

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

علی رضاپور^۱، مریم دهستانی اردکانی^{۱*}، کاظم کمالی^۳، جابر نصیری^۴، حیدر مفتاحی‌زاده^۱

^۱ گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

^۲ عضو هیات علمی پژوهشکده گیاهان دارویی و صنعتی، اردکان، ایران

^۳ گروه علوم خاک، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، ایران

^۴ پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۰۸، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۲/۰۷/۱۷)

چکیده

این تحقیق به منظور بهینه‌سازی ریزازدیادی درون شیشه‌ای گیاه *Begonia rex* به‌عنوان یک گیاه مهم گلدانی زینتی انجام شد. کالوس‌زایی و باززایی درون‌شیشه‌ای سه رقم *Begonia rex* (Jurassic، Silver dollar و Silver king) با انتخاب پهنک برگ به‌عنوان ریزنمونه بررسی شد. محیط‌کشت 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 تیدیاژورون (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 تقریباً ۱۰۰ درصد بود. به‌طور کلی می‌توان ترکیب ۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA همراه با ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA را به‌عنوان تیمار مؤثر و مفید در ریزازدیادی سه رقم بگونیا رکس مورد مطالعه معرفی کرد.

کلمات کلیدی: اندام‌زایی، بنزیل‌آدنین، کالوس، تیدیاژورون، نفتالین استیک اسید

مقدمه

در آسیا، آمریکا و آفریقا و به سبب شاخ و برگ و گل‌های

زیبا یکی از جذاب‌ترین گیاهان زینتی می‌باشد که در سراسر

بگونیا گیاهی بومی مناطق مرطوب گرمسیری و نیمه‌گرمسیری

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 تمایز سلولی 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* 'Fedora' شامل پهنک، دم‌برگ و رگ‌برگ میانی را مورد آزمایش قرار دادند. نتایج نشان داد که بالاترین باززایی در ریزنمونه‌های پهنک کشت شده در محیط کشت حاوی ۰/۵۵ میکرومولار NAA و ۰/۹۸ میکرومولار BA صورت گرفته است. همچنین بیشترین میانگین طول ریشه در ریزنمونه‌های کشت‌شده 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. Hirutani و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که مؤثرترین تیمار در باززایی گیاه *Begonia semperflorens-cultorum* از برگ تیمار ۱/۵ میلی-گرم در لیتر TDZ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بوده است. Velasco Martinez 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 سیستم باززایی در شرایط درون‌شیشه در *Begonia homonyma* پرداختند و اثر تیمارهای BA و NAA و GA₃ بر باززایی این گیاه را مورد بررسی قرار دادند. بیشترین تعداد شاخساره و باززایی از ریزنمونه‌های کشت‌شده در محیط کشت MS حاوی ۵ میکرومولار GA₃ و ۰/۵ میکرومولار BA به‌دست آمد و ریشه‌زایی نمونه‌ها در محیط کشت MS حاوی ۲ میکرومولار IBA و ۰/۵ میکرومولار NAA به بهترین شکل صورت گرفت. در مطالعه‌ای ترکیب ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA

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 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 *Rhizoctonia*، *Pythium*، *Xanthomonas begoniae* و *Erysiphe Botrytis* 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 Martine et al., 2018) و علاوه بر آن سرعت تکثیر رویشی (به خصوص در مورد قلمه برگ) طی ازدیاد کم است (Peck and Cumming, 1984).

بنابراین با توجه به مشکلات رایج در تکثیر بگونیا، به‌کارگیری فنون با کارایی غلبه بر بسیاری از مشکلات مرتبط با کشت متعارف اهمیت می‌یابد. کشت بافت گیاهی شاخه‌ای از فناوری زیستی در جهت تکثیر انبوه به‌ویژه در محصولات باغبانی و گیاهان زینتی است (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). با توجه به عدم دستیابی به گیاه شبیه به اصل با کمک بذر از بگونیا 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 مؤثر بر اندام‌زایی و تکثیر آزمایشگاهی در شرایط کشت بافت شامل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، گونه گیاه، نوع ریزنمونه و شرایط محیطی (دما و نور) هستند که به نظر می‌رسد در بین این

