Cereal Biotechnology and Biochemistry
Online ISSN: 2783-5170
Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

Evaluation of different concentrations of growth regulators on the regeneration of mature embryo cultures of durum wheat genotypes

Mahasti Abbasi[1] & Reza Mohammadi[2]

[1] Agricultural and Natural Resources Engineering Organization, Kermanshah, Iran, and MSc graduated in Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences and Engineering, Razi University, Kermanshah, Iran.

[2] Dryland Agricultural Research Institute, Sararood Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kermanshah, Iran.

Corresponding author. E-mail: rmohammadi95@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction: The most important and effective index in in vitro culture is plant regeneration from induced callus, which are influenced by genotype and initial explant.

Materials and methods: In this study, the response of five different durum wheat genotypes to callus regeneration under the influence of growth regulators was investigated using adult embryo culture in the tissue culture laboratory of the Faculty of Agriculture, Razi University, Iran. In this method, mature embryos of studied genotypes were isolated and cultured in an MS environment under the influence of BAP (6-benzylaminopurine) and IAA (Indole-3-acetic acid) growth regulators. Calluses obtained from mature embryos in the studied genotypes were subjected to four treatment levels of BAP hormone (0.5, 1, 2 and 2.5 mg/liter) and 1 mg/liter IAA. This experiment was carried out as a factorial 5×4 in the form of a completely randomized design in three replicates and with four samples in each replication. The percentage of regenerated calli was recorded in each genotype two to four weeks after transfer to the growth chamber.

Results: The analysis of variance showed a very significant difference between the studied genotypes in terms of regeneration at the 1% probability level, and there was a significant difference between the different levels of BAP hormone at the 5% probability level. Investigating the effect of BAP hormone in the regeneration stage on the callus obtained from mature durum wheat embryos showed that the interaction between genotype and different hormone levels was insignificant. This shows that different hormone levels had similar behavior in all genotypes. The results of the statistical analysis showed that among the studied genotypes in terms of seedling regeneration percentage, Genotype "24-3-37" had the highest percentage of regeneration, and Genotype "240" had the lowest percentage of regeneration. The average comparison between different BAP hormone levels showed that the hormone level of 0.5 mg/liter showed the highest regeneration and the hormone level of 2.5 mg/liter showed the least regeneration, and the interaction effect of genotype on the hormone level was insignificant. Significant variation was observed between durum wheat genotypes in terms of regeneration percentage, indicating this trait's significant dependence on the genotype effect. A significant linear relationship was observed between the percentage of regeneration and different levels of hormones, which indicated a decrease in regeneration with increasing levels of hormones up to 2.5 mg/liter.

Conclusion: The different responses of durum wheat genotypes to callus induction and seedling regeneration can indicate the different capacities of genotypes when using them in breeding programs through embryo culture.

Keywords: Durum wheat, embryo culture, plant regeneration.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 26 May 2023, **Revised:** 31 Jul 2023, **Accepted:** 26 Aug 2023, **Published online:** 23 Sept 2023

Cite this article: Abbasi, M. & Mohammadi, R. (2023). Evaluation of different concentrations of growth regulators on the regeneration of mature embryo cultures of durum wheat genotypes. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, *2*(3), 301-310. DOI: 10.22126/cbb.2024.10059.1062

© The Author(s).

10.22126/cbb.2024.10059.1062

Publisher: Razi University

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳

Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

ارزیابی غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد بر باززایی کشت جنین بالغ ژنوتیپ‌های گندم دوروم

مهستی عباسی تکیه[۱] و رضا محمدی[۲]

[۱] سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، کرمانشاه، ایران و دانش‌آموخته رشته کارشناسی ارشد اصلاح‌نباتات، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

[۲] موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، معاونت سرارود، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران.

