

The Impact of Plant Growth Regulators (Pgrs) On Potato Plant Explant Somatic Embryogenesis and Embryonic Callus Induction.

Pengaruh Zat Pengatur Tumbuh (ZPT) Terhadap Induksi Kalus Embriogenik dan Embriogenesis Somatik Eksplan Tanaman Kentang

Edy F. Lengkong*, Jantje Pongoh, Sесilia A. Wanget

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Sam Ratulangi University - Manado 95115, Indonesia

*Corresponding author:

fredylengkong.fl@unsrat.ac.id

Manuscript received: 23 Nov 2025.

Revision accepted: 22 Jan 2026.

Abstract. The purpose of this study was to develop methods for inducing potato somatic embryogenesis utilizing a variety of plant growth regulator types and concentrations, both directly and indirectly. Internodal explants of the Superjhon type of potato were used in the study, which was carried out from April to July 2024 at the Tissue Culture Laboratory, Faculty of Agriculture, Sam Ratulangi University. On MS media enriched with a mixture of NAA + kinetin and BAP + 2,4-D, embryogenic callus induction was performed. While indirect somatic embryogenesis was performed utilizing embryogenic callus on MS medium with different BAP concentrations, direct somatic embryogenesis induction was performed on MS media containing zeatin, IAA, and GA₃. The best embryogenic callus with a compact and granular texture was created by combining 1.5 mg/l BAP with 0.5 mg/l 2,4-D, according to the results. In MS medium + 1 mg/l zeatin + 0.02 mg/l IAA + 0.2 mg/l GA₃, direct somatic embryogenesis demonstrated the quickest and most efficient response, with the percentage of somatic embryo development reaching 54.5% in the fourth week. In the tenth week, indirect somatic embryogenesis yielded the greatest percentage of embryos (83%) in MS medium + 7 mg/l BAP. Compared to indirect ES, direct ES is quicker, easier, and results in more consistent shoot regeneration.

Keywords: ZPT, tissue culture, somatic embryogenesis, potato.

Abstrak. Tujuan penelitian untuk memperoleh teknik induksi embriogenesis somatik kentang melalui jalur langsung dan tidak langsung dengan penggunaan beberapa jenis dan konsentrasi zat pengatur tumbuh. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Universitas Sam Ratulangi pada bulan April–Juli 2024 menggunakan eksplan internodus kentang varietas Superjhon. Induksi kalus embriogenik dilakukan pada media MS yang diperkaya kombinasi NAA + kinetin serta BAP + 2,4-D. Induksi embriogenesis somatik langsung dilakukan pada media MS yang mengandung zeatin, IAA, dan GA₃, sedangkan embriogenesis somatik tidak langsung dilakukan menggunakan kalus embriogenik pada media MS dengan berbagai konsentrasi BAP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l 2,4-D menghasilkan kalus embriogenik terbaik dengan tekstur kompak dan granular. Embriogenesis somatik langsung menunjukkan respons tercepat dan paling efektif pada media MS + 1 mg/l zeatin + 0,02 mg/l IAA + 0,2 mg/l GA₃ dengan persentase pembentukan embrio somatik mencapai 54,5% pada minggu keempat. Sementara itu, embriogenesis somatik tidak langsung menghasilkan persentase embrio tertinggi (83%) pada media MS + 7 mg/l BAP pada minggu ke-10. ES langsung lebih cepat, sederhana, dan menghasilkan regenerasi tunas yang lebih beragam dibandingkan ES tidak langsung.

Kata kunci: kentang, kultur jaringan, embriogenesis somatik, ZPT

PENDAHULUAN

Upaya pengembangan tanaman kentang terus diupayakan karena kebutuhan umbi kentang terus meningkat setiap tahun seiring peningkatan jumlah penduduk dan industri pengolahan berbahan baku umbi kentang dan untuk menjawab tantangan

tersebut maka sangat dibutuhkan ketersediaan benih kentang unggul dan berkualitas lewat perbaikan dan perakitan benih pada proses pemuliaan tanaman kentang.

Perbaikan karakter tanaman dapat dilakukan melalui penerapan teknik kultur

jaringan, melalui pemanfaatan jalur embriogenesis somatik (ES) (Setiawan *et al.*, 2024). Dalam kultur jaringan tanaman, proses regenerasi dapat berlangsung melalui dua mekanisme utama, yaitu embriogenesis somatik dan organogenesis (Ikeuchi *et al.* 2013). Embriogenesis somatik memiliki keunggulan karena embrio berkembang dari sel somatik tunggal, sehingga proses pertumbuhan dan perkembangan setiap individu tanaman dapat dipantau secara lebih akurat dan seragam.

Embriogenesis somatik merupakan pembentukan embrio dari **sel somatik (bukan hasil pembuahan)** di bawah kondisi kultur jaringan *in vitro*, yang pada akhirnya dapat berkembang menjadi tanaman lengkap. Embriogenesis ini memanfaatkan *totipotensi* sel tumbuhan kemampuan satu sel berkembang menjadi organisme utuh sebagai dasar utama perbanyakan tanaman secara aseptik. ES dapat dihasilkan melalui cara langsung dan tidak langsung (Bogdanović *et al.* 2025). Embriogenesis langsung (*Direct Somatic Embryogenesis* – DSE) adalah embrio somatik terbentuk secara **langsung melalui jaringan eksplan yang kompeten** tanpa melewati fase kalus (massa sel tidak terorganisir. Sedangkan ES tidak langsung (*Indirect Somatic Embryogenesis* – ISE) merupakan jalur embriogenesis yang **dimulai dengan pembentukan kalus**, yaitu massa sel tak terorganisir, yang kemudian menjadi sumber terbentuknya embrio somatik maupun secara tidak langsung (Ramírez-Mosqueda MA *et al.* 2025).