استریل منتقل و به مدت سه دقیقه ضدعفونی شدند 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 محیط‌کشت 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 به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شد. برای کشت ریزنمونه‌ها از شیشه‌های مربایی به ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر و قطر ۶ 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 2 ± 23 درجه سلسیوس در دوره روشنایی و 2 ± 20 درجه سلسیوس در دوره تاریکی و شدت نور ۴۰-۵۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه نگهداری شدند. 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، داده‌برداری هم انجام نشد و نتایج این محیط نیز ذکر نشده است.

نمونه‌ها پس از باززایی با طول تقریباً 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 واگشت 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.

جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید، یک گرم نمونه تازه برگ گیاه خرد و ساییده شد و با استفاده از ۱۰

همراه با ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA برای حداکثر القا و رشد درون‌شیشه‌ای 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 برگگی بگونیا رکس در محیط‌کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA همراه با ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA به دست آمد.

اگر چه روش‌های کشت درون‌شیشه‌ای برای گونه‌های مختلف بگونیا مشابه است، اما نیاز آنها به تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در محیط‌کشت 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 براساس بهترین نتایج حاصل از مطالعات پیشین صورت گرفت تا در نهایت دستیابی به یک ترکیب بهینه جهت تجاری‌سازی دستورالعمل کشت‌بافت این گیاه و مطالعات اصلاحی آینده، صورت گیرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق طی سال‌های ۱۴۰۱-۱۴۰۲ در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشگاه اردکان انجام شد. مواد گیاهی شامل سه رقم بگونیا (*Silver king* و *Silver dollar, Jurassic*) از بازار گل یزد (گلخانه آسا) تهیه شد. پس از انتقال ماده گیاهی به آزمایشگاه با هدف بررسی نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی در شرایط کاملاً استریل، برگ‌ها به قطعات ۱×۱ سانتی‌متر برش داده شدند. نمونه‌های گرفته شده ابتدا زیر آب جاری به مدت 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

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

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 قرار داده شد و پس از سازگاری کامل از روی گیاه برداشته شد. آزمایشات به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با در سه تکرار انجام گرفت. فاکتورها شامل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در نه ترکیب مختلف و رقم در سه 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 تست شده 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 تأثیر معنی‌دار نشان نداد (جدول ۲). اثر متقابل تیمار و رقم بر کالوس‌زایی در سطح احتمال ۱٪

میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد، مخلوط هموژن از آن 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، به ترتیب در طول‌موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۸۰ نانومتر خوانده شد. از استن ۸۰ درصد به‌عنوان بلانک استفاده شد. با استفاده از رابطه ۱ مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید محاسبه شد (Arnon, 1949).

$$\text{Chl. a (mg/g FW)} = [12.7 (\text{A663}) - 2.69 (\text{A645})] \times V/W$$

$$\text{Chl. b (mg/g FW)} = [22.9 (\text{A645}) - 4.68 (\text{A663})] \times V/W$$
 که در این رابطه A جذب نوری نمونه‌ها، V: حجم نهایی استن مصرفی و W: وزن تر بافت است.

بررسی انتقال و سازگاری گیاهچه‌های به‌دست آمده:

گیاهچه‌های به‌دست آمده از طریق کالوس‌زایی یا باززایی مستقیم پس از انتقال به محیط‌کشت MS حاوی ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر GA علاوه بر 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 تأثیر کاربرد هورمون‌های ریشه‌زایی مانند IBA و NAA در محیط قبلی بود. پس از شش هفته ریشه تشکیل و کاملاً داخل شیشه‌ها را پر کرد. گیاهچه‌ها جهت سازگاری به گلدان‌های حاوی ۵۰ درصد کوکوپیت و ۵۰ درصد پرلایت که پس از آماده‌سازی اولیه بستر کشت، با آب

