بهینه‌سازی ریزازدیادی سه رقم بگونیا رکس (*Begonia rex*) با استفاده از تنظیم‌کننده-های رشد گیاهی

علی رضاپور[۱]، مریم دهستانی اردکانی[۲و۳*]، کاظم کمالی[۴]، جابر نصیری[۵]، حیدر مفتاحی‌زاده[۲و۳]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اردکان، اردکان، ایران.

[۲] دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اردکان، اردکان، ایران.

[۳] عضو هیات علمی پژوهشکده گیاهان دارویی و صنعتی، اردکان، ایران.

[۴] دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، ایران

[۵] استادیار پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، کرج، ایران.

نویسنده مسئول: mdehestani@ardakan.ac.ir

چکیده

این تحقیق به‌منظور بهینه‌سازی ریزازدیادی درون شیشه‌ای گیاه *Begonia rex* به‌عنوان یک گیاه مهم گلدانی زینتی انجام شد. کالوس‌زایی و باززایی درون شیشه‌ای سه رقم *Begonia rex* (Silver dollar، Jurassic و Silver king) با انتخاب پهنک برگ به‌عنوان ریزنمونه بررسی شد. محیط کشت Murashige و Skoog (MS) حاوی نه ترکیب از چهار تنظیم‌کننده رشدی α-نفتالین استیک اسید (NAA)، ۶-بنزیل‌آدنین (BA)، ایندول-۳-بوتیریک اسید (IBA) و تیدیازورون (TDZ) مورد آزمایش قرار گرفت. پس از چهار هفته کالوس‌زایی و باززایی ریزنمونه‌ها آغاز شد. پس از هشت هفته جهت رشد طولی و پرآوری، گیاهان باززاشده به محیط‌کشت MS حاوی ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر اسید جیبرلیک انتقال داده شدند. کالوس‌زایی، باززایی و ریشه‌زایی در همه تیمارها صورت گرفت. بیشترین باززایی مستقیم (۲۱/۱۱ درصد) در محیط حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر TDZ صورت گرفت. باززایی بیشترین تعداد برگ در محیط حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA همراه با ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA، در رقم Jurassic مشاهده شد. محیط غنی‌شده با ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر NAA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و نیز ۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA همراه با ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA، به‌عنوان بهترین محیط برای افزایش وزن تر و پرآوری رقم Jurassic انتخاب شد. بیشترین مقدار کلروفیل a و b در تیمارهای ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر TDZ و نیز ۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA همراه با ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA در رقم‌های Jurassic و Silver dollar به‌دست آمد. میزان بقای گیاهچه‌های انتقالی تقریبا ۱۰۰ درصد بود. به‌طور کلی می‌توان ترکیب ۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA همراه با ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA را به‌عنوان تیمار موثر و مفید در ریزافزایی سه رقم بگونیا رکس مورد مطالعه معرفی کرد.

واژه‌های کلیدی: اندام‌زایی، بنزیل‌آدنین، کالوس، تیدیازوزن، نفتالین‌استیک اسید

مقدمه

بگونیا گیاهی بومی مناطق مرطوب گرمسیری و نیمه‌گرمسیری در آسیا، آمریکا و آفریقاست و به سبب شاخ و برگ و گل‌های زیبا یکی از جذاب‌ترین گیاهان زینتی می‌باشد که در سراسر جهان به عنوان گیاه باغی، گلدانی، آویز و گلخانه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (Hvoslef-Eide and Munster, 2006). بگونیا رکس (*Begonia rex*) یکی از گیاهان زینتی جنس بگونیا

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

است که به سبب شکل جذاب برگ‌ها، الگوهای موجود روی برگ و همچنین طیف وسیع رنگ برگ‌ها مورد توجه قرار گرفته است (Thompson, 1981). به‌طور کلی تکثیر بگونیا از طریق بذر یا به‌صورت رویشی از طریق ریزوم، غده، قلمه برگ و دمبرگ صورت می‌گیرد و در مجموع تکثیر رویشی بر تکثیر زایشی ارجحیت دارد (Efendi *et al*., 2019). تکثیر رویشی برخلاف سهولت کاربرد با مشکلاتی از قبیل حساسیت بگونیا نسبت به پاتوژن‌های مختلف مانند *Pythium*، *Rhizoctonia*، *Xanthomonas begoniae*، *Botrytis*، *Erysiphe* و *Phyllosticta* که سبب عدم موفقیت تکثیر در بعضی موارد می‌گردد، همراه است (Digat and Vidalie, 1975)؛ همچنین تولید گیاهان همگن ژنتیکی در سطح وسیع از طریق تکثیر عادی بسیار دشوار (Velasco Martíne, 2018) و علاوه بر آن سرعت تکثیر رویشی (به خصوص در مورد قلمه برگ) طی ازدیاد کم است (Peck and Cumming, 1984).

بنابراین باتوجه به مشکلات رایج در تکثیر بگونیا، به‌کارگیری فنون با کارایی غلبه بر بسیاری از مشکلات مرتبط با کشت متعارف اهمیت می‌یابد. کشت‌بافت گیاهی شاخه‌ای از فناوری زیستی در جهت تکثیر انبوه به‌ویژه در محصولات باغبانی و گیاهان زینتی می‌باشد (Jain, 2002). در این روش همگنی ژنتیکی بالاتری به‌سبب جنین‌زایی سوماتیکی طی باززایی گیاه در مقایسه با روش‌های سنتی تکثیر به‌دست می‌آید (Kothari *et al*., 2010). باتوجه به عدم دستیابی به گیاه شبیه به اصل با کمک بذر از بگونیای هیبرید، روش تکثیر رویشی جهت ازدیاد این گیاهان استفاده می‌شود. تاکنون از تکنیک کشت بافت برای ریزازدیادی بسیاری از گونه‌های بگونیا استفاده شده است (Espino *et al*., 2004). عوامل موثر بر اندام‌زایی و تکثیر آزمایشگاهی در شرایط کشت بافت شامل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، گونه گیاه، نوع ریزنمونه و شرایط محیطی (دما و نور) می‌باشند که به نظر می‌رسد در بین این عوامل، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بیشترین تأثیر را بر تکثیر در محیط آزمایشگاهی دارند (Jain, 2002). نیاز گونه‌ها به نوع و غلظت مناسب تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی متفاوت است و به‌طور کلی، تنظیم‌کننده‌های رشد مورد استفاده اغلب آثار پیچیده‌ای بر کالوس‌زایی، باززایی یا رشد و تمایز ریزنمونه کشت شده دارند و تقسیم سلولی را تحریک و تمایزسلولی و اندام‌زایی را کنترل می‌کنند (Kumari *et al*., 2017). در پژوهشی Rowe و Gallone (۲۰۱۶) اثرات NAA و BA در سه نوع ریزنمونه از *Begonia rex* 'Fedor' شامل پهنک، دمبرگ و رگبرگ میانی را مورد آزمایش قرار دادند. نتایج نشان داد که بالاترین باززایی در ریزنمونه‌های پهنک کشت شده در محیط‌کشت حاوی ۰/۵۵ میکرومولار NAA و ۰/۹۸ میکرومولار BA صورت گرفته است. همچنین بیشترین میانگین طول ریشه در ریزنمونه‌های کشت شده در ۰/۲۸ میکرومولار NAA و ۰/۴۹ میکرومولار BA و بیشترین مقدار وزن تر در ریزنمونه‌های رگبرگ میانی که در ۰/۷ میکرومولار NAA و ۰/۶ میکرومولار BA کشت شده بودند، مشاهده شد. Hirutan و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که موثرترین تیمار در باززایی گیاه *Begonia semperflorens-cultorum* از برگ تیمار ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بوده است. Velasco Martínez و همکاران (۲۰۱۸) امکان تولید گیاهچه از گلبرگ چهار رقم *Begonia elatior* با کمک افزودن سطوح ترکیبی از NAA و BA به محیط کشت را بررسی کردند و نتیجه گرفتند که مناسب‌ترین تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بود. Kumari و همکاران (۲۰۱۷) به بررسی یک

