GOVERNMENT DEGREE COLLEGE
SUDIMALLA, YELLANDU, BHADRADRI KOTHAGUDEM DISTRICT—507 123

DEPARTMENT OF BOTANY

STUDY PROJECT REPORT

2020-21

GOVERNMENT DEGREE COLLEGE
YELLANDU, BHADRADRI KOTHAGUDEM DISTRICT

DEPARTMENT OF BOTANY

CERTIFICATE

Certified that this is the bonafied record of Project Work done by P. Nagamani, P. Mounika and G. Ajantha Of GDC, Yellandu during the Year 2020-21

Hall Ticket No. 08019-3205
-3207
-3209

Lecturer in-charge
(S. Indrani)
Asst. prof. of Botany

GOVERNMENT DEGREE COLLEGE
YELLANDU, BHADRADRI KOTHAGUDEM DISTRICT

STUDY PROJECT REPORT

Name of the Department: BOTANY
Name of the Study Project: Production of synthetic seeds.
No of students participated: 03

Sl.No	Student's Name	Class/Group	Roll.No
1.	G. Ajantha	VI Sem / B2C	08019-3205
2.	P. Nagamani	VI Sem / B2C	08019-3207
3.	P. Mounika	VI Sem / B2C	08019-3209

Objectives of the Study Project:

→ To study synthetic seed production methodology.

Signature of the Lecturer.
(S. Indrani)
Asst. Prof. of Botany.

INDEX

1. Aim & Objective

2. Introduction

3. Plant Tissue Culture Stages

4. Stages in Artificial Seeds Production

5. Conclusion

6. Bibliography

Aim : Production of Synthetic Seeds
Objective : To Study Synthetic Seed Production Methodology

INTRODUCTION

విత్తనం :

- విత్తనాన్ని పిండదశలో శైశవ రూపంలో ఉన్న మొక్కగా వర్ణిస్తారు. దీనిని కప్పి బీజ కవచం ఉంటుంది. సాధారణంగా లోపల ఆహార నిల్వలు ఉంటాయి. ఫలదీకరణం జరిగిన తర్వాత పరిపక్వస్థితికి చేరిన అండాన్ని విత్తనంగా పరిగణిస్తారు.
- విత్తనం ఏర్పడటంతో బీజ మొక్కలలో ప్రత్యుత్పత్తి క్రియపూర్తి అవుతుంది. బీజ సహిత మొక్కలను స్పెర్మటీ ఫైట్స్ అంటారు. వీటిని వివృత మరియు ఆవృత బీజాలుగా, విభజిస్తారు. వివృత భీజాలలో విత్తనాలు నగ్నముగా ఉంటాయి. ఆవృత భీజాలలో విత్తనాలు,ఫలం లోపల కప్పబడి ఉంటాయి.
- విత్తనం అనేది మౌళిక ద్వయస్థితిక దశకు చెందిన బహుకణముత నిర్మాణం. పుష్పించు మొక్కలలో విత్తనాలు సిద్ధ బీజద దశకు చెంది ఉంటాయి.
- విత్తనాలను ప్రధానంగా ప్రత్యుత్పత్తి ప్రమాణాలు అంటారు. అయితే విత్తనాలు ప్రత్యుత్తితో బాటు,పుష్పించు మొక్కల పెంపకానికి,వ్యాపకానికి తోడ్పడతాయి.
- విత్తనంలో సాధారణంగా 3 ప్రధాన బాగాలుంటాయి. అవి÷1). పిండం ·2)అంకురచ్ఛదం 3)బీజకవచం అంటారు.
- సాధారణంగా విత్తనాలు అనుకూల పరిస్థితులున్నప్పుడు మొలకెత్తుతాయి. విత్తనాలు మొలకెత్తడానికి తేమ, ఆక్సీజన్ తగిన ఉష్ణోగ్రత కొన్నిసార్లు కాంతి అవసరమవుతుంది.
- అయితే యివన్నీ అనుకూలించినా కొన్ని మొక్కల విత్తనాలు అంకురించవు. యిలా అనుకూల పరిస్థితులు ఉన్న విత్తనాలు వెంటనే మొలకెత్తలేక పోవటానికి స్థుపావస్థ అంటారు.
- స్థుపావస్థ వలన విత్తనాలను ప్రతికూల వాతావరణ పరిస్థితులను ఎదుర్కొనగలుగుతాయి. అందువల్ల వాటి మనుగడకు ఒక యాంత్రికలు కలుగజేస్తుంది.
- విత్తనాలలో గల స్థుపావస్థ ఆధారంగా మానవుడు విత్తనాలను ఎక్కువకాలం నిల్వచేసుకోగలుగుతున్నాడు.

