گل و گیاهان زینتی (۱۴۰۱)، ۷(۱): ۱۱۹-۱۳۴
مقاله پژوهشی
DOI: 10.61186/flowerjournal.7.1.119

بهینه‌سازی پرآوری و باززایی بگونیا هیمالیس (*Begonia* × *hiemalis* Fotsch.)

سوسن سرو[۱]، مرضیه قنبری جهرمی[۱*]، لیلا حکیمی[۲]

۱- گروه علوم باغبانی و زراعی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۲- گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد ساوه، دانشگاه ازاد اسلامی، ساوه

ghanbari@srbiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۵، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۴/۲۱، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۴/۲۳

چکیده

بگونیا هیمالیس (*Begonia* × *hiemalis* Fotsch.) گیاهی گلساره‌ای و زیباست که از نظر گوناگونی رنگ اهمیت ویژه‌ای دارد. این پژوهش با هدف ریزافزایی بگونیا هیمالیس با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در شرایط درون شیشه‌ای در سه آزمایش جداگانه انجام شد. آزمایش پرآوری به صورت فاکتوریل بر پایه طرح به‌طورکامل تصادفی با استفاده از نفتالن استیک اسید (NAA) در سطوح صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و بنزیل‌آدنین (BA) و کینتین (Kin) در سطوح صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر انجام شد. بیشترین وزن تر و خشک شاخساره و ریشه، تعداد برگ و میزان پرآوری در محیط حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و Kin به‌دست آمد. از سطوح مختلف سیتوکینین، BA ۱ میلی‌گرم در لیتر موثرتر از سایر سطوح بود. درصد قهوه ای شدن در تیمارهای بدون استفاده از NAA بیشتر از سایر تیمارها بود. از ایندول بوتیریک اسید (IBA) در سطوح صفر، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر برای انگیزش ریشه‌زایی استفاده شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان ریشه‌زایی در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شد. بررسی برخی ویژگی‌ها در گیاهان سازگار شده نشان داد که در مرحله سازگاری، گیاهان پرآوری شده حاصل از هر دو تیمار سیتوکینین از نظر ویژگی‌های فیتوشیمیایی کیفیت قابل قبولی داشتند. با توجه به این‌که در مورد ویژگی های کلروفیل کل، کلروفیل a، فنول و فلاوونوئید کل تیمار BA مقادیر بالاتری نشان داد، می‌توان BA را به عنوان سیتوکنین برتر و مناسب برای پرآوری و افزایش تجاری بگونیا هیمالیس پیشنهاد داد.

واژه‌های کلیدی: بگونیا هیمالیس، بنزیل آدنین، ریزافزایی، نفتالن استیک اسید.

مقدمه

بگونیا هیمالیس[۱] گیاهی گلدار با گل‌هایی به رنگ‌های قرمز، صورتی، زرد و نارنجی و غیره است. این گیاه دوپایه بوده و گل‌های نر و ماده روی یک پایه آن قرار گرفته‌اند، گل‌های نر دارای پرچم‌های بسیار و گل‌های ماده نیز دارای یک تخمدان بزرگ دو یا چهار قسمتی است. این نوع از بگونیا دورگه و سایه دوست بوده که حتی در زمستان هم گل می‌دهد و در بازار بین‌المللی گل و گیاهان زینتی، یک گیاه گلدانی پرطرفدار است (Nakashima, 2019).

۱- Elatior begonia (*Begonia* × *hiemalis* Fotsch.)

