

## Proliferasi Kalus Embriogenik Dan Embrio Somatik Tanamangandum (*Triticum aestivum* L.)

*Embryogenic Callus And Somatic Embryo Proliferation Of Wheat (Triticum aestivum L.)*

Ryan Budi Setiawan<sup>1\*</sup>, Nurul Khumaida<sup>2</sup>, Diny Dinarti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Agroteknologi, Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Andalas. Sumatera Barat. Indonesia.

<sup>2</sup>Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Indonesia

[ryan@agr.unand.ac.id](mailto:ryan@agr.unand.ac.id)

### Artikel Info

Artikel diterima: 29-04-2024

Artikel Direvisi: 23-06-2024

Artikel Disetujui: 30-07-2024

### Kata Kunci

media cair, embriogenesis somatik, perbaikan genetik, picloram, 2.4D

### Keyword

*genetic improvement, liquid medium, picloram, somatic embryogenesis, 2.4D*

### ABSTRAK

Dalam rangka mengurangi tingginya nilai impor gandum perlu dilakukan upaya penanaman dengan tetap memperhatikan faktor kesesuaian lingkungan. Program pemuliaan tanaman penting dilakukan untuk perbaikan genetik dan karakter sehingga berpengaruh positif terhadap peningkatan kualitas, kuantitas dan pengembangan gandum di Indonesia. Embriogenesis somatik memainkan peranan yang sangat besar dalam perbanyakan tanaman. Integrasi dengan program pemuliaan konvensional maupun teknik molekular/bioteknologi memungkinkan embriogenesis somatik menjadi suatu alat untuk meningkatkan laju perbaikan genetik tanaman. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan metode proliferasi

kalus embriogenik dan embrio somatik tanaman gandum. Media terbaik untuk proliferasi kalus embriogenik pada varietas Dewata dan Nias adalah  $1.0 \text{ mg L}^{-1} 2.4D + 1.0 \text{ mg L}^{-1}$  picloram dan pada varietas Selayar adalah  $1.0 \text{ mg L}^{-1} 2.4D$ . Aplikasi media cair pada proliferasi embrio somatik menunjukkan hasil tertinggi sebanyak 28.88 embrio pada Dewata dan 15.13 embrio pada Nias.

### ABSTRACT

*In order to reduce the high import value of wheat, it is necessary to planting with regard to the environmental suitability factors. Utilization of plant breeding programs for genetic improvement give positive effect to improving the quality and quantity of wheat development in Indonesia. Somatic embryogenesis plays a large role in the plant propagation. Integration with conventional breeding and molecular engineering/ biotechnology, allows somatic embryogenesis become a tool to increase the rate of plant genetic improvement. This study has objectives to obtain the methods for embryogenic callus and somatic embryo proliferation. The best medium proliferation of embryogenic callus on Dewata dan Nias is  $1.0 \text{ mg L}^{-1} 2.4D + 1.0 \text{ mg L}^{-1}$  picloram and  $1.0 \text{ mg L}^{-1} 2.4D$ .  $1 \text{ mg L}^{-1} 2.4D + 0.5 \text{ mg L}^{-1}$  picloram on Selayar. Liquid medium to somatic embryo proliferation resulted 28.88 embryo on Dewata and 15.13 embryo on Nias.*

## PENDAHULUAN

Gandum (*Triticum aestivum* L.) merupakan salah satu tanaman pangan utama yang dikonsumsi oleh masyarakat dunia termasuk Indonesia. Impor gandum terus meningkat setiap tahun, pada tahun 2016 yang mencapai lebih 10 juta ton (FAO, 2019). Budidaya tanaman gandum di Indonesia menghadapi kendala terbatasnya varietas yang beradaptasi dengan lingkungan tropis yang memiliki suhu lebih tinggi. Oleh karena itu dalam rangka mengembangkan tanaman gandum di Indonesia perlu dilakukan program pemuliaan tanaman melalui perakitan varietas gandum tropika yang memiliki ketahanan terhadap suhu tinggi.

