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[1], Nasrin Moshtaghi[2]*, Ahmad Sharifi [3], Abdolreza Bagheri[4], Hasan Marashi[5], Fateme Keykha Akhar[6]

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 diferent 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 tab 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 petiols 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 acheived in cocopeat perlite mixture and peat moss pot substrate.

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

مقاله پژوهشی

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

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

اثر نوع و ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد در ریزازدیادی سه گونه بگونیا

فاطمه حسینی[۱]، نسرین مشتاقی[۲]*، احمد شریفی[۳]، عبدالرضا باقری[۴]، حسن مرعشی[۵]، فاطمه کیخاآخر[۶]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- ***نویسنده مسئول:** دانشیار، گروه بیوتکنولوژی و بِه‌نژادی 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 بِه‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۵- استاد، گروه بیوتکنولوژی و بِه‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و پژوهشکده فناوری زیستی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۶ -استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵

چکیده

بگونیا یکی از رایج‌ترین گیاهان زینتی در سراسر جهان می‌باشد که به‌عنوان گیاه باغی، گلدانی، آویز و گلخانه‌ای پرورش می‌یابد. تکنیک‌های کشت‌بافت گیاهی روش جایگزینی برای تولید انبوه گیاهان یکسان بگونیا می‌باشد و می‌تواند بر مشکلات ناشی از روش‌های 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 سیتوکنین‌های TDZ و Kin با غلظت‌های ۰/۲، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با NAA (صفر و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) بر ریزازدیادی سه گونه مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه ریشه‌زایی شاخه‌ها در محیط کشت حاوی سه نوع اکسین بررسی‌شده 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 میلی‌گرم در لیتر Kin و در گونه *B. elatior* در غلظت یک و دو میلی‌گرم در لیتر TDZ و در گونه *B. tiger* در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر هر دو نوع سیتوکنین به‌دست‌آمد. در همه غلظت‌های سیتوکنین استفاده از ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر از NAA تأثیر مثبتی بر باززایی گیاهچه داشته است. همچنین در فرآیند ریشه‌زایی کاربرد IAA با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با ۳۰ گرم در لیتر ساکارز بیشترین درصد ریشه‌زایی را به همراه داشته و سازگاری مطلوبی از گیاهچه‌ها در بستر حاوی مخلوط کوکوپیت و پرلیت و یا پیت ماس به تنهایی به‌دست‌آمد.

کلیدواژه‌ها: بگونیا، ترکیب محیط کشت، کشت درون شیشه‌ای

مقدمه

تولید تجاری گیاهان زینتی در سرتاسر جهان درحال افزایش است و ارزش پولی آن به‌طور قابل توجهی در طول دو دهه گذشته افزایش یافته است (Kumaria et al., 2011). بگونیا یک جنس از گیاهان گلدار و یکی از ۱۰ جنس بزرگ بازدانگان و از خانواده Begoniaceae می‌باشد. در این جنس یکی از موضوعات مورد توجه برای تحقیقات کشت بافت آن است (Tian et al., 2018). تکثیر

رویشی بگونیا به خاطر شیوع سریع بیماری‌ها مشکل است. تکنیک‌های کشت بافت گیاهی روش جایگزینی برای تولید انبوه گیاهان یکسان بگونیا می‌باشد و می تواند بر مشکلات ناشی از روش‌های تکثیر رویشی غلبه نماید. اگرچه روش‌های کشت بافت و شرایط آن برای انواع گونه‌های بگونیا تاحدودی مشابه است ولی نیاز این گونه‌ها به تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط کشت متفاوت می‌باشد. نتایج به‌دست‌آمده توسط محققان مختلف (Castillo and Smith, 1997; Burritt and Leung, 2003) نشان می‌دهد که غلظت‌های متنوع و ترکیبات مختلفی از اکسین و سیتوکینین برای باززایی گونه‌های مختلف بگونیا موردنیاز است.