ریزافزایی[۱] تولید گیاه با استفاده از ریزنمونه‌هایی نظیر اندام، بافت و یاخته‌های گیاهی به شکل گندزدایی شده در محیط‌های کشت مصنوعی در شرایط درون شیشه‌ای است (Noruzpour *et al*., 2019). این فناوری به عنوان یکی از شاخه‌های زیست فناوری، کاربرد گسترده‌ای در علوم کشاورزی و به ویژه باغبانی دارد (Tripathi *et al*., 2019). هورمون‌های گیاهی، تنظیم کننده‌هایی هستند که توسط گیاه تولید شده و در غلظت‌های کم می‌توانند فرایندهای فیزیولوژیک گیاه را تنظیم کنند. هورمون‌ها عهده‌دار تنظیم و هماهنگی فرآیندهایی هستند که در نقاط مختلف پیکر گیاهان صورت می‌گیرند. این مواد از ترکیبات آلی هستند که در بافت‌های ویژه‌ای ساخته می‌شوند و به طور مستقیم از یاخته‌ای به یاخته دیگر و یا از طریق آوندها در سراسر گیاه انتقال یافته و در محل هدف تاثیر می‌گذارند (Ljung, 2013). از قابلیت‌های کشت بافت باززایی گیاهان از یک یاخته یا اندام گیاهی است که با کشف هورمون‌های گیاهی امکان‌پذیر شد. باززایی یک گیاه کامل از یک یاخته منفرد نوعی افزایش رویشی در گیاهان محسوب می‌شود (Kazeroonian *et al*., 2017). درصد باززایی در گیاهان بسته به گونه گیاه، شرایط محیط و ترکیب هورمونی متفاوت است (Nourafcan & Ansari, 2017).

در پژوهشی با هدف بررسی تاثیر نوع تنظیم کننده رشد گیاهی و ژنتیک در ریزافزایی گیاه ختمی، بیشترین پرآوری، طول شاخساره، درصد ریشه‌زایی و طول شاخه از تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین در توده شیراز و کمترین میزان آن‌ها مربوط به تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر کینیتین و نفتالن استیک ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر در توده کرج به دست آمد (Ghaznavi *et al*., 2020). بررسی اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر کشت بافت گیاه *B. rex* نشان داد که بیشترین میانگین تولید برگ مربوط به تیمار BA با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر همراه با NAA با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بود و تیمارBA با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و NAA با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر کمترین میانگین تولید برگ داشت (Abedini & Golaein, 2012). بررسی اثر نوع و ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد در ریزافزایی سه گونه بگونیا (*B. soli-mutata*، *B. tiger* و *B. elatior*) نشان داد که بیشترین درصد باززایی گیاهچه (۱۰۰٪) 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 (Hosseini *et al*., 2021). در پژوهشی شاخه‌زایی، ریشه‌زایی و سازگاری گیاه *B. homonyma* تحت غلظت‌های مختلف اکسین و سیتوکنین بررسی شد. نتایج نشان داد که بیشترین میزان شاخه‌زایی از تیمار ۱۵ میکرومولار BA همراه با ۵ میکرومولار NAA به دست آمد. گیاهان حاصل از تیمار ریشه‌زایی ۱۵ گرم در لیتر سوکروز، ۲ میکرومولار IBA و ۰/۵ میکرومولار NAA دارای بیشترین تعداد ریشه بودند و به طور کامل در گلخانه سازگار شدند (Kumari *et al*., 2017). بررسی واکنش رشدی سه گونه *B. scottii*، *B. atricha* و *B. leuserensis* در محیط‌های حاوی تنظیم کننده‌های رشد مختلف نشان داد که سه گونه بگونیا در ترکیب محیط‌های MS+BA و MS+TDZ پاسخ‌های رشد متفاوتی داشتند. ترکیب محیط های MS+TDZ تعداد ساقه‌های بیشتری تولید می کند، در حالی که ترکیب محیط‌های MS+BA بر تعداد برگ‌ها بیشتر تأثیر می‌گذارد (Ismaini *et al*., 2021). با توجه به این که گونه‌های مختلف بگونیا واکنش رشدی متفاوتی نسبت به تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف در شرایط درون شیشه دارند و پژوهش‌های محدودی بر روی بهینه‌سازی تکثیر درون شیشه برخی از گونه‌های بگونیا انجام شده است، این پژوهش با هدف بهینه‌سازی پرآوری بگونیا هیمالیس (*Begonia* × *hiemalis* Fotsch) انجام شد.

