Razi University

Cereal Biotechnology and Biochemistry

Online ISSN: 2783-5170

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

Predicting response to mature embryo culture of durum wheat genotypes using agronomic traits

Sina Ghanbari[1], Kianoosh Cheghamirza[1,2] ✉ & Leila Zarei[1,2]

[1] Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran.

[2] Cereal Research Center, Razi University, Kermanshah, Iran.

✉ Corresponding author. E-mail: cheghamirza@yandex.com

ABSTRACT

Introduction: The tissue culture technique and in vitro propagation have many advantages and potentials compared to the classical methods of vegetative propagation of plants, the most important of which is the propagation of uniform and pathogen-free plants in a short time and on a large scale. Choosing an explant at the optimal growth stage plays a key role in the success of tissue culture in vitro. Effective propagation of plants by tissue culture can help to clone desirable genotypes and be used for commercial propagation of genotypes in the short term. Callus production through mature embryo culture allows many plants to regenerate effectively in tissue culture conditions. Selection based on an agronomic trait can be used as a suitable method to predict tissue culture results, which is costly and time-consuming.

Materials and methods: To evaluate agricultural traits, 20 durum wheat genotypes, including 19 advanced lines and the Zardak variety, were cultivated for two years based on a randomized complete block design with three replications. The response to the mature embryo culture of 20 durum wheat genotypes was made in the callus induction stage in a completely randomized design with seven replicates and ten mature embryo samples in each replicate.

Results: The analysis of variance showed a significant difference between the studied genotypes regarding the percentage of callus induction and the relative speed of callus growth. The combined variance analysis table for agronomic traits measured on 20 durum wheat genotypes showed a significant difference between the studied and measured traits. The results of path analysis showed that peduncle length, number of seeds per spike, and number of spikes per plant had the most direct and positive effect, height and peduncle length had the most negative direct effect, and spike length had the least direct effect on callus induction percentage. Also, peduncle length to height ratio and spike density showed the most positive direct effect, peduncle length, and grain yield had the most direct and negative effect, and the number of spikes per plant showed the least direct effect on the relative speed of callus growth. According to the results of canonical analysis, the plants with more grains per spike have higher callus induction percentages and relative callus growth rates. Nevertheless, Mantel test results showed no significant correlation between similarity matrices obtained from tissue culture and agricultural data.

Conclusion: These results indicate the genetic control and the possibility of direct screening of genotypes with appropriate tissue culture traits through these correlated agronomic traits that are easy and quick to select.

Keywords: Callus induction, Canonical correlation, Path analysis, *Triticum turgidum*.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 09 Feb 2024, **Revised:** 15 May 2024, **Accepted:** 20 Aug 2024, **Published online:** 22 Sep 2024

Cite this article: Ghanbari, S., Cheghamirza, K. & Zarei, L. (2024). Predicting response to mature embryo culture of durum wheat genotypes using agronomic traits. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, *3*(3), 425-441. DOI: 10.22126/cbb.2024.10139.1065

© The Author(s).

Publisher: Razi University

10.22126/cbb.2024.10139.1065

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳

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

پیش‌بینی پاسخ به کشت جنین بالغ گندم دوروم با استفاده از صفات زراعی

سینا قنبری[۱]، کیانوش چقامیرزا[۱و۲]✉ و لیلا زارعی[۱و۲]

[۱] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

[۲] مرکز تحقیقات غلات، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

✉نویسنده مسئول. رایانامه: cheghamirza@yandex.com

چکیده

مقدمه: تکثیر درون شیشه‌ای از مزایا و پتانسیل‌های زیادی برخوردار می‌باشد که از مهم‌ترین آنها، می‌توان به تکثیر گیاهان یکنواخت و عاری از پاتوژن در یک زمان کوتاه و در مقیاس بسیار وسیع اشاره کرد. انتخاب ریزنمونه در مرحله رشد مطلوب نقش اساسی در موفقیت آمیز بودن کشت بافت در شرایط درون شیشه‌ای بازی می‌کند. تکثیر مؤثر گیاهان با کشت بافت می‌تواند به کلون‌سازی ژنوتیپ‌های مطلوب کمک کند و در کوتاه مدت برای تکثیر تجاری ژنوتیپ‌ها استفاده شود. تولید کالوس از طریق کشت جنین بالغ امکان باززایی مؤثری را برای بسیاری از گیاهان در شرایط کشت بافت فراهم می‌کند. انتخاب بر اساس صفات زراعی می‌تواند به‌عنوان روشی مناسب برای پیش‌بینی نتایج کشت بافت که یک روش پر هزینه و زمان‌بر است مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین پژوهش حاضر در راستای بررسی ارتباط صفات زراعی گندم دوروم با ویژگی‌های مرتبط با القا و رشد کالوس حاصل از جنین بالغ انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: به منظور ارزیابی صفات زراعی، ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم شامل ۱۹ لاین پیشرفته و رقم زردک در دو سال زراعی متوالی (۱۳۸۴-۱۳۸۵ و ۱۳۸۶-۱۳۸۵) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند. پاسخ به کشت جنین بالغ ژنوتیپ های مذکور در مرحله القاء کالوسدر قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تکرار انجام شد.

یافته‌ها: جدول تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر درصد القای کالوس و سرعت نسبی رشد کالوس اختلاف بسیار معنی‌دار بود. جدول تجزیه واریانس مرکب برای صفات زراعی اندازه‌گیری شده بر روی ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر صفات اندازه‌گیری شده اختلاف بسیار معنی‌دار وجود داشت. نتایج تجزیه علیت نشان داد که صفات طول پدانکل، تعداد دانه در سنبله و تعداد سنبله در بوته بیشترین اثر مستقیم و مثبت، ارتفاع و طول پدانکل به ارتفاع بیشترین اثر مستقیم منفی و طول سنبله کمترین اثر مستقیم را بر درصد القای کالوس داشتند. همچنین صفات طول پدانکل به ارتفاع و تراکم سنبله بیشترین اثر مستقیم مثبت و طول پدانکل و عملکرد دانه بیشترین اثر مستقیم و منفی و تعداد سنبله در بوته کمترین اثر مستقیم را بر روی سرعت نسبی رشد کالوس نشان دادند. بر اساس نتایج تجزیه کانونیک گیاهانی که تعداد دانه در سنبله بیشتری داشتند (ژنوتیپ‌های با کد ۱۱، ۱۲، ۱۴ و ۲۰) از درصد القاء کالوس و سرعت رشد نسبی کالوس بالاتری هم برخوردار هستند. با این وجود نتایج آزمون منتل حاکی از عدم همبستگی معنی‌دار بین ماتریس‌های تشابه به‌دست آمده از داده‌های کشت بافتی و زراعی بود.