Keberhasilan embriogenesis somatik sangat bergantung pada kemampuan eksplan dalam membentuk kalus embriogenik dengan persentase yang tinggi pada medium kultur tertentu (Sari *et al.*, 2014). Kalus embriogenik merupakan jaringan kalus yang memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi embrio somatik. (Fehér, Pasternak, and Dudits .2003).

Pembentukan kalus embriogenik dipengaruhi oleh berbagai faktor, terutama komposisi media kultur dan jenis serta konsentrasi zat pengatur tumbuh yang digunakan (Yelnitits, 2020). Induksi kalus menjadi tahap awal yang krusial dalam kultur jaringan, karena pada fase ini dihasilkan massa sel yang selanjutnya dapat berkembang menjadi tanaman lengkap (Saripah *et al.* 2023).

Kalus embriogenik dicirikan oleh aktivitas pembelahan sel yang tinggi serta kemampuan diferensiasi yang kuat menuju pembentukan embrio somatik. Berdasarkan karakteristik morfologinya, kalus embriogenik terdiri dari kalus embriogenik kompak dan remah (Sasmita *et al.* 2022). Berbagai penelitian mengenai induksi embriogenesis somatik pada berbagai tanaman telah banyak dilaporkan, seperti pada tanaman krisan (Sinaulan, J.S., Lengkong, E.F., & Tulung, S., 2019); pada tanaman ubi kayu (Rahman, N. *et al.*, 2024) dan pada tanaman gandum (Setiawan *et al.*, 2024). Penelitian ini dilaksanakan dengan tujuan untuk mendapatkan teknik induksi embriosomatik kentang melalui penggunaan beberapa konsentrasi dan jenis ZPT.

METODOLOGI PENELITIAN

Laboratorium Kultur Jaringan Fakultas Pertanian Unsrat sebagai tempat kegiatan penelitian. Penelitian dilaksanakan pada bulan April-Juli 2024. Bahan tanaman berasal dari eksplan kentang var. Superjhon.

Induksi kalus embriogenik nodular dilakukan dengan menggunakan eksplan berasal dari ruas batang (internodus) berukuran 0,5 – 1 cm, ditumbuhkan pada media dasar MS yang mengandung sukrosa, casein hidrolisat 0,05 mg/l dan kombinasi zat pengatur tumbuh (ZPT) NAA konsentrasi 1, 3, 5 mg/l dan Kinetin masing-masing 0,1; 0,3; dan 0,5 mg/l; dan 2-4 D 0.5 mg dikombinasikan dengan BAP 1, 1,5 dan 2 mg/l. Media diatur pada pH 5,8

dan diautoclave pada tekanan 17,5 psi, suhu 121°C selama 30 menit Tabel 1.

Tabel 1. Kombinasi Perlakuan ZPT Induksi Kalus Embriogenik

NAA (N) + Kinetin (K)	
N1K1 : 1 mg NAA + 0,1 mg Kinetin	N3K1 : 5 mg NAA + 0,1 mg Kinetin
N1K2 : 1 mg NAA + 0,3 mg Kinetin	N3K2 : 5 mg NAA + 0,3 mg Kinetin
N1K3 : 1 mg NAA + 0,5 mg Kinetin	N3K3 : 5 mg NAA + 0,5 mg Kinetin
N2K1 : 3 mg NAA + 0,1 mg Kinetin	B1D1 : 1 mg BAP + 0,5 mg 2-4D
N2K2 : 3 mg NAA + 0,3 mg Kinetin	B2D1 : 1,5 mg BAP + 0,5 2-4-D
N2K3 : 3 mg NAA + 0,5 mg Kinetin	B3D1 : 2 mg BAP + 0,5 2-4-D

Setiap perlakuan di buat 5 kali ulangan dan ditubuhkan pada botol kultur berukuran volume 50 ml dan diisi media sebanyak 15 ml perbotol dengan 3 eksplan perbotol. Kultur diinkubasi dalam ruangan dengan intensitas penyinaran 1000 lux yang bersumber dari lampu TL 40 watt 2 buah/m², lama penyinaran 16 jam/hari, dan suhu ruang 21/18°C. Pengamatan perkembangan kalus dilakukan selama 1 bulan dan disubkultur setiap 2 minggu. Perlakuan induksi kalus embrionik yang menghasilkan kalus embrionik terbaik yaitu bertekstur granular dan kompak warna hijau kekuningan kehijauan.

