مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی online
دوره ۱۳، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۳
صفحه ۲۴۵-۲۳۵

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2025
Volume 13, Number 2, Pages: 235-245

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

10.61882/gebsj.13.2.8

اثر تنظیم کننده رشد گیاهی، رقم و ریزنمونه در اندام‌زایی درون شیشه‌ای سویا (*Glycine max* L.)

Effects of Plant Growth Regulators, Genotype and Explant on *in vitro* Organogenesis of Soybean (*Glycine max* L.)

وحید مهری زاده[۱] و ابراهیم دورانی[*۲]
Vahid Mehrizadeh[1], Ebrahim Dorani [*2]

۱- دکترای بیوتکنولوژی گیاهی، گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران.
۲- استاد گروه به نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ایران
1- Ph.D. Student of Agricultural Biotechnology, 2- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Dorani@tabrizu.ac.ir*Corresponding Author, Email

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۱۲- تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۶/۲۳)
Received: 2025/02/27 | Accepted: 2025/09/03 | Published: 2025/09/14

Abstract

Soybean is one of the most important crops and nutrient source of oil and protein in the world. Soybean breeding trough biotechnology is one of the current manners to overcome cultivation and qualitative problems of soybean production. In this study effect of genotype (Williams, Sari and DPX), explant (hypocotyl, cotyledon and first leaf) and plant growth regulators such as BAP (0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/L) and IBA (0.0, 0.1 and 0.5 mg/L) on *in vitro* organogenesis of soybean investigated. This experiment was performed as a factorial in a completely randomized design (CRD) with four replications. Analysis of variance for organogenesis parameters showed that there was significant difference between genotypes, explants and PGR combinations at one percent significance level. Highest organogenesis obtained from cotyledon explants in MS medium supplemented with 1.5 and 2.0 mg/L BAP plus 0.1 mg/L IBA in Williams. The highest soot per explant have been recorded in medium supplemented with 1.5 mg/L BAP plus 0.1 mg/L IBA in Williams using cotyledon explants. Finally, the regenerated shots transferred to 1/2 MS medium supplemented with 1.0 mg/L IBA for root induction and rooted plants adapted in greenhouse. The optimal results obtained in this study can provide the basis for future research, especially gene transfer studies to these soybean genotypes.

Keywords: Genotype, Organogenesis, Plant Growth Regulators, Soybean.

چکیده

رفرانس دهی این مقاله Citation

Mehrizadeh V, Dorani E. (2025). Effects of plant growth regulators, genotype and explant on in vitro organogenesis of soybean (Glycine max L.). Genetic Engineering and Biosafety Journal, 13 (2): 235-245. Doi: 10.61882/gebsj.13.2.8
URL: http://gebsj.ir/article-1-511-en.html

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 13, Number 2, 2025

خلاصه

سویا (*Glycine max* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی و منبعی غنی از روغن و پروتئین محسوب می‌شود. امروزه اصلاح سویا از طریق بیوتکنولوژی گیاهی یکی از روش‌های کارآمد در غلبه بر مشکلات زراعی و کیفی این گیاه می‌باشد. دستیابی به یک سیستم باززایی کارامد و تکرارپذیر، پیش‌نیاز برنامه‌های بهبود ژنتیکی گیاهان است. در پژوهش حاضر، اثر رقم (ویلیامز، ساری و DPX)، ریزنمونه (هیپوکوتیل، کوتیلدون و برگچه اولیه) و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی BAP (۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم در لیتر) و IBA (۰، ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر) در اندام‌زایی سویا مورد مطالعه قرار گرفتند. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برای صفات اندام‌زایی بین ارقام، ریزنمونه‌ها و سطوح مختلف ترکیبات هورمونی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. بیشترین درصد اندام‌زایی از ریزنمونه کوتیلدون رقم ویلیامز کشت شده در محیط‌های MS حاوی ۱/۵ و ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA حاصل شد. همچنین بیشترین تعداد شاخساره تشکیل شده به ازای هر ریزنمونه، از ریزنمونه کوتیلدون رقم ویلیامز در محیط حاوی ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. در نهایت شاخه‌های باززا شده جهت القاء و تشکیل ریشه به محیط MS ۱/۲ حاوی یک میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA منتقل و سپس گیاهچه‌های رشد یافته به محیط آزاد سازگار و در گلدان‌ها کشت شدند. نتایج بهینه بدست آمده در این مطالعه می‌تواند زمینه را برای تحقیقات آینده و بخصوص مطالعات انتقال ژن به این ارقام سویا فراهم سازد.

کلمات کلیدی: اندام‌زایی، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، رقم، سویا.

مقدمه Introduction

سویا (*Glycine max* L.) یکی از مهمترین محصولات کشاورزی دنیا است که نه تنها به دلیل ظرفیتش در تولید روغن بلکه به دلیل نقش آن در تغذیه انسان و دام از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. سویا از نظر ذخایر روغنی و پروتئینی حائز اهمیت فراوان می‌باشد. از میان گیاهان روغنی، سویا ویژگی‌های منحصر به فردی دارد و کاربرد این گیاه دارای طیف بسیار گسترده‌ای است (Babaei *et al.,* 2021; Sehaole and Mangena, 2024).

افزایش جمعیت جهان و افزایش تقاضا برای محصولات پروتئینی، باعث شده گیاه سویا در همه نواحی آب و هوایی جهان به عنوان یکی از با ارزش‌ترین محصولات کشاورزی و منبعی غنی جهت تولید روغن و پروتئین کشت شود. اما حساسیت بالا به تنش‌های محیطی به ویژه شوری و خشکی، آفات و بیماری‌ها و پایین بودن شاخص برداشت از محدودیت‌های اصلی بهره‌وری سویا محسوب می‌شوند (Wang et al., 2022). افزایش میزان روغن، بهبود کیفیت تغذیه‌ای آن، مقاومت به آفات و بیماری‌ها از اهداف اصلی برنامه‌های اصلاحی سویا می‌باشند. در گذشته تلاش‌های زیادی در جهت افزایش مقاومت آن در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی با استفاده از روش‌های اصلاح نباتات کلاسیک صورت گرفته است. اما خودبارور بودن این گیاه و تنوع ژنتیکی کم واریته‌های آن، اصلاح سویا با روش‌های کلاسیک را با محدودیت روبرو کرده است (Vargas-Almendra et al., 2024).

