

Research Article

Plant Prod., 2021, 44(1), 25-36  
http://plantproduction.scu.ac.ir//

ISSN (P): 2588-543X  
ISSN (E): 2588-5979

## Effect of Kind and Plant Growth Regulator Composition on Micropropagation of Three Begonia Species

Fateme Hosseini<sup>1</sup>, Nasrin Moshtaghi<sup>2\*</sup>, Ahmad Sharifi<sup>3</sup>, Abdolreza Bagheri<sup>4</sup>,  
Hasan Marashi<sup>5</sup>, Fateme Keykha Akhar<sup>6</sup>

- 1- M.Sc. of Agricultural Biotechnology, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- 2- \*Corresponding Author: Associate Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran (moshtaghi@um.ac.ir)
- 3- Assistant Professors, Department of Ornamental Plant Biotechnology, Academic Center for Education, Culture and Research, Razavi Khorasan Province, Mashhad, Mashhad, Iran
- 4- Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- 5- Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- 6- Assistant Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran

**Citation:** Hosseini, F., Moshtaghi, N., Sharifi, A., Bagheri, A., Marashi, H., & Keykha Akhar, F. (2021). Effect of kind and plant growth regulator composition on micropropagation of three begonia species. *Plant Productions*, 44(1), 25-36.

 10.22055/ppd.2019.27321.1660

Received: 21 October, 2018

Accepted: 6 March, 2019

### Abstract

#### Background and Objectives

**Introduction:** Begonia is one of the most important ornamental plants around the world. Begonia species are grown for their attractive leaves and flowers in indoor and outdoor conditions. The tissue culture technique is an alternative method for the propagation of begonia species. It can overcome the difficulties of vegetative propagation and lead to high-quality and uniform planting material under disease-free conditions irrespective of the season and weather. In begonia tissue culture, different species showed diverse responses to the medium composition, especially plant growth regulators. Also, lack of information on large scale micropropagation of begonia in Iran highlights research on optimization of begonia species propagation on *in vitro* culture condition. Thus, in this study the effect of plant growth regulators on shoot regeneration and proliferation of three begonia species (*B.*



*elatior*, *B. soli-mutata*, and *B. tiger*), the impact of Auxin and sucrose on rooting of *B. elatior* and different pot substrate on acclimation were survived.

### Materials and Methods

In this experiment, petioles of three begonia species (*B. soli-mutata*, *B. elatior*, and *B. tiger*) were used as explant sources. So explants were washed under tap water for 30 mins and sterilized with 1.5% sodium hypochlorite for 15 mins. After sterilization, thin Cell Layers (TCL) with 2 mm thickness were prepared from petioles and cultured in MS medium with different concentrations (0.2, 1, 2 mg/L) of kinetin (kin) or thidiazuron (TDZ) in combination with NAA (0, 0.2 mg/L). Next, the effect of auxin type (1 mg/L of IAA, IBA, and NAA) and sucrose concentration (30 and 40 g/l) on rooting of *B. elatior* plantlets were determined on *in vitro* condition. For plantlet acclimation, sand, CocoPeat perlite mixture (1:1 ratio), and Peat moss as pot substrate were evaluated.

### Results


The results showed the shoot regeneration response of begonia species to the plant growth regulators of the medium, and there was a significant difference between them in all of the species adding the Auxin to the medium increased shoot regeneration. In *B. elatior* and *B. tiger* lacking of NAA to the medium caused no shoot regeneration. Maximum shoot regeneration (100%) was achieved in *B. soli-mutata* species in medium containing 1 or 2 mg/L of kin and 0.2 mg/l NAA, in *B. elatior* at 1 or 2 mg/L of TDZ in combination with 0.2 mg/l NAA and in *B. tiger* at 2 mg/L of both plant growth regulator (TDZ and Kin) and 0.2 mg/l NAA.

### Discussion

For rooting *B. elatior*, MS medium containing 1 mg/L IAA plus 30 g/L sucrose was the best and favorite acclimation was achieved in cocopeat perlite mixture and peat moss pot substrate.

**Keywords:** Begonia, *In vitro* culture, Medium composition

## اثر نوع و ترکیب تنظیم کننده های رشد در ریزازدیادی سه گونه بگونیا

فاطمه حسینی<sup>۱</sup>، نسرین مشتاقی<sup>۲\*</sup> , احمد شریفی<sup>۳</sup>، عبدالرضا باقری<sup>۴</sup>، حسن مرعشی<sup>۵</sup>، فاطمه کیخا آخر<sup>۶</sup>

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- ۲- \*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران (moshtaghi@um.ac.ir)
- ۳- استادیار، گروه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران
- ۴- استاد، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- ۵- استاد، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- ۶- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۲۹

## چکیده

بگونیا یکی از رایج ترین گیاهان زینتی در سراسر جهان می باشد که به عنوان گیاه باغی، گلدانی، آویز و گلخانه ای پرورش می یابد. تکنیک های کشت بافت گیاهی روش جایگزینی برای تولید انبوه گیاهان یکسان بگونیا می باشد و می تواند بر مشکلات ناشی از روش های تکثیر رویشی غلبه نماید. تحقیق حاضر با هدف ارائه یک سیستم ریزازدیادی مناسب برای سه گونه بگونیا (*Begonia soli-mutata*، *B. tiger* و *B. elatior*) در سال ۱۳۹۵ و در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی جهاد دانشگاهی مشهد انجام شد. در این بررسی اثر سیتوکنین های TDZ و Kin با غلظت های ۰/۲، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر در ترکیب با NAA (صفر و ۰/۲ میلی گرم در لیتر) بر ریزازدیادی سه گونه مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه ریشه زایی شاخه ها در محیط کشت حاوی سه نوع اکسین بررسی شده و به بستر سازگاری منتقل شدند. نتایج نشان داد بیشترین درصد باززایی گیاهچه (۱۰۰ درصد) در گونه *B. soli-mutata* در غلظت یک و دو میلی گرم در لیتر Kin و در گونه *B. elatior* در غلظت یک و دو میلی گرم در لیتر TDZ و در گونه *B. tiger* در غلظت دو میلی گرم در لیتر هر دو نوع سیتوکنین به دست آمد. در همه غلظت های سیتوکنین استفاده از ۰/۲ میلی گرم در لیتر از NAA تأثیر مثبتی بر باززایی گیاهچه داشته است. همچنین در فرآیند ریشه زایی کاربرد IAA با غلظت یک میلی گرم در لیتر در ترکیب با ۳۰ گرم در لیتر ساکارز بیشترین درصد ریشه زایی را به همراه داشته و سازگاری مطلوبی از گیاهچه ها در بستر حاوی مخلوط کوکوپیت و پرلیت و یا پیت ماس به تنهایی به دست آمد.