<u>కృత్రిమ విత్తనాలు :</u>

- వర్ధన ఫలితంగా ఏర్పడే అలైంగిక పిండాలకు బీజకవచం ఉండదు.

  ఈ పిండాలకు జిగురు పదార్థాలను బీజ కవచంగా ఏర్పరచి విత్తనాలను తయారు చేస్తారు.
- కృత్రిక కవచాలచే ఆవరింపబడియున్న అలైంగిక పిండాలను కృత్రిమ విత్తనం అంటారు.

- సాధారణంగా సోడియం, ఆల్జినేట్‌ని కృత్రిమ బీజకవచ సంశ్లేషణకు ఉపయోగిస్తారు. దీనితో పాటు సంహారక మందులను (క్రిమి సంహారక గుల్మ) చేరుస్తారు.
- వాంఛనీయ మొక్కల జాతులను, సంహారక మొక్కలను కృత్రిమ విత్తనాల ద్వారా తక్కువ కాలంలో సామూహికంగా పెంచే అవకాశాలు ఎక్కువగా ఉంటాయి.

  ఈ కృత్రిమ విత్తనాలను మొదటగా తోషియా మురషిగా తయారు చేశారు (1977).
- తర్వాత కిట్టో, జానిక్‌లు 1982 లో కాంట్‌లో కృత్రిమ విత్తనాలను చేశారు.
- పాలీ ఆకీ యిథలీన్‌నుపయోగించి వేరు బీజకవచాలను తయారు చేశారు.

కృత్రిమ సీడ్స్	సహజ సీడ్స్
వర్ధన ఫలితంగా ఏర్పడే అలైంగిక పిండాలను కృత్రిమ విత్తనం అంటారు	ఫలదీకరణం జరిగిన తర్వాత పరిపక్వ స్థితికి చేరిన అండాన్ని విత్తనం అంటారు.
ఈ పిండాలకు జిగురు పదార్థాలను బీజకవచంగా ఏర్పరచి విత్తనాలను తయారుచేస్తారు.	విత్తన ఏర్పడడంతో బీజమొక్కలలో ప్రత్యుత్పత్తి క్రియ పూర్తవుతుంది.
వాంఛనీయ మొక్కల జాతులను సంకర మొక్కలను కృత్రిమ విత్తనాల ద్వారా తక్కువ కాలంలో సామూహికంగా పెంచే అవకాశాలు ఎక్కువగా ఉంటాయి.	విత్తనాలను ప్రధానంగా, ప్రత్యుత్పత్తి ప్రమాణాలు అంటారు. అయితే విత్తనాలు ప్రత్యుత్పత్తితో పాటు పుష్పించు మొక్కల పెంపకానికి తోడ్పడతాయి.
ఈ విత్తనాలను నేరుగా మృత్తికలో నాటవచ్చును.	వీటిని ఈ విత్తనాలలో గల సుప్తావస్థ ఆధారంగా ఎక్కువకాలం నిల్వచేసుకోవచ్చును.
రవాణా చేయడం సులభంగా ఉంటుంది.	సుప్తావస్థస్థితిలో ఉన్న విత్తనాలను రవాణా చేయవచ్చు.

ఉపయోగాలు :

ఎ) నేరుగా మృత్తికలో నాటవచ్చును.

బి) దాదాపు ఒక సంవత్సరకాలం నిల్వచేయవచ్చును.

సి) రవాణా చేయడం సులభంగా ఉంటుంది

కృత్రిమ విత్తనాలలోని పై ఉపయోగకర లక్షణాలు, వృక్ష ప్రజనన కర్తకు ఎంతో సహాయకారిగా ఉంటాయి. అంతేకాక కేంద్ర స్థాయిలో ఆశించిన ఫలితాలు సులువుగా సాధించే అవకాశం ఉంటుంది.