Induksi embriosomatik secara langsung dilakukan dengan menggunakan eksplan internodus yang ditumbuhkan pada media dasar MS + 1 mg/l Zeatin + 0,02 mg/l IAA + 0,2 mg/l GA₃ (ZIG₁); + 3 mg/l Zeatin + 0,02 mg/l IAA + 0,2 mg/l GA₃ (ZIG₂); dan + 5 mg/l Zeatin + 0,02 mg/l IAA + 0,2 mg/l GA₃ (ZIG₃). Sedangkan untuk induksi embriosomatik secara tidak langsung dilakukan dengan menggunakan eksplan kalus embrionik hasil kegiatan tahap pertama yang ditumbuhkan pada media dasar MS + 5 mg/l BAP (BAP₁); 7 mg/l BAP (BAP₂); 9 mg/l BAP (BAP₃). Larutan media di atur pada pH 5,8 dan diautoclave pada tekanan 17,5 psi, suhu 121°C dalam waktu 30 menit. Khusus untuk Zeatin penambahan pada media dalam *Laminar Air Flow* setelah media yang

diautoclave agak dingin menggunakan filter syring 0,22 µm. Setiap perlakuan di buat ulangan 10 kali dan ditumbuhkan pada botol kultur berukuran volume 50 ml dan diisi media sebanyak 15 ml perbotol dengan 5 eksplan perbotol. Kultur diinkubasi dalam ruangan dengan intensitas penyinaran 1000 lux yang bersumber dari lampu TL 40 watt 2 buah/m², lama penyinaran 16 jam/hari, dan suhu ruang 21/18°C. Pengamatan dilakukan selama 12 minggu, dan subkultur dilakukan setiap 2 minggu sampai terbentuk embrio somatik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Induksi Kalus Embrionik

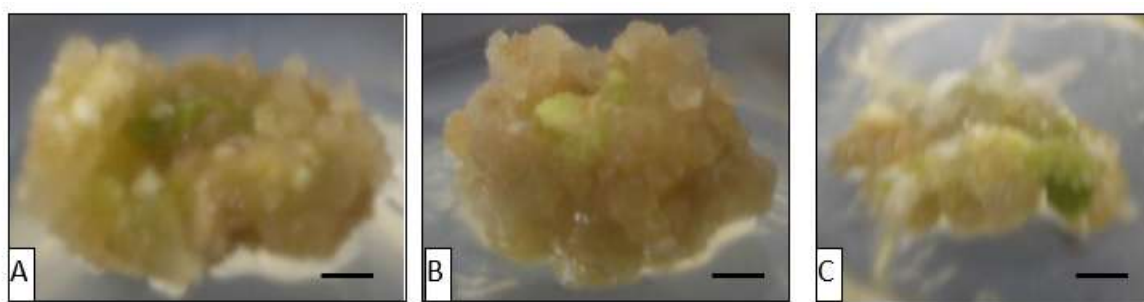
Hasil induksi kalus dengan berbagai kombinasi zat pengatur tumbuh menunjukkan bahwa seluruh kombinasi ZPT NAA + Kinetin hanya menghasilkan kelompok kalus yang remah/friabel dan tidak kompak dengan warna putih bening hijau kekuningan dan pada minggu ke 4 sebagian besar telah keluar akar. Sedangkan pada media BAP dan 2-4 D, menghasilkan respon yang hampir sama pada masing-masing tingkat kombinasi ZPT, namun perlakuan BD3 (1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l 2-4D) memberikan penampilan bentuk kalus embrionik terbaik dibandingkan dengan perlakuan kombinasi lainnya. Ningrum *et al.* (2024) melaporkan pada kultur jaringan tanaman pisang cavendish penggunaan konsentrasi

NAA yang tinggi menyebabkan panjang akar berkurang tapi meningkatkan jumlah akar; dan makin tinggi kinetin meningkatkan Panjang akar dan jumlah akar. Keluarnya akar pada induksi kalus embrionik menunjukkan adanya perbandingan antara konsentrasi zpt auxin dan sitokinin yang tidak berimbang karena

Rasio Tinggi Auksin:Sitokinin cenderung mendorong pembentukan **kalus** dan menginduksi **akar** Tho, Tuan, Hoa, and Khang (2026). Auksin (seperti 2,4-D dan NAA) adalah penginduksi kalus utama (Biswas *et al.* 2025).

Tabel 2. Pengamatan Perkembangan Induksi kalus Embrionik pada Media Dasar MS + NAA + Kinetin 4 MST

Perlakuan	Warna kalus	Bentuk Kalus
N1K1	Kuning kejijauan	Remah, berakar
N1K2	Kuning kejijauan	Remah, berakar
N1K3	Kuning kejijauan	Granular, remah, berakar
N2K1	Kuning kejijauan	Remah, berakar
N2K2	Kuning kejijauan	Remah, berakar
N2K3	Kuning kejijauan	Remah, berakar
N3K1	Kuning kejijauan	Remah, berakar
N3K2	Kuning kejijauan	Granular, remah, berakar
N3K3	Kuning kejijauan	Granular, remah, berakar



Gambar 1. Kalus 1 bulan: A perlakuan N2K3, B. Perlakuan N3K1, C. perlakuan N1K1.

