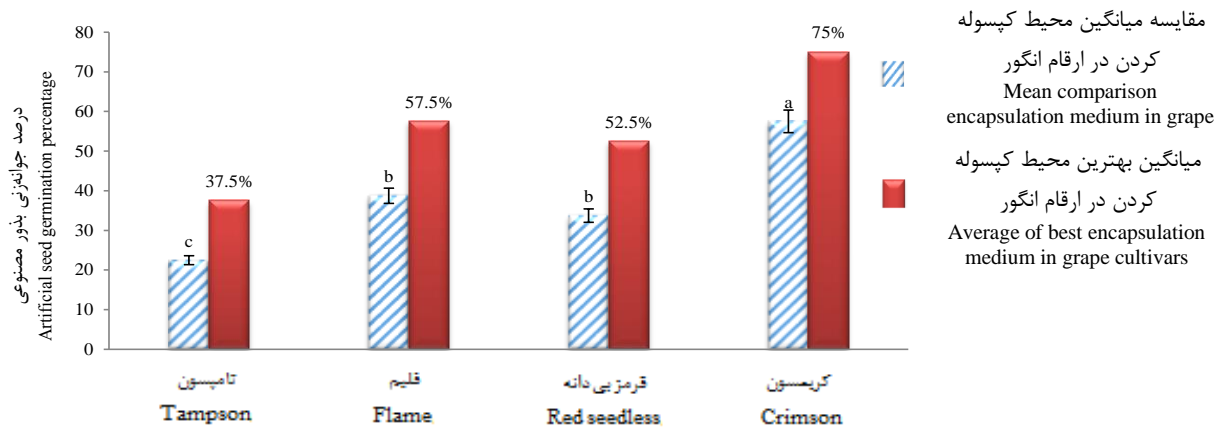
میانگین مربعات Mean squares	درجه آزادی df	منبع تغییرات Source of variation
11.71*	3	رقم (C) Cultivar (C)
85.57**	1	محیط کپسوله کردن Encapsulation medium (E)
0.43 ^{ns}	3	رقم × تنظیم‌کننده‌های رشد E × C
2.70	24	خطا Error
28.57		ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

***، * و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیرمعنی‌دار

***, * and ns: The respectively show significant at 1% and 5% probability level, and non-significant

میان ارقام دارد و به ترتیب ارقام فلیم سیدلس، قرمز بی‌دانه و تامپسون در رتبه‌های بعدی قرار دارند (شکل ۴).

مقایسه میانگین تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون دانکن نشان داد که در میان ارقام، رقم کریمسون سیدلس بیش‌ترین بذر جوانه‌زده شده (در بهترین تیمار ۷۵ درصد) را در

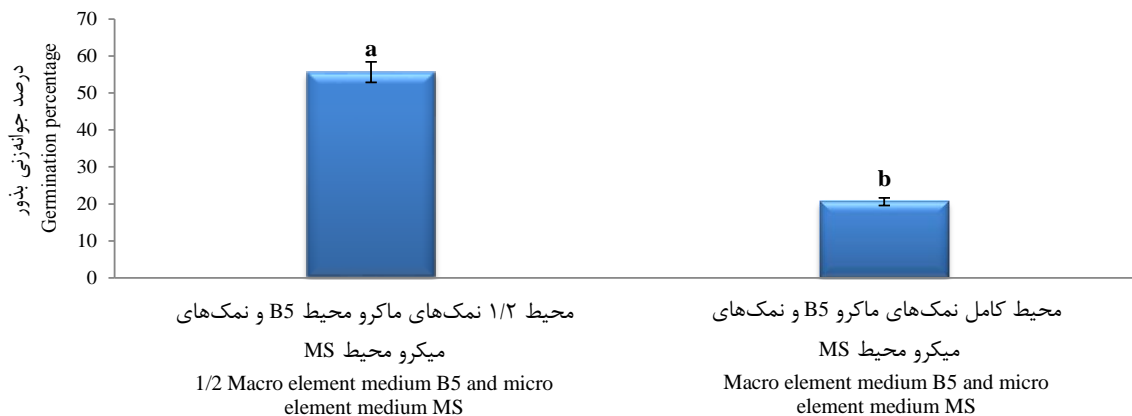


شکل ۴: مقایسه میانگین و میانگین بهترین محیط کپسوله کردن در ارقام انگور (در سطح احتمال ۵ درصد)