استفاده از بیوتکنولوژی گیاهی در کنار روش‌های کلاسیک، امید دانشمندان برای غلبه بر مشکلات زراعی و کیفی گیاهان را افزایش داده است. امروزه فناوری کشت بافت مبتنی بر توانایی باززایی به طور گسترده در زمینه‌های مختلف از جمله تحقیقات پایه، ریزازدیادی و اصلاح ژنتیکی استفاده می‌شود. اصلاح سویا با استفاده از روش‌های کشت درون‌شیشه‌ای و انتقال ژن، به عنوان یکی از روش‌های کارآمد در کنار روش‌های

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]

کلاسیک، می‌تواند پتانسیل خوبی را در زمینه اصلاح نباتات و غلبه بر مشکلات این گیاه فراهم کند (Raza et al., 2019; Begum et al., 2019).

استفاده از مزایای کشت بافت درون‌شیشه‌ای از جمله تغییر ژنتیکی گیاهان در بسیاری از گونه‌ها به خاطر مشکلات باززایی گیاهان با محدودیت مواجه شده است. امروزه دست‌یابی به یک روش کشت بافت تکرارپذیر، مهمترین عامل موفقیت در دستورزی ژنتیکی گیاهان به حساب می‌آید (Long *et al*., 2022). انتخاب ژنوتیپ‌های پاسخ دهنده به کشت بافت اولین قدم در یک برنامه مهندسی ژنتیک یک گیاه می‌باشد. کارایی موفقیت در این رابطه به عوامل متعددی از جمله گونه و ژنوتیپ گیاهی، نوع ریزنمونه، نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و غیره بستگی دارد (Mehrizadeh *et al*., 2021; Tiwari *et al*., 2023).

گزارش‌های متعدد بر این نکته تاکید دارند از میان عوامل مختلف مؤثر بر باززایی، اثر ژنوتیپ به عنوان یک عامل محدودکننده اصلی در کشت بافت سویا مطرح است. چون علی‌رغم دولپه‌ای بودن همچنان با محدودیت درصد باززایی پایین نسبت به سایر دو لپه‌ای‌ها مواجه است. باززایی در سویا به شدت وابسته به ژنوتیپ است. حتی نوع، کیفیت و منبع ریزنمونه نیز در باززایی سویا مؤثر می‌باشند (Zhong *et al*., 2024; Walne *et al*., 2020). هرچند هر سلول زنده پتانسیل تبدیل شدن به یک گیاه کامل را دارد، ولی در اکثر مطالعات از سلول‌ها یا بافت‌هایی با رشد فعال و متابولیسم فیزیولوژیکی بالا به عنوان ریزنمونه استفاده می‌کنند (Long *et al*., 2022). برای شاخه‌زایی در سویا از ریزنمونه‌های مختلف از جمله هیپوکوتیل (Raza *et al*., 2017)، مریستم ساقه (Liu *et al*., 2004)، جنین (Rao and Hildebrand, 2009)، کوتیلدون (Zhong *et al*, 2024) و نیمه بذر (Sojkova *et al*., 2016) استفاده شده است.

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از دیگر عوامل مؤثر در کشت بافت گیاهان می‌باشند. سیتوکینین‌ها و اکسین‌ها از مهمترین تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که در رشد، تمایز و تقسیم سلولی نقش دارند (Mangena, 2021). معمولا تغییر نسبت سیتوکینین به اکسین بیرونی می‌تواند به نفع یک الگوی رشد مثل ریشه‌زایی، کالوس‌زایی و یا شاخه‌زایی باشد(Lee *et al*., 2020; Muzika *et al*., 2024). مطالعات نشان داده BAP به عنوان یکی از سیتوکینین‌های شناخته شده به تنهایی و یا در ترکیب با سایر تنظیم‌کننده‌های رشدی، در القای شاخه‌زایی و شروع جنین‌زایی سوماتیکی در برخی از گیاهان از جمله حبوبات تأثیرگذار بوده است (Sehaole and Mangena, 2024). به منظور باززایی شاخه در برخی از ارقام سویا از تنظیم کننده‌های رشدی مختلفی از جمله BAP، کینتین و تیدیازول به تنهایی یا در ترکیب با یک اکسین استفاده شده است ((Tiwari *et al*., 2022)). گزارش شده تأثیر ترکیب تیدیازول و BAP در شاخه‌زایی سویا مؤثرتر از اثر جداگانه آنها می‌باشد. در حالی‌که برتری BAP نسبت به کینتین و تیدیازول در باززایی برخی از ارقام سویا نیز گزارش شده است (Arun *et al*., 2016).

این پژوهش با هدف ارزیابی توانایی اندام‌زایی برخی از ارقام تجاری سویا انجام شد. بدین منظور برخی از عوامل مؤثر در اندام‌زایی سویا از قبیل رقم، ریزنمونه و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مورد مطالعه قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها
Materials and Methods

موادگیاهی: در مطالعه حاضر بذور سه رقم رایج سویا در کشور (ویلیامز، ساری و DPX) از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر دریافت شد.

آماده‌سازی مواد گیاهی: جهت ضد عفونی سطحی، ابتدا بذور به مدت یک دقیقه در اتانول ۷۰٪ قرار گرفت و بعد از یک بار شستشو با آب مقطر استریل، با هیپوکلریت سدیم دو و نیم درصد به مدت ۱۵ دقیقه تیمار شدند. سپس بذور سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. بذور ضد عفونی شده در شرایط استریل در محیط کشت جوانه‌زنی شامل محیط کشت پایه MS (Murashige and Skoog, 1962)

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]

تکمیل شده با ۳٪ ساکارز و ۰/۸٪ آگار منتقل و در اتاق رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از جوانه‌زنی بذور، ریزنمونه‌های هیپوکوتیل و کوتیلدون از گیاهچه‌های ۸ روزه و ریزنمونه برگچه اولیه از گیاهچه‌های ۱۰ روزه تهیه شدند. ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS حاوی ترکیبی از غلظت‌های مختلف BAP (۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم در لیتر) و IBA (۰، ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر) به همراه محیط فاقد تنظیم کننده رشدی، تکمیل شده با ۳ درصد ساکارز و ۰/۸٪ آگار کشت و در اتاقک رشد در دمای در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری (۱۶/۸) با شدت نور ۵۰۰۰ لوکس نگهداری شدند. این آزمایش در قالب فاکتوریل سه عاملی بر پایه طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار و هر تکرار شامل شش ریزنمونه اجرا گردید. ریزنمونه‌ها هر دو هفته یک بار به محیط کشت جدید منتقل شدند. صفات درصد اندام‌زایی و تعداد شاخساره به ازای هر ریزنمونه پس از شش هفته یاداشت برداری شدند.