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

سیستم باززایی در شرایط درون‌شیشه در *Begonia homonyma* پرداختند و اثر تیمارهای BA و NAA و GA_3 بر باززایی این گیاه را مورد بررسی قرار دادند. بیشترین تعداد شاخساره و باززایی از ریزنمونه‌های کشت شده در محیط کشت MS حاوی ۵ میکرومولار GA3 و ۰/۵ میکرومولار BA به‌دست آمد و ریشه‌زایی نمونه‌ها در محیط‌کشت MS حاوی ۲ میکرومولار IBA و ۰/۵ میکرومولار NAA به بهترین شکل صورت گرفت. در مطالعه‌ای ترکیب ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA همراه با ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA برای حداکثر القا و رشد درون شیشه‌ای بگونیا رکس مناسب شناخته شد (Kaviani et al., 2015). بر اساس گزارشی ترکیب BA و NAA در محیط‌کشت MS منجر به بیشترین باززایی از برگ بگونیا رکس رقم Fedor شد (Rowe and Gallone, 2016). در پژوهشی که توسط Hosseinabadi و همکاران (۲۰۲۲) صورت گرفت، بیشترین اندام‌زایی مستقیم در هر ریزنمونه برگی بگونیا رکس در محیط‌کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA همراه با ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA به‌دست آمد.

اگرچه روش‌های کشت درون شیشه‌ای برای گونه‌های مختلف بگونیا مشابه است، اما نیاز آنها به تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در محیط کشت متفاوت است. بنابراین، توسعه یک سیستم باززایی گیاهی بسیار کارآمد برای هر ژنوتیپ مهم است (Hosseinabadi et al., 2022). در پژوهش حاضر، بهینه‌سازی ریزازدیادی سه رقم بگونیا رکس با استفاده از غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه انتخاب نوع و ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر اساس بهترین نتایج حاصل از مطالعات پیشین صورت گرفت تا در نهایت دستیابی به یک ترکیب بهینه جهت تجاری‌سازی دستورالعمل کشت بافت این گیاه و مطالعات اصلاحی آینده، صورت گیرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق طی سال‌های ۱۴۰۲-۱۴۰۱ در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشگاه اردکان انجام شد. مواد گیاهی شامل سه رقم بگونیا (Silver dollar, Jurasic و Silver king) از بازار گل یزد (گلخانه آسا) تهیه شد. پس از انتقال ماده‌ی گیاهی به آزمایشگاه با هدف بررسی نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی در شرایط کاملا استریل، برگ‌ها به قطعات ۱×۱ سانتی‌متر برش داده شدند. نمونه‌های گرفته شده ابتدا زیر آب جاری به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار شسته شده و در ادامه با استفاده از آب مقطر استریل شست‌وشو داده شدند، سپس به محلول حاوی ۰/۰۵ درصد اسید سیتریک + ۰/۱ درصد کلرید جیوه استریل منتقل و به مدت سه دقیقه ضدعفونی گردیدند و در نهایت به محلول اسید سیتریک ۰/۰۵ درصد منتقل و به مدت سه دقیقه در آن قرار داده شد.

در این پژوهش از محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) حاوی ۷/۵ گرم در لیتر آگار و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز استفاده شد. نه ترکیب مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در سه تکرار مطابق جدول ۱ جهت کالوس‌زایی و باززایی مستقیم ریزنمونه‌ها استفاده شد. محیط فاقد تنظیم‌کننده رشدی به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پس از تنظیم pH محیط‌کشت روی ۵/۷ به‌مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شد. برای کشت ریزنمونه‌ها از شیشه‌های مربایی به ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر و قطر شش سانتی‌متر استفاده شد و درون هر شیشه سه عدد ریزنمونه قرار گرفت. پس از کشت، شیشه‌ها در اتاقک رشد با دوره نوری ۸: ۱۶ ساعت تاریکی/روشنایی، دمای ۲ ± ۲۳ درجه سلسیوس در دوره روشنایی و ۲±۲۰ درجه سلسیوس در دوره تاریکی و شدت نور ۵۰-۴۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه نگهداری شدند.

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

پس از چهار هفته ریزنمونه‌ها شروع به تشکیل کالوس یا باززایی کردند. در این پژوهش ابتدا ریزنمونه‌ها در محیط بدون تنظیم‌کننده رشد گیاهی استقرار یافتند. از آنجا که در این محیط هیچ‌گونه کالوس‌زایی یا باززایی صورت نگرفت، داده برداری هم انجام نشد و نتایج این محیط نیز ذکر نشده است.

نمونه‌ها پس از باززایی با طول تقریبا ۳ سانتی‌متر به محیط کشت MS حاوی ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر اسید جیبرلیک جهت رشد بهتر شاخساره‌ها انتقال داده شدند. نمونه‌ها هر چهار هفته یک‌بار واکشت شدند. پس از ۱۲ هفته صفاتی نظیر تعداد برگ، ارتفاع گیاهچه‌ها، وزن تر گیاهچه، سطح برگ، درصد پرآوری، تعداد و طول ریشه، میزان کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئید گیاهچه‌ها اندازه‌گیری شد. وزن نمونه‌ها با ترازو با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- تیمارهای مختلف جهت کالوس‌زایی و باززایی سه رقم بگونیا رکس

ردیف	تیمار	مخفف
۱	فاقد تنظیم‌کننده رشد	T1
۲	0.5 mg/l BA+0.2 mg/l TDZ	T2
۳	1 mg/l NAA+0.5 mg/l TDZ	T3
۴	0.2 mg/l NAA+0.2 mg/l BA	T4
۵	1 mg/l NAA+0.5 mg/l BA	T5
۶	1 mg/l NAA+1 mg/l BA	T6
۷	1 mg/l IBA+0.5 mg/l BA	T7
۸	1 mg/l IBA+1 mg/l BA	T8
۹	1.5 mg/l IBA+1.5 mg/l BA	T9

جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید، یک گرم نمونه تازه برگ گیاه خرد و ساییده شد و با استفاده از ۱۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد، مخلوط هموژن ازآن تهیه و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۸۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس فازهای رویی برای اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید جدا شد. فاز رویی جدا شده را در کووت ریخته و مقادیر جذب کلروفیل a و b، به‌ترتیب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۸۰ نانومتر قرائت شد. از استن ۸۰ درصد به‌عنوان بلانک استفاده شد. با استفاده از رابطه ۱ مقادیر کلروفیل و کارتنوئید محاسبه شد (Arnon, 1949).

Chl. a (*mg/g FW*) = [12.7 (A663) – 2.69 (A645)] × V/W
Chl. b (*mg/g FW*) = [22.9 (A645) – 4.68 (A663)]×V/W

که در این رابطه A جذب نوری نمونه‌ها، V: حجم نهایی استن مصرفی و W: وزن تر بافت می‌باشد.