Salah satu cara untuk memperbaiki karakter tanaman adalah pemanfaatan teknik kultur jaringan melalui jalur embriogenesis somatik. Perbaikan genetik tanaman secara in vitro diharapkan dapat mengatasi cekaman biotik dan abiotik yang menyebabkan penurunan hasil (Wani *et al.*, 2010; Setiawan *et al.*, 2015). Namun, hal ini sangat tergantung pada metode keberhasilan regenerasi eksplan melalui teknik kultur in vitro. Oleh karena itu, penetapan protokol yang tepat seperti induksi kalus, proliferasi, perkecambahan dan aklimatisasi sangat diperlukan (Noor *et al.*, 2009).

Pembentukan kalus embriogenik pada tanaman umumnya sangat tergantung pada genotipe, sumber eksplan, kondisi fisiologis tanaman donor, tipe jaringan, media, jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh (ZPT), serta interaksi faktor-faktor tersebut (Verma *et al.*, 2011). Berbagai macam sumber eksplan telah banyak dipelajari dalam rangka studi embriogenesis somatik tanaman gandum seperti leaf (Yu *et al.*, 2012), mature embrio (Nasab *et al.*, 2012), dan immature embrio (Benderradji *et al.*, 2012). Sisharmini *et al.* (2010) melaporkan bahwa immature embrio merupakan sumber eksplan yang paling responsif untuk menginduksi terbentuknya kalus embriogenik dan kemampuan regenerasinya menjadi planlet

lebih tinggi dibandingkan dengan sumber eksplan lain.

Jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan dalam media kultur sangat berperan penting untuk menginduksi pertumbuhan dan morfogenesis eksplan. ZPT seperti 2.4D paling sering digunakan untuk induksi dan proliferasi kalus gandum. Selain itu kombinasi berbagai macam auksin dan sitokinin seperti picloram, NAA, IAA, BAP dan kinetin juga mampu memicu pertumbuhan kalus pada gandum (Yasmin *et al.*, 2009; Munazir *et al.*, 2010).

Tujuan dari percobaan ini adalah mempelajari dan mendapatkan media terbaik untuk proliferasi kalus embriogenik dan embrio somatik pada setiap tanaman gandum.

## METODE PENELITIAN

### Proliferasi kalus embriogenik

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan perlakuan kombinasi ZPT pada media proliferasi yang terdiri dari dua taraf yaitu : 1 mg 2.4D L<sup>-1</sup>, 1 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 1 mg picloram L<sup>-1</sup> dan 2 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 1 mg picloram L<sup>-1</sup>. Perlakuan diulang sebanyak lima kali. Setiap ulangan ditanam 5 clump kalus embriogenik yang berukuran 0.5 cm x 0.5 cm. Kultur diinkubasi pada suhu 20±4 °C dengan penyinaran selama 16 jam/ hari selama 4 minggu. Peubah yang diamati adalah diameter dan bobot kalus embriogenik.

### Proliferasi embrio somatik

Rancangan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap faktorial. Faktor pertama adalah jenis media dengan dua taraf (media padat dan cair). Faktor kedua adalah kombinasi ZPT yang terdiri atas dua taraf yaitu 1 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 0.5 mg picloram L<sup>-1</sup> dan 0.5 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 0.25 mg picloram L<sup>-1</sup>. Setiap botol ditanam 1 clump kalus embriogenik yang mengandung embrio somatik dengan ukuran 0.5 x 0.5 cm dan diulang lima kali. Kultur diinkubasi pada suhu 20±4 °C dengan penyinaran selama 16

jam/ hari selama 4 minggu. Peubah yang diamati adalah bobot kalus embriogenik dan jumlah embrio somatik yang terbentuk per fase histodiferensiasi.

### Proliferasi kalus embriogenik

Hasil analisis ragam menunjukkan penggunaan tiga macam media mampu menyebabkan terjadinya proliferasi kalus embriogenik dari tiga varietas gandum yang terlihat dari penambahan ukuran diameter dan bobot kalus embriogenik. Total penambahan diameter tertinggi diperoleh pada varietas Dewata dan Nias dengan menggunakan media 1.0 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 1 mg picloram L<sup>-1</sup> dengan rata-rata diameter sekitar 2.60 mm dan 1.65 mm, sedangkan penambahan diameter kalus tertinggi pada

varietas Selayar diperoleh dengan menggunakan 1.0 mg 2.4D L<sup>-1</sup> sekitar 0.95 mm (Tabel 1).