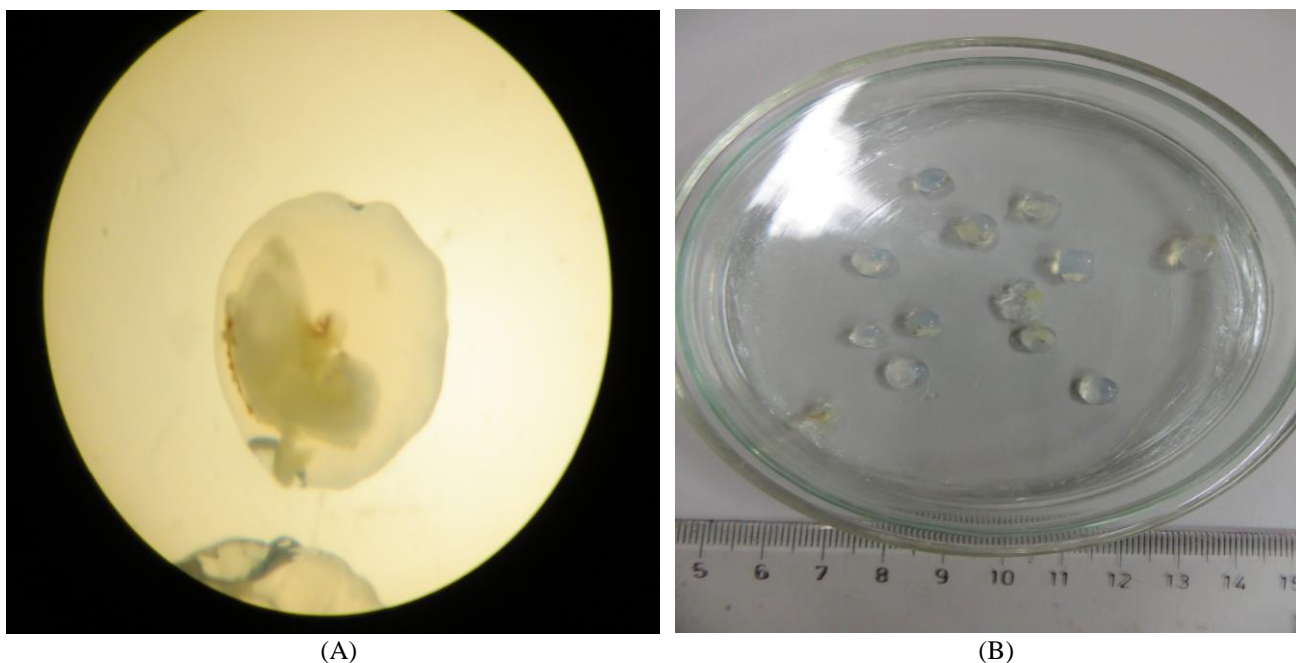
Fig. 4: Mean comparison and average of best encapsulation medium in grape cultivars ($p \leq 0.05$)

است زیرا میزان جوانه‌زنی بذور مصنوعی بیشتر بوده است (شکل ۵).

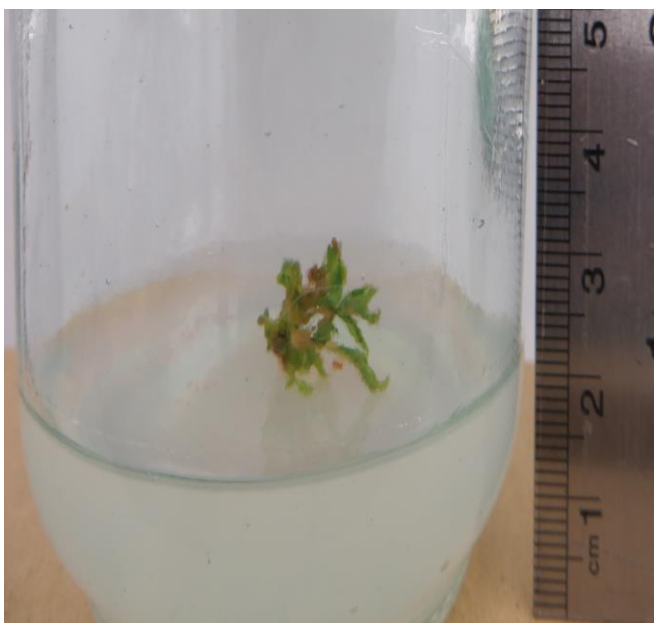
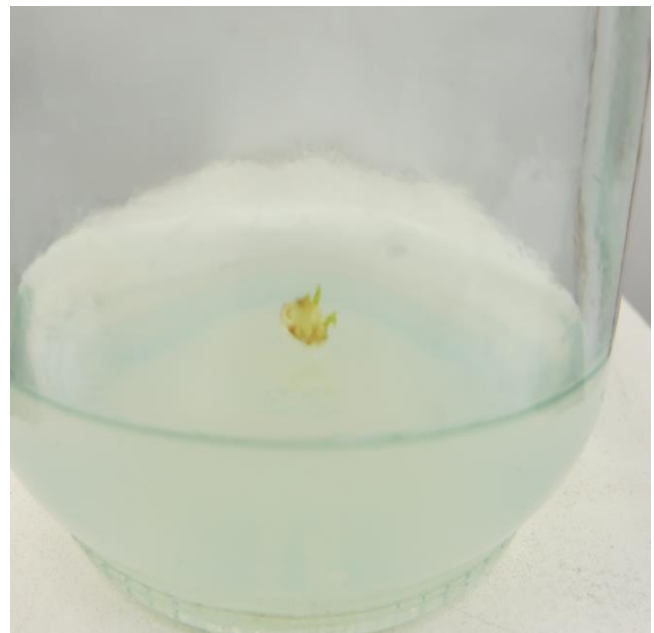
مقایسه میانگین دو محیط کپسوله نشان داد که تیمار b_1 (۱/۲ غلظت نمک‌های ماکرو B_5) از تیمار b_2 (غلظت کامل نمک‌های ماکرو B_5) برای کپسول بذور مصنوعی انگور مناسب‌تر