بررسی انتقال و سازگاری گیاهچه‌های به‌دست آمده

گیاهچه‌های به‌دست آمده از طریق کالوس‌زایی یا باززایی مستقیم پس از انتقال به محیط کشت MS حاوی ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر GA علاوه‌بر باززایی و اندام‌زایی، شروع به ریشه‌زایی نیز کردند و بنابراین نیازی به تهیه محیط‌کشت اختصاصی جهت ریشه‌زایی نبود. البته این نکته قابل ذکر است که ریشه‌زایی در این محیط ناشی از تاثیر کاربرد هورمون‌های ریشه‌زایی مانند

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

IBA و NAA در محیط قبلی بود. پس از شش هفته ریشه تشکیل و کاملا داخل شیشه‌ها را پر کرد. گیاهچه‌ها جهت سازگاری به‌گلدان‌های حاوی ۵۰ درصد کوکوپیت و ۵۰ درصد پرلایت که پس از آماده‌سازی اولیه بستر کشت، با آب مقطر کمی مرطوب شده بود و همزمان با قارچ‌کش بنومیل (۱/۵ گرم در لیتر) خیسانده شده بود، منتقل شدند. بستر کشت درون گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه هفت سانتی‌متر ریخته و برای انتقال گیاهچه‌ها به درون آنها آماده شدند. جهت سازگاری بهتر روی هر گلدان یک لیوان پلاستیکی شفاف قرارداده شد و پس از سازگاری کامل از روی گیاه برداشته شد.

طرح آزمایشی و آنالیز داده‌ها

آزمایشات به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با در سه تکرار انجام گرفت. فاکتورها شامل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در ۹ ترکیب مختلف و رقم در ۳ سطح بود. در این آزمایش در هر شیشه سه ریزنمونه کشت شد و هر شیشه به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. تمامی داده‌ها از نظر نرمال بودن تست‌شده و تجزیه و تحلیل آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن ۲۳ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (۲) تیمارهای مختلف در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری بر میزان کالوس‌زایی نشان دادند. اثر تیمارها بر باززایی مستقیم ریزنمونه‌ها در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود. در این آزمایش رقم بر کالوس‌زایی و باززایی مستقیم نمونه‌ها تاثیر معنی‌دار نشان نداد (جدول ۲). اثر متقابل تیمار و رقم بر کالوس‌زایی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین باززایی مستقیم در تیمار T2 با ۲۱/۱۱ درصد حاصل شد و پس از آن تیمارهای T6، T7 و T9 منجر به باززایی مستقیم ریزنمونه‌ها شدند و سایر تیمارهای مورد استفاده اثر معنی‌داری بر باززایی مستقیم نشان ندادند (شکل ۱A). همه تیمارهای به‌کار رفته در این پژوهش منجر به کالوس‌زایی ریزنمونه‌ها در سه رقم بگونیای مورد بررسی شدند و از نظر درصد کالوس‌زایی تیمارهای T3، T4، T6، T7، T8 و T9 بیشترین میزان (۱۰۰ درصد) را نشان دادند و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند (شکل ۱B، شکل ۷ و شکل ۸C). در شاهد هیچ‌گونه کالوس‌زایی صورت نگرفت و ریزنمونه‌ها از بین رفتند. کمترین میزان کالوس‌زایی (۳۳/۰۰ درصد) ریزنمونه‌ها در تیمار T5 و رقم Silver king مشاهده شد (شکل ۱B). در این پژوهش اثر تیمار، رقم و اثر متقابل آنها بر باززایی کالوس‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در تمامی کالوس‌ها باززایی صورت گرفت. در شاهد که کالوس‌زایی صورت نگرفته بود، طبیعتا میزان باززایی نیز صفر بود. تیمار T6 در دو رقم بگونیا Jurassic و Silver king به‌ترتیب با ۵۵ و ۳۳ درصد کمترین میزان باززایی کالوس‌ها را نشان داد (شکل ۲C شکل ۷ و شکل ۸C).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر تیمار و رقم بر کالوس‌زایی و باززایی مستقیم و غیرمستقیم ریزنمونه‌های سه رقم بگونیا رکس

	میانگین	مربعات

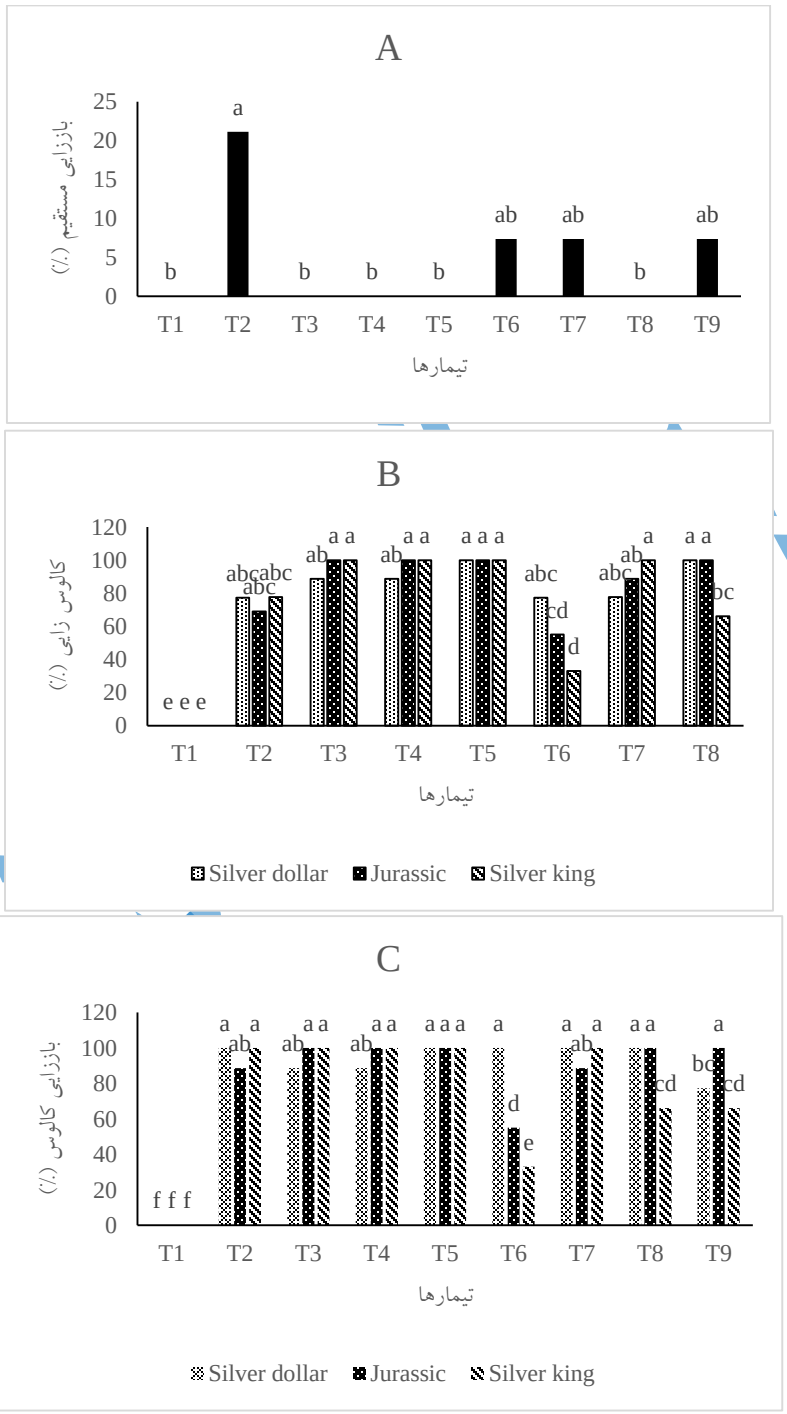
این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

منابع تغییرات	df	کالوس‌زایی	باززایی مستقیم	باززایی کالوس‌ها
تیمارها	۸	۸۹۱۴/۸۰**	۴۵۰/۵۶*	۹۲۵۷/۲۲**
رقم	۲	۵۴۸/۳۸ ns	۳۰۲/۶۷ ns	۷۲۶/۲۵ **
تیمار×رقم	۱۶	۲۵۳۹/۷۵ **	۱۲۳/۱۴ ns	۲۶۹۳/۵۴**
خطا	–	۳۲۰/۶۶	۱۵۵/۵۹	۲۱۸/۰۳
cv%	–	۱۹/۸۷	۲۴/۳۶	۱۰/۸۹

** و * به‌ترتیب دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ns: عدم معنی‌داری

پیش انتشار

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر A) تیمارها بر باززایی مستقیم و اثر متقابل تیمار و رقم بر B) کالوس‌زایی ریزنمونه‌ها و C) باززایی کالوس‌ها در سه رقم بگونیا رکس. ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشند.