کلیدواژه ها: بگونیا، ترکیب محیط کشت، کشت درون شیشه ای

## مقدمه

(2011). بگونیا یک جنس از گیاهان گلدان و یکی از ۱۰ جنس بزرگ بازدانگان و از خانواده Begoniaceae می باشد. در این جنس یکی از موضوعات مورد توجه برای تحقیقات کشت بافت آن است (Tian et al., 2018). تکثیر

تولید تجاری گیاهان زینتی در سرتاسر جهان در حال افزایش است و ارزش پولی آن به طور قابل توجهی در طول دو دهه گذشته افزایش یافته است (Kumaria et al.,

(2011) موفق به تولید مستقیم جوانه‌های شاخه از ریزنمونه‌های برگ و دمبرگ *B. tuberhybrida* شدند. آن‌ها بهترین محیط کشت برای القای شاخه در ریزنمونه برگ را محیط کشت MS تکمیل شده با یک میلی گرم در لیتر NAA همراه با دو میلی گرم در لیتر TDZ و برای ریزنمونه دمبرگ محیط کشت MS تکمیل شده با ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA همراه با دو میلی گرم در لیتر TDZ گزارش کردند. همچنین آن‌ها بیان کردند که هر دو ریزنمونه در محیط کشت حاوی BA به تنهایی یا در ترکیب با NAA و یا TDZ القای شاخه به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. شاخه‌های تولیدشده در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA ریشه دادند. (Kabirnataj et al. (2015) و Kavianian et al. (2015) بهترین محیط کشت برای القای جوانه شاخه در ریزنمونه برگ *B. rex* را به ترتیب محیط کشت MS حاوی یک میلی گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA با تعداد ۴۱/۶ گیاهچه و محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA با تعداد ۴۴/۳ گیاهچه گزارش کردند. (2017) Shobi and Viswanathan برای باززایی گیاهچه *B. fallax* ترکیب‌های مختلف سیتوکنین (Kin, TDZ و IAA, IBA و NAA) در محیط کشت پایه MS را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند که محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA بهترین ترکیب است. همچنین آن‌ها در بررسی بهترین ترکیب محیط کشت برای ریشه‌زایی، ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA را گزارش کردند. (Kumari et al. (2017) گزارش کردند که ترکیب مناسب محیط کشت برای باززایی گیاهچه *B. homonyma* شامل دو میکرومول GA3 و ۰/۵ میکرومول BA است. آن‌ها برای ریشه‌زایی از ترکیب دو میکرومول IBA و ۰/۵ میکرومول NAA در محیط کشت حاوی ۱۵ گرم در لیتر ساکارز استفاده کردند. نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف بگونیا پاسخ متفاوتی نسبت شرایط محیط کشت نشان می‌دهند و لازم است برای هر گونه ترکیب محیط کشت بهینه شود.

رویشی بگونیا به خاطر شیوع سریع بیماری‌ها مشکل است. تکنیک‌های کشت بافت گیاهی روش جایگزینی برای تولید انبوه گیاهان یکسان بگونیا می‌باشد و می‌تواند بر مشکلات ناشی از روش‌های تکثیر رویشی غلبه نماید. اگرچه روش‌های کشت بافت و شرایط آن برای انواع گونه‌های بگونیا محدودی مشابه است ولی نیاز این گونه‌ها به تنظیم کننده‌های رشد در محیط کشت متفاوت می‌باشد. نتایج به‌دست آمده توسط محققان مختلف (Castillo and Smith, 1997; Burritt and Leung, 2003) نشان می‌دهد که غلظت‌های متنوع و ترکیبات مختلفی از اکسین و سیتوکنین برای باززایی گونه‌های مختلف بگونیا مورد نیاز است. به‌طور کلی، سطوح تنظیم کننده‌های رشد مورد استفاده اغلب عامل پیچیده‌ای برای کالوس‌زایی، باززایی یا رشد و تمایز ریزنمونه کشت شده، هستند و تقسیم سلولی را تحریک و تمایز سلولی و اندام‌زایی را کنترل می‌کنند. نوع و غلظت مناسب تنظیم کننده‌های رشد از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت است (Kumari et al., 2017). برای کشت بافت بگونیا بیشتر از سیتوکنین‌هایی نظیر BA, Kin و TDZ در ترکیب با NAA و IAA (Nada et al., 2011; Kabirnataj et al., 2012; Shobi and Viswanathan, 2017) جهت القای جوانه‌های شاخه استفاده شده است. Bigot (1981) باززایی گیاهچه در *B. x elatior* از محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میکرومول Kin و ۰/۵ میکرومول Zeatin استفاده کردند. (Castillo and Smith (1997) گزارش کردند که بیشترین میزان القای جنین سوماتیکی در *B. gracilis* از ریزنمونه دمبرگ در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر Kin و دو درصد شیر نارگیل به‌دست آمد. در پژوهشی توسط (Kumaria et al. (2011) بر روی باززایی گیاهچه گیاه *B. rubrovenia* گزارش نمودند که محیط کشت MS تکمیل شده با ۰/۱ میلی گرم در لیتر TDZ و ریزنمونه دمبرگ استفاده کردند و به‌طور متوسط ۶۵ جوانه شاخه از هر ریزنمونه تولید کردند. گیاهچه‌ها در محیط کشت MS تکمیل شده با ۰/۱ میلی گرم در لیتر IAA ریشه‌دار شده و با موفقیت با شرایط گلخانه سازگار شده و به محیط طبیعی انتقال یافتند. (Nada et al.