కణజాల వర్ధనంలో దశలు :

- మొక్కల కణాలు లేదా కణజాలాలను ప్రయోగశాలలో సెప్టిక్ వాతావరణంలో తగిన పోషకయానంపై వృద్ధి చేయటాన్ని మొక్కల కణజాల వర్ధనం అంటారు.
- కణజాల వర్ధనాన్ని జర్మన్ శాస్త్రవేత్త జి. హబర్‌లాండ్ 1890 లో మొదటిసారిగా ప్రవేశపెట్టాడు.
- యితను పుష్పించే మొక్కల శాఖీయ కణాలను ఒక కనీస పోషకయానకం మీద విజయవంతంగా వర్ధనం చేయగలిగాడు.
- హానింగ్ 1904 మొదటిసారిగా వరస్థానిక పద్ధతిలో (యిన్‌విట్రో) రెపానస్ (క్యూసిఫెరి) పరిపక్వ పిండాలను వర్ధనం చేశాడు.
- హాబర్ల్యాండ్‌ని కణజాల వర్ధన పిత అంటారు.
- కణజాల వర్ధనం ప్రక్రియ కణాలకు గల ఒక అంతర్గత శక్తి వలనే సాధ్యపడుతుంది.
- మొక్క దేహంలోని వివిధ రకాల కణజాలాలు సంయుక్త బీజంగా పెరిగే, సమ విభజన ఫలితంగా ఏర్పడినవి. అంటే మొక్క దేహంలోని ప్రతి కణంలోని సంయుక్త బీజాలలో వలె విభజన చెంది క్రొత్త కణాలను ఏర్పరచగలిగే జన్యు సమాచారం ఉంటుంది.
- దీని వలనే అవసర సమయాలలో ప్రతి కణం విభజన చెంది క్రొత్త కణాలను ఏర్పరచగలుగుతుంది.
- విభజన చెంది క్రొత్త కణాలను ఏర్పరచ కలిగే ఈ అంతర్గత శక్తిని టోటి పోటెన్సీ అని అంటారు.
- ష్లీడెన్, ష్వాన్‌లు తమ కణ సిద్ధాంతంలో ఈ విషయాన్ని మొదటిసారిగా పేర్కొన్నారు. విర్‌షా కొత్తకణాలు ఎప్పుడు పూర్వపు కణాల నుండే ఏర్పడతాయని పేర్కొన్నారు.
- కణజాల వర్ధనం ద్వారా కొత్త మొక్కలను ఉత్పత్తి చేయడాన్ని మైక్రోప్రోపిగేషన్ అంటారు.
- విభాస్య కణజాల వర్ధనం ద్వారా వైరస్ లేని పూలు, పండ్లు మొక్కలను ఉత్పత్తి చేయవచ్చు. కాండాగ్ర వర్ధనం ద్వారా వైరస్ లేని మొక్కలను ఉత్పత్తి చేసి నాణ్యతను, దిగుబడిని పెంచవచ్చు.
- ద్రవ యానకంలో పూచినపుడు కణజాలాలు యానకంలో
- వాయు ప్రసరణ జరగడమే కాక కణజాలంలోకి కణాలు ఒకదాని నుండి ఒకటి విడుదలవుతాయి. యిటువంటి ఒంటరి కణాలు జన్యుప్రయోగంలో ఉపయోగపడతాయి.

కణజాల వర్ధన ప్రక్రియలోని అంశాలు :

- పరస్థానిక పద్ధతిలో (యిన్-విట్రో) అంటే ప్రయోగశాలల్లో జరిపే కణజాల వర్ధన ప్రక్రియలో ఐదు ముఖ్యమైన అంశాలు ఉంటాయి. అవి :

1. పోషక యానకం 2) ఎసెప్టిక్ పరిస్థితి 3) యినాక్యులేషన్

4) యింక్యుమేషన్ 5) వాయు ప్రసరణం

పోషక యానకం :- యొక్క దేహం నుండి వేరు చేయబడిన కణజాలం లేదా అవయవం తమ పోషక పదార్థాలను స్వయంగా తయారు చేసుకొనలేవు. అందువలన వాటి పెరుగుదలకు తగిన పోషకాలను ద్రవరూపంలో అందజేస్తారు. పోషకాలు కలిగిన ద్రావణాన్ని వర్ధన యానం అంటారు.