نویسنده مسئول. رایانامه: rmohammadi95@yahoo.com

چکیده

مقدمه: مهم‌ترین و مؤثرترین شاخص در کشت درون‌شیشه‌ای، باززایی گیاه از کالوس القاء شده است که تحت تأثیر ژنوتیپ و ریزنمونه اولیه قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها: در این بررسی، پنج ژنوتیپ مختلف گندم دوروم به باززایی کالوس تحت تأثیر تنظیم کننده‌های رشد با استفاده از کشت جنین بالغ در آزمایشگاه کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی مورد بررسی قرار گرفت. بدین ترتیب که جنین‌های بالغ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه جدا و در محیط MS تحت تأثیر تنظیم کننده رشد BAP (6-benzylaminopurine) و IAA (Indole-3-acetic acid) کشت داده شدند. کالوس‌های حاصل از جنین‌های بالغ در ژنوتیپ‌های مورد بررسی، تحت تأثیر چهار سطح تیمار هورمون BAP (۰/۵، ۱، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر) و ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA قرار داده شدند. این آزمایش بصورت فاکتوریل ۵×۴ در قالب طرح کاملاً تصادفی، با نمونه برداری در سه تکرار و با چهار نمونه در هر تکرار اجرا شد. دو تا چهار هفته بعد از انتقال کالوس‌ها به اتاقک رشد، درصد کالوس‌های باززایی شده در هر ژنوتیپ یادداشت برداری شد.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر باززایی اختلاف بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد و بین سطوح مختلف هورمون BAP در سطح احتمال پنج درصد اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت. بررسی اثر هورمون BAP در مرحله باززایی بر روی کالوس حاصل از جنین بالغ گندم دوروم نشان داد که اثر متقابل بین ژنوتیپ و سطوح مختلف هورمون، معنی‌دار نگردیده است. این می‌تواند نشان دهد که سطوح مختلف هورمون در تمامی ژنوتیپ‌ها دارای رفتار مشابهی بوده است. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر درصد باززایی گیاهچه، ژنوتیپ 37-24-2-3 از بیشترین درصد باززایی برخوردار بوده و ژنوتیپ 240 دارای کمترین میزان باززایی بود. مقایسه میانگین بین سطوح مختلف هورمون BAP نشان داد که سطح هورمون ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بیشترین باززایی و سطح هورمون ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر کمترین باززایی را نشان داد و اثر متقابل ژنوتیپ در سطح هورمون معنی‌دار نبود. تنوع قابل توجهی بین ژنوتیپ‌های گندم دوروم از لحاظ درصد باززایی مشاهده گردید که نشان‌دهنده وابستگی معنی‌دار این صفت به ژنوتیپ می‌باشد. بین درصد باززایی و سطوح مختلف هورمون رابطه خطی معنی‌دار مشاهده گردید که بیانگر کاهش میزان باززایی با افزایش سطح هورمون تا ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر بود.

نتیجه‌گیری: پاسخ متفاوت ژنوتیپ‌های گندم دوروم به القاء کالوس و باززایی گیاهچه می‌تواند حاکی از متفاوت بودن ظرفیت ژنوتیپ‌ها در استفاده از آن‌ها در برنامه‌های به نژادی از طریق کشت جنین باشد.

واژه‌های کلیدی: باززایی گیاهچه، گندم دوروم، کشت جنین بالغ.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۰۵ **اصلاح:** ۱۴۰۲/۰۵/۰۹ **پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۶/۰۴، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۲/۰۷/۰۱

استناد: عباسی تکیه، م. و محمدی، ر. (۱۴۰۲). ارزیابی غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد بر باززایی کشت جنین بالغ ژنوتیپ‌های گندم دوروم. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۲(۳)، ۳۰۱-۳۱۰. DOI: 10.22126/cbb.2024.10059.1062

ناشر: دانشگاه رازی

© نویسندگان.