### مواد و روش‌ها

برای اجرای این تحقیق سه گونه بگونیا (*B. soli-mutata*، *B. tiger* و *B. elatior*) مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا ریزنمونه‌های دمبرگ گیاهان شاداب در حال رشد جدا شده به مدت ۳۰ دقیقه زیر آب جاری شستشو داده شدند. برای ضدعفونی آن‌ها از محلول هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه استفاده و سپس زیر هود لامینار با آب استریل شستشو شدند. پس از جدا نمودن دو انتهای دمبرگ از قسمت باقی‌مانده برای تهیه TCL‌هایی (Thin Cell Layer) به ضخامت دو میلی‌متر استفاده شد. ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS حاوی ترکیب تنظیم‌کننده رشدی مناسب، ۳ درصد ساکارز و ۰/۸ درصد آگار با pH= ۵/۸ کشت شدند. ریزنمونه‌ها در اتاق رشد با دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد با تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند. پس از آن هر ۴ هفته، واگشت ریزنمونه‌ها در محیط جدید انجام شد. ریزنمونه‌های TCL این گونه‌ها در محیط کشت MS حاوی سیتوکینین (TDZ و Kin) با غلظت (۰/۲، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با اکسین NAA (۰ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند. این آزمایش به صورت آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد و پارامترهای بازرایی گیاهچه شامل درصد زنده‌مانی ریزنمونه، درصد بازرایی گیاهچه، درصد کالوس‌زایی و درصد ریشه‌زایی در پایان واگشت دوم و تعداد برگ و تعداد ریشه در پایان واگشت چهارم یادداشت‌برداری شدند. با توجه به ریشه‌زایی ضعیف‌تر *B. elatior* جهت تعیین ترکیب تنظیم‌کننده رشدی مناسب برای ریشه‌زایی، گیاهچه‌های رشد یافته در شرایط درون شیشه‌ای به طول دو سانتی‌متر برش خورده و در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر از یک نوع اکسین IAA، NAA و IBA در ترکیب با غلظت‌های مختلف ساکارز (۳ و ۴ درصد) کشت شدند. این آزمایش به صورت آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده در هر سه گونه به لیوان‌های یکبار مصرف حاوی سه نوع بستر مختلف شامل شن،

گسترش روز افزون استفاده از بگونیا به‌عنوان گیاه زینتی، واردات گونه‌های مختلف آن از خارج از کشور برای پرورش و عرضه به بازار و مشکلات روش‌های معمول تکثیر در این گیاه، تولید این گیاه با استفاده از روش‌های متنوع کشت بافت را توجیه‌پذیر کرده است. اما پاسخ‌های متفاوت گونه‌های بگونیا به شرایط کشت بافت و ریزازدیادی، در اختیار نبودن روش مناسب برای تولید انبوه این گیاه مبتنی بر شرایط کشت درون شیشه‌ای در ایران، انجام تحقیقات منسجم جهت تکثیر تجاری از طریق کشت بافت و همچنین استفاده از آن در پروژه‌های مرتبط با مهندسی ژنتیک و انتقال ژن به این گیاه را در داخل کشور ضروری می‌نماید. با توجه به اهمیت اقتصادی گیاه بگونیا و لزوم تولید گیاهچه‌های باکیفیت در سطح تجاری این آزمایش با هدف ارائه یک سیستم بازرایی گیاهچه و ریزازدیادی با هدف تکثیر سه گونه بگونیا (*B. soli-mutata*، *B. tiger* و *B. elatior*) در شرایط درون شیشه‌ای که در دو مورد آن (*B. tiger* و *B. soli-mutata*) کمتر مورد بررسی قرار گرفته است، انجام شد. با توجه به پاسخ‌های متنوع گونه‌های بگونیا به ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد محیط کشت اثر نوع سیتوکینین همراه با اکسین NAA بر بازرایی گیاهچه و ریزازدیادی این سه گونه مورد بررسی قرار گرفت تا نحوه‌ی القای بازرایی و در ادامه ریزازدیادی این سه گونه در پاسخ به نوع ترکیب تنظیم‌کننده رشد محیط کشت مشخص شود. در ادامه بهینه کردن ریشه‌زایی با تمرکز بر نوع اکسین و به‌طور هم‌زمان میزان ساکارز موجود در محیط کشت از عوامل اصلی ریشه‌زایی در شرایط کشت بافت که کمتر به‌طور هم‌زمان در کشت درون شیشه‌ای بگونیا مورد بررسی قرار گرفته است انجام شد. بررسی این سه گونه به‌طور هم‌زمان می‌تواند نتایج خوبی از پاسخ گونه‌ها به شرایط بازرایی گیاهچه نشان دهد و شرایط را فراهم می‌کند تا از نتایج این آزمایشات بتوان برای تکثیر تجاری این گیاهان استفاده نمود. همچنین شرایط مطلوب را برای انتقال ژن‌های مورد نظر در این گیاه فراهم نماید.

بگونه‌ها (*B. tiger*, *B. rex*, *B. semperflorens*, *B. elatior*) در شرایط درون شیشه‌ای گزارش کردند که تفاوت معنی داری بین گونه‌ها در باززایی گیاهچه به دلیل وجود ساختار ژنتیکی متفاوت و پاسخ‌های متفاوت به شرایط باززایی است.