శాస్త్రజ్ఞులు వివిధ రకాలైన పోషక యానకాలను తయారు చేస్తారు. వాటిని ఆయా శాస్త్రవేత్తల పేరు మీదుగా సూచిస్తారు.

ఉదా :- (S.H.) యానకం యం.ఎస్. యానం బి-8 యానకం వైట్ యానకం వీటిలో ఎం.ఎస్. యానకంను యిరిగేషన్ స్కూప్ (1962) లో బి.ఎస్. యానకంను గ్లాంబర్ అతని సహచరులు 1968 లో రూపొందించారు.

కణజాల వర్ధన ప్రక్రియలో ఎం.ఎస్. యానకంలో వుంటాయి.

స్థూలపోషకాలు :-

$NH_4\,NO_3^-$ 1650 Mg HNO_3 – 1900 Mg $2H_2O$ – 440 Mg

$MgSO_4$ – 370 Mg $KH_2\,PO_4$ – 170 Mg

సూక్ష్మ పోషకాలు :

$H_3\,Br_3$ – 6.20 Mg, K.I. 0.83 Mg, $MnSO_4$ – 22.5 Mg,

$ZnSO_4$ - 360 3.6 Mg $PeSO_4$ - 27.25 Mg $CaSO_4$ – 0.025 Mg

Cdt^- 0.02 Mg $NaMO_4$ – 0.025 Mg EDTA 37.25 Mg.

సుక్రోజ్ :

30 గ్రా.

విటమిన్ : నికోటిన్ ఆమ్లం 0.5 మి.గ్రా. థయోమిన్ - 0.1 మి.గ్రా.

అమైనో ఆమ్లం :- గ్లైసిన్ - 2.0 మి.గ్రా.

ఎసిప్టిక్ పరిస్థితులు :

- యానకంలో సుక్రోజ్ అధికంగా ఉండటం వల్ల సూక్ష్మ జీవులు అనేకం దీనిలో త్వరగా పెరిగే అవకాశం ఉంటుంది. యానకం సూక్ష్మ జీవరహితంగా ఉండటం, కణజాల వర్ధనానికి అవసరం.
- యానకం తయారు చేయటానికి ఉపయోగించిన స్వస్వజలం రసాయనిక పదార్థాలు ప్రారంభం నుండి సూక్ష్మజీవులను కలిగి ఉండవచ్చు. దీని కొరకు యానకాన్ని ఆటో క్లేవ్ సహాయంతో పూర్తిగా సూక్ష్మజీవ రహితం చేస్తారు.
- వర్ధన ప్రయోగంలో ఉపయోగించే గాజు పాత్రలు, పిప్పెట్‌లు మొదలైన వాటిని శుభ్రమైన కాగితంతో చుట్టి $160-180^0$ ఉష్ణోగ్రత వద్ద 3-4 గంటల సేపు హాట్ హేర్ ఓవెన్‌లో ఉంచి సూక్ష్మ జీవ రహితం చేస్తారు.
- వర్ధన యానకం కలిగిన పాత్రలలోనికి సూక్ష్మజీవుల ప్రవేశాన్ని నిరోధించుటకు ఆయా పాత్రల మూతలను మూసివేయాలి.
- వర్ధనం చేయడానికి ఉపయోగించి మొక్క కణజాలం లేదా అవయవాల ఉపర్ణుతలంపై నేరుగా ప్రవేశిస్తాయి.