نتیجه‌گیری: این نتایج می‌تواند بر کنترل ژنتیکی و امکان غربال مستقیم ارقام دارای صفات کشت بافتی مناسب از طریق این صفات زراعی که انتخاب آن‌ها ساده و سریع است، دلالت داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: القاء کالوس، تجزیه علیت، همبستگی کانونیک، *Triticum turgidum*.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۰ **اصلاح:** ۱۴۰۳/۰۲/۲۶ **پذیرش:** ۱۴۰۳/۰۵/۳۰، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۳/۰۷/۰۱

استناد: قنبری، س.، چقامیرزا، ک. و زارعی، ل. (۱۴۰۳). پیش‌بینی پاسخ به کشت جنین بالغ گندم دوروم با استفاده از صفات زراعی. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۳(۳)، ۴۲۵-۴۴۱. DOI: 10.22126/cbb.2024.10139.1065

ناشر: دانشگاه رازی

© نویسندگان.

مقدمه

گندم دوروم (*Triticum turgidum* L. var) به دلیل خواص منحصر به فرد دانه و کاربردهای متنوع در بخش وسیعی از دنیا کشت و کار می‌شود (Liu *et al*., 2019). از جمله کاربردهای آن می‌توان به انواع محصولات غذایی مانند پاستا، کوسکوس[1] (بلغور عربی)، نان، کلوچه و ماکارونی اشاره کرد (Sissons, 2022). تولید جهانی گندم در سال ۲۳-۲۰۲۲ حدود ۷۵۰ میلیون تن تخمین زده شده و انتظار می‌رود به ۸۴۰ میلیون تن برسد (FAO, 2022)، از این‌رو عملکرد سالانه گندم دوروم ۴۰ میلیون تن می‌باشد (Martínez-Moreno *et al*., 2020). این غله مهم از دیرباز در مناطق دیم گرمسیری و نیمه گرمسیری ایران به‌طور سنتی کشت می‌شده است و کشور ایران با ۴۰۰-۳۰۰ هزار هکتار سطح زیر کشت و تولید ۰/۶ میلیون تن در سال از تولید کنندگان این محصول با ارزش است (Ahmadi *et al*., 2022).

علاوه بر روش‌های متداول تکثیر گیاهان، روش‌های تکثیر درون شیشه‌ای نیز وجود دارد که در حال حاضر تقریباً در همه گونه‌های گیاهی قابل استفاده می‌باشد. تکنیک کشت بافت و تکثیر درون شیشه‌ای از مزایا و پتانسیل‌های زیادی نسبت به روش‌های کلاسیک تکثیر رویشی گیاهان برخوردار است، که مهم‌ترین آن‌ها، تکثیر گیاهان یکنواخت و عاری از پاتوژن در یک زمان کوتاه و در مقیاس بسیار وسیع است (Shabbir *et al*., 2009). با وجود گذشت حدود نیم قرن از انجام تحقیقات مختلف در زمینه کشت بافت گیاهی، هنوز جنبه‌های ناشناخته زیادی در این حوزه وجود دارند. مسیر برنامه‌ریزی مجدد ریزنمونه‌ها برای انجام فعالیت‌های زیستی در گیاهان کامل باززا شده با مجموعه‌ای از فرایندهای پیچیده مرتبط است که می‌تواند منجر به پاره‌ای از تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی در آن‌ها شود (Bednarek & Orlowska, 2020). 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). کشت بافت 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 (Mobasseri Moghadam *et al*., 2023). انتخاب یک ریزنمونه در مرحله رشد مطلوب نقش اساسی در موفقیت آمیز بودن کشت بافت در شرایط درون شیشه‌ای بازی می‌کند. تکثیر مؤثر گیاهان با کشت بافت می‌تواند به کلون سازی ژنوتیپ‌های مطلوب کمک کند و در کوتاه مدت برای تکثیر تجاری ژنوتیپ‌ها استفاده شود (Barz *et al*., 2012). امروزه کشت جنین یکی از شاخه‌های کاملاً تثبیت شده‌ی کشت بافت است. جنین‌های بالغ در یک محیط نمکی پایه با یک منبع انرژی نظیر ساکارز، می‌توانند رشد نمایند (Farshadfar,

[1] Couscous

2018). 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 *et al*., 2016). اگرچه جنین نابالغ یکی از مناسب‌ترین ریزنمونه‌ها در کشت بافت گندم می‌باشد، اما جداسازی سخت و مشخص کردن مرحله کشت مناسب آن مشکل می‌باشد، همچنین در دسترس بودن آن‌ها محدود به دوره کوتاهی از زمان رشد در سال می‌باشد (Hakam *et al*., 2015). به دلیل سهولت استفاده، در دسترس بودن در هر فصل از سال، جداسازی آسان و حداقل تغییر پذیری و وضعیت فیزیولوژیکی آن پژوهشگران ترجیح می‌دهند از جنین بالغ برای مطالعه خود به جای جنین نارس استفاده نمایند (Gholami & Tarinezhad, 2018; Yu *et al*., 2019). ارزیابی تعداد زیاد ژنوتیپ‌ها از طریق کشت بافت بسیار پر هزینه و زمان‌بر می‌باشد. از این رو انتخاب بر مبنای یک صفت زراعی که اندازه‌گیری آن ساده‌تر و در عین حال با صفات کشت بافتی نیز همبستگی داشته باشد، می‌تواند روشی مناسب برای پیشگویی نتایج کشت بافت باشد (Haliloglu *et al*., 2005). استفاده از روش‌های آماری چند متغیره مانند تجزیه همبستگی کانونیک، تجزیه علیت و تجزیه خوشه‌ای برای درک عمیق‌تر روابط بین صفات مختلف ضروری به نظر می‌رسد. تجزیه همبستگی میزان ارتباط را اندازه‌گیری می‌کند اما اهمیت نسبی هر عامل را نشان نمی‌دهد. بنابراین لازم است با استفاده از تجزیه ضریب مسیر، بررسی دقیق‌تری انجام داد (Suleiman *et al*., 2014). تجزیه‌های چند متغیره می‌تواند برای مطالعه ارتباط بین صفات در گیاهان مختلف به‌کار گرفته شود. یک روش چند متغیره که می‌تواند ارتباط بین دو گروه متغیر را کمی کند تجزیه همبستگی کانونی است. این روش همبستگی بین ترکیبات خطی یک گروه متغیر را با ترکیبات خطی گروه متغیر دیگری مورد ارزیابی قرار می‌دهد (Johnson & Wichern, 2002). با استفاده از همبستگی ساده بین صفات، نمی‌توان رابطه علت و معلولی بین این صفات را به‌درستی تحلیل نمود. تجزیه همبستگی کانونیک قادر به تحلیل همزمان تعداد زیادی متغیر بوده که روابط بین آن‌ها را آشکار می‌سازد (Tahmasebpour *et al*., 2021). در مطالعه‌ای به منظور بررسی واکنش جنین بالغ گندم دوروم به القاء کالوس و تنش شوری در شرایط ازمایشگاهی، مشخص شد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر صفات درصد القاء کالوس، سرعت رشد کالوس و رشد نسبی کالوس اختلاف معنی‌دار بود، بنابراین درصد القاء کالوس می‌تواند وابسته به ژنوتیپ باشد (Abbasi & Mohammadi, 2023). در مورد ارتباط بین کشت بافت و صفات زراعی تنها چند گزارش وجود دارد. ارتباط متفاوت بین صفات زراعی و شاخص کشت بافت می‌تواند به‌دلیل عوامل مختلفی از جمله محیط کشت، هورمون‌ها و ریزنمونه باشد که از طریق تأثیر بر صفات کمی ارثی و فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف بر