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

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

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

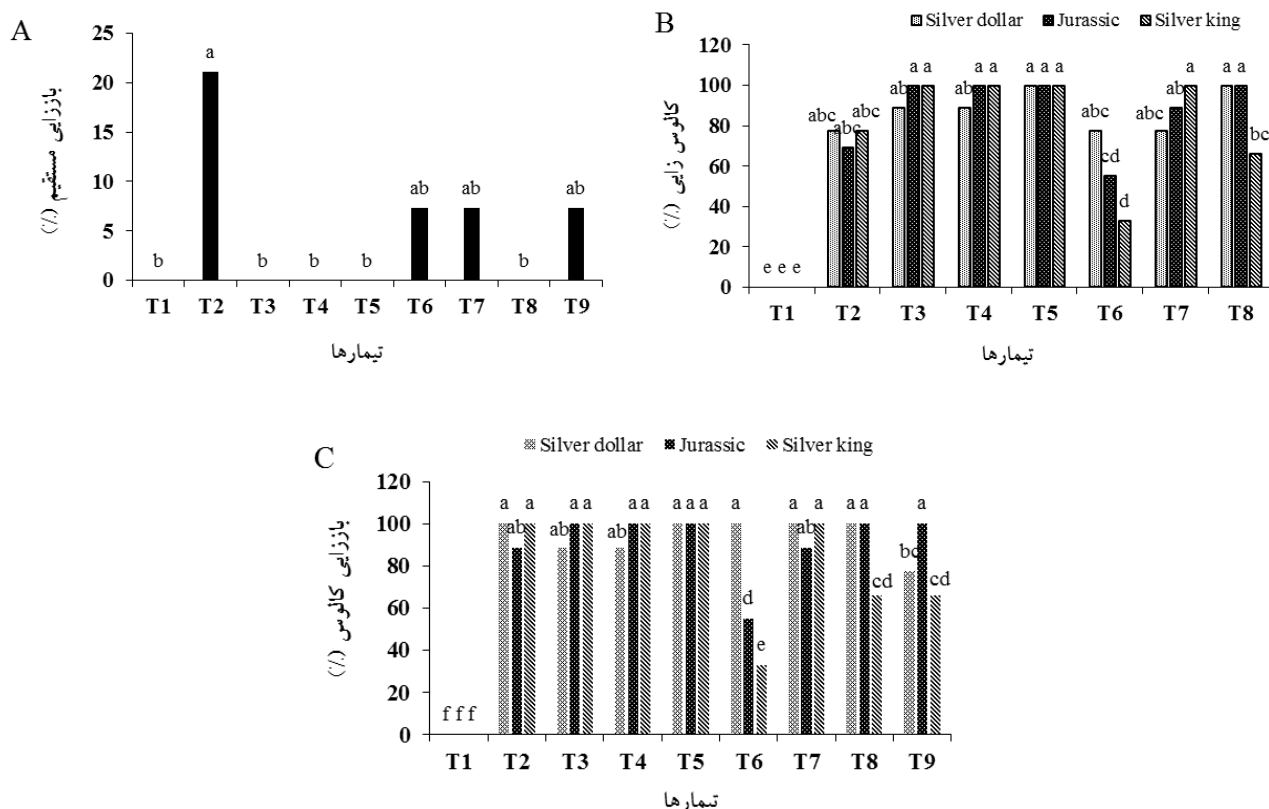
تیمارهای T6 و T8 در رقم Silver king منجر به تشکیل کمترین میزان برگ (به ترتیب ۸ و ۸/۳۳ عدد برگ در ظرف) پس از شاهد شد.

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) تقریباً هر سه رقم در همه تیمارهای مورد مطالعه بخش زیادی از ظرف کشت‌بافت 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).