Perlakuan media proliferasi tidak berpengaruh nyata terhadap bobot kalus embriogenik umur 4 minggu setelah kultur (MSK). Penambahan bobot kalus embriogenik tertinggi pada varietas Dewata diperoleh dengan menggunakan media 2.0 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L<sup>-1</sup> sebesar 460.32 mg. Pada varietas Nias penggunaan media 1.0 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L<sup>-1</sup> menghasilkan bobot sebesar 333.40 mg, sedangkan pada varietas Selayar bobot tertinggi diperoleh pada media 2.0 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L<sup>-1</sup> sebesar 274.70 mg (Tabel 2).

Tabel 1 Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap penambahan diameter kalus embriogenik gandum (mm)

Komposisi Media	Minggu ke-				Total
	1	2	3	4	
Dewata					
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup>	0.85	0.85a	0.25	0.40b	2.35b
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L <sup>-1</sup>	0.75	0.60b	0.10	1.15a	2.60a
2.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L <sup>-1</sup>	0.90	0.30c	0.20	1.00a	2.40ab
Nias					
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup>	0.55b	0.10	0.25	0.25	1.15b
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L <sup>-1</sup>	0.95a	0.15	0.30	0.25	1.65a
2.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L <sup>-1</sup>	0.85a	0.05	0.30	0.25	1.40a
Selayar					
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup>	0.40b	0.40a	0.20	0.30a	1.25a
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L <sup>-1</sup>	0.60a	0.05b	0.20	0.10b	0.95b
2.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L <sup>-1</sup>	0.50ab	0.05b	0.10	0.25a	0.90b

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada kolom yang sama dan pada baris varietas yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf  $\alpha = 5\%$ .

Adanya penambahan bobot dan diameter kalus setelah proliferasi menandakan bahwa terjadi pertumbuhan dan pembelahan sel pada kalus. Dari beberapa penelitian dilaporkan ZPT kelompok auksin seperti 2.4D dan picloram mampu meningkatkan laju pembelahan sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan ZPT lain dari kelompok auksin. Penelitian yang dilakukan oleh Khumaida dan Handayani (2010) menunjukkan bahwa penggunaan media MS

dengan penambahan 5-40 mg 2.4D L<sup>-1</sup> mampu memicu induksi dan laju proliferasi kalus yang tinggi pada beberapa varietas kedelai.

Proliferasi kalus embriogenik juga dapat terjadi pada media dengan konsentrasi auksin yang rendah. Konsentrasi auksin yang tinggi dapat menghambat proliferasi, pendewasaan kalus embriogenik dan perkembangan embrio somatik. Auksin eksogen yang tinggi diperlukan untuk tahap

awal induksi kalus embriogenik, sedangkan untuk tahap perkembangan dan proliferasi tidak dibutuhkan auksin yang tinggi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa proses proliferasi kalus embriogenik memerlukan ZPT dosis rendah agar kalus yang telah terbentuk tidak kembali menjadi

kalus biasa, misalnya pada padi (Verma *et al.*, 2011) dan Walnut (Cai *et al.*, 2013). Menurut Yasmin *et al.* (2009) media terbaik untuk proliferasi kalus gandum dapat menggunakan media MS dengan penambahan 4 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 1.5 mg kinetin L<sup>-1</sup> + 2 mg NAA L<sup>-1</sup>.

Tabel 2 Pengaruh zat pengatur tumbuh terhadap penambahan bobot kalus embriogenik gandum (mg)

Komposisi Media	Dewata	Nias	Selayar
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup>	386.68	299.70	239.12
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L <sup>-1</sup>	454.10	333.40	241.16
2.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L <sup>-1</sup>	460.32	261.70	274.70

**Proliferasi embrio somatik**

Proliferasi embrio pada kalus embriogenik terjadi pada sel-sel permukaan atau apikal dari embrio somatik primer/embrio yang pertama muncul. Saat proses proliferasi, satu sel atau sekelompok kecil sel di permukaan embrio primer akan membentuk embrio somatik baru/embrio sekunder. Hasil percobaan menunjukkan bahwa proliferasi embrio somatik dapat terjadi pada semua media proliferasi baik padat maupun cair yang ditandai dengan semakin bertambahnya massa kalus akibat penambahan bobot dan bertambahnya jumlah embrio somatik