مقدمه

گندم دوروم از جنس تریتیکوم (*Tritium*) و با نام علمی تریتیکوم دوروم (*Triticum durum*) یک آلوتتراپلوئید با تعداد کروموزوم 2n=4x=28 و با ژنوم AABB می‌باشد (MacKey, 2005). ده درصد مناطق زیر کشت گندم جهان را گندم دوروم تشکیل می‌دهد. علی‌رغم سطح زیر کشت کم، گندم دوروم به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد و محصولات نهایی، یک محصول مهم اقتصادی است (Kamrani *et al*., 2016). با توجه به اینکه گندم دوروم غذای عمده ۴۰ کشور دنیا محسوب می‌شود، نیاز ۳۵ درصد جمعیت جهان را بر طرف می‌کند (Kahrizi *et al*., 2005). در سال‌های اخیر تولید غلات به دلیل تشدید تنش‌های محیطی متعدد کاهش یافته است. از این رو، اصلاح ارقام غلات سازگار به تنش‌های متعدد زنده و غیر زنده یک ضرورت در اصلاح غلات می‌باشد. اصلاح از طریق دستورزی ژنتیکی به دلیل عدم دسترسی به روش‌های کشت بافت و باززایی کارآ و مطمئن، محدود شده است (Gholami & Tarinezhad, 2018). کشت بافت ابزاری را برای تکثیر سریع تعداد زیادی از گیاهان و ایجاد پایه‌های سالم و حفظ ذخیره ژنتیکی آن‌ها فراهم نموده است (Sugandh, 2017) و روشی کاربردی در جهت تولید انبوه گیاهان در یک دوره زمانی کوتاه مدت و بدون وابستگی به شرایط آب و هوایی منطقه و فصل کاشت می‌باشد (Agarwal, 2015). اندام‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای به عوامل مختلفی ازجمله استفاده از هورمون‌های گیاهی، ژنوتیپ، دما، رطوبت و هم‌چنین به توانایی بافت‌ها برای پاسخ به تغییرات هورمونی در طول کشت وابسته است (Mobaseri Moghadam *et al*., 2023). در گندم از ریزنمونه‌های مختلفی نظیر گل آذین نارس، جنین نارس و جنین بالغ برای تولید کالوس استفاده شده است و تا به حال کشت جنین نارس گندم به عنوان بهترین ریزنمونه در مطالعات کشت کالوس در گندم شناخته شده است (Ren *et al*., 2010; Erkoyuncu & Yorgancilar, 2016). اگرچه جنین نابالغ یکی از مناسب‌ترین ریزنمونه‌ها در کشت بافت گندم می‌باشد، اما به عنوان ریزنمونه دارای برخی از معایب نیز می‌باشد. در دسترس بودن آن‌ها محدود به دوره کوتاهی از زمان رشد در سال می‌باشد، جداسازی سخت و مشخص کردن مرحله کشت مناسب آن نیز مشکل می‌باشد (Hakam *et al*., 2015). به دلیل سهولت استفاده از جنین بالغ و در دسترس بودن در هر فصل از سال، جداسازی آسان و حداقل تغییر پذیری و وضعیت فیزیولوژیکی آن، پژوهشگران ترجیح می‌دهند از این نوع جنین برای مطالعه خود به جای جنین نارس استفاده نمایند (Gholami & Tarinezhad, 2018; Yu *et al*., 2019). غالباً برای تولید بافت کالوس از محیط کشت MS استفاده می‌شود و ساکارز یا گلوکز به‌عنوان منبع قند به‌کار می‌رود (Gholami & Tarinezhad, 2019). تولید کالوس در گیاهان تک لپه‌ای معمولاً مشکل‌تر از گیاهان دو لپه‌ای صورت می‌گیرد. به همین دلیل برای القاء و تشکیل کالوس، نیاز به اضافه کردن هورمون‌های غیر طبیعی می‌باشد. باززایی گیاه از کالوس، یک پدیده