پاسخ به کشت بافت تأثیرگذار باشد (Herrmann, 2007). در بررسی ارتباط صفات کشت جنین نابالغ و بالغ جو با صفات زراعی، نتایج نشان داد رابطه معنی‌داری بین تعدادی از خصوصیات کشت جنین و صفات زراعی وجود دارد (Naseri *et al*., 2017a). نتایج بررسی واکنش ژنوتیپ‌های گندم نان به القاء کالوس در مرحله جنین بالغ و ارتباط صفات حاصل از کشت بافت با صفات زراعی نشان داد در شرایط دیم، گیاهان با مقادیر بالاتر عملکرد دانه، قطر کالوس بیشتر و وزن هزار دانه بالاتر، و در شرایط آبیاری گیاهان با عملکرد بالای دانه و وزن دانه در سنبله زیادتر، سرعت رشد کالوس بیشتری داشتند (Bavandpouri *et al*., 2023). در بررسی ارتباط بین صفات زراعی و کشت بافتی در جو نتایج تجزیه علیت نشان داد که صفات روز تا گرده افشانی، روز تا سنبله دهی و طول برگ پرچم به ترتیب بیشترین تأثیر مستقیم را بر صفات مورد بررسی کشت جنین داشتند (Naseri *et al*., 2017b).

ارتباط بین صفات زراعی و صفات کشت بافتی شاید به این مفهوم باشد که ژن‌های کنترل کننده صفات زراعی و کشت بافت با یکدیگر در سطح مولکولی تداخل و یا تعامل دارند. با توجه به اینکه تحقیقات بسیار کمی در رابطه با ارتباط صفات زراعی و کشت بافتی صورت گرفته است، لذا هدف از این تحقیق پیش‌بینی پاسخ به کشت جنین بالغ گندم دوروم از طریق ارزیابی ارتباط بین صفات کشت جنین بالغ و صفات مزرعه‌ای با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره می‌باشد.

مواد و روش‌ها

به منظور اجرای آزمایش، بذر ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم شامل ۱۹ لاین پیشرفته گندم و رقم زردک (جدول ۱) به مدت دو سال و در سال‌های ۱۳۸۵-۱۳۸۴ و ۱۳۸۶-۱۳۸۵ بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی به‌صورت دیم کشت شدند. صفات ارتفاع، طول سنبله، طول برگ پرچم، طول ریشک، تعداد سنبله در بوته، تعداد دانه در سنبله، تراکم سنبله، طول پدانکل، طول پدانکل به ارتفاع، وزن هزار دانه، عملکرد دانه و شاخص برداشت در مراحل مختلف رشد اندازه‌گیری شدند. به منظور بررسی پاسخ به کشت جنین بالغ در گندم دوروم، آزمایش در مرحله القاء کالوس در قالب طرح کاملا تصادفی با هفت تکرار و ۱۰ نمونه جنین بالغ در هر تکرار (شکل ۱) انجام شد. بذرهای رسیده به منظور جداسازی جنین‌های بالغ به مدت سه ساعت قبل از کشت در آب مقطر خیسانده شدند و سپس جنین‌های جدا شده (شکل ۲) تحت شرایط استریل در محیط کشت MS[2] حاوی دو میلی‌گرم بر لیتر هورمون توفوردی کشت شدند. اندازه‌گیری کالوس‌های حاصل بصورت هفتگی و به مدت چهار هفته به‌وسیله کاغذ میلی‌متری انجام شد. در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه درصد القاء کالوس و سرعت رشد نسبی کالوس (بر اساس وزن تر) (Chen *et al*., 2006) چهار هفته بعد از کشت جنین اندازه‌گیری شدند. از تجزیه‌های همبستگی کانونیک و تجزیه علیت (مسیر)

[2] Murashige & Skoog, 1962

برای تعیین رابطه صفات مرتبط با کشت جنین و صفات زراعی استفاده شد. به منظور انجام تجزیه مسیر، صفات زراعی به‌عنوان متغیرهای مستقل و صفات کشت بافت به‌عنوان متغیرهای وابسته در نظر گرفته شدند. داده‌های حاصل از آزمایش به‌وسیله نرم افزارهای آماری SAS 9.1 و SPSS 27 و Minitab 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

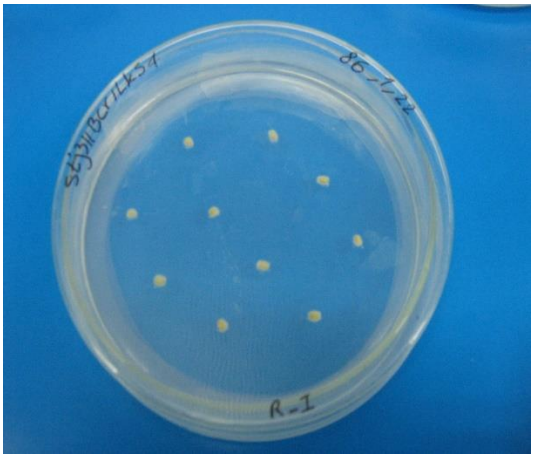
جدول ۱– کد و نام/شجره ژنوتیپ‌های گندم دوروم بررسی شده

Table 1. Code and name/pedigree of studied Durum wheat genotypes

کد Code*	نام/شجره Name/pedigree	کد Code	نام/شجره Name/pedigree
1	Zardak	11	Heider/Mt/Ho
2	65-12-3-3	12	Syrian – 4
3	25-25-1-5	13	Waha- B53
4	75-5-3-5	14	Arthar 71/Bcr//ch5
5	409	15	Stj3/4/stn//Hvi/Somo/ 3/yav/ fg//Roh
6	259	16	Grdara-2
8	15-15-1-3	17	Lgt3/4/Bcr/3/ch1//Gta/ stk
9	240	18	Aghrass-2
9	37-24-2-3	19	Quadalete//Erp/mol/3/unk/4/Mrb3/Mnal
10	249	20	Stj3//Bcr/lks4

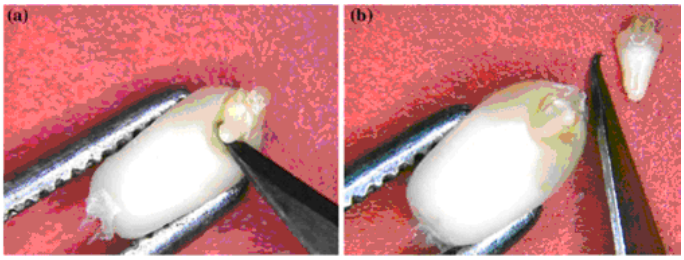
*ژنوتیپ‌های با کد ۱ تا ۱۰ بومی منطقه و ژنوتیپ‌های با کد ۱۱ تا ۲۰ لاین‌های دریافت شده از ایکاردا می‌باشند.