نتایج جدول تجزیه واریانس بررسی اثر نوع سیتوکین بر صفات مورد ارزیابی در شرایط این درون شیشه‌ای نشان داد که بین دو نوع سیتوکین TDZ و Kin از لحاظ درصد زنده‌مانی، درصد کالوس‌زایی، درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه در سطح احتمال خطای پنج درصد تفاوت معنی داری وجود داشت. مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد بیشترین درصد زنده‌مانی (۴۴/۴۳ درصد) و بیشترین تعداد ریشه (۱۱/۲۲ عدد) در حضور سیتوکین Kin به دست آمد. از نظر درصد باززایی گیاهچه بین دو نوع سیتوکین TDZ و Kin تفاوت معنی داری مشاهده نشد و بیشترین درصد کالوس‌زایی (۳۲/۵۵ درصد) و درصد ریشه‌زایی (۴۶/۷۷ درصد) در حضور سیتوکین TDZ به دست آمد. (Castillo 1997) and Smith برای تولید جنین‌های سوماتیکی در بگونه‌ها از محیط کشت MS تکمیل شده با ۰/۵ میلی گرم در لیتر Kin و دو درصد شیر نارگیل استفاده کردند. بیشترین تعداد جنین (۷۰-۶۰ عدد) از ریزنمونه‌های برگ به دست آمد. (Kumaria et al. 2011) نیز گزارش کردند در محیط کشت MS حاوی TDZ و BAP موفق به باززایی شاخه از *B. rubrovenia* شدند. بیشترین تعداد شاخه (۶۵ عدد) در محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر TDZ تولید شد. نتایج مبین این است که ساختارهای ژنتیکی متفاوت گونه‌های بگونه‌ها باعث پاسخ‌های متفاوت به ترکیبات تنظیم کننده رشدی محیط کشت می‌شود. نتایج این آزمایش نشان داد که میزان اثر بخشی TDZ نسبت به Kin در القای کالوس و ریشه در ریزنمونه‌ها بیشتر بوده است اما تعادل هورمونی ایجاد شده توسط این دو تنظیم کننده رشد در ریزنمونه‌ها در القای باززایی یکسان بوده است. نتایج جدول تجزیه واریانس اثر متقابل

مخلوط کوکوپیت و پرلیت با نسبت ۱:۱ و پیتماس به تهایی به حجم ۲۰۰ میلی لیتر منتقل شدند. این آزمایش نیز به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای تأمین رطوبت لازم جهت حفظ و نگهداری گیاهچه‌ها از لیوان یکبار مصرف شفاف به عنوان درپوش استفاده شد. به منظور زهکشی مناسب و سازگاری بهتر گیاهچه‌ها، سوراخ‌هایی در انتهای لیوان‌ها ایجاد شد. پس از یک ماه به منظور سازگاری بهتر گیاهچه‌ها با شرایط محیطی درپوش‌ها برداشته شد و برای رشد بهتر گیاهچه‌ها از محلول یک گرم در لیتر کود شیمیایی NPK جهت آبیاری استفاده شد. گیاهچه‌های شاداب پس از ۴۵ روز به گلستان انتقال داده شده و در شرایط دمایی و رطوبتی گلخانه نگهداری شدند.

داده‌های حاصل از این آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری JMP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای پنج درصد ارزیابی شدند. داده‌های درصدی (درصد زنده‌مانی، درصد باززایی گیاهچه، درصد کالوس‌زایی و درصد ریشه‌زایی) با استفاده از فرمول [Arc Sin Sqrt (X/100)] قبل از تجزیه واریانس تبدیل و تجزیه واریانس با داده‌های تبدیل شده، انجام شد.

## نتایج و بحث

### باززایی گیاهچه در سه گونه بگونه‌ها

نتایج جدول تجزیه واریانس بررسی اثر گونه بر صفات مورد ارزیابی در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که بین سه گونه *B. tiger*، *B. elatior*، *B. soli-mutata* از نظر میانگین درصد زنده‌مانی، درصد کالوس‌زایی و درصد باززایی گیاهچه و تعداد برگ در سطح احتمال خطای پنج درصد اختلاف معنی داری وجود داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین درصد زنده‌مانی (۵۰/۹۷ درصد) در گونه *B. soli-mutata* به دست آمد (جدول ۱). از نظر درصد باززایی گیاهچه بین دو گونه *B. tiger* و *B. soli-mutata* تفاوت معنی داری مشاهده نشد. (Espino et al. 2004) نیز در بررسی باززایی مستقیم جوانه‌های شاخه چهار گونه

**Table 1. Effect of species on regeneration characteristics in in vitro culture condition**

Species	Survival percentage	Regeneration percentage	Callogenesis percentage	Leaf number
<i>B. soli-mutata</i>	50.97 <sup>a</sup>	36.50 <sup>a</sup>	11.20 <sup>c</sup>	6.22 <sup>b</sup>
<i>B. elatior</i>	40.17 <sup>b</sup>	25.15 <sup>b</sup>	33.67 <sup>b</sup>	4.58 <sup>c</sup>
<i>B. tiger</i>	40.64 <sup>b</sup>	50.50 <sup>a</sup>	44.90 <sup>a</sup>	9.08 <sup>a</sup>

Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level.

**Table 2. Effect of cytokinin on regeneration characteristics in in vitro culture condition**

Cytokinin	Survival percentage	Callogenesis percentage	Regeneration percentage	Leaf number	Rooting percentage	Root number
TDZ	43.42 <sup>b</sup>	32.55 <sup>a</sup>	31.63 <sup>a</sup>	6.31 <sup>b</sup>	46.77 <sup>a</sup>	9.65 <sup>b</sup>
Kin	44.43 <sup>a</sup>	27.29 <sup>b</sup>	35.19 <sup>a</sup>	6.94 <sup>a</sup>	39.15 <sup>b</sup>	11.22 <sup>a</sup>

Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level.

تعداد ریشه در سطح احتمال خطای پنج درصد تفاوت معنی داری وجود داشت. بیشترین درصد زنده‌مانی (۵۷/۸۳ درصد)، کالوس‌زایی (۵۷/۴۰ درصد)، درصد باززایی گیاهچه (۵۸/۶۲ درصد)، تعداد برگ (۱۲/۶۵ عدد)، درصد ریشه‌زایی (۷۹/۹۵ درصد) و تعداد ریشه (۱۹/۶۳ عدد) در غلظت ۰/۲ میلی گرم در لیتر اکسین مشاهده شد (داده‌ها نشان داده نشده). این نتایج تأثیر معنی دار حضور اکسین در کلیه صفات مورد ارزیابی را نشان داد. (Mendi et al. (2009) باززایی گیاهچه‌های *B. elatior* cv. Toran orange را در شرایط درون شیشه‌ای در محیط کشت MS تکمیل شده با غلظت‌های مختلفی از BA، NAA و IAA گزارش کردند. بیشترین درصد باززایی گیاهچه (۷۰ درصد) در محیط کشت تکمیل شده با دو میلی گرم در لیتر BA و یک میلی گرم در لیتر NAA مشاهده شد و با افزایش غلظت اکسین، باززایی گیاهچه به میزان قابل توجهی کاهش یافت. آن‌ها ذکر کردند ترکیب BA و NAA در مقایسه با ترکیب BA و IAA باعث افزایش تقسیم سلولی و افزایش درصد باززایی می‌شود به طوری که در بهترین محیط تکمیل شده با BA و IAA بیشترین درصد باززایی گیاهچه ۴۳ درصد مشاهده شد. در فرآیند باززایی گیاهچه در گیاهان حضور مقادیر کم اکسین همراه با مقادیر بالاتر سیتوکینین باعث بهبود باززایی و رشد گیاه می‌شود. (Lai et al. (2018) برای *B. montaniformis* × *B. ningmingensis* در شرایط کشت بافت از محیط کشت