۱- Micropropagation

مواد و روش‌ها

در این پژوهش با هدف بررسی امکان ریزافزایی گیاه بگونیا هیمالیس از رقم وارداتی *Begonia* × *hiemalis* Fotsch var. Adonia از شرکت Koppe کشور هلند استفاده شد. به منظور بهینه‌سازی پرآوری گیاه بگونیا ریزنمونه جوانه جانبی به همراه برگ از گیاهان مادری رشد یافته در گلخانه تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در کرج تهیه شد. از آنجایی که سلامت گیاه مادری و ریزنمونه تهیه شده از آن در موفقیت کشت درون شیشه‌ای نقش بسزایی دارد، شرایط محیطی از جمله نور، درجه حرارت، میزان رطوبت، کنترل آفات و بیماری‌ها و تغذیه در حد مطلوب حفظ گردید. تهیه ریزنمونه از گیاهان گلدانی دوساله که آلوده به سموم شیمیایی نبودند، انجام شد. مراحل گندزدایی ریزنمونه‌ها شامل غوطه‌ورسازی ریزنمونه‌ها در الکل اتانول ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه، سپس شستشو با آب مقطر و در مرحله بعد غوطه‌ورسازی آن‌ها در هیپوکلریت سدیم ۲٪ به مدت ۱۰ دقیقه و در نهایت شستشو با آب مقطر حاوی نانوسیلور (Borer Chemie Company, Switzerland) با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر در زیر هود لامینار بود. ریزنمونه‌ها پس از طی مراحل گندزدایی در محیط کشت پایه MS حاوی مواد تنظیم کننده رشد مختلف کشت شدند و ظروف کشت به اتاق رشد با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و نورگاه ۸/۱٦ قرار داده شدند.

آزمایش اول: پرآوری

آزمایش پرآوری به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی در محیط کشت MS حاوی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی نفتالن استیک اسید (NAA) در سطوح صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با سیتوکینین‌های بنزیل‌آدنین (BA) و کینتین (Kin) در سطوح صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر بررسی شد.

وزن تر اندام‌های هوایی و ریشه: وزن تر اندام‌های مختلف گیاه پس از برداشت با ترازوی دیجیتال Digital scale با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد. برای اندازه‌گیری وزن اندام هوایی و ریشه، گیاه کشت شده در هر شیشه از یقه (طوقه) توسط قیچی قطع شد و به طور جداگانه وزن شد (Inbar *et al*., 1994).

وزن خشک اندام هوایی و ریشه: پس از خشک کردن اندام‌های مختلف گیاه در دستگاه آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت، وزن خشک آن‌ها با ترازوی دیجیتال Digital scale با دقت ۰/۰۱ گرم به‌دست آمد (Inbar *et al*., 1994).

طول ریشه و شاخساره: طول ریشه و بلندترین شاخه با خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد.

درصد قهوه ای شدن: درصد قهوه ای شدن برگ با روش چشمی با توجه به شرایط نرمال، بر اساس شمارش نمونه‌های قهوه‌ای شده از صد نمونه مورد آزمایش به دست آمد.

میزان پرآوری: بر اساس تعداد گیاهچه تولید شده از هر ریز نمونه اولیه به‌دست آمد.

آزمایش دوم: ریشه‌زایی

پس از باززایی ریزنمونه‌ها، گیاهچه‌های حاصل از تیمارهای برتر به محیط کشت پایه MS به صورت طرح کاملا تصادفی با سطوح ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر تنظیم‌کننده رشد IBA انتقال داده شدند. در این مرحله پس از یک ماه، ویژگی هایی همچون طول ریشه، تعداد ریشه‌های تولید شده و وزن ریشه‌های تولید شده اندازه‌گیری شدند.

آزمایش سوم: استقرار و سازگاری گیاهچه‌های تولید شده

٤ هفته پس از کشت در محیط ریشه‌زایی، زمانی که گیاهچه‌ها ریشه‌های کافی تولید کردند و توانایی لازم برای جذب آب و املاح را دارا بودند، گیاهچه‌ها از محیط کشت ریشه‌زایی خارج و پس از شستشوی ریشه‌ها و حذف کامل آگار از سطح ریشه‌ها، به گلدان‌های کوچک حاوی نسبت ۱:۱ از پرلیت و پیت‌ماس، منتقل شدند. لازم به ذکر است که مخلوط پرلیت و پیت‌ماس قبل از کاشت جهت گندزدایی، اتوکلاو شدند.

پس از انتقال گیاهچه‌ها، برای حفظ رطوبت و کمک به سازگاری، لیوان‌های یکبار مصرف شفاف بصورت وارونه روی گلدان‌ها قرار داده شد. پس از گذشت حدود یک هفته از انتقال به خاک، برای سازگاری تدریجی گیاه با محیط؛ یک سوراخ کوچک در لیوان ایجاد گردید. این کار به مدت ۲ هفته ادامه یافت تا تقریبا تعداد سوراخ‌ها به ۱۰ عدد رسید. سپس لیوان‌ها از روی گلدان‌ها برداشته شدند. در این مرحله برخی ویژگی های بیوشیمیایی گیاه از جمله میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید و فنول و فلاونوئید کل در مرحله سازگاری اندازه‌گیری شد.