* Genotypes with codes 1 to 10 are indigenous to the region, and genotypes with codes 11 to 20 are lines received from ICARDA.



شکل ۱- قرار دادن جنین بالغ در محیط کشت MS

Figure 1. Placement of mature embryo in MS culture medium



شکل ۲.-مراحل و نحوه جدا کردن جنین بالغ در گندم دوروم

Figure 2. The stages and method of separating the mature embryo in durum wheat

نتایج و بحث

نتایج حاصل از کشت درون شیشه ای

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر درصد القای کالوس و سرعت نسبی رشد کالوس اختلاف بسیار معنی‌دار بود. اختلاف معنی‌دار مشاهده شده در بین ژنوتیپ‌ها می‌تواند ناشی از اثر ژنوتیپ، شرایط محیط رشد و تنظیم کننده‌های رشد باشد. در بررسی پاسخ جنین‌های بالغ حاصل از ۱۳ ژنوتیپ گندم دوروم بر اساس پارامترهای کشت بافت نتایج نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات وزن کالوس و درصد باززایی اختلاف معنی داری وجود دارد (Benlioglu *et al*., 2020). در رابطه با بررسی القاء و باززایی کالوس حاصل از کشت جنین نابالغ در شرایط درون شیشه‌ای گندم دوروم نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر درصد القای کالوس و سرعت رشد کالوس اختلاف معنی‌دار وجود داشت (Akbari *et al*., 2023). القاء کالوس و به‌ویژه باززایی گیاه از کالوس به‌عنوان مهم‌ترین و موثرترین شاخص در کشت بافت معرفی شدند که تحت تأثیر ژنوتیپ و ریزنمونه اولیه قرار می‌گیرند (Abumhadi *et al*., 2005). نتایج به‌دست آمده از تحقیق حاضر با نتایج آن‌ها در مرحله القاء کالوس مبنی بر معنی‌دار بودن اثر ژنوتیپ مطابقت داشت. همچنین در تحقیقات دیگری مشاهده شد بین ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات مرتبط با کالوس اختلاف معنی‌دار وجود دارد (Naseri *et al*., 2017a; Bavandpouri *et al*., 2023) که با نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نیز مطابقت دارد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب برای صفات زراعی اندازه‌گیری شده بر روی ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر صفات اندازه‌گیری شده وزن هزار دانه و عملکرد دانه اختلاف بسیار معنی‌دار وجود داشت (جدول ۳). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ژنوتیپ‌های مورد بررسی دارای تنوع ژنتیکی مناسبی بودند. با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشخص شد که ژنوتیپ‌های با کد ۱۱، ۱۲، ۱۴ و ۲۰ با وجود دارا بودن وزن هزار دانه متوسط به علت تراکم سنبله، دارای تعداد دانه در سنبله و در نتیجه شاخص

برداشت و عملکرد بالاتری بودند، که این نتایج با نتایج به‌دست آمده از تجزیه خوشه‌ای مطابقت دارد (شکل ۴).

جدول ۲. تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در مرحله کالوس‌زایی جنین بالغ ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم

Table 2. Variance analysis of traits measured in the callus formation stage of mature embryos of 20 durum wheat genotypes

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square	
		سرعت رشد نسبی کالوس Relative callus growth rate	القاء کالوس Callus induction
ژنوتیپ Genotype	19	0.089**	21.31**
خطا Error	120	0.018	1.805
ضریب تغییرات Coefficient of variation	-	3.32	24.56

**: معنی‌دار در سطح یک درصد **: significant at the 1%

جدول ۳. تجزیه مرکب صفات زراعی در ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم

Table 3. Combined analysis of agricultural traits in 20 durum wheat genotypes

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square					
		ارتفاع Height	طول سنبلچه Spike length	طول برگ پرچم Flag leaf length	طول ریشک Awn length	تعداد سنبله در بوته Number of spikes per plant	تعداد دانه در سنبله Number of seeds per spike
سال Year	1	22.162**	4.004**	81.147**	6.669**	7.418**	6.352**
تکرار (سال) Rep(Year)	4	0.956	0.071	1.825	0.036	0.017	0.047
ژنوتیپ Genotype	19	668.30**	11.501**	47.773**	8.295**	2.250**	284.880**
ژنوتیپ × سال Genotype*Year	19	2.312*	0.046*	2.312*	0.133	0.082*	0.076
خطا Error	76	0.093	0.025	1.201	0.085	0.010	0.081

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد *, **: respectively significant at the 5% and 1%

ادامه جدول ۳.

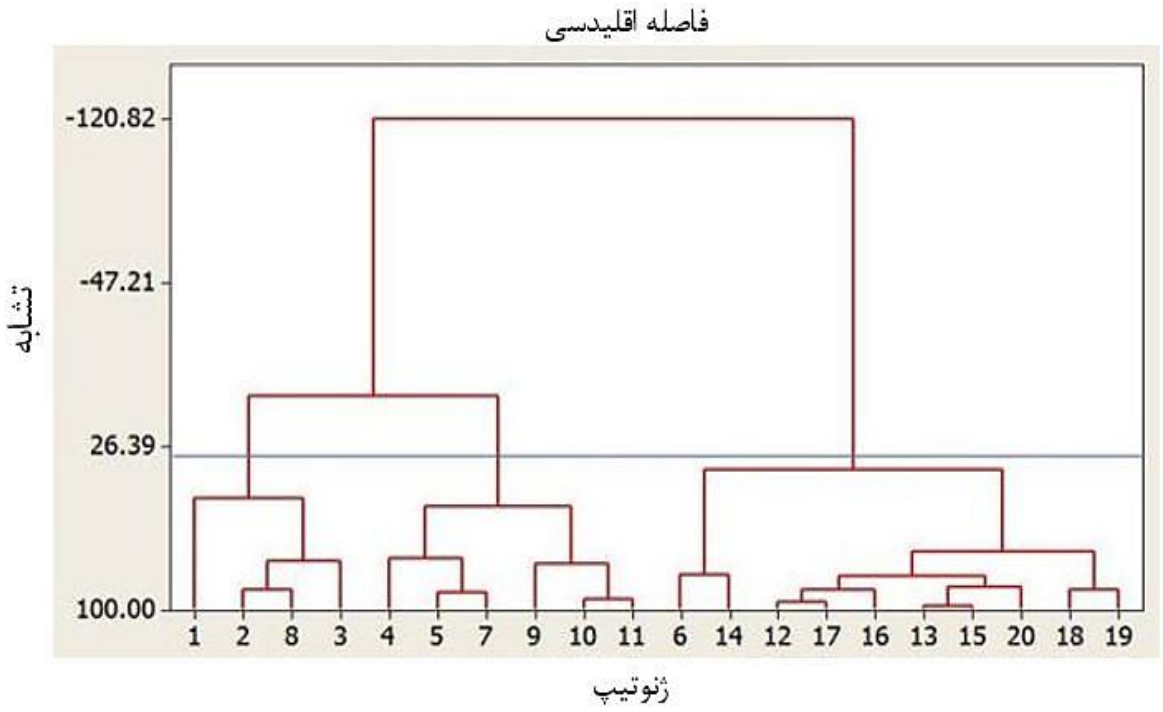
Continued Table 3.