Tabel 3. Pengamatan Induksi Kalus Embrionik pada Media Dasar MS + BAP + 2-4D 3 MST

Perlakuan	Warna kalus	Bentuk Kalus
BD1	Hijau kekuningan	Kompak, granular, 44 % berakar
BD2	Hijau kekuningan	Kompak granular, 31 % berakar
BD3	Hijau kekuningan	Kompak granular, 17 % berakar

Induksi kalus dengan menggunakan rasio **rendah auksin : sitokinin** atau **dominan sitokinin** sebagaimana pada media di atas umumnya mendorong **pembentukan tunas** (Şekerli and Bayramin , 2026). Hal ini jelas terlihat pada Gambar 2. Kalus embrionik yang terbentuk terlihat granular, kompak

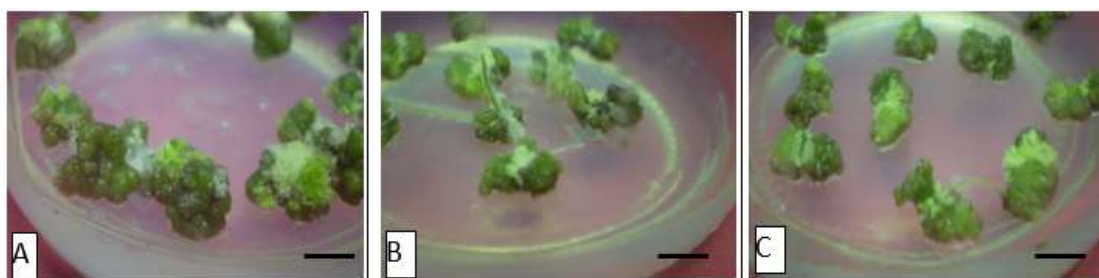
dan hijau gelap dan menunjukkan siap beregenerasi membentuk tunas.

Induksi Embriogenesis Somatik (ES) Langsung

Induksi embriogenesis somatik menunjukkan respon yang berbeda pada masing-masing media terhadap kecepatan embriogenesis somatik dan regenerasi tunas.

Pada induksi embriogenesis somatik secara langsung, Tabel 5.4. menunjukkan bahwa media ZIG1 memberikan respon terbaik pada pembentukan ES, dimana pada umur kultur 2 minggu ES mulai terbentuk dan pada minggu ke 4 hampir 55% eksplan telah

menghasilkan ES yang diawali oleh munculnya embriod-embriod pada kalus nodular yang terdapat pada permukaan eksplan dan beregenerasi menghasilkan tunas dengan ukuran 0,5 sampai 2 cm



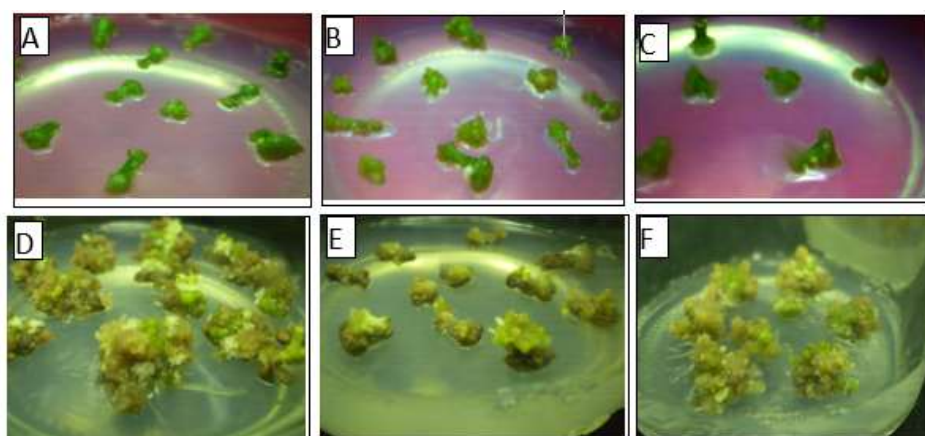
Gambar 2. Kalus embrionik 1 bulan pada perlakuan media BD3.

Tabel 4. Pengamatan Pembentukan Embriosomatik pada media MS dasar + ZIG

Perlakuan	Bentuk kalus	Persentase Terbentuknya Embriosomatik		
		Minggu II	Minggu III	Minggu IV
ZIG1	Granular, kompak	4,5	4,5	54,5
ZIG2	Granular, kompak	-	4,7	36,4
ZIG3	Granular, kompak	-	-	44,4

Zeatin merupakan zpt golongan sitokinin dengan beberapa kelebihan dibanding dengan golongan zpt sitokinin lainnya. Zeatin eksternal cenderung hamper sama dengan Zeatin alami(endogenous) yang dihasilkan tanaman sehingga akan lebih memacu kalus embrionik Pintos, [Martín](#), Centeno, Villalobos, Guerra, and Martín, 2002). Zeatin juga mampu "mengalihkan" program seluler dari jalur organogenesis (membentuk tunas)

menuju jalur embryogenesis (membentuk embrio), sesuatu yang tidak dilakukan BA atau TDZ pada eksplan yang sama sehingga penggunaan Zeatin menjadi lebih efektif (Xiong, et al., 2022), sehingga penggunaan zeatin sebesar 1 ppm yang dikombinasikan dengan IAA 0.02 ppm dan Giberalin 0.2 ppm efektif menghasilkan embryogenesis langsung dan regenerasi tunas pada eksplan kentang dari segmen internodus.