کلروفیل و کاروتنوئید: کلروفیل و کاروتنوئید برگ بر اساس روش Arnon (1949) در طول موج‌های ٤٨٠ و ٥١٠ و ٦٦٣ و ٦٤٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160) برای اندازه‌گیری میزان جذب نمونه‌ها استفاده شد. ابتدا دستگاه با استون ۸۰٪ صفر شده و سپس میزان جذب عصاره استخراج شده در طول‌موج‌های ٦٤٥ نانومتر، ٦٦٣ نانومتر و ٤٨٠ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. سپس با استفاده از رابطه‌های زیر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید محاسبه شد.

میلی‌گرم کلروفیل a در هر گرم برگ تر = [(12.7× A663)– (2.69× A645)]×V / 1000× W

میلی‌گرم کلروفیل b در هر گرم برگ تر = [(22.9× A645)– (4.69× A663)]×V / 1000× W

میلی‌گرم کلروفیل کل در هر گرم برگ تر =[(20.2× A645) + (8.02× A663)]×V / 1000× W

میلی‌گرم کاروتنوئید در هر گرم وزن تر = 7.6×(A480)- 14.9 × (A510) × V/1000×W

اندازه‌گیری فنول: محتوی فنولی به وسیله اسپکتروفتومتر، با روش Ouchikh *et al.* (2011) اندازه‌گیری شد. در این آزمایش ۲ گرم از نمونه به همراه ۸ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد هموژن شده و در سانتریفیوژ g×۱۲۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از روشناور با استفاده از سمپلر برداشته و درون فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد، سپس ۵۰۰ میکرولیتر فولین- سیوکالتو به محتوی فالکون افزوده شد و پس از ۲ دقیقه،یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد به مخلوط واکنش افزوده شد و حجم نهایی با استفاده از آب مقطر به ٦ میلی‌لیتر رسانده شد. فالکون‌ها به مدت ۹۰ دقیقه درون حمام بن‌ماری ۳۰ درجه سلسیوس (شرایط تاریکی) قرار داده شدند. جذب نمونه‌ها نیز در اسپکتروفتومتر با طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. این روش برای کلیه محلول‌های استاندارد اسید گالیک و رسم منحنی کالیبراسیون استاندارد به کار برده شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید: میزان فلاونوئید به روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید اندازه‌گیری شد. در این روش ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰٪، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. بعد از نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه، جذب مخلوط در طول موج ٤١٥ نانومتر قرائت شد. به منظور رسم منحنی از استاندارد کوئرستین استفاده شد (Chang *et al.*, 2002).

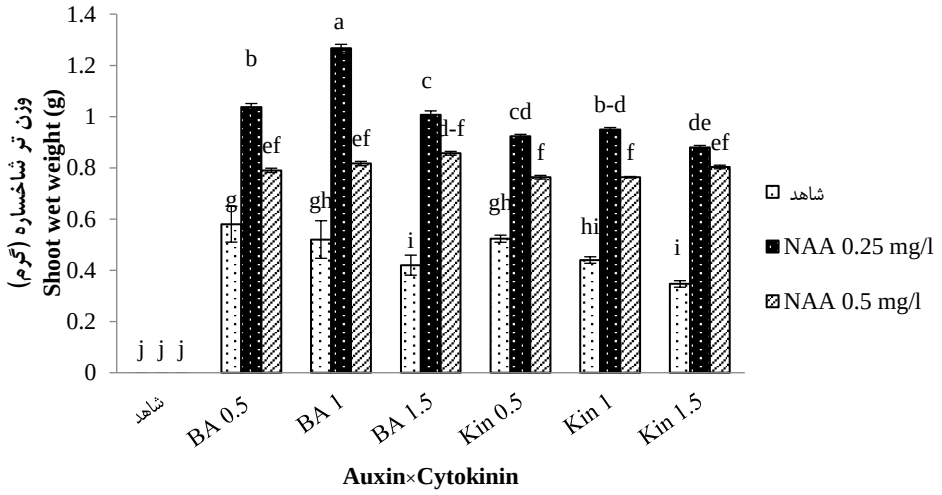
واکاوی داده‌ها و محاسبه‌های آماری: ابتدا داده‌ها در نرم‌افزار EXCEL ثبت و سپس با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS، تجزیه و تحلیل آماری انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