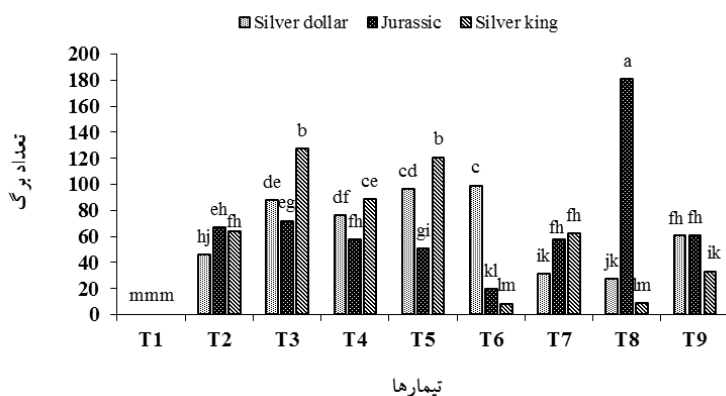
در این مطالعه اثر تیمار، رقم و اثر متقابل آنها بر وزن تر گیاهچه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). (جدول ۳). رقم Silver dollar در تیمار T6 (۲۲/۳۳ گرم) و Jurassic در تیمارهای T4، T8 و T9 (به ترتیب ۲۳/۱۴، ۲۲/۹۸ و ۲۴/۵۰ گرم) بیشترین وزن تر را نشان دادند. همچنین تیمار T6 در رقم‌های Jurassic و Silver king (به ترتیب ۵/۵۵ و ۱/۴۹ گرم)، T8 در رقم‌های Silver dollar و Silver king (به ترتیب 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).

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 بگونیا 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، طبیعتاً میزان باززایی نیز صفر بود. تیمار T6 در دو رقم بگونیا Jurassic و Silver king به ترتیب با ۵۵ و ۳۳ درصد کمترین میزان باززایی کالوس‌ها را نشان داد (شکل ۲، شکل ۷ و شکل ۸C).

اثر تیمار و اثر متقابل تیمار و رقم در سطح احتمال یک درصد بر تعداد برگ معنی‌دار بود، در حالی که 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



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 هستند.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و رقم بر تولید تعداد برگ در سه رقم بگونیا رکس. ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد هستند.

تیمارهای T6، T8 و T9 کمترین طول ریشه را پس از شاهد تولید کرد (شکل ۵).

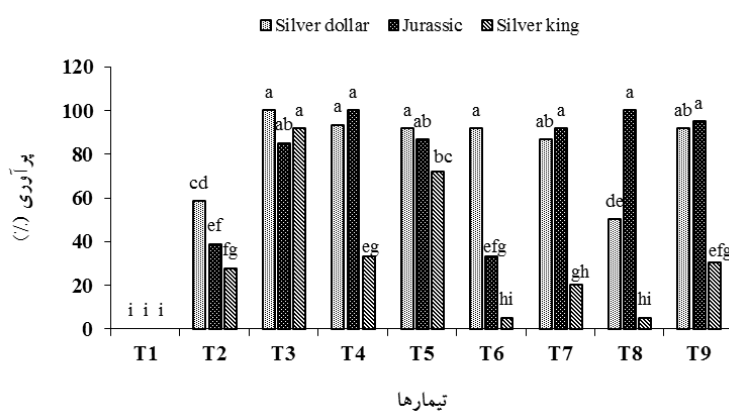
نتایج جدول تجزیه واریانس ۳ نشان داد که اثر تیمار و اثر متقابل تیمار و رقم در سطح احتمال یک درصد بر میزان

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

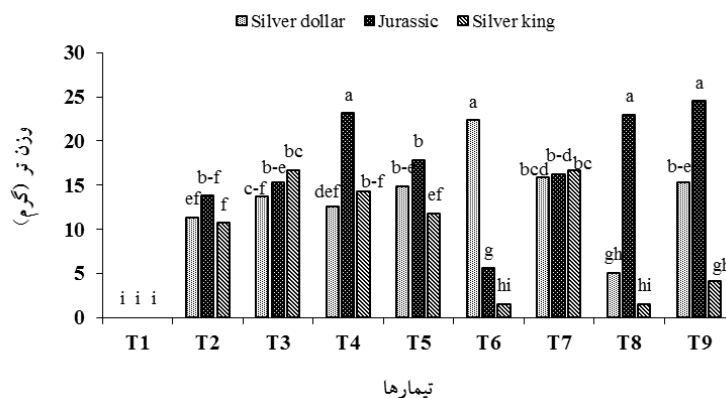
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمار و رقم بر برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهچه‌های حاصل در سه بگونیا رکس