منابع تغییر Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square					
		طول پدانکل Peduncle length	طول پدانکل به ارتفاع Peduncle length to height	تراکم سنبله Spike density	شاخص برداشت Harvest index	وزن هزار دانه Thousand kernel weight	عملکرد دانه Yield
سال Year	1	22.680**	0.84504**	13.134**	1.518**	2.724**	0.0357**
تکرار (سال) Rep(Year)	4	0.158	0.00002	0.105	0.00011	0.032	0.0009
ژنوتیپ Genotype	19	51.250**	0.00296**	1173.195**	0.0066**	67.227**	2.3774**
ژنوتیپ × سال Genotype*Year	19	0.147*	0.00021*	0.039	0.00019	0.482**	0.0218**
خطا Error	76	0.062	0.00010	0.074	0.00012	0.061	0.0008

*, **: respectively significant at the 5% and 1% * و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد

تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های گندم دوروم بر اساس صفات مورد مطالعه

به منظور تفکیک و گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس شاخص های کشت بافتی و هم‌چنین صفات زراعی، تجزیه خوشه‌ای به روش Ward و به‌طور جداگانه برای دو دسته از صفات انجام شد. براساس صفات کشت بافتی، ژنوتیپ‌ها در سه گروه قرار گرفتند (شکل ۳). دسته‌بندی ژنوتیپ‌ها در یک گروه بیان‌گر شباهت بیشتر آن‌ها از نظر صفات مورد نظر می‌باشد. بر اساس این تجزیه، ژنوتیپ‌ها با کد ۱، ۲، ۳ و ۸ در گروه اول، ژنوتیپ‌ها با کد ۴، ۵، ۷، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱ در گروه دوم، و ژنوتیپ‌ها با کد ۶، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹ و ۲۰ در گروه سوم قرار گرفتند. در دندوگرام حاصل گروه اول بیشترین درصد القای کالوس و سرعت رشد نسبی کالوس را دارد و گروه سوم کمترین سرعت رشد نسبی کالوس و درصد القای کالوس را به خود اختصاص داد. در مطالعه باوندپوری و همکاران (۲۰۲۳) با استفاده از صفات القاء کالوس حاصل از جنین بالغ در گندم نان، توسط تجزیه خوشه‌ای، ۲۵ ژنوتیپ مورد ارزیابی به چهار گروه دسته‌بندی شدند. گروه اول بیشترین درصد القای کالوس و سرعت رشد کالوس را دارا بود (Bavandpouri *et al*., 2023). در تحقیقی دیگر بر روی القای کالوس و باززایی کالوس‌های حاصل از جنین بالغ و نابالغ جو، ارقام مورد مطالعه بر اساس تجزیه خوشه‌ای در سه گروه قرار گرفتند. ارقام گروه سوم، بیشترین سرعت رشد کالوس و قطر اولیه کالوس را داشتند (Naseri *et al*., 2017a).

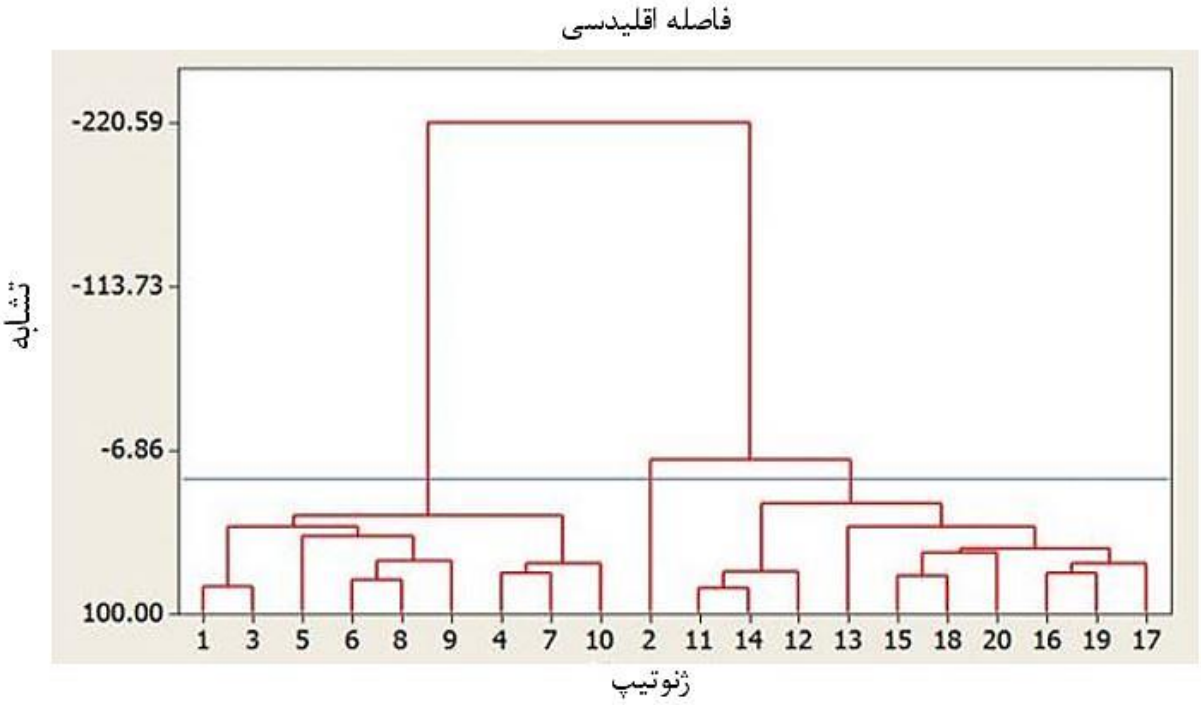


شکل ۳. گروه بندی ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward بر اساس صفات مورد مطالعه در کشت بافت