مورفوژنتیکی پیچیده می‌باشد که عوامل داخلی و خارجی فیزیولوژیک گیاه، نقش مهمی در آن ایفا می‌کنند (Yan *et al*., 2010). در پژوهشی که در مورد باززایی گیاه جو از ریز نمونه جنین بالغ انجام شد، مقدار یک میلی‌گرم بر لیتر هورمون تیدیازورون[1] بهترین نتیجه برای افزایش تمایزیابی معکوس و افزایش شاخه‌زایی را نشان داد (Shan *et al*., 2000). در مطالعه‌ای، محیط کشت حاوی چهار میلی‌گرم در لیتر دیکامبا برای کالوس‌زایی و باززایی جنین بالغ جو معرفی شد (Erkoyuncu & Yorgancilar, 2016). در مطالعه‌ای از سه نوع اکسین 2,4-D، دیکامبا و پیکلورام در القای کالوس ریزنمونه جنین بالغ در گیاه جو استفاده شد و نتایج نشان داد که غلظت بالای اکسین دیکامبا (۱۰-۱۲ mg/l) تأثیر مثبتی بر این صفت دارد (Aydin *et al*., 2015). در پژوهشی از توفوردی (2,4-D) و زآتین[2] برای کالوس‌زایی و باززایی جنین بالغ گندم استفاده شد (Badr Eldin *et al*., 2012). بهترین پاسخ برای کالوس‌زایی، مقدار دو میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در محیط کشت MS و برای اندام‌زایی، مقدار دو میلی‌گرم بر لیتر توفوردی به همراه یک میلی‌گرم بر لیتر زئاتین در محیط کشت MS به دست آمد (Badr Eldin *et al*., 2012). در کشت جنین‌های بالغ و نابالغ ۱۲ ژنوتیپ گندم نان و دو ژنوتیپ گندم دوروم، حداکثر القاء کالوس را در محیط حاوی ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون 2,4-D گزارش کردند (Pellegrineschi *et al*., 2004). این تحقیق با هدف بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد در باززایی ژنوتیپ‌های گندم دوروم با استفاده از ریزنمونه جنین بالغ در شرایط کشت درون شیشه‌ای انجام شده است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد در باززایی در شرایط درون شیشه‌ای، پنج ژنوتیپ گندم دوروم دریافتی از معاونت مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم (سرارود، کرمانشاه) در آزمایشگاه کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه رازی مورد مطالعه قرار گرفتند. بذور بالغ ابتدا توسط آب مقطر استریل شستشو داده شد و سپس در محلول وایتکس ۲۰ درصد (حاوی پنج درصد هیپوکلریت سدیم) به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه قرار داده شد. سپس به وسیله الکل ۷۰ درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی سطحی گردید و توسط آب مقطر استریل مورد شستشو قرار گرفتند. جنین‌های بالغ پس از جداسازی به تشتک‌های پتری محتوی محیط کشت موراشیک و اسکوگ (Murashige & Skoog, 1962) به انضمام ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D منتقل شدند و در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۸ روز در اتاق کشت بافت قرار داده شدند. بعد از چهار هفته، کالوس‌های به دست آمده به محیط کشت باززایی حاوی سطوح ۰/۵، ۱، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP (6-benzylaminopurine) و ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA (Indole-3-acetic acid) منتقل شدند. این

[1] - Thidiazuron

[2] – Zeatin

آزمایش بصورت فاکتوریل ۵×۴ در قالب طرح کاملاً تصادفی، با نمونه برداری در سه تکرار و با چهار نمونه در هر تکرار اجرا شد. محیط‌های کشت باززایی در اتاقک رشد تحت شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. دو تا چهار هفته بعد از انتقال کالوس‌ها به اتاقک رشد، درصد کالوس‌های باززایی شده در هر ژنوتیپ یادداشت برداری شد (شکل۱ و ۲). با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ-های مورد مطالعه از نظر باززایی اختلاف بسیار معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. هم‌چنین بین سطوح مختلف هورمون BAP مورد آزمایش نیز اختلاف معنی‌دار وجود داشت اما اثر متقابل ژنوتیپ در سطح غلظت‌های مختلف هورمون معنی‌دار نبود (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد باززایی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در سطوح مختلف BAP

Table 1. Variance analysis of regeneration percentage of studied durum wheat genotypes under different level of BAP

میانگین مربعات Mean squares	مجموع مربعات Sum of squares	درجه آزادی df	منابع تغییرات Source of variation
5.54**	13854.17	4	ژنوتیپ Genotype
4.19*	7864.58	3	هورمون Hormone
1.04	7812.50	12	ژنوتیپ× هورمون Genotype x Hormone
1.13	28333.33	40	اشتباه آزمایشی Error
	5781.58	59	کل Total

*، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

*, **: Significant at the 5% and 1% probability levels.