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

** و * به ترتیب دارای اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و ^{ns}: عدم معنی داری



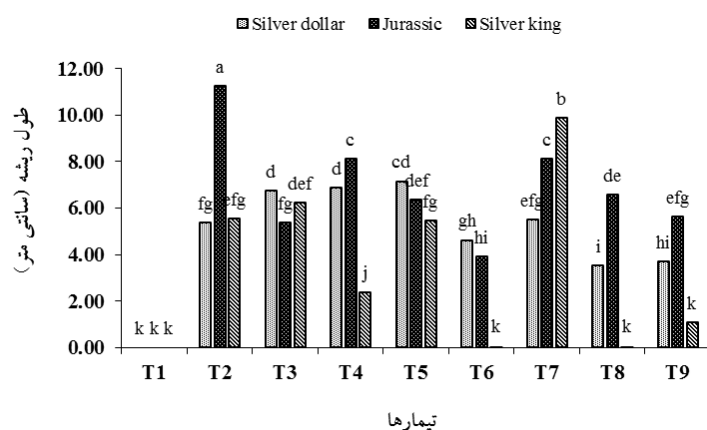
شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و رقم بر میزان پرآوری در سه بگونیا رکس. ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد هستند.



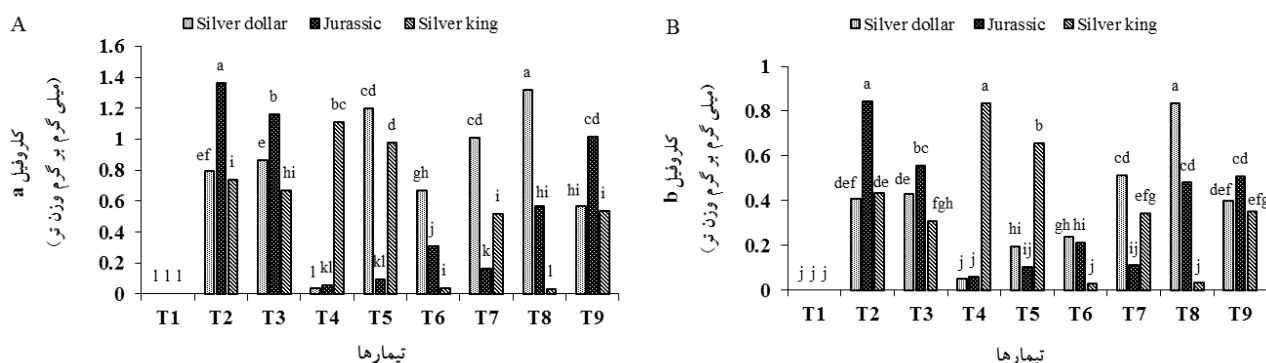
شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و رقم بر وزن تر گیاهچه‌ها در سه بگونیا رکس. ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی دار در سطح احتمال یک درصد هستند.

کلروفیل a در تیمار T2 و در رقم Jurassic و نیز تیمار T8 و رقم Silver dollar به ترتیب با میزان ۱/۳۶ و ۱/۳۲ میلی گرم بر