شاخساره‌های باززا شده برای ریشه‌زایی به محیط کشت MS ۱/۲ حاوی یک میلی‌گرم در لیتر تنظیم کننده رشدی IBA، دو درصد ساکارز و ۰/۸٪ آگار منتقل شدند. برای سازگاری گیاهان به شرایط محیطی آزاد نیز گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به گلدان‌های کوچک حاوی بستر استریل متشکل از پرلیت و ورمی کولیت (۱:۱) انتقال یافت و به مدت یک هفته با محلول هوگلند آبیاری شدند. در این مرحله گلدان‌ها درون پوشش پلاستیکی قرار گرفتند و با گذشت زمان به حذف تدریجی پوشش پلاستیکی اقدام شد. پس از استقرار کامل گیاه، انتقال به بستر طبیعی (شن و ماسه با خاک زراعی) صورت گرفت (شکل ۵- G، H و I).

برای تجزیه آماری داده‌ها، ابتدا مفروضات تجزیه واریانس مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به نرمال نبودن توزیع انحرافات، از تبدیل به زاویه داده‌ها استفاده گردید. همچنین با توجه به مشابه بودن نتایج، از داده‌های اصلی در تجزیه‌ها و رسم نمودارها استفاده گردید. تجزیه آماری در قالب فاکتوریل سه عاملی بر پایه طرح کاملا تصادفی صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ انجام شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها در این پژوهش از نرم افزار MSTATC و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید. همچنین برای محاسبه صفات مورد مطالعه از رابطه‌های زیر استفاده شد:

درصد اندام‌زایی = (تعداد کل ریز نمونه‌ها / تعداد ریزنمونه‌های باززا شده) × ۱۰۰

تعداد شاخساره باززا شده به ازای هر ریزنمونه= (تعداد کل ریزنمونه‌ها / تعداد کل شاخساره‌های باززا شده)

نتایج و بحث
Results and Discussion

بذور سویا (ویلیامز، ساری و DPX) چهار روز پس از کشت در محیط MS، جوانه زده و شروع به رشد کردند. ریزنمونه‌ها (هیپوکوتیل و کوتیلدون و برگچه اولیه) از جوانه‌های استریل جدا شده و در محیط‌کشت MS حاوی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف کشت شدند (شکل ۵- C).

تجزیه واریانس داده‌ها برای صفات اندام‌زایی در محیط کشت MS دارای غلظت‌های مختلف هورمونی نشان داد که برهم‌کنش رقم، ریزنمونه و ترکیب مواد تنظیم کننده رشدی و همه اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه در سطح احتمال یک درصد برای همه صفات مورد مطالعه دارای اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۱).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]

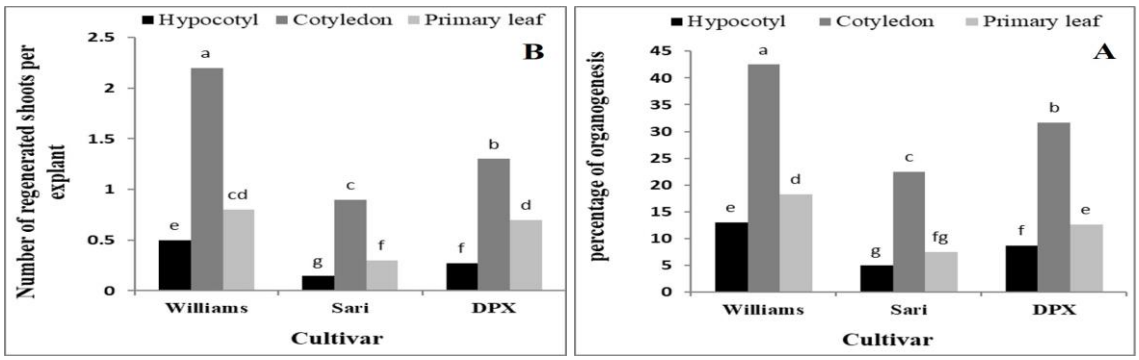
جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در اندام‌زایی درون شیشه‌ای سویا.

Table 1. Analysis of variance of the studied traits in in vitro organogenesis of soybean

MS		df	S.O.V
Number of shoot per explant	Percentage of organogenesis		
30.48**	557.43**	2	Cultivar
37.67**	903.7**	2	Explant
48.28**	368.53**	12	Hormonal treatment
13.61**	148.6**	4	Cultivar× Explant
11.52**	42.06**	24	Cultivar× Hormonal treatment
8.08**	34.76**	24	Explant× Hormonal treatment
3.73**	9.06**	48	Cultivar× Explant× Hormonal treatment
0.94	2.13	351	Error
13.5	18.1		CV (٪)

**: Significant at 0.01 probability levels ** معنی داری در سطوح احتمال ۱ درصد.

به منظور برآورد اثرات عوامل مورد مطالعه، مقایسه میانگین داده‌ها با روش دانکن برای صفات مذکور انجام شد. با توجه به معنی‌داری اثرات متقابل دو جانبه و سه جانبه، مقایسه میانگین اثرات اصلی کنار گذاشته شدند. مقایسه میانگین اثرات متقابل دو جانبه نشان داد، همه اثرات متقابل دو جانبه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند. بررسی مقایسه میانگین اثر متقابل رقم با ریزنمونه نشان داد که بیشترین درصد اندام‌زایی (٤١ درصد) و تعداد شاخساره به ازای هر ریزنمونه (۲/۲) مربوط به ریزنمونه کوتیلدون رقم ویلیامز بود و کمترین درصد اندام‌زایی (۵ درصد) و تعداد شاخساره به ازای هر ریزنمونه در ریزنمونه هیپوکوتیل رقم ساری مشاهده شد (شکل ۱). مقایسه میانگین اثر متقابل رقم با ترکیب هورمونی نشان داد که بیشترین درصد اندام‌زایی (۵۳ درصد) در رقم ویلیامز و در محیط‌های حاوی ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شد. همچنین بیشترین تعداد شاخه تشکیل شده به ازای هر ریزنمونه (۳/۱) در رقم ویلیامز و در محیط حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد (شکل ۲). بررسی اثر متقابل ریزنمونه با ترکیب هورمونی نیز نشان داد بیشترین درصد اندام‌زایی (٧٦ درصد) و تعداد شاخساره باززا شده به ازای هر ریزنمونه (۳/۹) مربوط به ریزنمونه کوتیلدون در محیط کشت حاوی ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بود (شکل ۳).