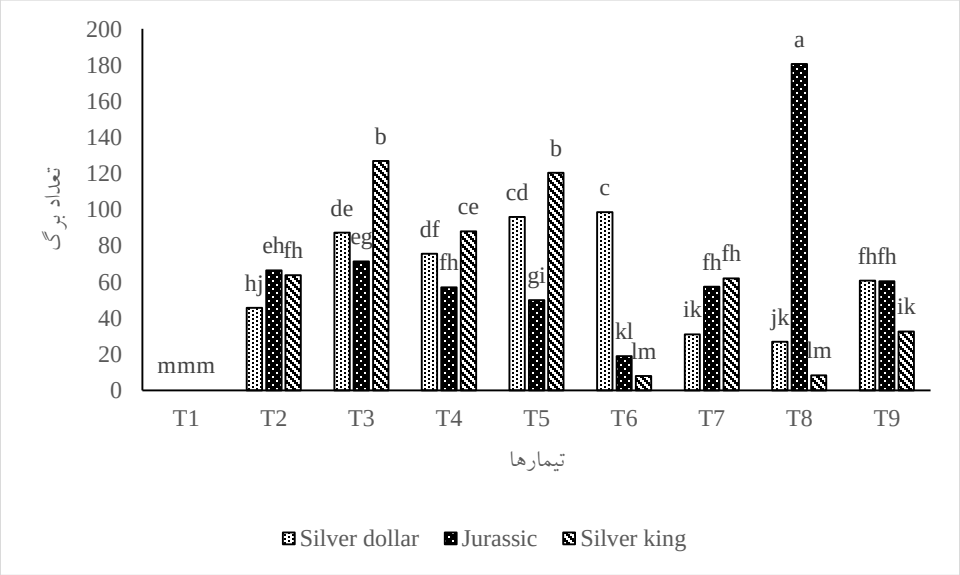
این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمار و رقم بر برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهچه‌های حاصل در سه رقم بگونیا رکس

منابع تغییرات	df	میانگین مربعات					
		تعداد برگ	درصد پرآوری	وزن تر	طول ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b
تیمارها	۸	۷۳۰۴/۷۵ **	۷۰۷۲/۸۴ **	۲۴۵/۷۴**	۵۸/۰۶ **	۶/۵۹**	۰۲/۰۲**
رقم	۲	۲۴۷/۱۱ns	۱۴۶۲۶/۲۳**	۳۲۲/۰۶ **	۵۰/۴۶**	۰/۳۶ns	۰/۰۰۳ ns
تیمار×رقم	۱۶	۴۵۲۵/۴۸**	۳۴۳۵/۱۷**	۱۳۷/۵۴**	۲۳/۵۲**	۰/۵۲**	۰/۱۷**
خطا	–	۱۳۳۳/۲۳	۴۱۸/۰۴	۲۹/۰۵	۲/۹۵	۰/۱۳	۰/۰۵
cv%	–	۱۸/۷۹	۱۵/۷۸	۱۶/۴۹	۱۱/۶۹	۱۰/۱۲	۱۸/۲۳

** و * به‌ترتیب دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ns: عدم معنی‌داری

اثر تیمار و اثر متقابل تیمار و رقم در سطح احتمال یک درصد بر تعداد برگ معنی‌دار بود، در حالی‌که رقم بر این صفت اثر معنی‌داری نشان نداد (جدول ۳). با بررسی شکل ۳ مشخص شد که بیشترین تعداد برگ (۱۸۰/۶۶ عدد در ظرف) در تیمار T8 و رقم Jurassic حاصل شده است. همچنین تیمارهای T6 و T8 در رقم Silver king منجر به تشکیل کمترین میزان برگ (به‌ترتیب ۸ و ۸/۳۳ عدد برگ در ظرف) پس از شاهد شد.

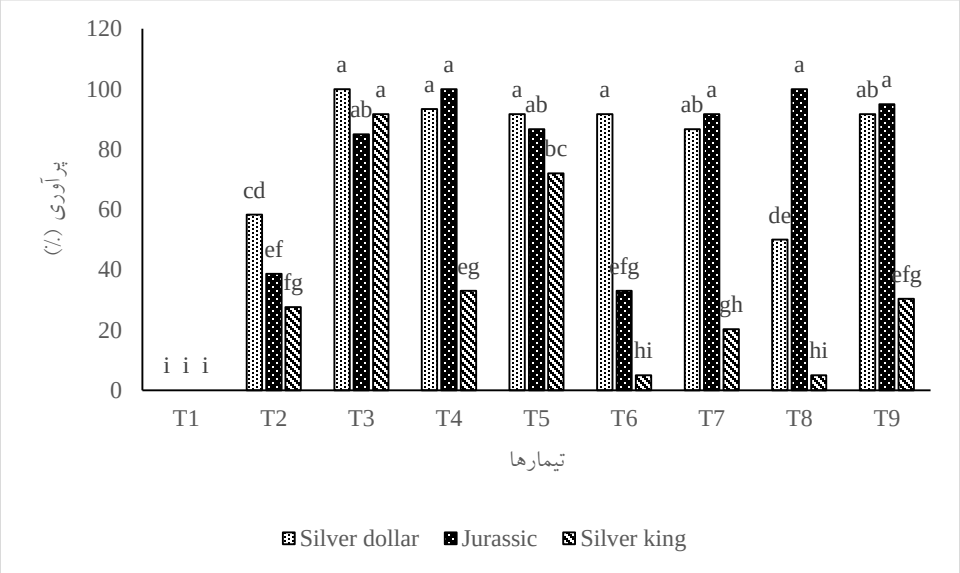


شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و رقم بر تولید تعداد برگ در سه رقم بگونیا رکس

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشند.

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار، رقم و اثر متقابل آنها بر میزان پرآوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). بر اساس نتایج شکل ۳ رقم Silver dollar در تیمار T3 و T4 و بگونیا Jurassic در تیمارهای T4، T8 و T9 بیشترین میزان پرآوری را یعنی ۱۰۰ درصد نشان دادند. رقم Silver king در هیچ‌کدام از تیمارها موفق به ۱۰۰٪ پرآوری نشد (شکل ۳) تقریبا هر سه رقم در همه تیمارهای مورد مطالعه بخش زیادی از ظرف کشت بافت را طی چهار هفته مورد مطالعه پر کردند، اما تیمارهای T6 و T8 در رقم Silver king با ۵ درصد، کمترین میزان پرآوری را پس از شاهد را نشان دادند (شکل ۳).