به‌طورکلی، سطوح تنظیم‌کننده‌های رشد مورد استفاده اغلب عامل پیچیده‌ای برای کالوس‌زایی، باززایی یا رشد و تمایز ریزنمونه کشت‌شده، هستند و تقسیم سلولی را تحریک و تمایز سلولی و اندام‌زایی را کنترل می‌کنند. نوع و غلظت مناسب تنظیم‌کننده‌های 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.×elatior از محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میکرومولار Kin و ۰/۵ میکرومولار 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 میلی‌گرم در لیتر Kin و دو درصد شیر نارگیل به‌دست‌آمد. در پژوهشی توسط Kumaria et al. (2011) برروی باززایی گیاهچه گیاه *B. rubrovenia* گزارش نمودند که محیط کشت MS تکمیل‌شده با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ریزنمونه دمبرگ استفاده کردند و به‌طور متوسط ۶۵ جوانه شاخه از هر ریزنمونه تولید کردند. گیاهچه‌ها در محیط کشت MS تکمیل‌شده با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA ریشه‌دارشده و با موفقیت با شرایط گلخانه سازگارشده و به محیط طبیعی انتقال یافتند. Nada 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 تکمیل‌شده با یک میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با دو میلی‌گرم در لیتر TDZ و برای ریزنمونه دمبرگ محیط کشت MS تکمیل‌شده با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با دو میلی‌گرم 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 میلی‌گرم در لیتر NAA ریشه دادند. Kabirnataj et al. (2012) و Kaviani et al. (2015) بهترین محیط کشت برای القای جوانه شاخه در ریزنمونه برگ *B. rex* را به‌ترتیب محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA با تعداد ۴۱/۶ گیاهچه و محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA با تعداد ۴۴/۳ گیاهچه گزارش کردند. Shobi and Viswanathan (2017) برای باززایی گیاهچه *B. fallax* ترکیب‌های مختلف سیتوکنین (BAP، Kin و TDZ) و اکسین (IAA، IBA و NAA) در محیط کشت پایه MS را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند که محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بهترین ترکیب است. همچنین آن‌ها در بررسی بهترین ترکیب محیط کشت برای ریشه‌زایی، ۰/۵ میلی‌گرم 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.

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 باززایی 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. soli-mutata* و *B. tiger*) کمتر مورد بررسی قرار گرفته است، انجام شد. با توجه به پاسخ‌های متنوع گونه‌های بگونیا به ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد محیط کشت اثر نوع سیتوکنین همراه با اکسین NAA بر باززایی گیاهچه و ریزازدیادی این سه گونه مورد بررسی قرار گرفت تا نحوه‌ی القای باززایی 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 بگونا مورد بررسی قرر گرفته است انجام شد. بررسی این سه گونه به‌طور همزمان می‌تواند نتایج خوبی از پاسخ گونه‌ها به شرایط باززایی 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.

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 جداشده به‌مدت ۳۰ دقیقه زیر آب‌جاری 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 دمای۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد با تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند. پس از آن هر ۴ هفته، واکشت ریزنمونه‌ها در محیط جدید انجام شد. ریزنمونه‌های TCL این گونه‌ها در محیط کشت MS حاوی سیتوکنین(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 به‌صورت آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد و پارامترهای باززایی گیاهچه شامل درصد زنده‌مانی ریزنمونه، درصد باززایی گیاهچه، درصد کالوس‌زایی و درصد ریشه‌زایی در پایان واکشت دوم و تعداد برگ و تعداد ریشه در پایان واکشت 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، IBAو NAA در ترکیب با غلظت‌های مختلف ساکارز(۳ و ۴ درصد) کشت شدند. این آزمایش به‌صورت آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. گیاهچه‌های ریشه‌دارشده در هر سه گونه به لیوان‌های یکبار مصرف حاوی سه نوع بستر مختلف شامل شن،

مخلوط کوکوپیت و پرلیت با نسبت ۱:۱ و پیتماس به تنهایی به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر منتقل شدند. این آزمایش نیز به‌صورت 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 به‌عنوان 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 گلدان انتقال داده‌شده 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 تبدیل‌شده، انجام شد.