آزمایش اول: شاخه‌زایی و پرآوری

تجزیه واریانس وزن شاخساره و ریشه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده تنظیم کننده‌های رشد اکسین و سیتوکینین و برهمکنش این دو بر ویژگی های وزن تر و خشک شاخساره و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

وزن تر شاخساره: نتایج مقایسه میانگین برهمکنش ها نشان داد که برهمکنش ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA دارای بیشترین مقدار وزن تر شاخساره (۱/۲ گرم) بود (شکل ۱).



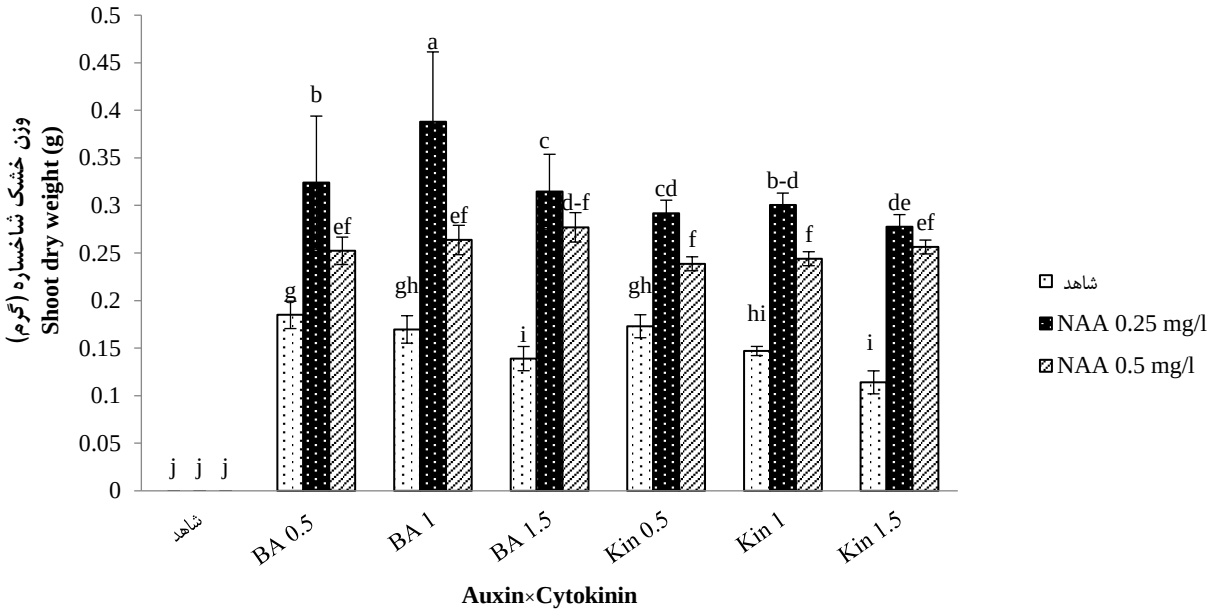
شکل ۱- مقایسه میانگین اثر برهمکنش اکسین و سیتوکینین بر وزن تر شاخساره بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪.

Figure 1. Mean comparison of the effect of auxin and cytokinin interaction on the fresh weight of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.

وزن خشک شاخساره: بر اساس نتایج مقایسه میانگین برهمکنش تنظیم کننده‌های رشد، برهمکنش ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA دارای بیشترین مقدار وزن خشک شاخساره (۰/۳۸ گرم) بود (شکل ۲).