3. Inaculation

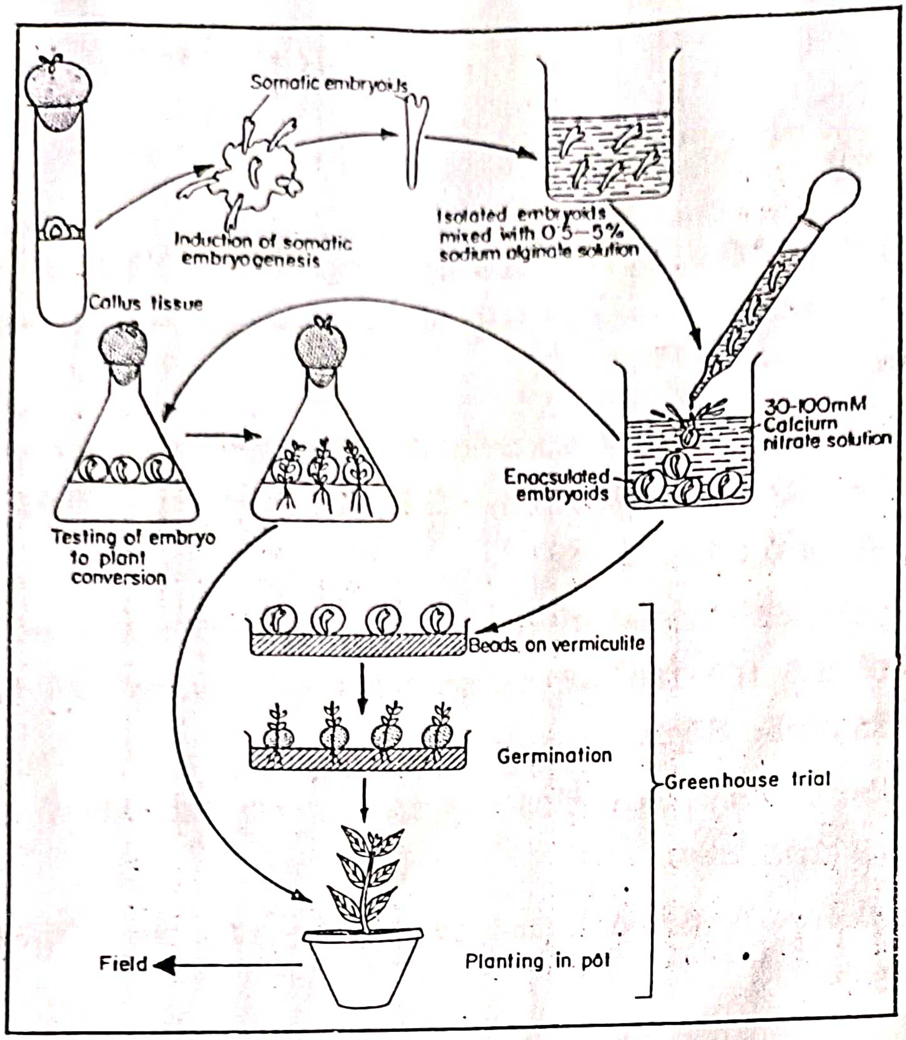
- స్టెరిలైజ్ చేసిన మొక్క కణజాలాన్ని వర్ధన యానకంలోనికి ప్రవేశ పెట్టడానికి యినాక్యులేషన్ అంటారు.
- ఈ ప్రక్రియను సూక్ష్మజీవ రహిత వాతావరణంలో చేయాలి. ఈ చాంబర్ లోపలి ప్రదేశాన్ని యు.వి. కాంతి లేదా ఆల్కాహాల్ ఫార్మలిన్ ద్రావణంలో స్టెరిలైజ్ చేస్తారు.