گونه، نوع و غلظت سیتوکینین بر صفات مورد ارزیابی در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که از نظر درصد زنده‌مانی، درصد باززایی، درصد کالوس‌زایی، تعداد برگ و تعداد ریشه در سطح احتمال خطای پنج درصد تفاوت معنی داری وجود داشت. بیشترین درصد زنده‌مانی (۷۶/۷۵ درصد)، بیشترین درصد باززایی (۸۵/۳۷ درصد) و بیشترین تعداد ریشه (۲۵ عدد) در گونه *B. soli-mutata* و در حضور سیتوکینین Kin به دست آمد (شکل ۱). بیشترین تعداد برگ (۱۷/۲۵ عدد) در گونه *B. tiger* در سطح دو میلی گرم در لیتر TDZ مشاهده شد (جدول ۳). در مجموع پاسخ ریزنمونه‌ها از لحاظ درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها، درصد باززایی و تعداد برگ تولید شده به نوع سیتوکینین و سطوح آن در سه گونه مورد بررسی نشان داد که گونه *B. soli-mutata* در محیط کشت حاوی یک تا دو میلی گرم در لیتر Kin، گونه *B. elatior* در محیط کشت حاوی یک تا دو میلی گرم در لیتر TDZ و *B. tiger* در محیط کشت حاوی دو میلی گرم در لیتر TDZ و Kin بهترین پاسخ را داد. نتایج مبین این موضوع است که کنش بین ترکیب تنظیم کننده‌های رشد بیرونی و ترکیب هورمونی درون‌زاد ریزنمونه‌ها به شدت وابسته به گونه است و گونه‌ها به دلیل ساختار ژنتیکی متفاوت کنش متفاوتی از خود بروز می‌دهند. نتایج جدول تجزیه واریانس اثر غلظت اکسین NAA بر صفات مورد ارزیابی در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که از نظر درصد زنده‌مانی، درصد باززایی گیاهچه، درصد کالوس‌زایی، تعداد برگ، درصد ریشه‌زایی و

وجود داشت. بیشترین درصد زنده‌مانی (۶۴/۹۵ درصد) در گونه *B. soli-mutata* در غلظت ۰/۲ میلی گرم در لیتر اکسین مشاهده شد (جدول ۴). بیشترین درصد کالوس‌زایی (۸۹/۷۹ درصد)، باززایی (۸۱/۶ درصد) و تعداد برگ (۱۸/۱۶ عدد) در گونه *B. tiger* در سطح ۰/۲ میلی گرم در لیتر اکسین به دست آمد. از نظر بیشترین درصد ریشه‌زایی بین دو گونه *B. tiger* و *B. soli-mutata* (به ترتیب ۹۳/۳۷ و ۱۰۰ درصد) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در مجموع بیشترین درصد باززایی گیاهچه در گونه *B. soli-mutata* (۱۰۰ درصد) در غلظت یک و دو میلی گرم در لیتر Kin همراه با ۰/۲ میلی گرم در لیتر NAA و در گونه *B. elatior*

MS حاوی دو میکرو مولار BA و ۰/۸ میکرو مولار NAA استفاده کردند. اثرات هم افزایی کاربرد BA و NAA در تکثیر و رشد شاخساره‌ها در گیاهان متعددی گزارش شده است. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که سیتوکنین‌ها سطوح اکسین و از سوی دیگر اکسین‌ها نیز سطوح سیتوکنین‌ها را تنظیم می‌کنند (Fatima et al., 2015).

تجزیه واریانس اثر متقابل گونه و غلظت اکسین بر صفات مورد ارزیابی در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که از نظر درصد زنده‌مانی، درصد باززایی گیاهچه، درصد کالوس‌زایی، تعداد برگ، درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه در سطح احتمال خطای پنج درصد تفاوت معنی‌داری

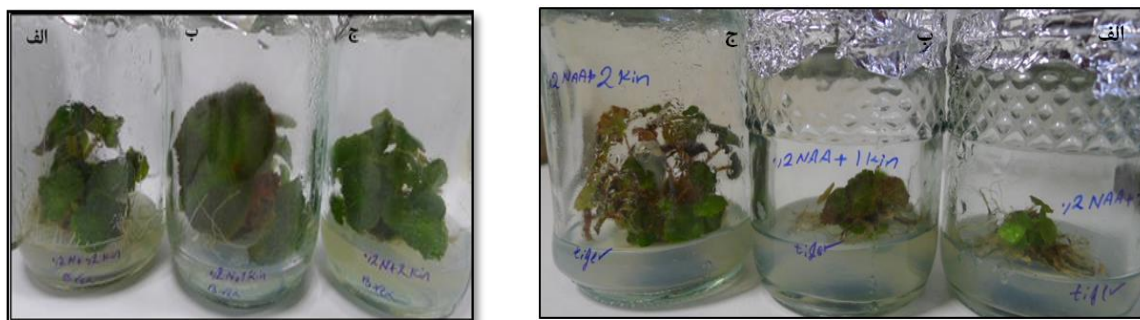


Figure 1. *B. soli-mutata* plantlets in different concentration of Kin, left) 0.2 mg/l Kin + 0.2 mg/l NAA, middle) 1 mg/l Kin + 0.2 mg/l NAA, right) 2 mg/l Kin + 0.2 mg/l NAA

Table 3. Effect of species, kind and concentration of cytokinin on regeneration characteristics in vitro culture condition