Gambar 3. Embriogenesis somatik serta regenerasi tunas kultivar Superjhon pada media ZIG: A. ZIG1 3 mst; B. ZIG2 3 mst ; dan C. ZIG3 3 mst; D. ZIG1 8 mst; E. ZIG2 8 mst dan F. ZIG3 8 mst

Induksi Embriogenesis Somatik (ES) Tidak Langsung

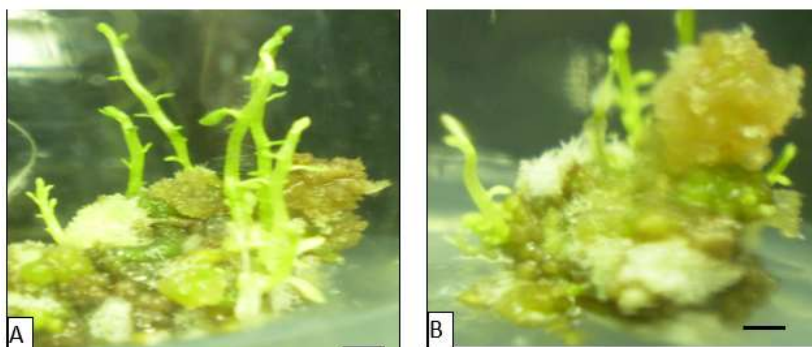
Tabel 5. Pengamatan Pembentukan Embriosomatik pada media MS dasar + BAP

Perlakuan	Bentuk dan warna kalus	Persentase Terbentuknya Embriosomatik	
		Minggu ke 8	Minggu 10
BAP1	Granular, kompak, putih kehijauan-	33,3	75
BAP2	Granular, kompak, putih kehijauan	33,3	83
BAP3	Granular, kompak, putih kehijauan- kecoklatan	25	41,2

Strategi dan Rekomendasi

Embriogenesis somatik yang diinduksi oleh media BAP memberikan respon terbaik pada media BAP2 dengan prosentase ES sebesar 83% yang dicapai pada 10 minggu sesudah inokulasi. Induksi embriogenesis somatik dengan media BAP menunjukkan terjadinya proses

pembentukan tunas berlangsung secara bertahap, yaitu dimulai dengan terbentuknya fase globular, fase torpedo, fase hati dan kotiledon. Hasil ini sejalan yang dilaporkan oleh Murthy, Hahn, and Paek (2008) pada induksi embryogenesis somatic regenerasi tanaman *Coriandrum sativum* L.



Gambar 5.10. Embriosomatik umur kultur 10 minggu: A. media BAP2 dan B. Media BAP3.

Embriogenesis yang dihasilkan secara tidak langsung dapat melalui fase kalus, dan kemudian dipindahkan ke media dengan ZPT berbeda, sel-sel embriogeniknya berpotensi mengalami mengalami kondisi habituasi, sehingga kemampuan sel berdeferensiasi membentuk tunas juga bisa ditingkatkan atau berkurang. Sharma et al. (2008) menyatakan ekplan internodus yang sebelumnya diinduksi embrio somatiknya pada media 2-4 D dan menghasilkan kalus embrionik bila dipindahkan ke media yang bebas auxin membantu transisi dan deferensiasi sel embrionik berubah ke tahap globular, hati dan torpedo, yang selanjutnya akan masuk tahap kotiledon dan menghasilkan tunas. Namun bila paparan terlalu lama, studi molecular menunjukan

bahwa fase induksi akan menekan perkembangan embrio. tau mempengaruhi perkembangan embrio untuk menghasilkan regenerasi tunas.

KESIMPULAN

1. Kombinasi sitokinin BAP dan auksin 2,4-D lebih efektif dibandingkan kombinasi NAA dan kinetin dalam menghasilkan kalus embriogenik yang kompak dan granular. Kombinasi 1,5 mg/l BAP + 0,5 mg/l 2,4-D merupakan perlakuan terbaik pada tahap induksi kalus embriogenik, ditandai dengan morfologi kalus yang kompak, granular, berwarna hijau kekuningan, dan memiliki potensi regenerasi tinggi.

2. Embriogenesis somatik secara langsung pada eksplan internodus kentang menunjukkan respons yang lebih cepat dibandingkan embriogenesis tidak langsung, dengan pembentukan embrio somatik mulai teramati pada minggu ke-2 kultur. Media MS yang mengandung 1 mg/l zeatin + 0,02 mg/l IAA + 0,2 mg/l GA₃ merupakan kombinasi terbaik untuk induksi embriogenesis somatik langsung dengan persentase pembentukan embrio somatik tertinggi (54,5%) pada minggu ke-4.
3. Embriogenesis somatik tidak langsung melalui kalus embriogenik menghasilkan persentase embrio somatik tertinggi (83%) pada media MS + 7 mg/l BAP, namun memerlukan waktu lebih lama dibandingkan jalur langsung.
4. Secara keseluruhan, embriogenesis somatik langsung lebih efisien dan praktis untuk memperbanyak kentang secara *in vitro* karena prosesnya lebih cepat, sederhana, dan menghasilkan regenerasi tunas yang lebih beragam dibandingkan embriogenesis somatik tidak langsung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada LPPM Unsrat 2024 melalui SP DIPA - 023.17.2.677519/2024.