نتایج و بحث

باززایی گیاهچه در سه گونه بگونیا

نتایج جدول تجزیه واریانس بررسی اثر گونه بر صفات مورد ارزیابی در شرایط درون شیشه‌ای نشان داد که بین سه گونه *B. soli-mutata*، *B. elatior* و *B. tiger* از نظر میانگین درصد زنده‌مانی، درصد کالوس‌زایی و درصد باززایی گیاهچه و تعداد برگ در سطح احتمال خطای پنج درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین درصد زنده‌مانی (۵۰/۹۷ درصد) در گونه *B. soli-mutata* به‌دست‌آمد (جدول ۱). از نظر درصد باززایی گیاهچه بین دو گونه *B. soli-mutata* و *B. tiger* تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. Espino et al. (2004) نیز در بررسی باززایی مستقیم جوانه‌های شاخه چهار گونه بگونیا (*B. elatior*، *B. semperflorence*، *B. rex*، *B. tiger*) در شرایط درون شیشه‌ای گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری 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 سیتوکنین بر صفات مورد ارزیابی در شرایط این‌درون شیشه‌ای نشان داد که بین دو نوع سیتوکنین TDZ و Kin از لحاظ درصد زنده‌مانی، درصد کالوس‌زایی، درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه در سطح احتمال خطای پنج درصد تفاوت معنی‌داری وجود داشت. مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد بیشترین درصد زنده‌مانی (۴۴/۴۳ درصد) و بیشترین تعداد ریشه (۱۱/۲۲ عدد) در حضور سیتوکنین Kin به‌دست‌آمد. از نظر درصد باززایی گیاهچه بین دو نوع سیتوکنین TDZ و Kin تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و بیشترین درصد کالوس‌زایی (۳۲/۵۵ درصد) و درصد ریشه‌زایی(۴۶/۷۷ درصد) در حضور سیتوکنین TDZ به‌دست‌آمد. Castillo (1997) and Smith برای تولید جنین‌های سوماتیکی در بگونیا از محیط کشت MS تکمیل‌شده با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin و دو درصد شیره نارگیل استفاده کردند. بیشترین تعداد جنین (۷۰-۶۰ عدد) از ریزنمونه‌های برگ به‌دست‌آمد. 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 میلی‌گرم در لیتر TDZ تولید شد. نتایج مبین این است که ساختارهای ژنتیکی متفاوت گونه‌های بگونیا باعث پاسخ‌های متفاوت به ترکیبات تنظیم‌کننده 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 ایجادشده توسط این دو تنظیم‌کننده رشد در ریزنمونه‌ها در القای باززایی یکسان بوده است. نتایج جدول تجزیه واریانس اثر متقابل

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

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

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 recentage	Root number
TDZ	43.42[b]	32.55[a]	31.63[a]	6.31[b]	46.77[a]	9.65[b]
Kin	44.43[a]	27.29[b]	35.19[a]	6.94[a]	39.15[b]	11.22[a]