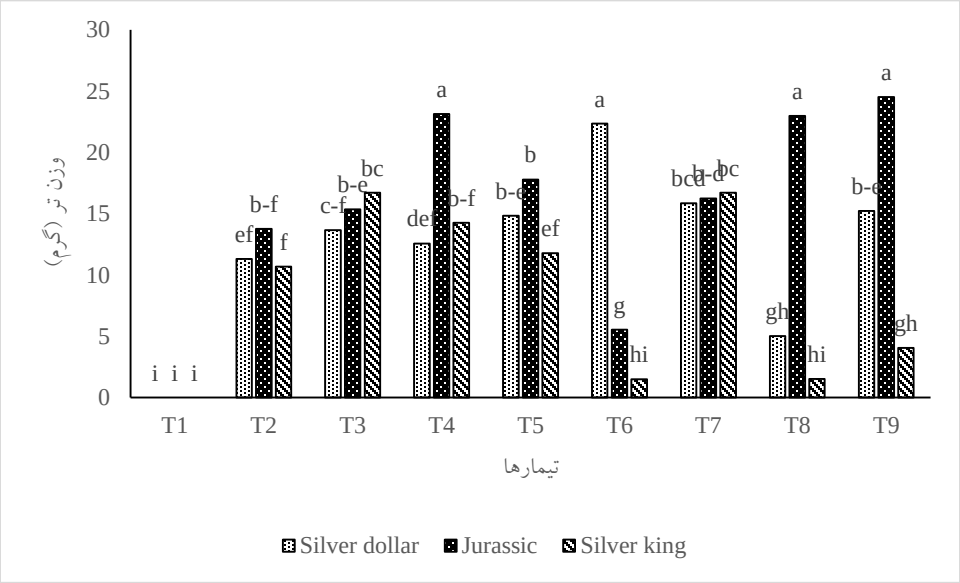


شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و رقم بر میزان پرآوری در سه رقم بگونیا رکس

ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشند.

در این مطالعه اثر تیمار، رقم و اثر متقابل آنها بر وزن تر گیاهچه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). (جدول ۳). رقم Silver dollar در تیمار T6 (۲۲/۳۳ گرم) و Jurassic در تیمارهای T4، T8 و T9 (به‌ترتیب ۲۳/۱۴، ۲۲/۹۸ و ۲۴/۵۰ گرم) بیشترین وزن تر را نشان دادند. همچنین تیمار T6 در رقم‌های Jurassic و Silver king (به‌ترتیب ۵/۵۵ و ۱/۴۹ گرم)، T8 در رقم‌های Silver dollar و Silver king (به‌ترتیب ۵/۰۱ و ۱/۵۲ گرم) و T9 در رقم Silver king (۴/۰۶ گرم) منجر به کمترین میزان وزن گیاهچه‌ها پس از شاهد شدند (شکل ۴).

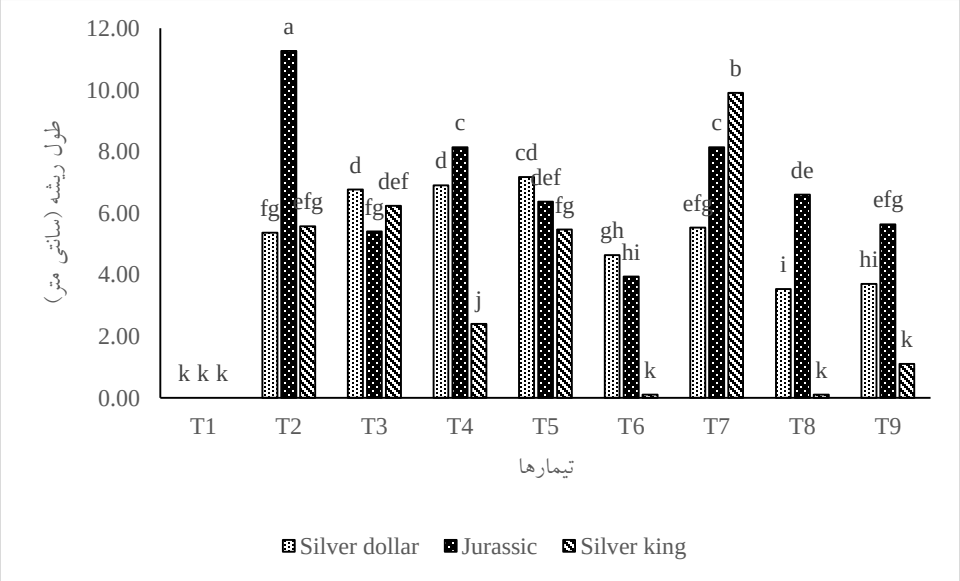
این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و رقم بر وزن تر گیاهچه‌ها در سه رقم بگونیا رکس

ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشند.

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس (۳) اثر تیمار، رقم و اثر متقابل آنها در سطح احتمال یک درصد بر طول ریشه معنی‌دار بود. در تیمار T2 و رقم Jurassic بیشترین طول ریشه برابر با ۱۱/۲۶ سانتی‌متر حاصل شد. رقم Silver king در تیمارهای T6، T8 و T9 کمترین طول ریشه را پس از شاهد تولید کرد (شکل ۵).

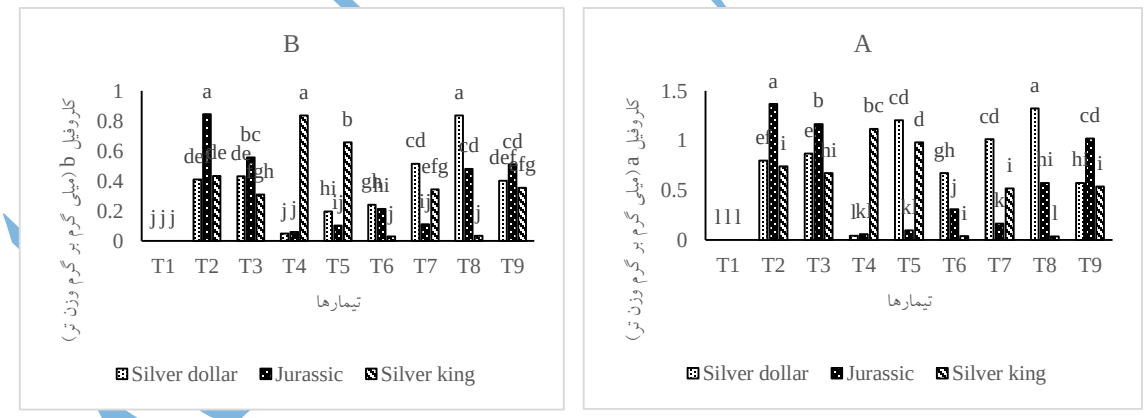


این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و رقم بر طول ریشه در سه رقم بگونیا رکس

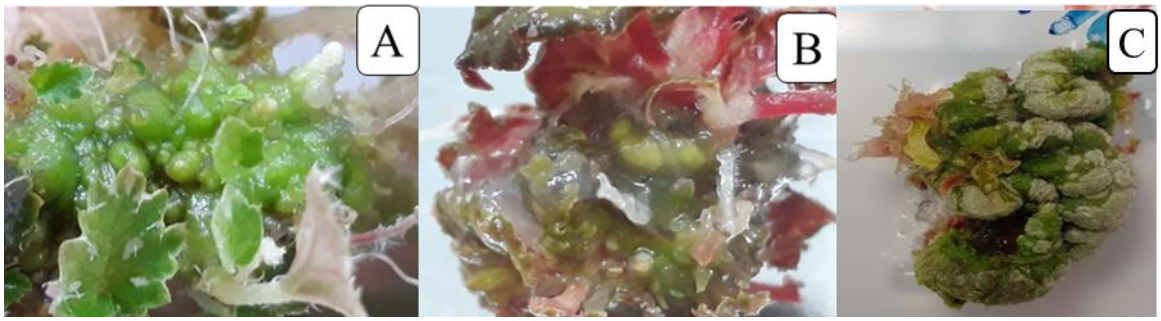
ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشند.