DARTAR PUSTAKA

- Arroyo-Herrera, A. L., Kú-González, A., Escobedo-Gracia-Medrano, R., Echeverría-Echeverría, S. T., Herrera-Alamillo, M. Á., Figueroa-Yañez, L., Rodriguez-Zapata, L. C. (2024). OVEREXPRESSION OF WUSCHEL IMPROVES THE INDUCTION OF EMBRYOGENIC CALLUS IN SCALPS OF MUSA ACUMINATA L. AAA, CV. "GRAND NAIN" †. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 27(1). <https://doi.org/10.56369/tsaes.4751>
- Abd El-Zaher, M. H., Abd El-Wahab, S. M., Saleh, S. S., & Al-Maghrabi, N. N. M. (2024). Synthetic Seeds Production by Encapsulated Somatic Embryo of White Olive Cultivar. *Journal of Global Innovations in Agricultural Sciences*, 12(4), 1109–1114. <https://doi.org/10.22194/JGIAS/24.1428>
- Avci, S. (2019). Development of an efficient regeneration system via somatic embryogenesis obtained from mature embryos in some grain and silage sorghum cultivars. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(1), 1349–1357. https://doi.org/10.15666/aeer/1701_13491357
- Biswas, P., A. Kumari, A. Modi, A. Priyam, R. Haque, M. S. Ola, S. Kumar, dan N. Kumar. 2025. Callus culture-derived regeneration and molecular characterization of regenerated *Stevia rebaudiana*: implications for steviol glycoside production and genetic stability. *Frontiers in Plant Science*, 16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1566037>
- Bogdanović, M. D., dan K. B. Čuković. 2025. Secondary somatic embryogenesis in plants: From cellular mechanisms to biotechnological potential. *Plants*, 14(22), 3413. <https://doi.org/10.3390/plants14223413>
- Brand, A., Quimbaya, M., Tohme, J., & Chavarriaga-Aguirre, P. (2019). Arabidopsis LEC1 and LEC2 orthologous genes are key regulators of somatic embryogenesis in cassava. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00673>
- Cheng, F., Sun, T., & Ye, J. (2023). Induction of embryogenic callus from immature zygotic embryos of Pinus

- elliottii resistant to brown spot needle blight (pathogen: *Lecanosticta acicola*). *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 47(6), 175–182. <https://doi.org/10.12302/j.issn.1000-2006.202203002>
- Chakraborty, T., Chaitanya, K. V., & Akhtar, N. (2023). Somatic embryogenesis and plantlet regeneration in red sandalwood (*Pterocarpus santalinus*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 153(3), 547–558. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02491-w>
- Chen, P., Yang, L. L., Zhang, S. Z., Zhang, S. Z., & Yang, J. F. (2019). Embryonic callus induction and plantlet regeneration of *Camellia granthamiana*. *Zhiwu Shengli Xuebao/Plant Physiology Journal*, 55(6), 767–773. <https://doi.org/10.13592/j.cnki.ppj.2019.0174>
- dos Santos, D. D., Faita, M. R., de Oliveira, L. O., Beise, D. C., Pescador, R., Guerra, M. P., & Stefenon, V. M. (2024). Auxinic pulse induces direct somatic embryogenesis in *Plinia peruviana* (Poir.) Govaerts (Myrtaceae). *South African Journal of Botany*, 174, 542–550. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.09.040>
- Dong, X., Gao, J., Jiang, M., Tao, Y., Chen, X., Yang, X., He, F. (2024). The Identification and Characterization of WOX Family Genes in *Coffea arabica* Reveals Their Potential Roles in Somatic Embryogenesis and the Cold-Stress Response. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(23). <https://doi.org/10.3390/ijms252313031>
- Fehér, A., Pasternak, T.P. & Dudits, D. 2003. Transition of somatic plant cells to an embryogenic state. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 74, 201–228 (2003). <https://doi.org/10.1023/A:1024033216561>
- Fan, Y., Tang, Z., Wei, J., Yu, X., Guo, H., Li, T., ... Zeng, F. (2022). Dynamic Transcriptome Analysis Reveals Complex Regulatory Pathway Underlying Induction and Dose Effect by Different Exogenous Auxin IAA and 2,4-D During in vitro Embryogenic Redifferentiation in Cotton. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.931105>
- Fan, Y., Yu, X., Guo, H., Wei, J., Guo, H., Zhang, L., & Zeng, F. (2020). Dynamic transcriptome analysis reveals uncharacterized complex regulatory pathway underlying dose IBA-induced embryogenic redifferentiation in cotton. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2). <https://doi.org/10.3390/ijms21020426>
- Gan, Z. yan, Shu, M. lin, Yang, F., Wang, G. fang, Zhang, W. e., & Pan, X. jun. (2023). Somatic embryo induction and plantlet regeneration of *Canna × generalis* from immature zygotic embryo. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 155(3), 681–692. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02588-2>
- Gao, F., Shi, Y., Wang, R., Tretyakova, I. N., Nosov, A. M., Shen, H., & Yang, L. (2023). Optimization of Key Technologies for Induction of Embryogenic Callus and Maturation of Somatic Embryos in Korean Pine (*Pinus koraiensis*). *Forests*, 14(4). <https://doi.org/10.3390/f14040850>
- Ge, F., Hu, H., Huang, X., Zhang, Y., Wang, Y., Li, Z., ... Shen, Y. (2017). Metabolomic and Proteomic Analysis of Maize Embryonic Callus induced from immature embryo /631/208/199