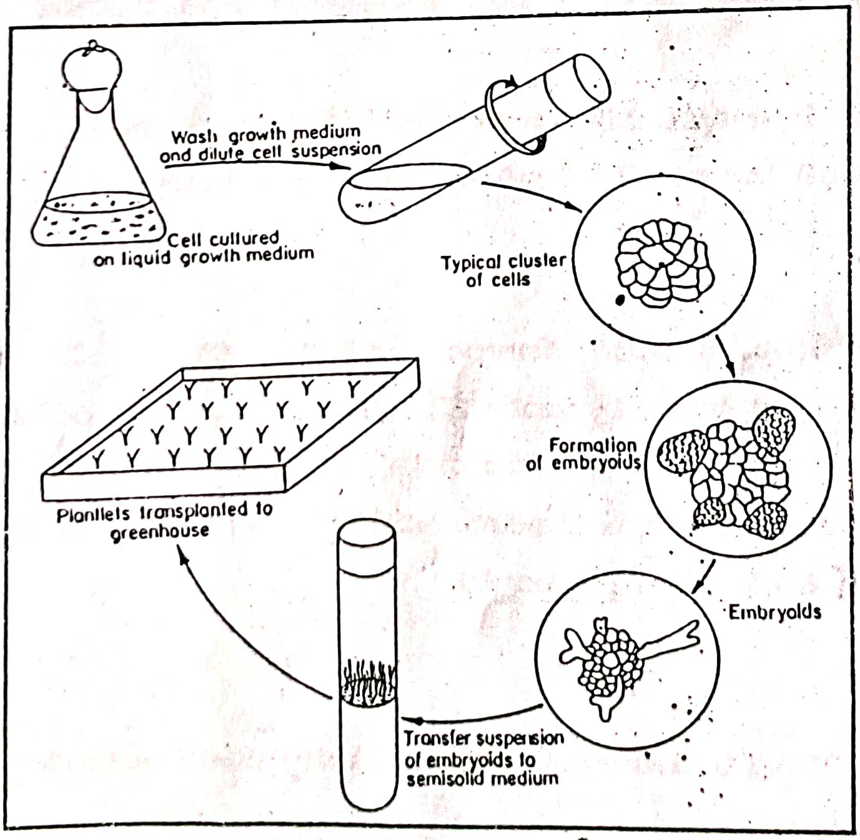
4. Incubation

వర్ధన యానకంలోకి ప్రవేశపెట్టబడిన కణజాలం వృద్ధిచెంది కొత్తమొక్కలు ఏర్పడటానికి కొంత సమయం పడుతుంది. ఈ కణజాలాన్ని యింకుబేషన్ కాలం అంటారు. ఈ కాలంలో వర్ధన యానకం కలిగిన పాత్రలను స్థిరీకరించబడిన వాతావరణ పరిస్థితులు గదులలో 25 ± 2 సెంటిగ్రేడ్ ఉష్ణోగ్రత 80% తేమశాతం ఉండేటట్లు చేస్తారు. వెలుతూరు అవసరమైన $4-10\times10^2.14\times$ వెలుతూరు ఉండే విధంగా ట్యూబ్‌లైట్ ఉపయోగించాలి. (అమర్చాలి)

వాయుప్రసరణ :

పరస్థానిక వర్ధనం చేసినపుడు కణజాలాలను వాయుప్రసరణ కల్పించవలసి ఉంటుంది.


Somatic embryoids
Induction of somatic embryogenesis
Isolated embryoids mixed with 0·5—5% sodium alginate solution
Callus tissue
30-100mM Calcium nitrate solution
Enacsulated embryoids
Testing of embryo to plant conversion
Beads on vermiculite
Germination
Greenhouse trial
Field
Planting in pot


Wash growth medium and dilute cell suspension
Cell cultured on liquid growth medium
Typical cluster of cells
Formation of embryoids
Plantlets transplanted to greenhouse
Embryoids
Transfer suspension of embryoids to semisolid medium

SOMATIC EMBRYOS

- శాఖీయ పిండాల అభివృద్ధిలో జన్యుపరంగా ఒకే రకమైన మొక్కలను ఉత్పత్తి చేయవచ్చు. మరియు వైరస్‌లను అరికట్టవచ్చు.
- సంశ్లేషిత విత్తనాలలో అంకురచదం లేదా విత్తన కవచం ఉండదు.
- శాఖీయ పిండాల అభివృద్ధిలో క్రింది దశలో ఉంటాయి.

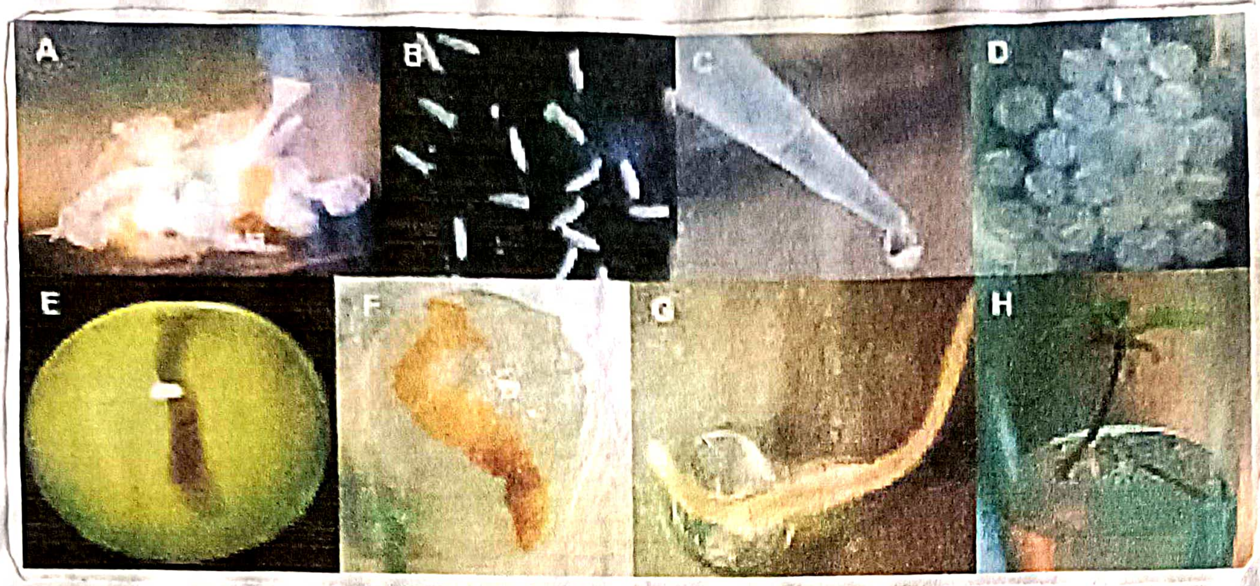
1. ద్ర ఎన్ ఏర్పడుట కాలస్ ఏర్పడుట
2. శాఖీయ పిండం అభివృద్ధి
3. పిండ్రం చుట్టు కవచాన్ని ఏర్పరచుట
4. కృత్రిమ విత్తనాలను శ్రీన హౌస్‌కు మార్చుట