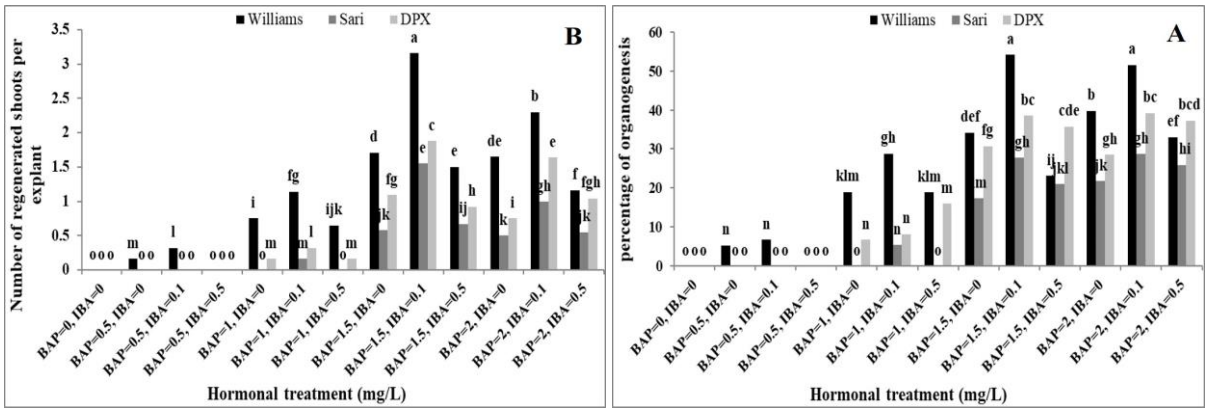


شکل ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و ریزنمونه بر درصد اندام‌زایی (**A**) و تعداد شاخساره تشکیل شده به ازای هر ریزنمونه (**B**).

Fig 1. Mean comparisons of the percentage of organogenesis (**A**) and number of regenerated shoots per explant (**B**) of the interaction between cultivar and explant

*حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح یک درصد می باشد

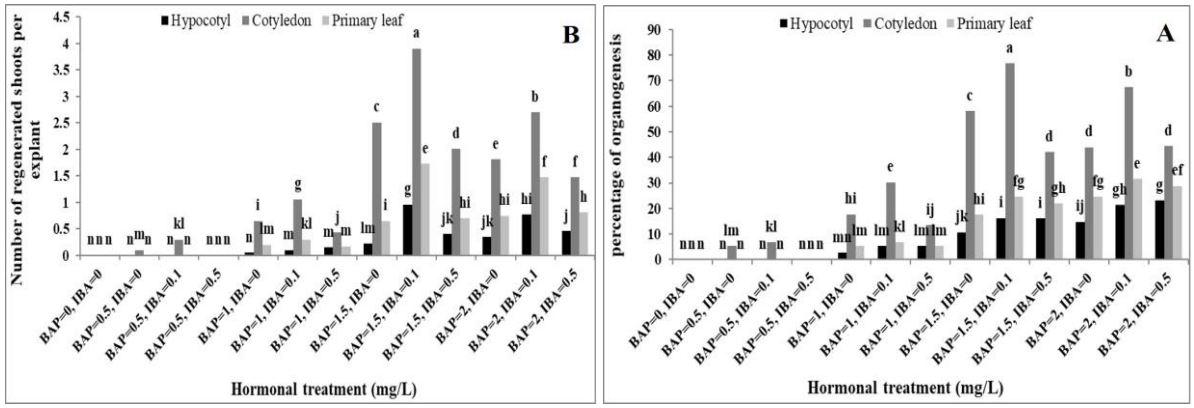
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]



شکل۲- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و تیمار تنظیم کننده رشد گیاهی بر درصد اندام‌زایی (**A**) و تعداد شاخساره تشکیل شده به ازای هر ریزنمونه (**B**).

Fig 2. Mean comparisons of the percentage of organogenesis (**A**) and number of regenerated shoots per explant (**B**) of the interaction between cultivar and hormonal treatment

*حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح یک درصد می باشد



شکل۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ریزنمونه و تیمار تنظیم کننده رشد گیاهی بر درصد اندام‌زایی (**A**) و تعداد شاخساره تشکیل شده به ازای هر ریزنمونه (**B**).