نتایج جدول تجزیه واریانس ۳ نشان داد که اثر تیمار و اثر متقابل تیمار و رقم در سطح احتمال یک درصد بر میزان کلروفیل a و b معنی‌دار بود. ارقام اثر معنی‌داری بر میزان کلروفیل a و b نشان ندادند (جدول ۳). بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار T2 و در رقم Jurassic و نیز تیمار T8 و رقم Silver dollar به‌ترتیب با میزان ۱/۳۶ و ۱/۳۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر حاصل شد (شکل ۶A). در حالی‌که تیمار T4 در دو رقم Silver dollar و Jurassic (۰/۰۴ و ۰/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و نیز T6 در رقم Silver king (۰/۰۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) منجر به کمترین میزان کلروفیل a پس از شاهد شدند (شکل ۶A). بیشترین مقدار کلروفیل b در تیمار T2 و در رقم Jurassic تیمار T4 در رقم Silver king و نیز تیمار T8 در رقم Silver dollar به‌ترتیب با میزان ۰/۸۴، ۰/۸۳ و ۰/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر حاصل شد (شکل ۶B). همچنین تیمار T4 در دو رقم Silver dollar و Jurassic (۰/۰۵ و ۰/۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و نیز T6 و T8 در رقم Silver king (۰/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) منجر به کمترین میزان کلروفیل a پس از شاهد شدند (شکل ۶B).



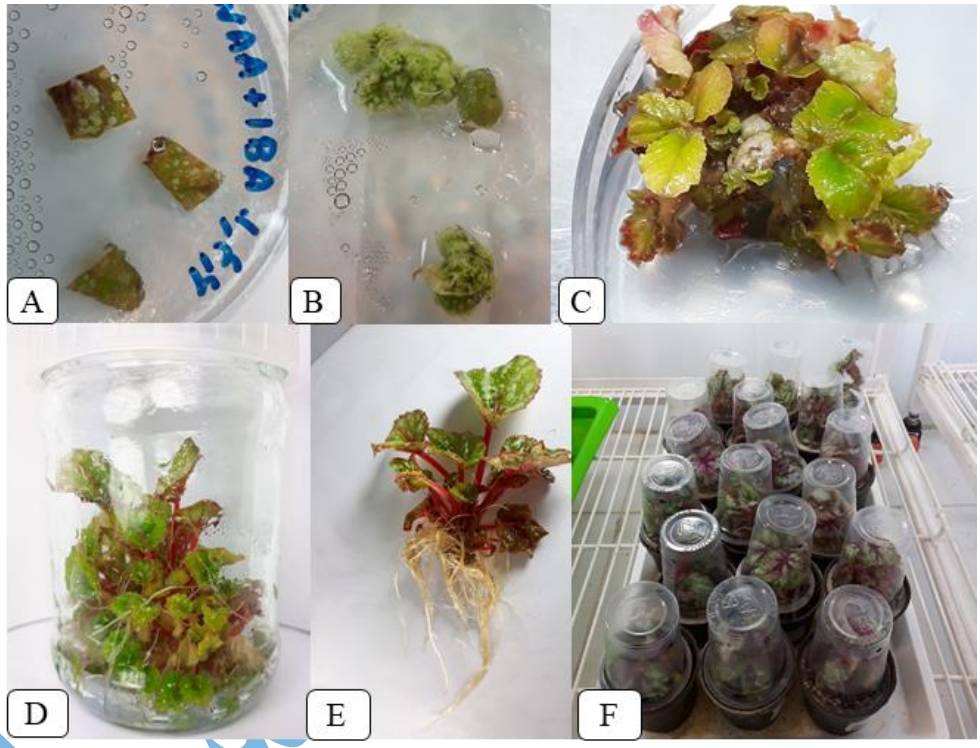
شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و رقم بر A) کلروفیل a و B) کلروفیل b در سه رقم بگونیا رکس

ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد می‌باشند.



این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

شکل ۷- کالوس‌زایی و بلافاصله باززایی بگونیا رکس A) رقم Silver dollar در محیط کشت MS حاوی 1 mg/l NAA+0.5 B mg/l TDZ) رقم Jurassic در محیط کشت MS حاوی 1 mg/l NAA+1 mg/l BA و C: رقم Silver king در محیط کشت حاوی 1 mg/l IBA+0.5 mg/l BA شش هفته پس از کشت ریزنمونه‌های برگی



شکل ۸- مراحل کشت بافت بگونیا رکس رقم Jurassic، A: کشت ریزنمونه برگی در محیط کشت MS حاوی 1 mg/l NAA+1 B mg/l BA: شروع کالوس‌زایی پس از چهار هفته، C: باززایی کالوس‌ها در هفته ششم D: پرآوری در هفته هشتم E: ریشه-زایی در هفته نهم و F: انتقال به بستر کشت حاوی ۵۰٪ کوکوپیت و ۵۰٪ پرلیت در هفته دهم و مرحله سازگاری گیاهان

بحث

برای کشت بافت بگونیا در مطالعات مختلف بیشتر از سیتوکنین‌هایی نظیر BA، Kin و TDZ در ترکیب با NAA و IAA جهت القای جوانه‌های شاخه استفاده شده است (Nada *et al*., 2011; Kabirnataj *et al*., 2012; Shobi and Viswanathan, 2017). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اثر رقم و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در کالوس‌زایی و باززایی ریزنمونه‌های برگی معنی‌دار بود که این نتیجه با یافته‌های حسینی و همکاران (۱۴۰۰) مطابقت نشان داد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان اثر بخشی تیمارهای مورد مطالعه در القای کالوس متفاوت بوده است. هرچند همه تیمارها در القای کالوس موثر

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

بودند اما نتایج حاکی از این بود که در تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA به همراه ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA ریزنمونه‌ها تمایل به باززایی مستقیم داشتند تا کالوس‌زایی.

در پژوهش حاضر مشخص شد که ترکیب BA و NAA در تولید برگ بسیار مهم است. این نتیجه برای سایر گونه‌های بگونیا نیز گزارش شده است (Mendi *et al.*, 2009, Kumari *et al.*, 2017). غلظت‌های بالاتر سیتوکینین همراه با اکسین‌ها نسبت به سیتوکینین‌هایی که به تنهایی استفاده می‌شوند برای باززایی شاخساره *Begonia tuberous* مؤثرتر بودند (Mendi *et al.*, 2009). در پژوهشی Nada و همکاران (۲۰۱۱) محیط‌کشت حاوی ترکیب NAA و TDZ را مناسب برای القای شاخساره در *B. tuberhybrida* معرفی کردند که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت. در مطالعات دیگری که روی بگونیا رکس صورت گرفت، ترکیب BA و NAA برای القای شاخساره در ریزنمونه‌های برگی مناسب تشخیص داده شد (Kabirnataj *et al.*, 2012; Kaviani *et al.*, 2015) که البته مقادیر مورد مطالعه با این پژوهش متفاوت بود. در تحقیق حاضر پاسخ ارقام به باززایی بسیار متفاوت بود. در پژوهشی Mandi و همکاران (۲۰۰۹) اعلام کردند که ترکیب ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA با ۲ میلی‌گرم در لیتر BA در باززایی بگونیا بسیار موثر بود که با نتایج این مطالعه همخوانی داشت.

طی مراحل ریزازدیادی، ریشه‌زایی شاخساره‌های باززایی شده از اهمیت قابل توجهی برخوردار می‌باشد. در این مرحله اکسین‌ها و کربوهیدرات محیط کشت نقش اساسی ایفا می‌کنند (Fatima and Anis, 2012). براساس نتایج حاصل از این مطالعه مشخص شد که رقم تاثیر معنی‌داری بر میزان طول ریشه در محیط‌های مورد مطالعه دارد. البته این نکته قابل ذکر است که بگونیا گیاهی سهل ریشه‌زا بوده و در تمامی محیط‌های کشت به سرعت اقدام به ریشه‌زایی نمود. منتها تعداد و طول ریشه‌های تشکیل شده در تیمارها و ارقام مختلف، متفاوت بود. در مطالعات مختلف نیز ترکیبات متفاوتی از تنظیم-کننده‌های رشد گیاهی بررسی شده است برای مثال Shobi و Viswanathan (۲۰۱۷) برای ریشه‌زایی *B. fallax* ترکیب تنظیم‌کننده رشدی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA را گزارش کردند. همین‌طور Kumari و همکاران (۲۰۱۷) در *B. homonyma* از ترکیب IBA و NAA بهره بردند.