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

گونه، نوع و غلظت سیتوکنین 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 معنی‌داری 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 سیتوکنین Kin به‌دست‌آمد (شکل ۱). بیشترین تعداد برگ (۱۷/۲۵ عدد) در گونه *B. tiger* در سطح دو میلی‌گرم در لیتر TDZ مشاهده شد (جدول ۳). در مجموع پاسخ ریزنمونه‌ها از لحاظ درصد زنده‌مانی ریزنمونه‌ها، درصد باززایی و تعداد برگ تولیدشده به نوع سیتوکنین و سطوح آن در سه گونه مورد بررسی نشان داد که گونه *B. soli-mutata* در محیط کشت حاوی یک تا دو میلی‌گرم در لیتر Kin، گونه *B. elatior* در محیط کشت حاوی یک تا دو میلی‌گرم در لیتر TDZ و *B. tiger* در محیط کشت حاوی دو میلی‌گرم در لیتر TDZ و Kin بهترین پاسخ را داد. نتایج مبین این موضوع است که کنش بین ترکیب تنظیم‌کننده‌های 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 تعداد ریشه در سطح احتمال خطای پنج درصد تفاوت معنی‌داری 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 میلی‌گرم در لیتر اکسین مشاهده شد (داده‌ها نشان داده نشده). این نتایج تأثیر معنی‌دار 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 تکمیل‌شده با غلظت‌های مختلفی از BA، NAA و IAA گزارش کردند. بیشترین درصد باززایی گیاهچه (۷۰ درصد) در محیط کشت تکمیل‌شده با دو میلی‌گرم در لیتر BA و یک میلی‌گرم 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 به‌طوری‌که در بهترین محیط تکمیل‌شده 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 سیتوکنین باعث بهبود باززایی و رشد گیاه می‌شود. Lai et al. (2018) برای باززایی گیاهچه در هیبرید *B. montaniformis* × *B. ningmingensis* در شرایط کشت بافت از محیط کشت

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 وجود داشت. بیشترین درصد زنده‌مانی (۶۴/۹۵ درصد) در گونه *B. soli-mutata* در غلظت ۰/۲ میلی‌گرم 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 میلی‌گرم در لیتر اکسین به‌دست‌آمد. از نظر بیشترین درصد ریشه‌زایی بین دو گونه *B. soli-mutata* و *B. tiger* (به‌ترتیب 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 میلی‌گرم در لیتر Kin همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و در گونه *B. elatior*

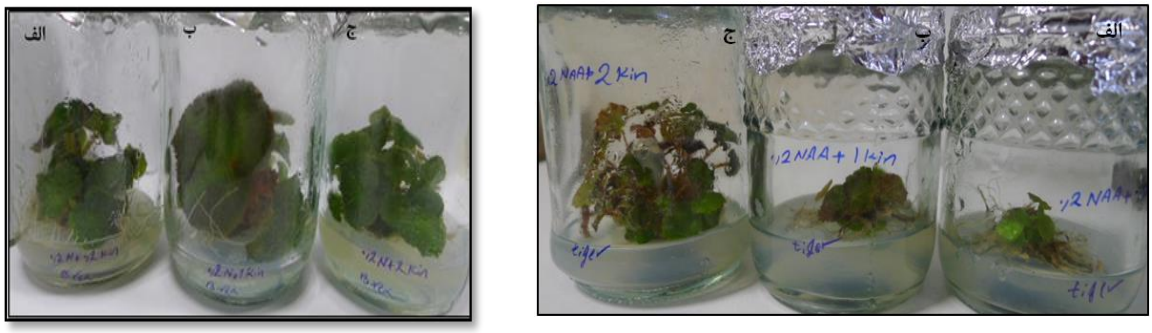

Figure 1. *B. soli-mutata* plantlets in different concentration of Kin, left) 0.2 mg/l Kin + 0.2 mg/l NAA, middle) 1 mg/l Kin + 0.2 mg/l NAA, right) 2 mg/l Kin + 0.2 mg/l NAA

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

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

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
B. soli-mutata	0	37.00[c]	7.33[cd]	25.42[c]	1.83[d]	17.91[c]	3.70[c]
	0.2	64.95[a]	15.08[c]	47.50[b]	10.62[b]	93.37[a]	26.58[a]
B. elatior	0	28.50[d]	0.00[d]	0[d]	0.00[e]	0.00[d]	0.00[d]
	0.2	51.83[b]	67.33[b]	50.25[b]	9.16[c]	46.50[b]	5.25[b]
B. tiger	0	24.58[e]	0.00 [d]	0[d]	0.00[e]	0.00[d]	0.00[d]
	0.2	56.69[b]	89.79[a]	81.60[a]	18.16[a]	100[a]	27.08[a]

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

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 سیتوکنین و غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست‌آمد (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 به‌دست‌آمد. Nhut et al. (2005) جهت ریزازدیادی *B. tuberous* 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) سیتوکنین‌های BAP، Kin 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، تمایزیابی و اندام‌زایی توسط تعامل بین غلظت‌های سیتوکنین 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 تمایزیابی مهم می‌باشد (Fatima and Anis, 2012).