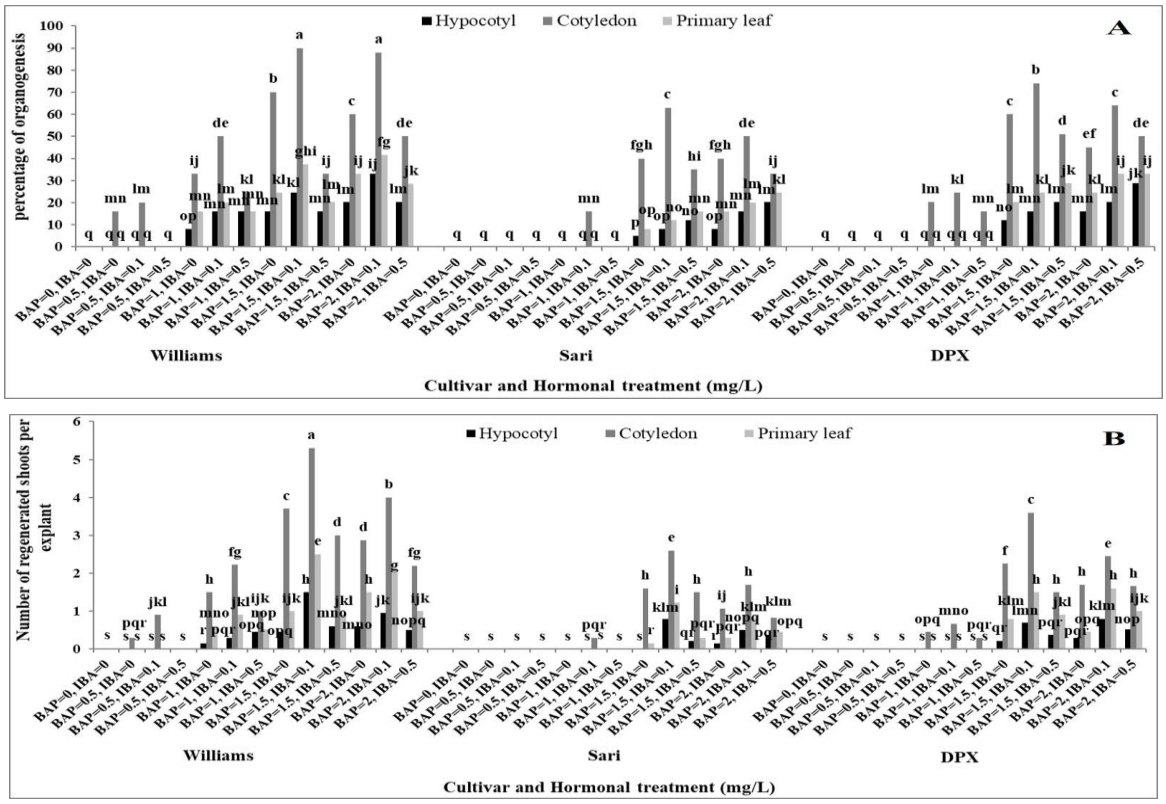
Fig 3. Mean comparisons of the percentage of organogenesis (**A**) and number of regenerated shoots per explant (**B**) of the interaction between explant and hormonal treatment

*حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح یک درصد می باشد

مقایسه میانگین اثر متقابل سه جانبه رقم، ریزنمونه و تیمار هورمونی نشان داد، افزایش غلظت تنظیم‌کننده رشدی سیتوکینین BAP تاثیر مثبتی بر روی اندام‌زایی ریزنمونه‌های مختلف ارقام سویا داشت ولی افزایش غلظت IBA تاثیر منفی روی اندام‌زایی به همراه داشت. بهترین ترکیب هورمونی برای شاخه‌زایی در سویا در ارقام مورد مطالعه ترکیب غلظت بالای BAP با غلظت حداقلی اکسین IBA بود. به طوریکه بیشترین درصد اندام‌زایی (۹۰ درصد) مربوط به ریزنمونه کوتیلدون رقم ویلیامز کشت شده در محیط‌های حاوی ۱/۵ و ۲ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA بدست آمد (شکل ٤- A). همچنین بیشترین تعداد شاخساره تشکیل شده (۵/۳) برای ریزنمونه کوتیلدون رقم ویلیامز در محیط MS حاوی ۱/۵ میلی گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA بود (شکل ٤- B).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]



شکل٤- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم، ریزنمونه و تیمار تنظیم کننده رشد گیاهی بر درصد اندام‌زایی (**A**) و تعداد شاخساره تشکیل شده به ازای هر ریزنمونه (**B**).

Fig 4. Mean comparisons of the percentage of organogenesis (**A**) and the number of regenerated shoos per explant (**B**) of the threefold interaction of cultivar, explant and hormonal treatment

*حروف مشابه نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح یک درصد می باشد.

در این مطالعه ظرفیت شاخه‌زایی سه رقم سویای تجاری در ایران با استفاده از سه ریزنمونه مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. هرچند برخی گزارشات جوانه زنی بذور سویا در محیط حاوی سیتوکنین را توصیه می‌کنند (Raza *et al*., 2017) ولی در این مطالعه بذور سویا در محیط کشت بدون سیتوکنین جوانه‌زنی خوبی را به همراه کیفیت مناسب ریزنمونه‌های مورد نیاز داشتند (شکل ۵- A و B). همه ریزنمونه‌ها در عرض یک هفته پس از کشت در محیط‌های کشت اندام‌زایی شروع به انبساط و تورم کردند. متعاقبا با گذشت زمان القای جوانه شاخه یا کالوس در ریزنمونه‌ها شروع شدند. پس از دو مرحله واکشت، ریزنمونه‌های دارای کالوس که شاخساره ایجاد نکرده بودند به رنگ قهوه‌ای تیره درآمده و حذف شدند.

قابلیت اندام‌زایی ژنوتیپ‌ها و ریزنمونه‌ها در محیط‌های مختلف متفاوت بود. بیشترین اندام‌زایی در رقم ویلیامز با استفاده از ریزنمونه کوتیلدون در حضور غلظت بالای سیتوکینین و مقدار حداقلی اکسین مشاهده شد. این افزایش در رقم ویلیامز بیشتر از دو رقم DPX و ساری بود. همچنین ریزنمونه‌های کوتیلدون در مقایسه با سایر ریزنمونه‌ها در این زمینه بازدهی بیشتری داشته و تعداد شاخه‌های باززا شده در ریزنمونه‌های کوتیلدون به صورت قابل توجهی بیشتر از ریزنمونه‌های هیپوکوتیل و برگچه اولیه بودند. کمترین میزان شاخه‌زایی در ریزنمونه هیپوکوتیل مشاهده شد (شکل ۵- D، E و F).

تفاوت میزان اندام‌زایی بین ارقام مختلف ممکن است به دلیل وجود سطوح مختلف هورمون‌های درون‌زا و مواد غذایی در بخش‌های مختلف ریزنمونه‌ها باشد، که واکنش ارقام مختلف به شاخه‌زایی را تحت تأثیر قرار داده باشند (Khai *et al*., 2021; Saeedpour *et al*., 2021). همچنین همه سلول‌ها از توانایی یکسانی برای تبدیل شدن به گیاه کامل برخوردار نیستند و در اکثر مطالعات از سلول‌ها یا بافت‌هایی با سرعت رشد و تقسیم بالا به عنوان ریزنمونه استفاده می‌کنند. ماهیت و منشا ریزنمونه نقش عمده‌ای در موفقیت کشت درون‌شیشه‌ای گیاهان

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]

ایفا می‌کنند (Martini *et al*., 2022). صرف نظر از نوع ریزنمونه، معمولا تقسیم سلولی اولیه از بخش‌های جوان و نزدیک کامبیوم و دستجات آوندی شروع می‌شود (Lee *et al*., 2020). همچنین بخش اصلی ساختار گیاهان جوان، بافت‌های پارانشیمی است و سلول‌ها در این بافت‌ها، کم و بیش وضعیت مریستمی دارند که معمولا انعطاف‌پذیری بیشتری در شرایط درون‌شیشه‌ای از خود نشان می‌دهند (Yang *et al*., 2009; Long *et al*., 2022).