Figure 3. Grouping of 20 durum wheat genotypes using Ward cluster analysis based on the traits studied in tissue culture

به منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط مزرعه از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward استفاده شد (شکل ۴). در تجزیه خوشه‌ای بر اساس صفات زراعی نیز ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گندم دوروم در سه گروه قرار گرفتند. گروه اول شامل ژنوتیپ‌ها با کدهای ۱، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ می‌باشند که بیشترین تعداد سنبله در بوته، طول برگ پرچم، دوره پر شدن دانه و محتوی نسبی آب برگ را داشتند اما از طرفی کمترین عملکرد دانه را دارا بودند. در گروه دوم ژنوتیپ با کد ۲ قرار گرفت که دارای بیشترین طول پدانکل، روز تا رسیدگی بود و از عملکرد مناسبی بر خوردار می‌باشد. در گروه سوم ژنوتیپ‌ها با کدهای ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹ و ۲۰ قرار داشتند که ارقام حاضر در این گروه از عملکرد دانه مناسبی برخوردار بودند. آنچه که اهمیت دارد گروه بندی متفاوت ژنوتیپ‌ها برای صفات مختلف از جمله عملکرد می‌باشد. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در هر سال واکنش متفاوتی به تغییرات اقلیمی از خود نشان داده‌اند و مطابق با نتایج به‌دست آمده به جز ژنوتیپ شماره ۲ بقیه ارقام بومی میزان عملکرد پایین‌تری نسبت به ارقام ایکاردا داشتند. با توجه به گروه بندی‌های ایجاد شده در شرایط

ازمایشگاهی و مزرعه می‌توان بیان داشت که ژنوتیپ شماره ۲ در هر دو شرایط برتر بود.



شکل ۴. گروه بندی ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش Ward بر اساس صفات زراعی

Figure 4. Grouping of 20 durum wheat genotypes using Ward cluster analysis-based agricultural traits

در این مطالعه از آزمون منتل برای تعیین همبستگی بین ماتریس‌های شباهت به‌دست آمده از داده‌های کشت بافتی و زراعی برای ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم استفاده شد. به دلیل حساسیت بالای ضریب تشابه جاکارد، از ضریب فاصله اقلیدسی برای داده‌های کشت بافتی و زراعی استفاده شد. بر اساس نتایج آزمون منتل، بین ماتریس‌های تشابه به‌دست آمده از داده‌های کشت بافتی و زراعی همبستگی معنی‌داری مشاهده نشد (Sig= ۱/۰۰۰، r= ۰/۳۷۳).

تجزیه علیت صفات زراعی و کشت بافتی

از آنجا که ژنوتیپ از طریق سطح هورمون‌های داخلی می‌تواند پاسخ ریزنمونه را تحت تاثیر قرار دهد و هورمون نیز می‌تواند بر صفات زراعی موثر باشد، بنابراین می‌توان نقش هورمون را در پیوند صفات کشت بافتی و زراعی مرتبط دانست (Hess & Carman, 1988). از این‌رو، بررسی روابط علت و معلولی بین صفات کشت بافتی و صفات زراعی گندم دوروم از طریق تجزیه علیت ضروری به‌نظر می‌رسد. در این پژوهش، میزان آثار مستقیم و غیر مستقیم صفات زراعی به‌عنوان متغیرهای مستقل و صفات کشت بافتی شامل درصد القای کالوس و سرعت رشد نسبی کالوس به عنوان متغیرهای وابسته در نظر گرفته

شد (جدول ۴). همان‌طور که مشاهده می‌شود به ترتیب صفات طول پدانکل، تعداد دانه در سنبله و تعداد سنبله در بوته بیشترین اثر مستقیم و مثبت، ارتفاع و طول پدانکل به ارتفاع بیشترین اثر مستقیم منفی و طول سنبله کمترین اثر مستقیم را بر درصد القای کالوس داشتند. در رابطه با صفت سرعت نسبی رشد کالوس، طول پدانکل به ارتفاع و تراکم سنبله بیشترین اثر مستقیم مثبت و طول پدانکل و عملکرد دانه بیشترین اثر مستقیم و منفی و تعداد سنبله در بوته کمترین اثر مستقیم را داشتند. نتایج همبستگی نشان داد که تعداد دانه در سنبله و عملکرد دانه بیشترین همبستگی را با صفات کشت بافت داشتند (جدول ۴). از نظر تعداد دانه در سنبله با نتایج Dodig *et al*., (2009) و Bavandpouri *et al*., (2023) در تطابق بود. در خصوص ارتباط بین صفات زراعی و کشت بافتی مشخص شده که صفات زراعی به‌عنوان صفات کمی شناخته شده و تحت کنترل تعداد زیادی از ژن‌ها با اثرات کوچک هستند، از طرفی گزارشاتی مبنی بر اینکه صفات کشت بافتی نیز از نظر ژنتیکی کمی بوده و به‌طور پلی‌ژنتیک کنترل می‌شوند وجود دارد (Bregitzer & Campbell, 2001). بین صفات در مرحله القاء کالوس با برخی از صفات زراعی مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد که این یافته با نتایج سایر محققین (Li *et al*., 2003; Naseri *et al*., 2017a; Bavandpouri *et al*., 2023) مطابقت دارد.

تجزیه همبستگی کانونیک بین صفات زراعی و کشت بافتی

نتایج تجزیه همبستگی ساده نشان داد که تعداد همبستگی‌های معنی‌دار بین صفات کشت بافتی و زراعی، شامل ۱۱ رابطه معنی‌دار می‌باشد. تفسیر و کمی‌سازی این همبستگی‌ها در راهبرد گزینشی می‌تواند منجر به خطا شود به‌خاطر اینکه همبستگی بین صفات می‌تواند نتیجه یک صفت سوم یا یک گروه از صفات که این صفات را تحت تاثیر قرار می‌دهند باشد (Lorenceti *et al*., 2006). نتایج تجزیه همبستگی کانونی بین صفات مهم زراعی با صفات کشت بافتی در جدول ۵ نشان داده شده است. آماره استانداردی که برای مشخص نمودن معنی‌دار بودن قدرت تفکیک کنندگی مدل تابع استفاده می‌شود آماره ویلکس لمدا[3] است که مقدار آن در محدوده صفر تا یک قرار دارد. هرچه مقدار این شاخص کمتر باشد نشان‌دهنده قدرت تفکیک کنندگی بیشتر تابع به‌دست آمده است (Goldin, 2001). معنی‌دار نشدن آماره ویلکس لمدا حاکی از عدم وجود همبستگی معنی‌دار بین دو گروه صفت مورد مطالعه بود. ارتباط بین متغیرهای کانونی و متغیرهای اصلی با ضرایب همبستگی بین آن‌ها ارزیابی می‌شود که عموماً ضرایب ساختاری (ضرایب استاندارد شده) نامیده می‌شوند (Johnson & Wichern, 2002). برای بررسی این ارتباط، همبستگی بین متغیرهای اندازه‌گیری شده یک گروه با تابع کانونی مربوط به همان گروه در جدول شش آمده است. نتایج نشان داد که صفات کشت بافتی با تابع کانونی اول همبستگی دارند و صفت درصد القای کالوس با بار کانونی

[3] Wilks lambda

۱/۰۰۰- بیشترین همبستگی را نشان داد. از بین صفات زراعی، تعداد دانه در سنبله با بار کانونی ۰/۸۰۱ بیشترین همبستگی را در بین صفات زراعی نشان داد. مقدار ضرایب کانونی استاندارد شده بیانگر سهم نسبی آن‌ها در هر متغیر کانونی می‌باشد. یعنی ضرایب نشان دهنده صفات زراعی مؤثر بر صفات کشت بافتی در ژنوتیپ‌های گندم دوروم می‌باشد. بنابراین صفات اشاره شده فوق در ایجاد این ارتباط مهم هستند.