Berdasarkan hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penggunaan jenis media dan konsentrasi ZPT secara tunggal maupun interaksinya tidak pengaruh nyata terhadap bobot kalus embriogenik varietas Dewata setelah proliferasi selama 8 MSK, sedangkan perlakuan jenis media secara tunggal memberikan pengaruh yang nyata terhadap jumlah embrio somatik, tetapi ZPT dan interaksinya tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah embrio somatik setelah proliferasi selama 8 MSK. Perlakuan media 1 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 0.5 mg picloram L<sup>-1</sup> dari rata-rata kedua jenis media menunjukkan bobot kalus embriogenik tertinggi sebesar 0.51 g dan menghasilkan 18.50 buah embrio somatik (Tabel 3).

Tabel 3 Bobot kalus embriogenik dan jumlah embrio somatik varietas Dewata hasil proliferasi pada perbedaan konsentrasi ZPT dan jenis media

Komposisi Media	Padat	Cair	Rata-rata
	Bobot KE (g)		
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 0.5 mg picloram L <sup>-1</sup>	0.62	0.40	0.51
0.5 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 0.25 mg picloram L <sup>-1</sup>	0.45	0.43	0.44
Rata-rata	0.53	0.42	
	Jumlah embrio (buah)		
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 0.5 mg picloram L <sup>-1</sup>	5.75	31.25	18.50
0.5 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 0.25 mg picloram L <sup>-1</sup>	5.00	26.50	15.75
Rata-rata	5.38B	28.88A	

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf besar yang sama pada baris yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf α = 5%.

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa penggunaan jenis media dan

konsentrasi ZPT pada media proliferasi baik secara tunggal maupun interaksinya

memberikan pengaruh yang nyata terhadap bobot kalus embriogenik dan jumlah embrio somatik varietas Nias setelah proliferasi selama 8 MSK. Perlakuan media 1 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 0.5 mg picloram L<sup>-1</sup> dari rata-rata kedua jenis media menunjukkan bobot kalus embriogenik tertinggi senilai 0.47 g dan mampu menghasilkan 13.00 buah embrio (Tabel 4).

Perbedaan jenis media yaitu padat dan cair memberikan perbedaan terhadap bentuk embrio yang dihasilkan. Proliferasi embrio somatik dapat terjadi baik pada media padat

maupun media cair. Embrio somatik yang dihasilkan pada media padat lebih sedikit dan cenderung mengalami pendewasaan menjadi scutelar dan coleoptilar, sedangkan pada media proliferasi cair jumlah embrio somatik yang dihasilkan lebih banyak dan didominasi oleh embrio fase globular (Tabel 5). Menurut Verma *et al.* (2011) penggunaan ZPT yang tepat dan konsentrasi yang sesuai dengan fisiologi eksplan dan jenis tanaman akan mempengaruhi keberhasilan proliferasi kalus embriogenik dan embrio somatik.

Tabel 4 Bobot kalus embriogenik (KE) dan jumlah embrio somatik varietas Nias hasil proliferasi pada perbedaan konsentrasi ZPT dan jenis media

Komposisi Media	Padat	Cair	Rata-rata
	Bobot KE (g)		
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 0.5 mg picloram L <sup>-1</sup>	0.64aA	0.30Ab	0.47a
0.5 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 0.25 mg picloram L <sup>-1</sup>	0.27bA	0.31Aa	0.29b
Rata-rata	0.45A	0.30B	
	Jumlah embrio (buah)		
1.0 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 0.5 mg picloram L <sup>-1</sup>	11.25aA	14.75aA	13.00a
0.5 mg 2.4D L <sup>-1</sup> + 0.25 mg picloram L <sup>-1</sup>	3.00 Bb	15.50aA	9.25b
Rata-rata	7.13B	15.13A	

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada kolom yang sama dan huruf besar yang sama pada baris yang sama menunjukkan berbeda tidak nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf  $\alpha = 5\%$ .