باززایی گیاهان تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله ژنوتیپ گیاهی، نوع ریزنمونه، محیط کشت، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و غیره قرار دارند (Raza *et al*., 2019). در این میان، ژنوتیپ نقش اساسی را در باززایی ایفا می‌کند که برای هر گونه باید شرایط کشت بافت، جهت باززایی بهینه شود (Sehaole and Mangena, 2024). گزارشات متعدد بر این نکته تأکید دارند که باززایی در سویا به شدت وابسته به ژنوتیپ است، حتی نوع و سن ریزنمونه نیز در باززایی سویا مؤثر می‌باشند (Vargas-Almendra *et al*., 2024). پژوهشگران از قسمت‌های مختلف سویا از جمله هیپوکوتیل، کوتیلدون، جنین و غیره به عنوان ریزنمونه برای باززایی سویا استفاده کرده‌اند (Xu *et al*., 2022). فرانکلین و همکاران (Franklin *et al*., 2004) گزارش کرده‌اند که میزان باززایی هیپوکوتیل به مراتب بیشتر از ریزنمونه کوتیلدون است. همچنین لیو و همکاران (Liu *et al*., 2004) برای باززایی و تراریختی برخی ارقام چینی سویا، از ریزنمونه مریستم ساقه استفاده کرده‌اند. در حالیکه تیواری و همکاران (Tiwari *et al*., 2023) ریزنمونه کوتیلدون را مناسب برای باززایی و تراریختی سویا گزارش کرده‌اند.

رازا و همکاران (Raza *et al*., 2017) تأثیر ژنوتیپ و ریزنمونه بر القای باززایی، با استفاده از ریزنمونه‌های مختلف ۹ رقم سویای استرالیایی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان دهنده نقش مهم ژنوتیپ و ریزنمونه در فرآیند باززایی سویا بودند. به طوریکه بیشترین میزان باززایی را در رقم Bunya با استفاده از ریزنمونه هیپوکوتیل و رقم PNR791 با ریزنمونه کوتیلدون گزارش کرده‌اند. همچنین در برخی گزارشات، ریزنمونه کوتیلدون بیشترین کارایی را در باززایی و انتقال ژن به سویا داشته است (Xu *et al*., 2022). نتایج مطالعه ما در سه ژنوتیپ مورد نظر، مطابق با نتایج بدست آمده از این دو گروه بودند و رقم ویلیامز با استفاده از ریزنمونه کوتیلدون با اختلاف زیادی بهترین ژنوتیپ و ریزنمونه از نظر میزان اندام‌زایی بودند.

در این پژوهش اندام‌زایی در سویا تحت تأثیر غلظت و نوع تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی قرار داشت. به طوریکه با افزایش غلظت BAP شاهد افزایش شاخه‌زایی و با افزایش غلظت IBA شاهد کاهش شاخه‌زایی در ریزنمونه‌های مختلف ارقام مورد مطالعه بودیم. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از دیگر عوامل مؤثر در باززایی گیاهان بشمار می‌آیند. وجود غلظت متعادلی از سیتوکینین‌ها و اکسین‌ها نقش بسزایی در تمایز سلولی و باززایی گیاهان دارند. سیتوکینین‌ها به ویژه BAP معمولا موجب تحریک سلول‌ها شده و نقش بسیار مهمی در شاخه‌زایی بسیاری از گونه‌های گیاهی ایفا می‌کنند (Muzika *et al*., 2024). منگنا و همکاران (Mangena *et al*., 2015) گزارش کرده‌اند که در سویا علاوه بر ژنوتیپ و ریزنمونه، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی نیز در باززایی مؤثر می‌باشند و استفاده از BAP در مقایسه با ترکیب آن با KIN در القای شاخه‌زایی مؤثرتر بوده است.

پات و همکاران (Phat *et al*., 2015) بیشترین میزان شاخه‌زایی دو رقم کره‌ای سویا را در ریزنمونه کوتیلدون و در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر BAP گزارش کرده‌اند. بگوم و همکاران (Begum *et al*., 2019) از بین تنظیم‌کننده‌های مختلف رشدی، بیشترین میزان باززایی رقم BARI-5 سویا را در ریزنمونه کوتیلدون و غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده کرده‌اند. که با نتایج ما مطابقت دارد. همچنین منگنا (Mangena, 2021) از غلظت ۸/۸۷ میکرومولار BAP برای شاخه‌زایی سویا استفاده کرده‌اند. در حالی که ما و وو (Ma and Wu, 2008) بیشترین میزان القای شاخه سویا را در غلظت ۰/٤ میلی‌گرم در لیتر BAP اعلام کرده‌اند. شان و همکاران (Shan *et al*., 2005) بیشترین میزان القای شاخه را در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر TDZ گزارش کرده‌اند. رازا و همکاران (Raza *et al*., 2017) استفاده از ترکیب یک میلی‌گرم در لیتر زآتین به همراه ۰/۱ میلی گرم در لیتر IAA را برای باززایی سویا توصیه کرده‌اند. همچنین خان و همکاران (Khan *et al*., 2024) ترکیب

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]

۱/۳ میلی‌گرم در لیتر BAP با ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر KIN و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید را برای باززایی ریزنمونه کوتیلدون سویا استفاده کرده‌اند.

در این مطالعه بهترین ترکیب هورمونی برای شاخه‌زایی سویا در ارقام مورد مطالعه، ترکیب غلظت بالای BAP با حداقل غلظت اکسین IBA بود. هرچند بیشترین میزان اندام‌زایی در ترکیب BAP و IBA حاصل شد، ولی محیط بدون اکسین با سطوح بالای BAP نیز شاخه‌زایی خوبی را نشان داد و در جایگاه دوم اندام‌زایی قرار داشت. البته نتایج این پژوهش در مقایسه با مطالعات دیگری که منحصرا از BAP استفاده کرده بودند، هم از نظر تعداد شاخه باززا شده و هم کیفیت شاخه‌های تولیدی به مراتب بهتر بود. اکسین‌ها یکی از مهمترین تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند که در جنین‌زایی بسیاری از گونه‌ها در کشت بافت نقش تعیین‌کننده‌ای دارند. اگرچه جنین‌زایی سوماتیکی توسط اکسین بیرونی آغاز می‌شود، ولی وقوع بیشتر آن نیازی به اکسین ندارد. می‌توان چنین استدلال کرد، احتمالا اکسین بیرونی سنتز اکسین درونی را تقویت می‌کند و در نتیجه افزایش اکسین درونی باعث جنین‌زایی و باززایی می‌شوند (Long *et al*., 2022).