افزایش وزن تر گیاهچه‌ها، تحت تاثیر تیمارها و ارقام مورد مطالعه در پژوهش حاضر همسو با نتایج عابدینی و گلعین (۱۳۹۱) و نیز سرو و همکاران (۱۴۰۱) به‌ترتیب روی گونه بگونیا رکس و هیمالیس بود. آنها بیان کردند که ۲ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین مقدار وزن تر و خشک شاخساره و ریشه را داشت که با توجه به نسبت سیتوکینین و اکسین استفاده شده همسو با پژوهش حاضر می‌باشد.

ترکیب اکسین با سیتوکین در محیط‌کشت باعث افزایش راندمان باززایی می‌شود (Mendi et al, 2009). میزان پرآوری نمونه‌ها در تیمارهای مختلف متفاوت بود. رقم Silver dollar در تیمار T2 و T3 و بگونیا Jurassic در تیمارهای T3، T7 و T8 بیشترین میزان پرآوری، یعنی ۱۰۰ درصد را نشان دادند. در پژوهشی Kumari و همکاران (۲۰۱۷) ترکیب BA و NAA را در پرآوری بگونیا مثبت ارزیابی کردند.

سیتوکینین‌ها علاوه‌بر تحریک تکثیر سلول‌ها، در بیوسنتز کلروفیل و رشد پلاستیدها نیز نقش دارند (Portillo *et al.*, 2007). محتوای کلروفیل برگ در گیاهچه‌های کشت بافتی به عوامل زیادی ازجمله گونه گیاه، منبع ریزنمونه، شرایط کشت و سن گیاهچه‌ها بستگی دارد (Gago et al. 2014). در گزارشی بیشترین میزان کلروفیل a در بگونیا هیمالیس در محیط

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

کشت حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA حاصل شد که با نتایج این مطالعه همسو بود (سرو و همکاران، ۱۴۰۱). Cioć و همکاران (۲۰۱۹) دریافتند که سطح کلروفیل a و کاروتنوئیدها در اندام هوایی *Gerbera jamesonii* Bolus تولید شده در شرایط آزمایشگاهی با افزایش غلظت BA افزایش یافت. به‌طور مشابه، کاربرد خارجی CK ها باعث کاهش تخریب کلروفیل در گونه‌های مختلف گیاهی رشد یافته در شرایط برون شیشه شد (Dobránszki and Mendler-Drienyovszki, 2014). با این حال، در مطالعه حاضر، برگ‌های رقم Silver dollar در محیط حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و رقم Jurassic در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA به همراه ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر TDZ کلروفیل a و b بالاتری در مقایسه با سایر تیمارها نشان دادند. این ممکن است نشان دهد که کلروپلاست‌های شاخه‌های رشد یافته در سایر محیط ناکارآمد هستند. علاوه‌بر این، کاهش میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها ممکن است نشانه‌ای از پیری زودرس گیاهان باشد (Karatas *et al*., 2010).

نتیجه‌گیری کلی

در پژوهش حاضر، تکثیر درون شیشه‌ای سه رقم بگونیا رکس با دو روش کالوس‌زایی و باززایی مستقیم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشدی و رقمی که ریزنمونه‌ها از آن استخراج می‌شوند، نقش مهمی در باززایی و پرآوری موفق شاخه در *B. rex* دارد. کالوس‌زایی ریزنمونه‌های برگی و باززایی آنها در تمام تیمارهای مورد مطالعه مشاهده شد. بیشترین درصد پرآوری در رقم Silver dollar در تیمار T3 و T4 و رقم Jurassic در تیمارهای T4، T8 و T9 به‌دست آمد. همچنین همه گیاهان حاصل از کشت بافت به محیط خارج از شیشه سازگاری نشان دادند. به‌طور کلی در پژوهش حاضر با توجه به کم هزینه‌تر بودن سیتوکینین BA و همچنین ایجاد پاسخ بهتر به ویژگی‌های مورد مطالعه در باززایی گیاهچه‌های بگونیا رکس و نیز در دسترس بودن این تنظیم کننده رشد گیاهی در اغلب آزمایشگاه‌ها می‌توان آن را در ترکیب با IBA و NAA در ریزافزایی گیاه بگونیا رکس به‌عنوان تیمار موثر و مفید معرفی کرد.

منابع

حسینی، فاطمه، مشتاقی، نسرین، شریفی، احمد، باقری، عبدالرضا، مرعشی، حسن و کیخا آخر، فاطمه (۱۴۰۰). اثر نوع و ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد در ریزازدیادی سه گونه بگونیا. *تولیدات گیاهی* ۴۴(۱): ۳۶-۲۵. DOI:10.22055/ppd.2019.27321.1660

عابدینی، مریم، و گلعین، بهروز (۱۳۹۱). اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر کشت بافت گیاه بگونیا رکس. *به زراعی نهال و بذر* ۲۸ (۱): ۱۱۱-۱۰۷. DOI: 10.22092/sppj.2017.110459

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, *24*, 1-15. doi: 10.1104/pp.24.1.1

Chebet, D. K., Okeno, J. A. & Mathenge, P. (2002). Biotechnological approaches to improve horticultural crop production", In XXVI International Horticultural Congress: Biotechnology in Horticultural Crop Improvement: Achievements, Opportunities and 625: 473–477. doi: 10.17660/ActaHortic.2003.625.56

Cioć, M., Kalisz, A., Żupnik, M. & Pawłowska, B. (2019). Different LED light intensities and 6-benzyladenine concentrations in relation to shoot development, leaf architecture, and photosynthetic pigments of *Gerbera jamesonii* bolus *in vitro*. *Agronomy*, 9, 358. https://doi.org/10.3390/agronomy9070358

Digat, B. & Vidalie, E. (1975). La production du Begonia x elatior (Race Rieger) et ses problemes phytosanitaires. *Pepinieristes Horticulteurs Maratchers*, *162*(1), 13–22.

Dobránszki, J. & Mendler-Drienyovszki, N. (2014). Cytokinin-induced changes in the chlorophyll content and fluorescence of in vitro apple leaves. *Journal of Plant Physiology*, *171*, 1472–1478. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.06.015

Efendi, M., Handayani, A. & Lailaty, I. Q. (2019). Short communication: seed germination of twelve Indonesian begonias for conservation. *Biodiversitas*, *20*(4), 1192– 1197.

Espino,,F. J., ,Linacero, R.,,Rueda, J. & Vazquez, A. M. (2004). Shoot regeneration in four *Begonia genotypes. Biology of plant*, *48*, 101-104. https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000024282.01087.a3

Fatima, N. & Anis, M. (2012). Role of growth regulators on *in vitro* regeneration and histological analysis in Indian ginseng (*Withania somnifera* L.) Dunal. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *18*(1), 59-67. https://doi.org/10.1007/s12298-011-0099-x

Gago, J., Martinez-Nunez, L., Landin, M., Flexas. J. & Gallego, P.P. (2014). Modeling the effects of light and sucrose on in vitro propagated plants: a multiscale system analysis using artificial intelligence technology. *PLoS ONE*, *9*(1), e85989. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085989

Hirutani, S., Shimomae, K., Yaguchi, A., Chin, D. P., Mii, M. & Igawa, T. (2020). Efficient plant regeneration and Agrobacterium-mediated transformation of *Begonia semperflorens-cultorum*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *142*, 435-440. https://doi.org/10.1007/s11240-020-01858-7

Hvoslef-Eide, A. K. & Munster, C. (2006). Begonia. History and Breeding. In: Flower Breeding and Genetics (1st edn). Anderson NO (ed). Springer, Netherlands, pp. 241-275

Hosseinabadi, S., Khaleghi, A., Akramian, M. & Khadivi, A. (2022). A highly efficient plant regeneration of Begonia rex Putz. by direct organogenesis of leaf explants. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *97*(4), 496-502. https://doi.org/10.1080/14620316.2021.2025157

Jain, S. M. (2002) Feeding the world with induced mutations and biotechnology, Paper presented at Proceeding International Nuclear Conference 2002–Global trends and Perspectives. Seminar 1: agriculture and bioscience. Bangi, Malaysia: 1-14.