جدول ۴.-ضرایب همبستگی و تجزیه مسیر صفات زراعی بر صفات کشت جنین در ۲۰ ژنوتیپ گندم دوروم

Table 4. Correlation coefficients and path analysis of agricultural traits on embryo culture traits in 20 durum wheat genotypes

صفات Traits	درصد القاء کالوس Callus induction percentage			سرعت رشد نسبی کالوس Relative callus growth rate		
	ضریب همبستگی Correlation coefficient	اثر مستقیم Direct effect	اثر غیر مستقیم Indirect effect	ضریب همبستگی Correlation coefficient	اثر مستقیم Direct effect	اثر غیر مستقیم Indirect effect
ارتفاع Height	0.655**	-2.421	3.088	0.208	0.286	-0.078
طول سنبله Spike length	0.235	0.300	-0.065	0.027	-0.189	0.216
طول برگ پرچم Flag leaf length	0.497*	0.447	0.050	0.188	-0.079	0.267
طول ریشک Awn length	-0.180	-0.650	0.470	-0.125	-0.106	-0.019
تعداد سنبله در بوته Number of spikes per plant	0.626**	0.465	0.161	0.358	0.133	0.225
وزن هزار دانه Thousand kernel weight	0.526**	-0.091	0.617	0.213	-0.044	0.257
تعداد دانه در سنبله Number of seeds per spike	-0.766**	0.618	-0.148	-0.444*	-0.335	-0.109
تراکم سنبله Spike density	-0.603**	-0.013	-0.590	-0.275	0.371	-0.646
عملکرد دانه Yield	-0.629**	-0.338	-0.291	-0.536**	-0.688	0.152
شاخص برداشت Harvest index	-0.523	0.386	-0.909	-0.343	-0.560	0.217
طول پدانکل Peduncle length	0.569	2.662	-2.093	0.379	-0.865	1.243
طول پدانکل به ارتفاع Peduncle length to height	0.062	-2.207	2.269	0.287	1.086	-0.799

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح پنج درصد و یک درصد *, **: respectively significant at the 5% and 1%

جدول ۵- همبستگی‌های کانونی و سطح احتمال معنی‌دار بودن آن‌ها

Table 5. Canonical correlations and the probability level of their significance

متغیر کانونی Canonical variable	همبستگی کانونی Canonical correlation	مقادیر ویژه Eigenvalues	ویلکس لمدا Wilks lambda	مقدار تقریبی F F	سطح احتمال F Sig
1	0.955	10.456	0.037	2.113	0.089
2	0.762	1.383	0.420	0.880	0.592

جدول ۶. ضرایب همبستگی کانونیک صفات کشت بافت و صفات زراعی

Table 6. Canonical correlation coefficients of tissue culture traits and agricultural traits

صفات Traits	کانون ۱ Canon 1		کانون ۲ Canon 2	
	ضرایب استاندارد کانونی Standardized Canonical	بارهای کانونی Canonical Loadings	ضرایب استاندارد کانونی Standardized Canonical	بارهای کانونی Canonical Loadings
درصد القاء کالوس Callus induction percentage	-1.021	-1.000	-0.679	0.030
سرعت رشد نسبی کالوس Relative callus growth rate	0.036	-0.554	1.226	0.832
ارتفاع Height	2.597	-0.702	2.619	-0.258
طول سنبله Spike length	-0.328	-0.250	-0.572	-0.167
طول برگ پرچم Flag leaf length	-0.480	-0.524	-0.526	-0.142
طول ریشک Awn length	0.690	0.188	0.410	-0.041
تعداد سنبله در بوته Number of spikes per plant	-0.492	-0.655	-0.202	0.018
وزن هزار دانه Thousand kernel weight	0.096	-0.554	0.011	-0.127
تعداد دانه در سنبله Number of seeds per spike	0.647	0.801	0.011	-0.032
تراکم سنبله Spike density	0.028	0.634	0.608	0.096
عملکرد دانه Yield	0.334	0.651	-0.806	-0.301
شاخص برداشت Harvest index	-0.434	0.546	-1.246	-0.085
طول پدانکل Peduncle length	-2.877	-0.594	-3.765	0.103
طول پدانکل به ارتفاع Peduncle length to height	2.399	-0.055	3.715	0.406

نتیجه‌گیری

پاسخ متفاوت ژنوتیپ‌های گندم دوروم حاکی از متفاوت بودن ظرفیت ژنوتیپ‌ها در استفاده از آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی از طریق کشت جنین است. با توجه به تولید کالوس مناسب در تعدادی از ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، به نظر می‌رسد کشت جنین بالغ روش مناسبی برای کشت بافت در گیاه گندم دوروم باشد و در نتیجه این ریزنمونه می‌تواند به‌عنوان یک منبع مناسب و موثر در برنامه‌های اصلاحی و مطالعات گندم دوروم مورد استفاده قرار گیرد. بر اساس نتایج تجزیه علیت صفت تعداد دانه در سنبله بیشترین اثر مستقیم را بر صفت القاء کالوس نشان داد. بر اساس نتایج تجزیه کانونیک ژنوتیپ‌هایی که تعداد دانه در سنبله بیشتری داشتند از درصد القاء کالوس و سرعت رشد نسبی کالوس بالاتری هم برخوردار بودند. این نتایج می‌تواند بر کنترل ژنتیکی و امکان غربال مستقیم ارقام دارای صفات کشت بافتی مناسب از طریق این صفات زراعی که انتخاب آن‌ها ساده و سریع است، دلالت داشته باشد. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که در این تحقیق صفات معرفی شده به‌عنوان معیارهای گزینشی جهت انتخاب ارقام در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه مفید باشند و تجزیه علیت و تجزیه کانونیک در بررسی ارتباط بین صفات کشت بافتی و زراعی گندم دوروم اهمیت و کارایی فراوانی داشته باشند. بدین.سیله

سپاسگزاری

از خانم‌ها مهستی عباسی و آسیه مرادی جهت جمع‌آوری داده‌ها و در اختیار قرار دادن آن‌ها برای انجام این پژوهش تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

Abbasi, M. & Mohammadi, R. (2023). Response of durum wheat mature embryo to callus induction and salt stress in vitro condition. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 2(2), 190-208.