شکل ۵- مراحل مختلف کشت بافت سویا. A) جوانه‌زنی بذور سویا در شرایط درون‌شیشه‌ای، B) نهال‌های جوانه‌زده سویا، C) کشت ریزنمونه‌های مختلف سویا، D) باززایی شاخساره از ریزنمونه کوتیلدون رقم ویلیامز ، E) باززایی شاخساره از ریزنمونه هیپوکوتیل رقم ویلیامز ، F) باززایی شاخساره از ریزنمونه برگچه اولیه رقم ویلیامز، G) ریشه‌زایی شاخساره‌های تشکیل شده، H) سازگاری گیاهچه‌های ریشه‌دار، I) انتقال گیاهچه‌های ریشه‌دار به خاک.

Fig 5. Different stages of soybean tissue culture. A) Germination of soybean seeds in in vitro, B) Seedlings of germinated soybean, C) Cultivation of different soybean explants, D) Shoot regeneration from cotyledon explant of Williams cultivar, E) Shoot regeneration from hypocotyl explant of Williams cultivar, F) Shoot regeneration from primary leaf explant of Williams cultivar, G) Rooting of formed shoots, H) Acclimation of rooted plantlets, I) Transfer of rooted plantlets to soil.

نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت تولید سویا در کشور و با در نظر گرفتن این مطلب که فراوانی اندام‌زایی در حبوبات تحت تأثیر ژنوتیپ است و از طرفی فقدان اطلاعات مورد نیاز در مورد ارقام تجاری کشت شده در ایران، بهینه‌سازی شاخه‌زایی درون‌شیشه‌ای ارقام مختلف سویا امری ضروری به نظر می‌رسد. نتایج این مطالعه نشان داد که هرچند رقم ویلیامز به خاطر میزان اندام‌زایی درون‌شیشه بالایی که دارد یک رقم مناسب برای انتقال ژن به سویا می‌باشد، ولی ارقام DPX و ساری نیز به عنوان ارقام پر محصول از قابلیت اندام‌زایی نسبتا مناسبی برخوردار هستند و می‌توانند در برنامه‌های اصلاح ژنتیکی سویا مورد استفاده قرار گیرند. ریزنمونه کوتیلدون به خاطر درصد بالای شاخه‌زایی و تعداد شاخه باززا شده بیشتر به ازای ریزنمونه، بهترین ریزنمونه در کشت بافت سویا می‌باشد. همچنین استفاده از ترکیبات مختلف اکسین و سیتوکینین نشان داد که استفاده از یک اکسین ضعیف با غلظت بسیار پایین در کنار سیتوکینین، قدرت اندام‌زایی درون‌شیشه‌ای سویا را به صورت معنی‌داری بهبود بخشید.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]

تقدیر و تشکر: از معاونت پژوهشی دانشگاه تبریز به خاطر تامین هزینه این مطالعه از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

References

Arun, M., Chinnathambi, A., Subramanyam, K., Karthik, S., Sivanandhan, G., Theboral, J., Alharbi, S. A., Kim, C. K., & Ganapathi, A. (2016). Involvement of exogenous polyamines enhances regeneration and Agrobacterium-mediated genetic transformation in half-seeds of soybean. Biotechnology Journal, 6(2), 1-12. **doi:10.1007/s13205-016-0448-0**

Babaei, S., Ebrahimie, E., Niazi, A., & Nezamivand Chegini, M. (2021). Identification of soybean circular RNAs in response to low nitrogen and phosphorus stresses. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 9(2), 105-115. **doi:20.1001.1.25885073.1399.9.2.3.8 [In Persian]**

Begum, N., Zenat, E. A., Sarkar, M. K. I., Roy, C. K., Munshi, J. L., & Jahan, M. A. A. (2019). In vitro micro propagation of soybean (*Glycine max*) BARI-5 variety. Open Microbiology Journal, 13, 177-187. **doi:10.2174/1874285801913010177**

Franklin, G., Carpenter, L., & Davis, E. (2004). Factors influencing regeneration of soybean from mature and immature cotyledons. Plant Growth Regulation, 43, 73-79. **doi:10.1023/B: GROW. 0000038359. 86756. 18**

Khai, H. D., Bien, L. T., Vinh, N. Q., Dung, D. M., Nghiep, N. D., Mai, N. T. N., Tung, H. T., Luan, V. Q., Cuong, D. M., & Nhut, D. T. (2021). Alterations in endogenous hormone levels and energy metabolism promoted the induction, differentiation and maturation of Begonia somatic embryos under clinorotation. Plant Science, 312, 1-10. **doi:10.1016/j.plantsci.2021.111045**

Khan, M. W., Shaheen, A., Zhang, X., Zhang, J., Dewir, Y. H., & Magyar-Tabori, K. (2024). Generation and assessment of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) hybrids for high-efficiency *Agrobacterium- mediated* transformation. Life, 14(12), 1-13. **doi:10.3390/life14121649**

Lee, M. H., Lee, J., Jie, E. Y., Choi, S. H., Jiang, L., Ahn, W. S., Kim, C. Y., & Kim, S. W. (2020). Temporal and spatial expression analysis of shoot-regeneration regulatory genes during the adventitious shoot formation in hypocotyl and cotyledon explants of tomato (Cv. Micro-Tom). International Journal of Molecular Sciences, 21(15), 1-17. **doi:10.3390/ijms21155309**

Liu, H. K., Yang, C., & Wie, Z. M. (2004). Efficient *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of soybeans using an embryonic tip regeneration system. Planta, 219(6), 1042-1049. **doi:10.1007/s00425-004-1310-x**