مقایسه میانگین بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان داد که ژنوتیپ 3-2-24-37 بالاترین میزان و ژنوتیپ 240 کمترین میزان باززایی را دارا بودند (جدول ۲). بررسی اثر هورمون BAP در مرحله باززایی بر روی کالوس حاصل از جنین بالغ گندم دوروم نشان داده شد که اثر متقابل بین ژنوتیپ و سطوح مختلف هورمون معنی‌دار نگردیده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد باززایی در ژنوتیپ های مورد مطالعه

Table 2. Mean comparison of regeneration percentage in durum wheat genotypes

کد ژنوتیپ Genotype code	ژنوتیپ Genotype	درصد باززایی Regeneration percentage
1	Zardak	31.25[b]
2	25-25-1-5	45.83[ab]
3	409	39.58[ab]
4	240	8.33[c]
5	37-24-2-3	52.08[a]

میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری ندارند (P<۰/۰۱).

Means followed by common letters are not significantly different (P<0.01).

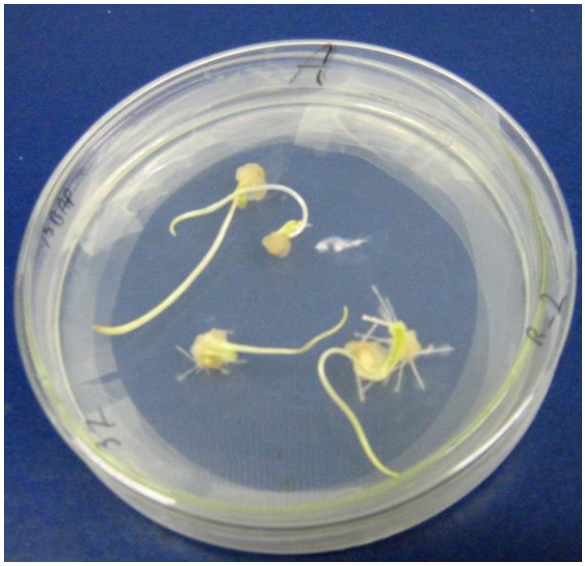
جدول ۳- مقایسه میانگین درصد باززایی سطوح مختلف هورمون BAP

Table 3. Mean comparison of regeneration percentage in different levels of BAP hormone

سطح هورمون BAP BAP hormone level	درصد باززایی Regeneration percentage
0.5	53.33[a]
1.0	35.0[ab]
2.0	31.67[b]
2.5	21.67[b]

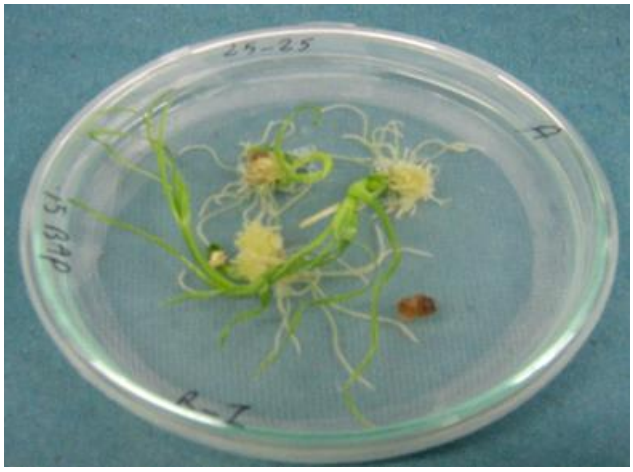
میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک، تفاوت معنی‌داری ندارند (P<۰/۰۱).

Means followed by common letters are not significantly different (P<0.01).