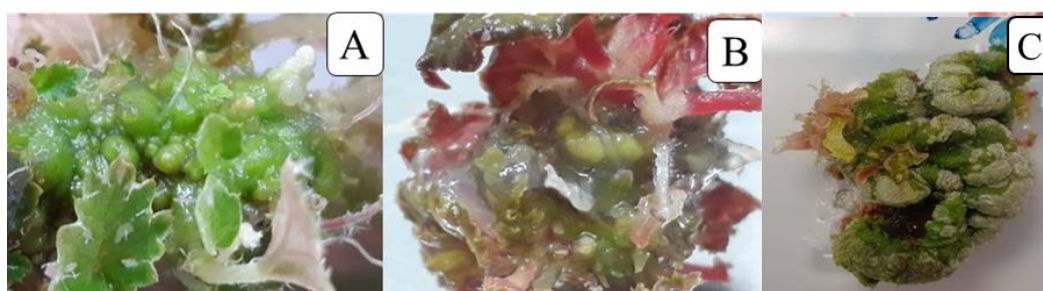
کلروفیل a و b معنی دار بود. ارقام اثر معنی داری بر میزان کلروفیل a و b نشان ندادند (جدول ۳). بیشترین میزان



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و رقم بر طول ریشه در سه رقم بگونیا رکس. ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی-دار در سطح احتمال یک درصد هستند.



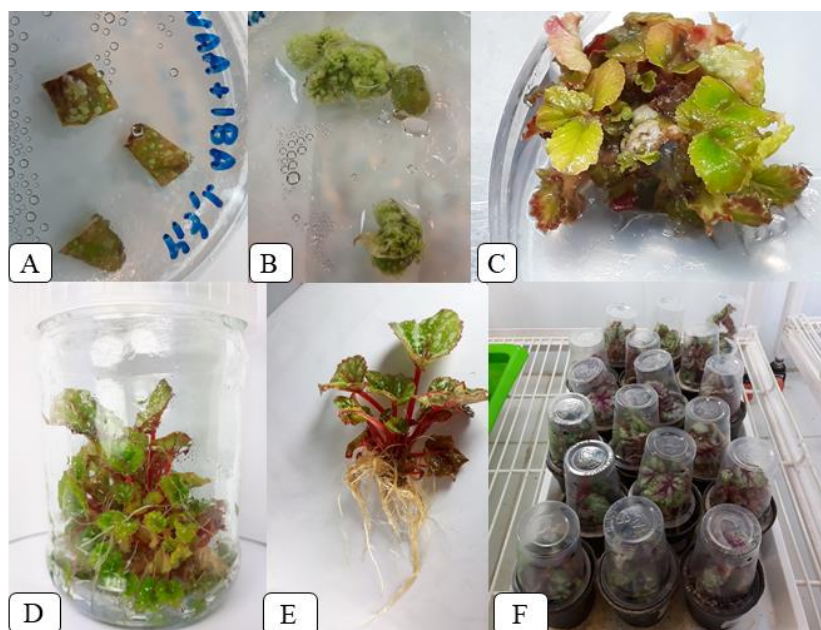
شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار و رقم بر (A) کلروفیل a و (B) کلروفیل b در سه رقم بگونیا رکس. ستون‌های دارای حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد هستند.



شکل ۷- کالوس‌زایی و بلافاصله باززایی بگونیا رکس (A) رقم Silver dollar در محیط کشت MS حاوی 1 mg/l NAA+0.5 mg/l TDZ (B) 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 برگ‌گی

گرم وزن تر) و نیز T6 در رقم Silver king (0.05 میلی گرم بر گرم وزن تر) منجر به کمترین میزان کلروفیل a پس از شاهد

گرم وزن تر حاصل شد (شکل ۶A). در حالی که تیمار T4 در دو رقم Silver dollar و Jurassic (0.04 و 0.06 میلی گرم بر



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

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. هر چند همه تیمارها در القای کالوس مؤثر 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 تا کالوس‌زایی داشتند.

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 tuberosa* مؤثرتر بودند (Mendi et al., 2009). در پژوهشی Nada و همکاران (۲۰۱۱) محیط کشت 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

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 به ترتیب 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).