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 به‌دست‌آمد (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 ژربرا اکسین‌های مختلف را بررسی و گزارش کردند که یک میلی‌گرم در لیتر IBA برای ریشه‌زایی بهتر بود. Parsamanesh et al. (2018) نیز برای ریشه‌زایی گیاهچه‌های گل راعی سطوح مختلف IBA را بررسی و گزارش کردند که سطوح مختلف اکسین اثری روی تعداد ریشه تولیدی نداشت اما روی طول ریشه مؤثر بود.

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[a]	22.00[a]	21.25[a]
	40	98.75[a]	13.25[b]	12.25[cd]
IBA	30	80.00[b]	18.75[a]	19.25[ab]
	40	33.00[d]	6.75[c]	7.50[e]
NAA	30	66.50[bc]	14.50[b]	15.75[bc]
	40	60.50[c]	12.50[b]	11.75[d]

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

در طی مراحل ریزازدیادی، ریشه‌زایی شاخساره‌های باززایی‌شده از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. در این مرحله اکسین‌ها و کربوهیدرات محیط کشت نقش اساسی را ایفا می‌کنند (Fatima and Anis, 2012). کربوهیدرات‌ها به‌عنوان منبع تأمین‌کننده انرژی و همچنین به‌عنوان عامل حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط درون شیشه‌ای عمل می‌کنند. علاوه براین رشد و آغازش ریشه از جمله مراحلی هستند که به انرژی زیادی نیازمنداست و با صرف سوبسترای 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 معنی‌داری وجود داشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بستر ترکیبی کوکوپیت 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 کوکوپیت پرلیت با پیتماس در هر سه گونه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. در بین سه گونه نیز گونه *B. elatior* با بیشترین سطح برگ (۷۷/۸۴ میلی‌متر مربع) و بیشترین افزایش در طول گیاهچه (۳۹/۶۵) در بستر ترکیبی کوکوپیت پرلیت وضعیت رشدی بهتری داشت (جدول ۶).

نتیجه‌گیری

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

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

Species	Substrate of bed	Acclimation percentage	Leaf area (mm2)	Plantlet length (m)
B. soli-mutata	Sand	62.33[b]	9.81[d]	13.75[b]
	CocoPeat and perlite	100[a]	41.87[c]	37.35[a]
	Peat moss	100[a]	15.48[d]	16.80[b]
B. elatior	Sand	68.33[b]	9.81[d]	0.00[c]
	CocoPeat and perlite	100[a]	77.84[a]	39.65[a]
	Peat moss	100[a]	18.75[d]	19.72[b]
B. tiger	Sand	53.33[b]	8.84[d]	12.41[b]
	CocoPeat and perlite	100[a]	60.50[b]	41.78[a]
	Peat moss	100[a]	21.80[d]	17.73[b]

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

در لیتر TDZ همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و گونه *B. tiger* در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر هر دو نوع سیتوکنین (TDZ و Kin) 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 کوکوپیت پرلیت در هر سه گونه 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.

References

Bigot, C. (1981). Multiplication vegetative in vitro de *Begonia×hiemalis* (Rieger et Schwabenland): II. Conformite des plantlets elevees' 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.

Kabirnataj. 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., & Haghighat, N. (2015). Micropropagation of *Begonia rex* Putz. by 6-benzyladenine and α- 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. clarke 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* × *Begonia ningmingensis* var. bella F1 *progeny. HortScience*, 53(12), 1855-1861.

Mendi, Y., Curuk, P., Kocaman, E., Unek, C., Eldogan, S., Gencel, 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. P*lant Diversity*, 40(3), 75-90.

© 2021 Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).