Species	Kind of Cytokinin	concentration of Cytokinin (mg/l)	Survival percentage	Callogenesis percentage	Regeneration percentage	Leaf number	Root number
<i>B. soli-mutata</i>	TDZ	0.2	18.50 <sup>h</sup>	4.12 <sup>f</sup>	0.00 <sup>f</sup>	0.00 <sup>h</sup>	6.00 <sup>g</sup>
		1	42.25 <sup>f</sup>	14.37 <sup>ef</sup>	8.25 <sup>f</sup>	0.75 <sup>gh</sup>	10.75 <sup>d</sup>
		2	47.00 <sup>ef</sup>	8.25 <sup>f</sup>	0.75 <sup>f</sup>	0.12 <sup>h</sup>	8.25 <sup>ef</sup>
	Kin	0.2	55.37 <sup>d</sup>	0.00 <sup>f</sup>	47.00 <sup>cd</sup>	8.25 <sup>d</sup>	23.37 <sup>a</sup>
		1	76.75 <sup>a</sup>	32.25 <sup>cde</sup>	74.75 <sup>b</sup>	15.75 <sup>ab</sup>	25.00 <sup>a</sup>
		2	66.00 <sup>c</sup>	8.25 <sup>f</sup>	85.37 <sup>a</sup>	12.50 <sup>c</sup>	17.50 <sup>b</sup>
<i>B. elatior</i>	TDZ	0.2	57.00 <sup>d</sup>	50.00 <sup>a</sup>	42.62 <sup>cd</sup>	3.62 <sup>ef</sup>	3.50 <sup>h</sup>
		1	64.75 <sup>c</sup>	50.00 <sup>a</sup>	50.00 <sup>c</sup>	8.75 <sup>d</sup>	6.50 <sup>fg</sup>
		2	75.37 <sup>b</sup>	43.75 <sup>ab</sup>	50.00 <sup>c</sup>	14.37 <sup>bc</sup>	5.75 <sup>g</sup>
	Kin	0.2	12.62 <sup>h</sup>	21.87 <sup>def</sup>	0.00 <sup>f</sup>	0.00 <sup>h</sup>	0.00 <sup>i</sup>
		1	16.50 <sup>h</sup>	14.75 <sup>ef</sup>	2.50 <sup>f</sup>	0.37 <sup>h</sup>	0.00 <sup>i</sup>
		2	14.75 <sup>h</sup>	21.62 <sup>def</sup>	2.50 <sup>f</sup>	0.37 <sup>h</sup>	0.00 <sup>i</sup>
<i>B. tiger</i>	TDZ	0.2	27.95 <sup>g</sup>	37.25 <sup>bc</sup>	41.62 <sup>cd</sup>	3.87 <sup>ef</sup>	18.50 <sup>b</sup>
		1	29.00 <sup>g</sup>	35.25 <sup>bcd</sup>	41.50 <sup>cd</sup>	8.12 <sup>d</sup>	14.62 <sup>c</sup>
		2	28.94 <sup>g</sup>	50.00 <sup>a</sup>	50.00 <sup>c</sup>	17.25 <sup>a</sup>	13.00 <sup>c</sup>
	Kin	0.2	51.56 <sup>de</sup>	50.00 <sup>a</sup>	20.62 <sup>ef</sup>	2.87 <sup>fg</sup>	17.87 <sup>b</sup>
		1	52.28 <sup>de</sup>	50.00 <sup>a</sup>	34.00 <sup>de</sup>	5.87 <sup>e</sup>	9.12 <sup>de</sup>
		2	54.07 <sup>d</sup>	46.87 <sup>a</sup>	50.00 <sup>c</sup>	16.50 <sup>ab</sup>	8.12 <sup>ef</sup>

Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level.



**Table 4. Effect of Species and Auxin concentration on regeneration characteristics in in vitro culture condition**

Species	Auxin concentration	Survival percentag	Callogenesis percentage	Regeneration percentage	Leaf number	Rooting percentage	Root number
<i>B. soli-mutata</i>	0	37.00 <sup>c</sup>	7.33 <sup>cd</sup>	25.42 <sup>c</sup>	1.83 <sup>d</sup>	17.91 <sup>c</sup>	3.70 <sup>c</sup>
	0.2	64.95 <sup>a</sup>	15.08 <sup>c</sup>	47.50 <sup>b</sup>	10.62 <sup>b</sup>	93.37 <sup>a</sup>	26.58 <sup>a</sup>
<i>B. elatior</i>	0	28.50 <sup>d</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.00 <sup>d</sup>
	0.2	51.83 <sup>b</sup>	67.33 <sup>b</sup>	50.25 <sup>b</sup>	9.16 <sup>c</sup>	46.50 <sup>b</sup>	5.25 <sup>b</sup>
<i>B. tiger</i>	0	24.58 <sup>e</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.00 <sup>d</sup>
	0.2	56.69 <sup>b</sup>	89.79 <sup>a</sup>	81.60 <sup>a</sup>	18.16 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	27.08 <sup>a</sup>

Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level.

#### بررسی ریشه‌زایی گونه *B. elatior*

نتایج جدول تجزیه واریانس داده‌ها برای صفات ریشه‌زایی گونه *B. elatior* در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که اثر نوع اکسین و غلظت ساکارز برای تمام پارامترهای مورد ارزیابی معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که برای ریشه‌زایی IAA بهترین اکسین است و غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر ساکارز توانایی ریشه‌زایی بیشتری نسبت به ۴۰ میلی‌گرم در لیتر آن داشت (شکل ۲). بیشترین درصد ریشه‌زایی (۱۰۰ درصد)، تعداد ریشه (۲۲ عدد) و طول ریشه (۲۱/۲۵ میلی‌متر) در حضور اکسین IAA و غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر ساکارز به‌دست آمد (جدول ۵). (Shobi and Viswanathan 2017) برای ریشه‌زایی *B. fallax* ترکیب تنظیم‌کننده رشدی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA را گزارش کردند. Kumari et al. (2017) نیز برای ریشه‌زایی *B. homonyma* ترکیب تنظیم‌کننده رشدی دو میکرومول IBA و ۰/۵ میکرومول NAA در محیط کشت حاوی ۱۵ گرم در لیتر ساکارز استفاده کردند. (Lai et al. 2018) برای ریشه‌زایی گیاهچه‌های تولیدشده در شرایط کشت بافت در هیبرید *B. montaniformis* × *B. ningmingensis* از NAA استفاده نمود. (Kharrazi et al. 2018) برای ریشه‌زایی گیاهچه‌های ژبراکسین‌های مختلف را بررسی و گزارش کردند که یک میلی‌گرم در لیتر IBA برای ریشه‌زایی بهتر بود. (Parsamanesh et al. 2018) نیز برای ریشه‌زایی گیاهچه‌های گل‌راعی سطوح مختلف IBA را بررسی و گزارش کردند که سطوح مختلف اکسین اثری روی تعداد ریشه تولیدی نداشت اما روی طول ریشه مؤثر بود.