Penambahan picloram dapat menginduksi proliferasi embrio somatik lebih efektif. Hal ini terjadi karena picloram mampu menginduksi sel-sel somatik dan kalus embriogenik yang berpotensi membentuk embrio somatik. Hasil penelitian Al hafiizh (2012) menunjukkan pemberian picloram pada media MS menghasilkan jumlah embrio somatik hasil proliferasi yang lebih banyak dibandingkan media tanpa picloram pada tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L). Sejalan dengan hal itu de Moura *et al.* (2017) melaporkan media MS yang mengandung 10.4-20.7  $\mu$ M picloram dapat meningkatkan induksi embrio somatik *Eucalyptus* mencapai 80% menggunakan eksplan kotiledon.

Penelitian Widoretno *et al.* (2003) pada tanaman kedelai menunjukkan penggunaan ZPT konsentrasi tinggi 10 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 10

mg NAA L<sup>-1</sup> menghasilkan jumlah embrio somatik hasil proliferasi sebanyak 26 embrio. Penggunaan ZPT yang tepat dengan konsentrasi yang sesuai dengan fisiologi eksplan dan jenis tanaman akan mempengaruhi keberhasilan proliferasi massa embriogenik dan embrio somatik. Setiap jenis dan jaringan tanaman mempunyai respon yang berbeda terhadap pengaruh ZPT eksogen.

Proliferasi kalus embriogenik dan embrio somatik umumnya dapat diinduksi dengan pemberian dosis auksin yang rendah secara eksogen yang akan mendorong proliferasi massa proembriogenik, sebaliknya pemberian auksin yang tinggi akan menghambat perkembangan embrio somatik selanjutnya, karena auksin eksogen akan meniadakan polaritas auksin endogen yang menyebabkan gradien auksin endogen

terganggu dengan adanya difusi auksin eksogen ke dalam sel-sel embrio somatik. Pengurangan konsentrasi auksin akan mendorong perkembangan embrio somatik, meskipun keberadaan auksin dan sitokinin dapat mendorong perkecambahan (Sahet *al.*, 2014).

Hasil percobaan menunjukkan bahwa ketiga jenis media proliferasi yang digunakan mampu meningkatkan massa sel kalus embriogenik pada ketiga varietas gandum

yang digunakan. Media MS dengan penambahan 1.0 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L<sup>-1</sup> merupakan media terbaik pada semua varietas yang mampu meningkatkan diameter kalus embriogenik. Meskipun diameter kalus embriogenik menunjukkan pengaruh yang nyata tetapi bobot kalus ternyata tidak berbeda. Dari data dapat dilihat kalus embriogenik pada varietas Dewata mampu berkembang lebih cepat dibandingkan dengan varietas lainnya.

Tabel 5. Jumlah embrio somatik gandum per fase histodiferensiasi.

Varietas	2.4 D+Picloram (mg L <sup>-1</sup> )	Globular	Hati	Scutelar	Coleoptilar
Dewata	1.0 + 0.5 + 2 g gelrite L <sup>-1</sup>	0.00	0.00	1.25	4.50
	0.5 + 0.25 + 2 g gelriteL <sup>-1</sup>	0.00	0.00	0.00	5.00
	1.0 + 0.5	31.25	0.00	0.00	0.00
	0.5 + 0.25	26.50	0.00	0.00	0.00
Nias	1.0 + 0.5 + 2 g gelrite L <sup>-1</sup>	2.00	0.00	0.00	9.25
	0.5 + 0.25 + 2 g gelriteL <sup>-1</sup>	0.00	0.00	0.00	3.00
	1.0 + 0.5	14.00	0.00	0.00	0.75
	0.5 + 0.25	15.50	0.00	0.00	0.00