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 Plant Science, 3, 24-32.

Ahmadi, S., Fayyaz, F., Mohammad Naji, A., & Aghaei Sarbarzeh, M. 2022. Association analysis of some morphological traits of durum wheat (*Triticum turgidum* var. Durum Desf) in rainfed and supplementary irrigation conditions using SSR molecular marker. Cereal Biotechnology and Biochemistry, 1 (1), 35-50. doi: 10.22126/cbb.2022.1951.

Akbari, L., Cheghamirza, K., & Farshadfar, E. 2023. Investigation Callus Induction and Regeneration via Immature Embryo Culture to in vitro in Durum Wheat. Cereal Biotechnology and Biochemistry, 2 (2), 209-220.

Barz, W., Reinhard, E., & Zenk, M. 2012. Plant Tissue Culture and Its Bio-technological Application Proceedings of the First International Congress on Medicinal Plant Research, Section B, Held at the University of Munich, Germany September 6–10, 1976.

Bavandpouri, F., Farshadfar, E., Chegamirza, K., Farshadfar, M., & Bihamta, M. R. 2023. Studying the relationship between traits obtained from callus induction in the mature embryo stage and agronomic traits of bread wheat in different moisture conditions. Crop Biotechnology, 12(42), 17-35.

Bednarek, P. T., & Orłowska, R. 2020. Plant tissue culture environment as a switch-key of (epi) genetic changes. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 140, 245-257.

Benlioğlu, B., Koçak, N., & Avci Birsin, M. 2020. Response of some durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes on tissue culture parameters. Mediterranean Agricultural Sciences, 33 (1), 123-128.

Bregitzer, P., & Campbell. R. D. 2001. Genetic markers associated with green and albino plant regeneration from embryogenic barley. Crop Science, 41, 173-179.

Chen, J. Y., Yue, R. Q., Xu, H. X., & Chen, X. J. 2006. Study on plant regeneration of wheat mature embryos under endosperm supported culture. Agricultureal Science in China, 5, 572-578.

Dodig, D., Zoric, M., Mitic, N., Nikolic, R., & Surlan-Momirovic, G. 2008. Tissue culture and agronomic traits relationship in wheat. Plant Cell Tissue Organ Culture, 95, 107-114.

Erkoyuncu, M. T., & M. Yorgancilar. 2016. Efficient callus induction and plantlets regeneration from mature embryo Culture of barley (*Hordeum vulgare* L.). Genotypes, International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering, 10(6).

FAO. 2022. OECD-FAO Agricultural Outlook 2022–2031; OECD: Paris, France.

Farshadfar, A. 2018. Genetic modification of environmental stresses. Vosough Publications. First Edition, pp. 844.

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

Goldin, A. 2001. Relation between aspect and plant distribution on calcareous soils near Missoula. Montana Northwest Science, 3, 197-203.

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.

Haliloglu, K., Ozturk, A., Tosun, M., & Bulut, S. 2005. Relationship between tissue culture and agronomic traits of winter wheat. Cereal Research Communications, 33 (2-3), 469-476.

Herrmann, M. 2007. A diallel analysis of various traits in winter triticale. Plant Breeding, 126, 19-23.

Hess, J. R., & Carman, J. G. 1998. Embryogenic competence of immature wheat embryos: genotype, donor plant, environment and endogenous hormones levels. Crop Science, 38, 249-253.

Johnson, R. A., & Wichern, D. W. 2002. *Applied multivariate statistical analysis*. Prentice hall Upper Saddle River, New Jersey, USA, 5(8), 808.

Johnson, R. A., & Wichern, D. W. 2002. Applied Multivariate Statistical Analysis. Prentice-Hall,Upper Saddle River, NJ.

Li, W., Ding, C. H., Hu, Z., Lu, W., & Guo, G. Q. 2003. Relationship between tissue culture and agronomic traits of spring wheat. Plant Science, 164, 1079-1085.

Liu, H., Able, A. J., & Able, J. A. 2019. Genotypic performance of Australian durum under single and combined water-deficit and heat stress during reproduction. Scientific Report, 9, 14986.

Lorenceti, C., Felix de Carvalho, F.I., de Oliviera, A. C., Valerio, I. P., Hartwig, I., Benin, G., & Schmidt, D. A. M. 2006. Applicability of phenotypic and path coefficient in the selection of oat genotypes. Scientia Agricola, 63 (1), 11-19.

Martínez-Moreno, F., Solís, I., Noguero, D., Blanco, A., Ozberk, I., Nsarellah, N., Elias, E., Mylonas, I., & Soriano, J. M. 2020. Durum Wheat in the Mediterranean Rim: Historical Evolution and Genetic Resources. Genetic Resources and Crop Evolution, 67, 1415–1436.

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. The Journal of Plant Physiology, 15, 473-497.

Naseri Myankali, R., Cheghamirza, K., Zarei, L., & Saroei, E. 2017b. Evaluation of relationship between the associated traits with callus induction of mature embryo and agronomic traits in different barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.). Cereal Research, 7(3), 421-435.

Naseri, R., Cheghamirza, K., Zarei, L., & Saroei, E. 2017a. Induced dedifferentiation of barley (*Hordeum vulgare* L.) embryonic cells and its relationship with agronomic traits. Cellular and Molecular Biology, 63 (10), 11-19.

Ren, J., Wang, X., & Yın, J. 2010. Dicamba and Sugar Effects on Callus Induction and Plant Regeneration from Mature Embryo Culture of Wheat. Agriculture Science in China, 9(1), 31-37.

Shabbir, A., Hameed, N., Ali A., & Bajwa, R. 2009. Effect of different cultural conditions on microprapagation of Rose (Rosa indica L.) Pakistan Journal of Botany, 41, 2877-2882.

Sissons, M. 2022. Durum Wheat Products—Recent Advances. Foods, 11, 3660.

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.

Suleiman, A. A., Nganya, J. F., & Ashraf M. A. 2014. Correlation and path analysis of yield and yield components in some cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L) in Khartoum State, Sudan. Journal of Forest Products and Industries, *3* (6), 221-228.

Tahmasebpour, B., Jahanbakhsh, S., Tarinejad, A., Mohammadi, H., & Ebadi, A. 2021. Canonical correlation analysis of phonological and other traits related to grain yield in different wheat genotypes under normal irrigation and stressed conditions at flowering time. Iranian Journal of Field Crop Science, 52 (2), 121-132.

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,* Internationl Journal of Molecular Science, 20(21), 5448.