در غلظت یک و دو میلی‌گرم در لیتر TDZ همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و در گونه *B. tiger* در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر هر دو نوع سیتوکینین و غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد (داده‌ها نشان داده‌نشده). بیشترین تعداد برگ (۳۴/۵۰ عدد) در گونه *B. tiger* در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر اکسین مشاهده شد. بیشترین تعداد ریشه (۴۶ عدد) در گونه *B. soli-mutata* در غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر Kin و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر اکسین به‌دست آمد. (Nhut et al. 2005) جهت ریزازدیادی *B. tuberosa* از ریز نمونه‌های TCL دم‌برگ در محیط کشت تکمیل‌شده با ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر TDZ استفاده کردند و جهت ریشه‌دار نمودن شاخه‌های تشکیل‌شده از محیط کشت MS تکمیل‌شده با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA، ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA و یک گرم بر لیتر زغال فعال استفاده کردند. (Shobi and Viswanathan 2017) سیتوکینین‌های Kin، BAP و TDZ در ترکیب با اکسین‌های IAA، IBA و NAA در محیط کشت پایه MS را بر باززایی گیاهچه *B. fallax* بررسی نمودند. آن‌ها گزارش کردند که محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بهترین ترکیب است. در شرایط کشت درون شیشه‌ای، تمایزایی و اندام‌زایی توسط تعامل بین غلظت‌های سیتوکینین و اکسین کنترل می‌گردد. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که نه تنها سطوح این نوع تنظیم‌کننده‌های رشد از اهمیت قابل توجهی برخوردار است، بلکه نسبت آن‌ها جهت کنترل چرخه سلولی، تقسیم سلولی و تمایزایی مهم می‌باشد (Fatima and Anis, 2012).



Figure 2. Rooting of *B. elatior* in IAA, right: 40 g/l Sucrose, left: 30 g/l Sucrose

Table 5. Effect of Auxin and Sucrose on rooting of *B. elatior* in in vitro culture condition

Type of auxin	Sucrose concentration (g/l)	Rooting Percentage	Root number	Root length (mm)
IAA	30	100 <sup>a</sup>	22.00 <sup>a</sup>	21.25 <sup>a</sup>
	40	98.75 <sup>a</sup>	13.25 <sup>b</sup>	12.25 <sup>cd</sup>
IBA	30	80.00 <sup>b</sup>	18.75 <sup>a</sup>	19.25 <sup>ab</sup>
	40	33.00 <sup>d</sup>	6.75 <sup>c</sup>	7.50 <sup>e</sup>
NAA	30	66.50 <sup>bc</sup>	14.50 <sup>b</sup>	15.75 <sup>bc</sup>
	40	60.50 <sup>c</sup>	12.50 <sup>b</sup>	11.75 <sup>d</sup>

Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level.

کو کوییت پرلیت در سه پارامتر درصد سازگاری، سطح برگ و طول گیاهچه وضعیت بهتری نسبت به دو بستر دیگر داشت. همچنین از لحاظ درصد سازگاری بین بستر ترکیبی کو کوییت پرلیت با پیتماس در هر سه گونه تفاوت معنی داری وجود نداشت. در بین سه گونه نیز گونه *B. elatior* با بیشترین سطح برگ (۷۷/۸۴ میلی متر مربع) و بیشترین افزایش در طول گیاهچه (۳۹/۶۵) در بستر ترکیبی کو کوییت پرلیت وضعیت رشدی بهتری داشت (جدول ۶).

### نتیجه گیری

طی مجموعه آزمایشاتی که برای بهینه سازی شرایط کشت درون شیشه‌ای بگونیا با بررسی نوع ترکیب تنظیم کننده رشدی و گونه انجام شد نشان داد که گونه‌های مختلف برای باززایی گیاهچه پاسخ متفاوتی نسبت به ترکیب‌های تنظیم کننده رشدی نشان می‌دهند. به طوری که گونه *B. soli-mutata*، در غلظت یک و دو میلی گرم در لیتر Kin همراه با ۰/۲ میلی گرم در لیتر NAA، گونه *B. elatior* در غلظت یک و دو میلی گرم

در طی مراحل ریزادیدادی، ریشه‌زایی شاخساره‌های باززایی شده از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. در این مرحله اکسین‌ها و کربوهیدرات محیط کشت نقش اساسی را ایفا می‌کنند (Fatima and Anis, 2012). کربوهیدرات‌ها به عنوان منبع تأمین کننده انرژی و همچنین به عنوان عامل حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط درون شیشه‌ای عمل می‌کنند. علاوه بر این رشد و آغازش ریشه از جمله مراحل هستند که به انرژی زیادی نیازمند است و با صرف سوپسترای متابولیکی که عمدتاً کربوهیدرات‌ها می‌باشند، رخ می‌دهد بنابراین اضافه نمودن مقدار مناسب قند به محیط کشت ضروری است (Fatima et al., 2015).