شکل ۱- باززایی گیاهچه دو هفته بعد از قرار گرفتن در محیط کشت باززایی

Figure 1. Seedling regeneration two weeks after placing in the regeneration medium



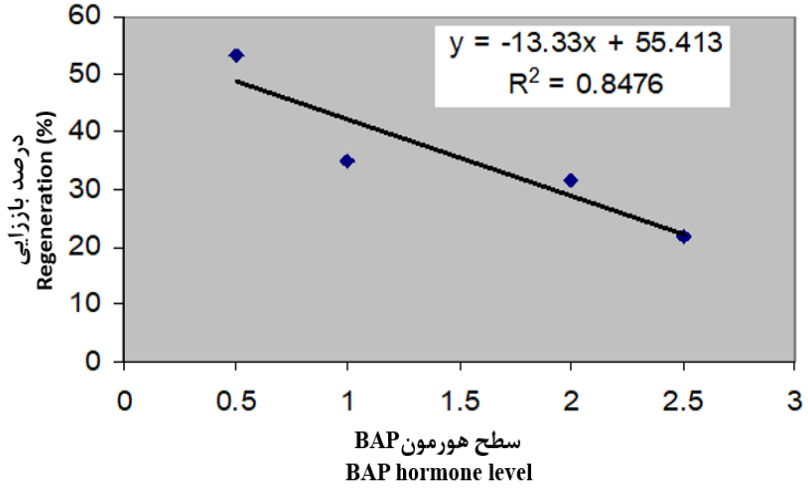
شکل ۲- باززایی گیاهچه ۴ هفته بعد از قرار گرفتن در محیط کشت باززایی

Figure 2. Seedling regeneration four weeks after placing in the regeneration medium

این می‌تواند نشان دهد که سطوح مختلف هورمون در تمامی ژنوتیپ‌ها دارای رفتار مشابهی بوده است. مطابق با این نتیجه، در پژوهشی گزارش شد اثر متقابل ژنوتیپ در سطوح هورمون معنی‌دار نشده است (Ağıl *et al.*, 2022). مقایسه میانگین بین سطوح مختلف هورمون BAP نشان داد که سطح اول هورمون یعنی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر، بیشترین باززایی را دارا بود و مقدار ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر کمترین میزان را دارا بود (جدول ۳) و بنابراین با افزایش میزان هورمون BAP در محیط کشت باززایی، درصد باززایی کاهش یافت (شکل‌های ۱ و ۲). در پژوهشی گزارش شد القاء کالوس به‌ویژه باززایی گیاه از کالوس مهم‌ترین و مؤثرترین شاخص در کشت درون‌شیشه‌ای هستند که تحت تأثیر ژنوتیپ و ریزنمونه اولیه قرار می‌گیرند (Abumhadi *et al.*, 2005). نتایج تحقیق حاضر با نتایج مطالعه ابومهدی و همکاران (Abumhadi *et al.*, 2005) در مرحله باززایی مبنی بر معنی‌دار بودن اثر ژنوتیپ، مطابقت داشت.

تنوع موجود بین ژنوتیپ‌ها از نظر درصد باززایی نشان‌دهنده وابستگی این صفت به ژنوتیپ می‌باشد. بین درصد باززایی و سطوح مختلف هورمون، رابطه خطی معنی‌دار گردید؛ با افزایش سطح هورمون تا ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر، میزان باززایی کاهش یافت (شکل ۳). در پژوهشی در گندم گزارش شد که با افزایش میزان هورمون BAP میزان باززایی افزایش پیدا کرده است (Ağıl *et al.*, 2022) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت نداشت که این اختلاف می‌تواند ناشی از نوع ژنوتیپ مورد استفاده باشد که در پاسخ به هورمون BAP واکنش متفاوتی از خود نشان می‌دهند و همچنین می‌توان گفت مقدار سیتوکنین داخلی ژنوتیپ‌های مورد استفاده نسبتاً زیاد می‌باشد که با افزودن مقدار هورمون BAP به صورت

مصنوعی باعث کاهش میزان درصد باززایی ژنوتیپ‌های مورد استفاده در این تحقیق شده است.