- ఒక ఎక్స్‌ప్లాంట్‌ను తీసుకొని యానకంపై కాలస్ ఏర్పడ్డ వరకు వర్ధనంను చేయవలెను.
- కాలస్ నుండి శాఖీయ పిండాలు ఏర్పడు వరకు ఈ వర్ధనాన్ని గావించాలి. శాఖీయ పిండాలు టార్పిటీ దశ వరకు ఏర్పడిన తర్వాత వాటి యొక్క పొడవు 3-4 మిల్లీ మీటర్లు ఉంటుంది.
- శాఖీయ పిండం చుట్టూ ఒక కృత్రిమ తొడుగును ఏర్పరచాలి. ఎం.ఎస్. మేడమ్ (యం.ఎస్. యానకం), 0.5 యం.జి. ఐ.ఎ.ఎ., 0.5 యం.జి. ఎన్.ఎ.ఎ., 2 యం.జి. బెంజిల్ ఎమైనో ప్యూరిన్ 2 ఎం.జి. యి.డి.టి.ఎ., వాడతారు.
- సోడియం ఆల్జినేట్‌ను పిండాల చుట్టూ ఒక తొడుగును ఏర్పరచటానికి వాడతారు.
- కాల్షియం క్లోరైడ్‌లో ముంచి వివిధ టైమ్ యింటర్‌వెల్స్ తర్వాతి డిస్టల్ వాటర్‌తో 45 నిమిషాలు వాడు కడగాలి.
- శాఖీయ పిండాలను సోడియం ఆల్జినేట్ జెల్‌లో మైక్రో పిప్పెట్‌ను ప్రయోగించి పిండం చుట్టూ ఒక పొరను ఏర్పరచడాలి.
- దీనిని స్టెరిలైజ్డ్ పరిస్థితులలో చేయాలి. దీనికి అగార్ అగార్‌ను సూక్ష్మ మరియు స్థూల మూలకాలతో కలిపి 301 గ్రామ్స్ లీటర్ (జౌల్స్) కలిపి పూర్తి చీకటిలో 25 $\pm$ 1 సెంటిగ్రేడ్‌లో ఉంచాలి.

Methods for making artificial seeds

Several steps are followed for making artificial seeds.

1. Establishment of call us culture
2. Induction of somatic embryogenesis in call us culture.
3. Maturation of somatic embryos


A
B
C
D
E
F
G
H

4. Maturation of somatic embryos ofter encapsulation the artificial seeds are tested by two steps.

1) Test for embryoid to plant conversion

2) Green house and filed planting.