- /631/208/199 /631/449/1659 /631/449/1659 /13/106 /13/100 /13/95 /13/107 /38/79 /82/80 /82/58 /96/95 article. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01280-8>
- Hazubska-Przybył, T., Obarska, A., Konecka, A., Kijowska-Oberc, J., Wawrzyniak, M. K., Piotrowska-Niczyporuk, A., ... Ratajczak, E. (2024). Modulating ascorbic acid levels to optimize somatic embryogenesis in *Picea abies* (L.) H. Karst. Insights into oxidative stress and endogenous phytohormones regulation. *Frontiers in Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1372764>
- Jayasree, T., M. Ramesh, U. Pavan, A. V. Rao, K. J. M. Reddy, dan A. Sadanandam. 2001. Somatic embryogenesis from leaf cultures of potato. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 64(1), 13–17.
- Kadokura, S., Sugimoto, K., Tarr, P., Suzuki, T., & Matsunaga, S. (2018). Characterization of somatic embryogenesis initiated from the *Arabidopsis* shoot apex. *Developmental Biology*, 442(1), 13–27. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.04.023>
- Lee, H. S., Han, J. E., Bae, E. K., Jie, E. Y., Kim, S. W., Kwon, H. J., Park, S. Y. (2024). Response surface methodology mediated optimization of phytosulfokine and plant growth regulators for enhanced protoplast division, callus induction, and somatic embryogenesis in *Angelica Gigas* Nakai. *BMC Plant Biology*, 24(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05243-w>
- Liu, R., Xue, Y., Ci, H., Gao, J., Wang, S., & Zhang, X. (2022). Establishment of highly efficient plant regeneration of *Paeonia ostii* ‘Fengdan’ through optimization of callus, adventitious shoot, and rooting induction. *Horticultural Plant Journal*, 8(6), 777–786. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2022.03.007>
- Lekshmi, S., & Swapna, T. S. (2022). In vitro plant regeneration through somatic embryogenesis in *Anaphyllum wightii* Schott. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 58(6), 1099–1106. <https://doi.org/10.1007/s11627-022-10308-2>
- Ma, J., Wu, Q., Chen, Y., Wang, R., Yuan, B., Hu, Y., & Cao, F. (2022). The relationship between physiological metabolism changes and embryogenic competence of endosperm in *Ginkgo biloba* at different developmental stages. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 46(4), 68–76. <https://doi.org/10.12302/j.issn.1000-2006.202112010>
- Murthy, H. N., E. J. Hahn, dan K. Y. Paek. 2008. Recurrent somatic embryogenesis and plant regeneration in *Coriandrum sativum* L. *Scientia Horticulturae*, 118, 168–171.
- Nakamura, M., Batista, R. A., Köhler, C., & Hennig, L. (2021). Polycomb Repressive Complex 2-mediated histone modification H3K27me3 is associated with embryogenic potential in Norway spruce. *Journal of Experimental Botany*, 71(20), 6366–6378. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERAA365>
- Ningrum, W. C., R. Jumadi, dan W. N. Lailiyah. 2024. Pengaruh pemberian NAA dan kinetin terhadap pertumbuhan eksplan pisang Cavendish (*Musa paradisiaca* L.) melalui teknik kultur jaringan secara

- in vitro*. *Jurnal Tropicrops*, 7(1), 11–23.
- Pan, H., Liao, R., Zhang, Y., Arif, M., Zhang, Y., Zhang, S., Song, C. (2024). Establishment of callus induction and plantlet regeneration systems of *Peucedanum Praeruptorum* dunn based on the tissue culture method. *Plant Methods*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s13007-024-01300-5>
- Pintos, B., J. P. Martín, M. L. Centeno, N. Villalobos, H. Guerra, dan L. Martín. 2002. Endogenous cytokinin levels in embryogenic and non-embryogenic calli of *Medicago arborea* L. *Plant Science*, 163(5), 955–960.
- Pischke, M. S., E. L. Huttlin, A. D. Hegeman, dan M. R. Sussman. 2006. A transcriptome-based characterization of habituation in plant tissue culture. *Plant Physiology*, 140, 1255–1278.
- Rahman, N., A. A. A. Azizi, N. S. Hartati, dan N. Saribanon. 2025. Induksi dan regenerasi embrio somatik empat jenis ubi kayu menggunakan beberapa konsentrasi pikloram. *Vegetalika*, 14(1), 46–59. <https://doi.org/10.22146/veg.103053>
- Ramírez-Mosqueda, M. A., J. D. Cadena-Zamudio, C. A. Cruz-Cruz, J. L. Aguirre-Noyola, R. Barbón, R. Gómez-Kosky, dan C. Angulo. 2025. Somatic embryogenesis: A biotechnological route in the production of recombinant proteins. *BioTech (Basel)*, 14(4), 93. <https://doi.org/10.3390/biotech14040093>
- Rukh, G., Ahmad, N., Rab, A., Ahmad, N., Fazal, H., Akbar, F., Samad, N. (2019). Photo-dependent somatic embryogenesis from non-embryogenic calli and its polyphenolics content in high-valued medicinal plant of *Ajuga bracteosa*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 190, 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.11.012>
- Roshanfekrard, M., Zarghami, R., Hassani, H., Zakizadeh, H., & Salari, A. (2017). Effect of AgNO₃ and BAP on root as a novel explant in date palm (*Phoenix dactylifera* cv. Medjool) somatic embryogenesis. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 20(1), 20–27. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2017.20.27>
- Sajana, S., Thomas, P., Nandeesh, P., Kurian, R. M., & Bindud, H. (2022). Somatic embryogenesis mediated micropropagation of polyembryonic cultivars of mango Vellaikolumban and Olour using nucellus tissue. *Israel Journal of Plant Sciences*, 7(3), 1–10. <https://doi.org/10.1163/22238980-bja10053>
- Şekerli, M., dan D. Bayramin. 2026. Cytokinin-mediated shoot induction and liquid culture-enhanced rooting in Turkish hazelnuts (*Corylus avellana* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 164, 31. <https://doi.org/10.1007/s11240-026-03345-x>
- Sharma, S. K., S. Millam, P. E. Hedley, J. McNicol, dan G. J. Bryan. 2008. Molecular regulation of somatic embryogenesis in potato: An auxin-led perspective. *Plant Molecular Biology*, 68(1–2), 185–201. <https://doi.org/10.1007/s11103-008-9360-2>
- Sinaulan, J. S., E. F. Lengkong, dan S. Tulung. 2019. Respon pembentukan kalus embrionik tanaman krisan Kulo (*Chrysanthemum morifolium*) terhadap pemberian zat pengatur tumbuh sitokinin. *COCOS*, 1(1). <https://doi.org/10.35791/cocos.v1i1.2203>
- Tongtape, K., Te-Chato, S., & Yenchon, S. (2023). Somatic Embryo (SE)