Kabirnataj. S., Ghasemi, Y., Nematzadeh, G., Asgharzadeh, R., ShahinKaleybar, B. & Yazdani, M. (2012). Effect of explant type and growth regulators on *in vitro* micropropagation of *Begonia rex*. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, *3*(1), 896-901.

Karatas, I., Ozturk, L., Ersahin, Y. & Okatan, Y. (2010). Effects of auxin on photosynthetic pigments and some enzyme activities during dark-induced senescence of tropaeolum leaves. *Pakistan Journal of Botany*, *42*, 1881–1888

Karpova, E. A., Nabieva, A. Y. & Fershalova, T. D. (2021). Leaf pigments and concentrations of phenolic compound in Begonia grandis plantlets obtained from the floral explants. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, *32*(4), 921-930. https://doi.org/10.1007/s12210-021-01034-9

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

Kaviani, B., Hashemabadi, D., Khodabakhsh, H., Onsinejad, R., Ansari, M. H. & Haghighat, N. (2015) Micropropagation of *Begonia rex* Putz. by 6-benzyladenine and α- naphthalene acetic acid. *International Journal of Biosciences, 6*(5), 8-15.

Kothari, S. L., Joshi, A., Kachhwaha, S. & Ochoa-Alejo, N. (2010). Chilli peppers a review on tissue culture and transgenesis. *Biotechnology advances, 28*(1), 35-48. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.08.005

Kumari, A., Baskaran, P. & Van Staden, J. (2017). *In vitro* regeneration of *Begonia homonyma* - A threatened plant. *South African Journal of Botany*, *109*(1), 174-177. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.12.027

Mabberley, D. J. (2017). Mabberley's plant-book: a portable dictionary of plants, their classification and uses (No. Ed. 4). Cambridge university press

Mendi, Y. Y., Curuk, P., Kocaman, E., Unek, C., Eldogan, S., Gencel, G. & Cetiner, S. (2009) Regeneration of begonia plantlets by direct organogenesis. *African Journal of Biotechnology*, *8*(9), 1860-1863.

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

Nada, S., Chennareddy, S., Goldman, S., Rudrabhatla, S., Potlakayala, S. D., Josekutty, P. & Deepkamal, K. (2011) Direct shoot bud differentiation and plantlet regeneration from leaf and petiole explants of *Begonia tuberhybrida. Horticultural Science*, *46*(5), 759-764. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.5.759

Peck, D. E. & Cumming, B.G. (1984) *In vitro* propagation of *Begonia tuber hybrida* from leaf sections", *Horticultural Science, 19*, 395–397.

Portillo, L., Santacruz-Ruvaleaba, R., Gutierez-Mora, A. & Rodriguez-Garay, B. (2007) Somatic embryogenesis in Agave tequilana weber cultivar Azul. *In Vitro Cell & Developmental Biology-Plant, 43*, 569–575. https://doi.org/10.1007/s11627-007-9046-5

Rowe, O. & Gallone, A. (2016). Investigation into the effects of 6-Benzylaminopurine and 1-Naphthaleneacetic Acid concentrations on 3 micropropagated *Begonia rex* 'Fedor'explants. In International Forum–Agriculture, Biology and Life Science (IFABL 2016), Kurume, Fukuoka Japan (pp. 5-7).

Sara, K., Yousef, G., Ghorbanali, N., Roghayeh, A., Behzad, S. K. & Mohammad, Y. (2012). Effect of explant type and growth regulators on *in vitro* micropropagation of Begonia rex. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, *3*, 896-901.

Shobi, T. M. & Viswanathan, M. B. G. (2017). Micropropagation of an Important Medicinal Plant, *Begonia fallax* (Begoniaceae). *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*, *4*(12), 94-99. **doi:** https://doi.org/10.20546/ijcrbp.2017.412.007

Thompson, M. L. (1981) Begonias; the complete reference guide (No. 635.93346 T4).

Tian, D., Xiao, Y., Tong, Y., Fu, N., Liu, Q. & Li, C. (2018). Diversity and conservation of Chinese wild begonias. *Plant Diversity*, *40*(3), 75-90. https://doi.org/10.1016/j.pld.2018.06.002

Velasco Martínez, F., González Rosas, H., Castillo González, A. M. & Gaytán Acuña, E. A. (2018) *In vitro* cultivation of petals of four varieties of *Begonia elatior*. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *9*(6), 1207-1216. *https://doi.org/10.29312/remexca.v9i6.1585*

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.

Optimizing *in vitro* micropropagation of *Begonia rex* using plant growth regulators

Ali Rezapour[1], Maryam Dehestani-Ardakani*[1,2], Kazem Kamali[3], Jaber Nasiri[4], Heidar Meftahizadeh[1]

[1] Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Ardakan University, P.O. Box 184, Ardakan, Iran.

[2] Medicinal and Industrial Plant Research Institute, Ardakan, I.R. Iran.

[3] Department of Soil Science, Faculty of Agriculture & Natural Resources, Yazd University, Yazd

[4] Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, Karaj, Iran.

*Corresponding Author: mdehestani@ardakan.ac.ir

Abstract

This research was conducted to optimize *in vitro* micropropagation of *Begonia rex* as an important ornamental pot plant. *In vitro* callogenesis and regeneration of three cultivars of *B. rex* (Jurassic, Silver dollar and Silver king) were carried out starting from leaf segments as explants. Eight Murashige and Skoog′s media consisted of four plant growth regulators, including α-naphthaleneacetic acid (NAA), 6-benzyladenine (BA), 3-Indole-3-butyric acid (IBA), and Thidiazuron (TDZ). After four weeks, callogenesis and regeneration started. After eight weeks of proliferation, the explants were transferred to MS culture medium supplemented with 0.05 mg/l gibberellic acid. The highest direct regeneration percent occurred in the medium containing 0.5 mg/L BA + 0.2 mg/L TDZ. Callogenesis, regeneration and root formation occurred in all treatments. The highest number of leaves was observed in the culture medium supplemented with 1 mg/L IBA + 1 mg/L BA in the Jurassic cultivar. Medium fortified with 0.2 mg/L NAA + 0.2 mg/L BA and 1 mg/L IBA + 1 mg/L BA was selected as the best medium for increasing the fresh weight and proliferation of cv. Jurassic. The highest amounts of chlorophyll a and b were obtained in 0.5 mg/l BA + 0.2 mg/l TDZ and 1 mg/l of IBA + 1 mg/l of BA treatments in ‘Jurassic’ and ‘Silver dollar’ cultivars. The survival rate of transplanted plant lets was about 100%. Generally, the combination of 1 mg/l IBA with 1 mg/l BA could be introduced as an effective and useful treatment in the micropropagation of studied three cultivars of *Begonia rex*.

Keywords: Benzyladenine, Callus, Naphthaleneacetic acid, Organogenesis, Thidiazuron

این مقاله نهایی نیست و پس از انتشار تغییراتی خواهد داشت.