شکل ۵: مقایسه میانگین محیط کپسوله کردن بر درصد جوانه‌زنی بذور مصنوعی (در سطح احتمال ۵ درصد)
Fig. 5: Mean comparison of encapsulation medium on artificial seed germination percentage ($p \leq 0.05$)



شکل ۶: (A) جنین کپسوله شده انگور (بذر مصنوعی)، (B) ابعاد بذور مصنوعی انگور
Fig. 6: A) Encapsulated embryos grapes (synthetic seed), B) Artificial seeds size in grape



شکل ۷: رشد بذر مصنوعی انگور پس از کشت در محیط رشد
 Fig. 7: The growth of artificial seeds of grapes after culture on medium

می‌یابد و از دسترس سلول‌های جنین خارج می‌شود و این امر سبب تنش و ادامه آن سبب مرگ جنین می‌شود (آگبیدینوکون و همکاران؛ راجا و همکاران (Agbidinokoun *et al.*, 2013;) و همکاران (Raju *et al.*, 2016).

نتایج بررسی حاضر در مورد محیط کپسوله ارقام انگور با تحقیقات نیرالا و همکاران (2007) که آزمایش‌های مختلفی با استفاده از محیط ماکرو B5، میکرو MS به‌عنوان محیط پایه و تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشدی ABA در شش سطح (صفر، 0/004، 0/002، 0/004، 0/2، 0/4 میلی‌گرم در لیتر) بر روی انگور انجام دادند مطابقت دارد. در بررسی نیرالا و همکاران (2007) نشان داده شد که در بیش‌تر ترکیبات

با توجه به این‌که بذر در محیط نمک‌های ماکرو رشد بیش‌تری داشتند می‌توان نتیجه گرفت که کپسول احاطه‌کننده جنین علاوه بر نقش حفاظتی، نقش تغذیه‌ای نیز دارد. کپسول به نوعی نقش آندوسپرم در بذر طبیعی را بر عهده دارد. وجود غلظت بالای املاح می‌تواند مسمومیت سلولی به‌وجود آورد. علاوه بر این، وجود محیط با غلظت کامل نمک‌های ماکرو می‌تواند در تعادل اسمزی سلول‌های جنین تداخل ایجاد نماید. این موضوع زمانی تحقق پیدا می‌کند که به‌علت آگیری از جنین‌های سوماتیکی حین کپسوله کردن مقدار آب کمی در سلول‌ها باقی می‌ماند و همین مقدار کم آب جنین، توسط فشار اسمزی زیاد ناشی از املاح فراوان به محیط کپسول انتشار

درصد جوانه‌زنی جنین مشاهده شد که با تحقیق حاضر، که در همان سطح ساکارز انجام شد یکسان می‌باشد.

در شکل ۵ (A) جنین محصور شده در حین آگیری مشاهده می‌شود و در قسمت (B) ابعاد بذور مصنوعی نشان داده شده است.

در شکل (۷) روند رشد و پاره شدن کپسوله بذور مصنوعی بعد از دریافت رطوبت و رشد جنین محصور شده، نشان داده شده است.

تنظیم‌کننده‌های رشد جنین‌های کپسوله شده رشد کرده‌اند و نرخ جنین‌زایی از ۸ تا ۷۸ درصد متفاوت بود؛ که این دامنه در بررسی حاضر نیز دیده شد.

داس و همکاران (2006) آزمایش‌های مختلفی با استفاده از محیط ماکرو B₅، میکرو MS به‌عنوان محیط پایه کپسوله جنین انگور و تیمارهای مختلف ساکارز در چهار سطح (یک، سه، شش، نه درصد) انجام دادند. جنین‌های کپسوله شده رشد کردند و جوانه‌زنی بذور مصنوعی از ۵ تا ۹۲ درصد متغیر بود. در میزان ۳۰ درصد ساکارز در بررسی داس و همکاران ۵۶/۷

منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۱-۲ متن انگلیسی مراجعه شود.