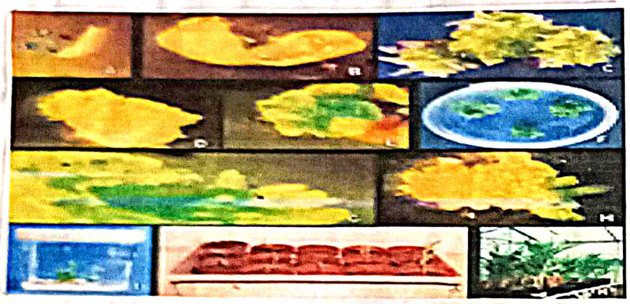
కృత్రిమ విత్తనాల తయారీ :

2 పద్ధతులు కలవు. అవి : 1. డ్రాపింగ్ పద్ధతి, 2) మోల్డింగ్ పద్ధతి

డ్రాపింగ్ పద్ధతి :-

- శాఖీయ పిండాలను హైడ్రోలాజికల్ (ఆల్జినేట్) లో ముంచవలెను. ఈ గుళకీకరణ పిండాలను పిప్పెట్ సహాయంతో ఒక ఫ్లాస్కులోనికి తీసుకుని 20-30 ని॥ల పాటు రోటెట్ (గుండ్రంగా త్రిప్పటం) చేయవలెను.
- ఫ్లాస్కులో కాల్షియం నైట్రేట్ సొల్యూషన్ ఉంది. కావున శాఖీయ పిండాలు కాల్షియం ఆల్జినేట్ పొంచే ఆవరించబడి గట్టిగా ఉండును. తదుపరి ఈ కాల్షియం ఆల్జినేట్ పిండాలను నీటిలో లేదా ఎం.ఎస్. బేసల్ మీడియంలో కడగవలెను.

  ఈ విధంగా సంశ్లేషణ విత్తనాలను తయారుచేయవచ్చు.—ాలా కాకుండా బ్యూరేట్‌లోనికి సోడియం ఆల్జినేట్ ద్రావణం తీసుకొని దానిని కాల్షియం నైట్రేట్ ద్రావణంలోకి ఒక చ్చును వదులుతూ ఉండవలెను.
- బ్యూరెట్ అవుట్‌లైన్ కొన భాగంలో సోయాటిక్ శాఖీయ పిండాన్ని ఉంచిన అది సోడియం ఆల్జినేట్ పదార్థంలో ద్రావణంలో కలిసి కాల్షియం నైట్రేట్ ద్రావణంలోకి వచ్చును.
- బ్యూరెట్‌లో ఒక్కొక్క చుక్క కలుపుతూ, వదులుతూ శాఖీయ పిండాలను గుళకీకరణం చేయడం ద్వారా దీనినే డ్రాపింగ్ పద్ధతి అంటారు.



ESTABLISHMENT OF CALLUS CULTURE

↓

INDUCTION OF SOMATIC EMBRYOGENESIS

↓

MATURATION OF SOMATIC EMBRYOS

↓

ENCAPULATION OF SOMATIC EMBRYOS

↓

TEST FOR EMBRYOID TO PLANT CONVERSION

↓

GREEN HOUSE AND FIELD PLANTING

CONCLUSION

ఫలదీకరణం చెందిన తర్వాత సంయుక్త బీజంలో విభజనలు జరిగి పిండం ఏర్పడుతుంది.
ఈ విధంగా లైంగిక ప్రత్యుత్పత్తిలో ఫలదీకరణ ఫలితంగా ఏర్పడిన పిండాలను లైంగిక పిండాలు అంటారు.

- కణజాల వర్ధనం ద్వారా ఫలదీకరణ లేకుండా ఏర్పడ్డ పిండాలను లైంగిక పిండాలు అంటారు. (సోమాటిక్ ఎంబ్రియోస్)
- పరస్థానిక పద్ధతిలో కణజాలాన్ని వివిధ యానకాలలో కణజాల వర్ధనం చేసినపుడు, శాఖీయ పిండాలు ఏర్పడతాయి.
- శాఖీయ పిండాల చుట్టూ, వివిధ హైడ్రోజెల్స్‌ను ఉపయోగించి కవచాన్ని ఏర్పరుస్తారు.
- కవచాన్ని ఏర్పరచిన శాఖీయ పిండాలను కృత్రిమ విత్తనాలు అంటారు.
- కృత్రిమ విత్తనాలు రవాణా చేయుటకు మరియు నిల్వచేయుటకు సులభంగా ఉంటాయి.

Bibliography

1. Plant Bio-Technology – P.K. Gupta

2. Plant Tissue Culture – Kalyan Kumar DE

3. Botany – Paper – IV – Telugu Academy

   Text Book