شکل ۳- نمودار رگرسیون درصد باززایی در سطوح مختلف BAP

Figure 3. Regression graph of regeneration percentage at different levels of BAP

چندین فاکتور مؤثر در کشت بافت سلول در شرایط آزمایشگاه وجود دارد. یک سری از این فاکتورها داخلی و یک سری از این فاکتورها خارجی هستند. نوع ریزنمونه، ژنوتیپ رقم مورد استفاده و ترکیبات محیط کشت از فاکتورهای مهم در کشت بافت می‌باشد. به نظر می‌رسد مهمترین فاکتور مؤثر، ساختار ژنتیکی ریزنمونه است. در مطالعه کالوس حاصل از جنین ارقام گندم دوروم نشان داده شده است که صفاتی همچون درصد القای کالوس و درصد باززایی آن‌ها، تحت تأثیر ژنوتیپ می‌باشد و نیز القاء و باززایی تحت تأثیر ژنوتیپ، منبع ریزنمونه، منشاء جغرافیایی، محیط کشت و اثر متقابل بین آن‌هاست. باززایی و القای کالوس به ژنوتیپ گیاه مورد مطالعه وابسته است (Nasircilar *et al.*, 2006). پرآوری مهم‌ترین مرحله ریزازدیادی است و وجود یک روش کار موفق با ظرفیت بالا، سرعت و کیفیت ریزافزایی را بسیار تحت تاثیر قرار می‌دهد. عوامل بسیار زیادی مانند نوع گونه و ژنوتیپ، محیط کشت، مواد معدنی و آلی، کربوهیدرات‌ها، تنظیم کننده‌های رشد و فاکتورهای فیزیکی بر پرآوری و به‌طور کلی ریزافزایی موثر می‌باشد. در فرایند پرآوری سیتوکنین‌ها به عنوان اصلی‌ترین تنظیم کننده‌های رشد در نظر گرفته می‌شوند، اگرچه در مواردی غلظت‌های کمی از اکسین و جیبرلیک اسید نیز به کار برده می‌شود (Pati *et al.*, 2005).

نتیجه‌گیری

با توجه به در دسترس بودن جنین بالغ در طول سال، می‌توان آن را به عنوان یک منبع مؤثر در کشت بافت از طریق عوامل غیر وابسته که ممکن است در هسته یا سیتوپلاسم قرار گرفته باشند، به حساب آورد. به نظر می‌رسد ویژگی‌های فیزیولوژیک ریزنمونه اولیه در

موفقیت‌آمیز بودن کشت بافت مؤثر باشد. ژنوتیپ عامل مؤثری بر القاء کالوس و باززایی کالوس می‌باشد. تفاوت مشاهده شده در بین ژنوتیپ‌ها، ناشی از تأثیر هورمون‌های داخلی گیاه می‌باشد که احتمالاً تحت کنترل یک یا تعداد بیشتری ژن می‌باشند. پاسخ متفاوت ژنوتیپ‌های گندم دوروم به القاء کالوس و باززایی گیاهچه می‌تواند حاکی از متفاوت بودن ظرفیت ژنوتیپ‌ها در استفاده از آن‌ها در برنامه‌های به‌نژادی از طریق کشت جنین باشد.

References

Abumhadi, N., Kamenarova, K., Todorovska, E., Dimov, G., Trifonova, A., Gecheff, K., & Atanassov, A. 2005. Callus induction and plant regeneration from barley mature embryos (*Hordeum vulgare* L.). Biotechnology and Biotechnology Equipment, 19 (3), 32-38.

Agarwal, M. 2015. Tissue culture of (*Momordica charantia* L.). A review. Journal of Plant Science, 3(1-1), 24-32.

Ağıl, F., Örgeç, M., Karakaş, F.P., Verma, S.K., Zencirci, N., 2022. In vitro mature embryo culture protocol of einkorn (*Triticum monococcum* ssp. monococcum) and bread (*Triticum aestivum* L.) wheat under boron stress. Plant Cell Tissue Organ Culture, 148(2), 293-304.