## KESIMPULAN

Penggunaan 2.4D dan picloram mampu meningkatkan laju pembelahan sel sehingga meningkatkan bobot dan diameter kalus embriogenik. Media terbaik untuk proliferasi kalus embriogenik pada varietas Dewata dan Nias adalah 1.0 mg 2.4D L<sup>-1</sup> + 1.0 mg picloram L<sup>-1</sup> dan pada varietas Selayar adalah 1.0 mg 2.4D L<sup>-1</sup>. Aplikasi media cair pada proliferasi embrio somatik menunjukkan hasil tertinggi sebanyak 28.88 embrio pada Dewata dan 15.13 embrio pada Nias.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al hafiizh, E. (2012). Studi induksi dan pendewasaan embrio somatik jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan berbagai jenis eksplan dan zat pengatur tumbuh. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 75 hal.
- Benderradji, L., Al Brini, L., Kellou, K., Ykhlef, N., Djekoun, A., Masmoudi, K., Bourzerzour, H. (2012). Callus induction, proliferation, and planlets regeneration of two bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under saline and heat stress conditions. *ISRN Agronomy* 1-8.
- Cai, X.D., Wang, G.Y., Cao, W.J. (2013). In vitro induction and proliferation of callus from immature cotyledons and embryos of *Juglans regia* cv. 'Xiangling'. *Not. Bot. Horti. Agrobo.* 41(2):378-384.
- de Moura, L.C., Xavier, da Cruz, A.C.F., Gallo, R., Gatti, K.C., Miranda, N.A., Otoni, W.C. (2017). Effects of explant type, culture media and picloram and dicamba growth regulators on induction and proliferation of somatic embryos in *Eucalyptus grandis* x *E. Urophylla*. *Revista Árvore* 41(5):1-10.
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2019). Top 10 Country Importers of wheat. <http://www.fao.org/faostat> [20 Agustus 2019].
- Khumaida, N., Handayani, T. (2010). Induksi dan proliferasi kalus embriogenik pada beberapa genotipe kedelai. *J. Agron. Indonesia* 38(1): 19-24.

- Munazir, M., Qureshi, R., Ali, G.M., Rashid, U., Noor, S., Mehmood, K., Ali, S., Arshad, M. (2010). Primary callus induction, somatic embryogenesis and regeneration studies in selected elite wheat varieties from pakistan. Pak. J. Bot. 42(6):3957-3965.
- Nasab, B.F., Mansour, O., Amiritokaldani, M. (2012). Callus induction and plant regeneration of wheat mature embryo under abscisic acid treatment. Int. J. Agric. Crop Sci. 4(1):17-23.
- Noor, S., Ali, G.M., Rashid, U., Arshad, M., Ali, S., Zafar, Y. (2009). Optimization of callus induction and regeneration system for pakistani wheat cultivars kohsar and khyber-87. African J. Biotech. 8:5554-5558.
- Sah, S.K., Kaur, A., Sandhu, J.S. (2014). High frequency embryogenic callus induction and whole plant regeneration in japonica rice cv. Kitaake. J. Rice Res. 2(2):1-5.
- Setiawan, R.B., Khumaida, N., Dinarti, D. (2015). Induksi mutasi kalus embriogenik gandum (*Triticum aestivum* L.) melalui iradiasi sinar gamma untuk toleransi suhu tinggi. J. Agron. Indonesia 43(1):36-44.
- Sisharmini, A., Apriana, A., Sustiprijano. (2010). Induksi kalus dan regenerasi beberapa genotipe gandum (*Triticum aestivum* L.) secara in vitro. J. Agro Biogen. 6(2):57-64.
- Verma, P., Jushi, R., Shukla, A., Kumar, P. (2011). Protokol for in vitro somatic embryogenesis and regeneration of rice (*Oryza sativa* L.). Indian J. Exp. Biol. 49:958-963.
- Wani, S.H., Sofi, P.A., Gosal, S.S., Singh, N.B. (2010). In vitro screening of rice (*Oryza sativa* L.) callus for drought tolerance. Comm. Biometry Crop Sci. 5(2):108-115.
- Widoretno, W., Ningtyas, E.L., Sudarsono. (2003). Metode induksi pembentukan embrio somatik dari kotiledon dan regenerasi planlet kedelai secara in vitro. Hayati 10(1):19-24.
- Yasmin, S., Khan, I.A., Khatri, A., Seema, N., Nizamani, Arain, M.A. (2009). In vitro plant regeneration in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Pak. J. Bot. 41(6):2869-2876.
- Yu, H., Wang, W., Wang, Y., Hou, B. (2012). High frequency wheat regeneration from leaf tissue explants of regenerated plantlets. Advances in Bioscience and Biotechnology 3:46-50