بحث

برای کشت بافت بگونیا در مطالعات مختلف بیشتر از سیتوکینین‌هایی نظیر BA، Kin و TDZ در ترکیب با NAA و IAA (Nada et al., 2011; Kabirnatay et al., 2012; Shobi and Viswanathan, 2017) جهت القای جوانه‌های شاخه استفاده شده است. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اثر رقم و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در کالوس‌زایی و باززایی ریزنمونه‌های برگگی معنی‌دار بود که این نتیجه با یافته‌های

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 علاوه بر 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 از جمله 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 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). Cioc 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 CKها باعث کاهش تخریب کلروفیل در گونه‌های مختلف گیاهی رشدیافته در شرایط برون شیشه شد (Dobranszki 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 رشدیافته در سایر محیط ناکارآمد هستند. علاوه بر این، کاهش میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها ممکن است نشانه‌ای از پیری زودرس گیاهان باشد (Karatas *et al.*, 2010).

نتیجه‌گیری

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

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 Mendi و همکاران (۲۰۰۹) اعلام کردند که ترکیب ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA با ۲ میلی‌گرم در لیتر BA در باززایی بگونیا بسیار مؤثر بود که با نتایج این مطالعه همخوانی داشت.

طی مراحل ریزازدیدی، ریشه‌زایی شاخساره‌های باززایی شده از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. 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 تأثیر 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. متنها تعداد و طول ریشه‌های تشکیل شده در تیمارها و ارقام مختلف، متفاوت بود. در مطالعات مختلف نیز ترکیبات متفاوتی از تنظیم‌کننده‌های 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 تأثیر تیمارها و ارقام مورد مطالعه در پژوهش حاضر همسو با نتایج عابدینی و گلچین (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 است.

ترکیب اکسین با سیتوکین در محیط کشت باعث افزایش راندمان باززایی می‌شود (Mendi *et al.*, 2009). میزان پرآوری نمونه‌ها در تیمارهای مختلف متفاوت بود. رقم Silver dollar

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 تنظیم‌کننده رشد گیاهی در اغلب آزمایشگاه‌ها می‌توان آن را در ترکیب با IBA و NAA در ریزاززایی گیاه بگونیا رکس به‌عنوان تیمار مؤثر و مفید معرفی کرد.

تنظیم‌کننده‌های رشدی و رقمی که ریزنمونه‌ها از آن استخراج می‌شوند، نقش مهمی در باززایی و پرآوری موفق شاخه در *B. rex* دارد. کالوس‌زایی ریزنمونه‌های برگ‌گی 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 کشت‌بافت به محیط خارج از شیشه سازگاری نشان دادند. به‌طورکلی در پژوهش حاضر با توجه به

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
- سروس، سوسن، قنبری جهرمی، مرضیه، و حکیمی، لیلا (۱۴۰۱). بهبودسازی پرآوری و باززایی بگونیا هیمالیس (*Begonia × hiemalis* Fotsch). *گل و گیاهان زینتی*، ۱(۷)، ۱۱۹-۱۳۴. <http://flowerjournal.ir/article-1-229-fa-html>
- عابدینی، مریم، و گلین، بهروز (۱۳۹۱). اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر کشت‌بافت گیاه بگونیا رکس. *به زراعی نهال و بذر*، ۲۸(۱)، ۱۱۱-۱۰۷. DOI: 10.22092/sppj.2017.110459
- 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
- Cioc, M., Kalisz, A., Zupnik, 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.
- Dobranszki, 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 (ed. Anderson, N. O.). Pp. 241-275. Springer, Netherlands.
- 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.

- 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.
- Kaviani, B., Hashemabadi, D., Khodabakhsh, H., Onsinejad, R., Ansari, M. H., & Haghghat, 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*. 4th Ed. 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-Ruvalcaba, R., Gutierrez-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) Pp. 5-7. Kurume, Fukuoka Japan.
- 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).
- Velasco Martinez, F., Gonzalez Rosas, H., Castillo Gonzalez, A. M., & Gaytan Acuna, 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>

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

Ali Rezapour¹, Maryam Dehestani-Ardakani^{*1,2}, Kazem Kamali³, Jaber Nasiri⁴, Heidar Meftahizadeh¹

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, Iran

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

(Received: 2023/05/29, Accepted: 2023/10/09)

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

Corresponding author, Email: mdehestani@ardakan.ac.ir