- Formation from Culturing Floral Explants of Rubber Tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) and Assessment of Genetic Stability by RAPD and SSR Markers. *Trends in Sciences*, 20(9).
<https://doi.org/10.48048/tis.2023.6728>
- Tang, L. P., Zhang, X. S., & Su, Y. H. (2020, July 1). Regulation of cell reprogramming by auxin during somatic embryogenesis. *ABIOTECH*. Springer.
<https://doi.org/10.1007/s42994-020-00029-8>
- Tingting, C., Jianren, Y., Xiaoqin, W., Liyuan, S., & Lihua, Z. (2019). Somatic embryogenesis and plantlet regeneration of disease-resistant *Pinus massoniana* Lamb. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 43(3), 1–8.
<https://doi.org/10.3969/j.issn.1000-2006.201806005>
- Tho, L. T. L., L. D. M. Tuan, D. T. T. Hoa, dan L. T. P. Khang. 2026. Optimization of auxin and cytokinin concentrations for callus formation, total volatile extractables, total phenolic, and flavonoid contents in *Orthosiphon aristatus* leaves using response surface methodology. *South African Journal of Botany*, 189, 160–173.
- Wang, G., Liu, Y., Zhang, L., Li, Z., Li, H., & Wang, J. (2025). Screening of highly efficient genotypes for in vitro regeneration in Litchi chinensis Sonn. *South African Journal of Botany*, 184, 849–861.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2025.06.052>
- Wang, G., Liu, Y., Gao, Z., Li, H., Wang, S., Li, F., & Wang, J. (2021). Changes in structure and polyamine metabolism of litchi callus during subculture and somatic embryo development. *Journal of Fruit Science*, 38(11), 1911–1920.
<https://doi.org/10.13925/j.cnki.gsxb.20210107>
- Wu, W., Ji, B., Pei, L., Lian, C., Dong, C., & Chen, S. (2024). Somatic Embryo Induction and Histocytological Observation of *Isodon rubescens*. *Bulletin of Botanical Research*, 44(5), 692–701.
<https://doi.org/10.7525/j.issn.1673-5102.2024.05.006>
- Wang, J., Xu, W., Zheng, Q., Li, J., & Yu, Q. (2023). Somatic embryogenesis in immature zygotic embryos of *Vitis vinifera* ‘Cabernet Sauvignon.’ *Zhiwu Shengli Xuebao/Plant Physiology Journal*, 59(1), 67–77.
<https://doi.org/10.13592/j.cnki.ppj.100439>
- Wang, Y., Wang, H., Bao, W., Sui, M., & Bai, Y. (2023). Transcriptome Analysis of Embryogenic and Non-Embryogenic Callus of *Picea Mongolica*. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(7), 5232–5247.
<https://doi.org/10.3390/cimb45070332>
- Wu, L. F., Wei, X. M., & Lu, W. D. (2019). Embryogenic callus induction and establishment of plant regeneration system of *Sophora davidii*. *Zhiwu Shengli Xuebao/Plant Physiology Journal*, 55(2), 218–224.
<https://doi.org/10.13592/j.cnki.ppj.2018.0418>
- Xiong, Y., S. Chen, T. Wu, K. Wu, Y. Li, X. Zhang, J. A. T. da Silva, S. Zeng, dan G. Ma. 2022. Shoot organogenesis and somatic embryogenesis from leaf and petiole explants of endangered *Euryodendron excelsum*. *Scientific Reports*, 12, 20506.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-24744-y>
- Xu, W., Zhang, M., Wang, C., Lou, X., Han, X., Zhang, J., ... Tong, Z. (2020). Somatic

embryo induction and *Agrobacterium*-mediated transformation of embryonic callus tissue in *Phoebe bournei*, an endangered woody species in Lauraceae. *Notulae Botanicae Horti*

Agrobotanici Cluj-Napoca, 48(2), 572–587.

<https://doi.org/10.15835/nbha48211946>