### سازگاری گیاهچه‌های بگونیا

نتایج جدول تجزیه واریانس اثر گونه و نوع بستر بر سازگاری گیاهچه‌های بگونیا نشان داد که بین سه گونه و سه نوع بستر در تمام صفات مورد بررسی در سطح احتمال خطای پنج درصد تفاوت معنی داری وجود داشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بستر ترکیبی

**Table 6. Effect of Species and bed substrate on acclimation of Begonia**

Species	Substrate of bed	Acclimation percentage	Leaf area (mm <sup>2</sup> )	Plantlet length (m)
<i>B. solimutata</i>	Sand	62.33 <sup>b</sup>	9.81 <sup>d</sup>	13.75 <sup>b</sup>
	CocoPeat and perlite	100 <sup>a</sup>	41.87 <sup>c</sup>	37.35 <sup>a</sup>
	Peat moss	100 <sup>a</sup>	15.48 <sup>d</sup>	16.80 <sup>b</sup>
<i>B. elatior</i>	Sand	68.33 <sup>b</sup>	9.81 <sup>d</sup>	0.00 <sup>c</sup>
	CocoPeat and perlite	100 <sup>a</sup>	77.84 <sup>a</sup>	39.65 <sup>a</sup>
	Peat moss	100 <sup>a</sup>	18.75 <sup>d</sup>	19.72 <sup>b</sup>
<i>B. tiger</i>	Sand	53.33 <sup>b</sup>	8.84 <sup>d</sup>	12.41 <sup>b</sup>
	CocoPeat and perlite	100 <sup>a</sup>	60.50 <sup>b</sup>	41.78 <sup>a</sup>
	Peat moss	100 <sup>a</sup>	21.80 <sup>d</sup>	17.73 <sup>b</sup>

Means within a column followed by the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level.

بستر مناسبی برای سازگاری است.

### سپاس‌گزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شده است و از امکانات و خدمات آزمایشگاهی جهاد دانشگاهی مشهد نیز بهره گرفته شده است، لذا از همکاری این دو ارگان برای پیشبرد اهداف این پژوهش سپاس‌گزاری می‌شود. همچنین از همکاران گروه بیوتکنولوژی گیاهی جهاد دانشگاهی مشهد بابت حمایت‌های علمی و معنوی قدردانی می‌شود.

در لیتر TDZ همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و گونه *B. tiger* در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر هر دو نوع سیتوکینین (Kin و TDZ) همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA بهترین پاسخ را به باززایی گیاهچه نشان دادند. با توجه به ریشه‌زایی ضعیف‌تر *B. elatior* اثر نوع اکسین و غلظت ساکارز بر ریشه‌زایی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج مبین این بود که اکسین IAA و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز باعث بیشترین ریشه‌زایی در این گونه شد. نتایج سازگاری گیاهچه‌ها نیز نشان دارد که بستر ترکیبی کوکویت پرلیت در هر سه گونه

### References

- Bigot, C. (1981). Multiplication vegetative in vitro de *Begonia×hiemalis* (Rieger et Schwabenland): II. Conformance des plantlets elevés en serre. *Agronomie*, 1(6), 441-448.
- Burritt, D., & Leung, D. (2003). Adventitious shoot regeneration from *Begonia erythrophyll* petiole sections is developmentally sensitive to light quality. *Physiologia Plantarum*, 118(2), 289-296.
- Castillo, B., & Smith, M. A. L. (1997). Direct somatic embryogenesis from *Begonia gracilis* explants. *Plant Cell Reports*, 16(1), 385-388.
- Espino, F. J., Linacero, R., Rueda, J., & Vazquez, A.M. (2004). Shoot regeneration in four *Begonia* genotypes. *Biologia Plantarum*, 48(1), 101-104.
- Fatima, N., Ahmad, N., Ahmad, I., & Anis, M. (2015). Interactive effects of growth regulators, carbon sources, pH on plant regeneration and assessment of genetic fidelity using single primer amplification reaction (SPARS) techniques in *Withania somnifera* L. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 177(1), 118-136.
- 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.
- Kabirnatj. S., Ghasemi, Y., Nematzadeh, G., Asgharzadeh, R., ShahinKaleybar, B., & Yazdani, M. (2012). Effect of explant type and growth regulators on invitro micropropagation of *Begonia rex*. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 3(1), 896-901 [In Farsi]

- Kaviani, B., Hashemabadi, D., Khodabakhsh, H., Onsinejad, R., Ansari, M. H., & Haghghat, N. (2015). Micropropagation of *Begonia rex* Putz. by 6-benzyladenine and  $\alpha$ - naphthalene acetic acid. *International Journal of Biosciences*, 6(5), 8-15.
- Kharrazi, M., Sharifi, A., Keykha Akhar, F., Bagheri, A., & Moradian, M. (2018). Effect of hormonal compositions on micropropagation of fifteen cultivars of gerbera (*Gerbera Jamesonii* bolus ex hooker f.). *Plant Productions*, 40(4), 91-102. [In Farsi]
- 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.
- Kumaria, S., Kehie, M., Bhowmik, S., Singh, M., & Tandon, P. (2011). *In vitro* regeneration of *Begonia rubrovenia* var. *meisneri* C.B. clark a rare and endemic ornamental plant of Meghalaya. India. *Indian Journal of Biotechnology*, 11(1), 300-303.
- Lai, I. L., Lin, C. W., Chen, T. Y., & Hu, W. H. (2018). Micropropagation shortens the time to blooming of *Begonia montaniformis*  $\times$  *Begonia ningmingensis* var. *bella* F1 progeny. *HortScience*, 53(12), 1855-1861.
- Mendi, Y., Curuk, P., Kocaman, E., Unek, C., Eldogan, S., Gencil, G., & Centiner, S. (2009). Regeneration of begonia plantlet by direct organogenesis. *African Journal of Biotechnology*, 8(9), 1860-1863.
- Nada, S., Chennareddy, S., Goldman, S., Rudrabhatla, S., Potlakayala, S., Josekutty, P., & Deepkamal, K. (2011). Direct shoot bud differentiation and plantlet regeneration from leaf and petiole explants of *Begonia tuberhybrida*. *Hort Science*, 46(5), 759-76.
- Nhut, D. Hai, N. Huyen, P. Huong, D. Hang, N., & Silva, J. (2005). Thidiazuron induces high frequency shoot bud formation from begonia petiole transverse thin cell layer culture. *Propagation of Ornamental Plants*, 5(3), 151-157.
- Parsamanesh, Z., Bayat, F., & Hedaya, M. (2018). Optimizing *In Vitro* Regeneration of *Hypericum* (*Hypericum erforatum* L.). *Plant Productions*, 40(4), 103-115. [In Farsi]
- 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.
- 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.