Aydin, M., Taspinar., M.S., Arslan., E., Sigmazb, B., & Agar. G. 2015. Auxin effects on somaclonal variation and plant regeneration from mature embryo of barley (*Hordeum vulgare* L.). Pakistan Journal of Botany, 47(5), 1749-1757.

Badr Eldin, A., Saeed., E., Marmar., A., Siddig, E., Osman, A.O., & Hussein A.E. 2012. A simple and efficient protocol for callus induction and regeneration from wheat (*Triticum aestivum* L.) Mature Embryos. International Journal of Science and Research, 3(7), 1698-1702.

Erkoyuncu, M.T., & Yorgancilar, M. 2016. Efficient callus induction and plantlets regeneration from mature embryo cculture of barley (*Hordeum vulgare* L.). Genotypes. International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering, 10(6), 347-353.

Gholami, A. A., & Tarinejad, A. 2018. Callus induction and regeneration of bread wheat cultivars from Different explants. Journal of Cell and Tissue, 9(1), 37-56.

Gholami, A.A., & Tarinezhad, A. 2019. Effect of MS and N6 media and auxin and cytokinin hormones on regeneration of bread wheat lines from coleoptile explants. Iranian Journal of Seed Science and Research, 6(2), 15-227.Hakam, N., Udupa, S.M., Rabha, A., Ibriz, M., & Iraq, D. 2015. Efficient callus induction and plantlets regeneration in bread wheat using immature and mature embryos. International Journal of Biotechnology Research, 3(1), 1-9.

Kahrizi, D., Arminian, E., & Masumiasl, A. 2005. *In vitro* plant breeding. Razi University Press.

Kamrani, M., Ebadi, A., & Mehreban, A. 2016. Evaluation of grain yield-based drought tolerance indices for screening durum wheat genotypes. Jordan Journal of Agricultural Sciences, 12(2), 649-665.

MacKey, J. 2005. Wheat: its concept, evolution, and taxonomy. In 'Durum wheat breeding'. (Eds C Royo, N Di Fonzo) pp. 35–94. (CRC Press: Boca Raton, FL, USA)

Mobaseri Moghadam, M., Fakheri, B., Kamaladiny, H., Solouki, M., & Haddadi, F. 2023. Evaluation of the effect of growth regulators on the micropropagation process of medicinal plant (*Momordica charantia*), and identification of secondary compounds of different organs using GC-MS. Journal of Crop Science Research in Arid Regions, 4(2):533-546.

Murashige, T., & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15, 473-497.

Nasircilar, G., Turgut, K., & Fiskin, K. 2006. Callus induction and plant regeneration from mature embryos of different wheat genotypes. Pakistan Journal of Botany, 38(3), 637-645.

Pati, P.K., Rath, S.P., Sharma, M., Sood, A., & Ahuja, P.S. 2005. *In vitro* propagation of rosea-review. Biotechnology Advances, 24(1), 94-114.

Pellegrineschi, A., Brito, R.M., Mclean, S., & Hoisington, D. 2004. Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the establishment of callus and plant regeneration in durum and bread wheat. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 77, 245-250.

Ren, J., Wang, X., & Yın, J. 2010. Dicamba and sugar effects on callus induction and plant regeneration from mature embryo culture of wheat. Agricultural Science in China, 9(1), 31-37.

Shan, X.Y., Li., D.S., & R. D Qu. 2000. Thidiazuron promotes in vitro regeneration callus of wheat and barley. In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant, vol 36, 207-210.

Sugandh, S. 2017. Plant tissue culture: a promising tool of quality material production with special reference to micropropagation of banana. Biochemical and cellular Archives, 17(1), 1-26.

Yan, L., Li, X., & Wu, D. 2010. The comparison in tissue culture ability of mature embryo in different cultivars of rice. Agricultural Sciences in China, 9(6), 840-846.

Yu, G., Wang, J., Miao, L., Xi, M., Wang, Q., & Wang, K. 2019. Optimization of mature embryo-based tissue culture and Agrobacterium-mediated transformation in model grass *Brachypodium distachyon*. International Journal of Molecular Science, 20(21), 5448.