Long, Y., Yang, Y., Pan, G. and Shen, Y. (2022). New insights into tissue culture plant-regeneration mechanisms. Frontiers in Plant Science, 13, 1-15. **doi:10.3389/fpls.2022.926752**

Ma, X. H., & Wu, T.L. (2008). Rapid and efficient regeneration in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] from whole cotyledonary node explants. Acta Physiologiae Plantarum, 30, 209-216. **doi:10.1007/s11738-007-0109-3**

Mangena, P. (2021). Analysis of correlation between seed vigour, germination and multiple shoot induction in soybean (*Glycine max* L. Merr.). Heliyon, 7(9), 1-9. **doi:10.1016/j.heli yon.2021.e07913**

Mangena, P., Mokwala, P. W., & Nikolova, R. V. (2015). In vitro multiple shoot induction in soybean. International Journal of Agriculture and Biology, 17, 838-842. **doi:10.17957/IJAB/ 14.0006.**

Martini, A. N., Vlachou, G., & Papafotiou, M. (2022). Effect of explant origin and medium plant growth regulators on in vitro shoot proliferation and rooting of Salvia tomentosa, a native sage of the northeastern Mediterranean basin. Agronomy, 12(8), 1-17. **doi:10.3390/agronomy12 081889**

Mehrizadeh, V., Dorani, E., Mohammadi, A., & Ghareyazi, B. (2021). Study on the factors affecting Agrobacterium-mediated transformation of soybean. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 9(2), 225-236. **doi: 20.1001.1.25885073.1399.9.2.13.8 [In Persian]**

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Plant Physiology, 15(3), 473-497. **doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x**

Muzika, N. S., Kamai, T., Williams, L. E., & Kleiman, M. (2024). Characterization of gelling agents in callus inducing media: Physical properties and their effect on callus growth. Physiologia Plantarum, 176(2), 1-13. **doi:10.1111/ppl.14312**

Phat, P., Rehman, S. U., Jung, H. I., & Ju, j. (2015). Optimization of soybean (*Glycine max* L.) regeneration for korean cultivars. Pakistan Journal of Botany, 47(6), 2379-2385.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]

Rao, S. S., & Hildebrand, D. (2009). Changes in oil content of transgenic soybeans expressing the yeast SLC1 gene. Lipids, 44(10), 945-951. **doi:10.1007/s11745-009-3337-z**

Raza, G., Singh, M. B., & Bhalla, P. L. (2017). In Vitro plant regeneration from commercial cultivars of soybean. BioMed Research International, 1, 1-9. **doi:10.1155/2017/7379693**

Raza, G., Singh, M. B., & Bhalla, P. L. (2019). Somatic embryogenesis and plant regeneration from commercial soybean cultivars. Plants, 9(1), 1-10. **doi:10.3390/plants9010038**

Saeedpour, A., Jahanbakhsh-Godehkahriz, S., Lohrasebi, T., Esfahani, K., Salmanian, A. H., & Razavi, K. (2021). The effect of endogenous hormones, total antioxidant and total phenol changes on regeneration of barley cultivars. Iranian Journal of Biotechnology, 19(1), 30-39. **doi:10. 30498/IJB.2021.2838**

Sehaole, E. M. K., & Mangena, P. (2024). N6-benzyladenine (BAP)-based seed preconditioning enhances the shoot regeneration of seedling-derived explants for subsequent indirect gene transfer in soybeans (*Glycine max* [L.] Merrill.). International Journal of Plant Biology, 15(2), 254-266. **doi:10.3390/ijpb15020022**

Shan, Z., Raemakers, K., Tzitzikas, E. N., Ma, Z., & Visser, R. G. F. (2005). Development of a highly efficient, repetitive system of organogenesis in soybean (*Glycine max* (L.) Merr). Plant Cell Reports, 24(9), 507-512. **doi:10.1007/s00299-005-0971-7**

Sojkova, J., Zur, I, Gregorova, Z., Zimova, M., Matusikova, I., Mihalik, D., Kraic, J., & Moravcikova, J. (2016). In vitro regeneration potential of seven commercial soybean cultivars (*Glycine max* L.) for use in biotechnology. Nova Biotechnologica et Chimica, 15(1), 1-11. **doi:10.1515/ nbec-2016-0001**

Tiwari, R., Singh, A. K., & Rajam M. V. (2023). Improved and reliable plant regeneration and *Agrobacterium-mediated* genetic transformation in soybean (*Glycine max* L.). Journal of Crop Science and Biotechnology, 26(3), 1-10. **doi:10.1007/s12892-022-00179-9**

Vargas-Almendra, A., Ruiz-Medrano, R., Nunez-Munoz, L. A., Ramirez-Pool, J. A., Calderon- Perez, B., & Xoconostle-Cazares, B. (2024). Advances in soybean genetic improvement. Plants, 13(21), 1-25. **doi:10.3390/plants13213073**

Walne, C. H., Alsajri, F. A., Gajanayake, B., Lokhande, S., Seepaul, R., Wijewardana, C., & Reddy, K. R. (2020). In vitro seed germination response of corn, cotton, and soybean to temperature. Journal of the Mississippi Academy of Sciences, 65(3), 374–384

Wang, Y., Li, Z., Chen, X., Gu, Y., Zhang, L., & Qiu, L. (2022). An efficient soybean transformation protocol for use with elite lines. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 151, 457-466. **doi:10.1007/s11240-022-02312-6**

Xu, H., Guo, Y., Qiu, L., & Ran, Y. (2022). Progress in soybean genetic transformation over the last decade. Frontiers in Plant Science, 13, 1-33. **doi:10.3389/fpls.2022.900318**

Yang, C., Zhao, T., Yu, D., & Gai, J. (2009). Somatic embryogenesis and plant regeneration in Chinese soybean (*Glycine max* L.) impacts of mannitol, abscisic acid, and explants age. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 45(2), 180-188. **doi:10.1007/s11627-009-9205-y**

Zhong, H., Li, C., Yu, W., Zhou, H. P., Lieber, T., Su, X., Wang, W., Bumann, E., Lunny-Castro, R.M., Jiang, Y., Gu, W., Liu, Q., Barco, B., Zhang, C., Shi, L., & Que, Q. (2024). A fast and genotype-independent in planta *Agrobacterium-mediated* transformation method for soybean. Plant Communications, 5(12), 1-13. **doi:10.1016/j.xplc.2024.101063**

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61882/gebsj.13.2.8]