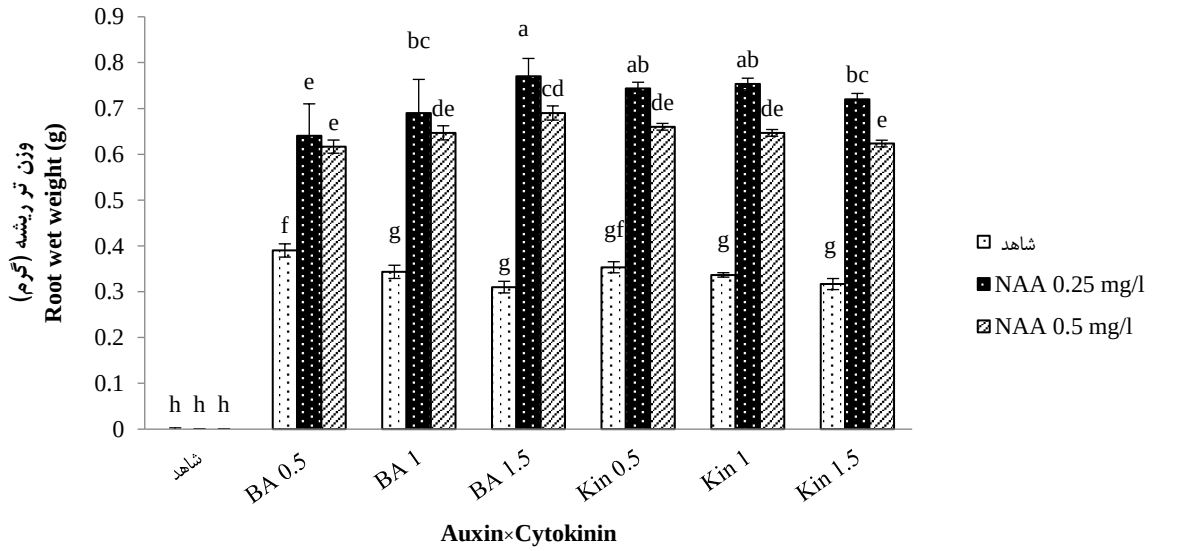
وزن تر ریشه: با توجه به نتایج مقایسه میانگین برهمکنش ها، تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA دارای بیشترین مقدار وزن تر ریشه (۰/۷۷ گرم) بود (شکل ۳).

وزن خشک ریشه: مقایسه میانگین برهمکنش ها نشان داد که برهمکنش ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA دارای بیشترین مقدار وزن تر ریشه (۰/۲۷ گرم) بود (شکل ٤).



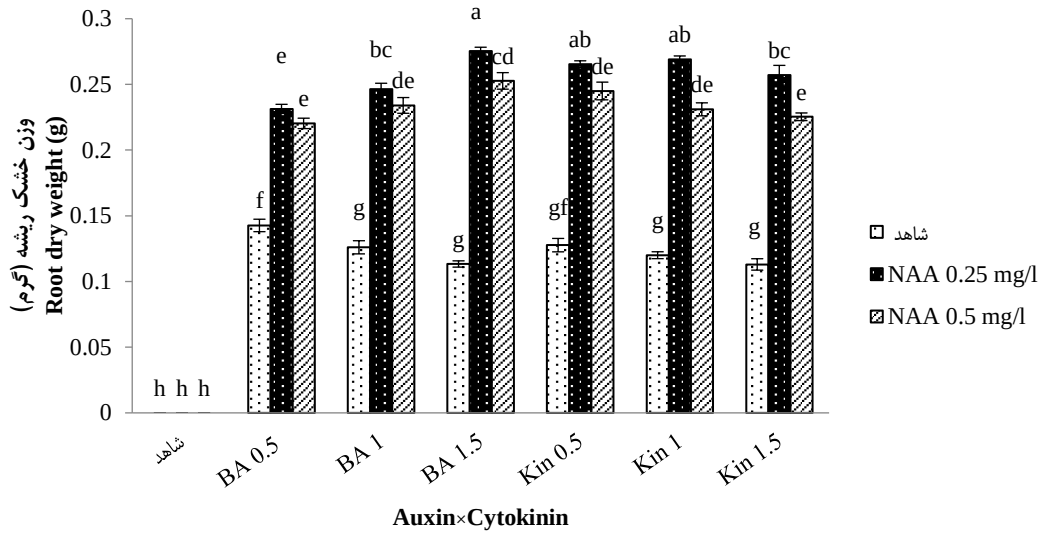
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر برهمکنش اکسین و سیتوکینین بر وزن خشک شاخساره بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪

Figure 2. Figure 1. Mean comparison of the effect of auxin and cytokinin interaction on shoot dry weight of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر برهمکنش اکسین و سیتوکینین بر وزن تر ریشه بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪

Figure 3. Mean comparison of the effect of auxin and cytokinin interaction on root fresh weight of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.

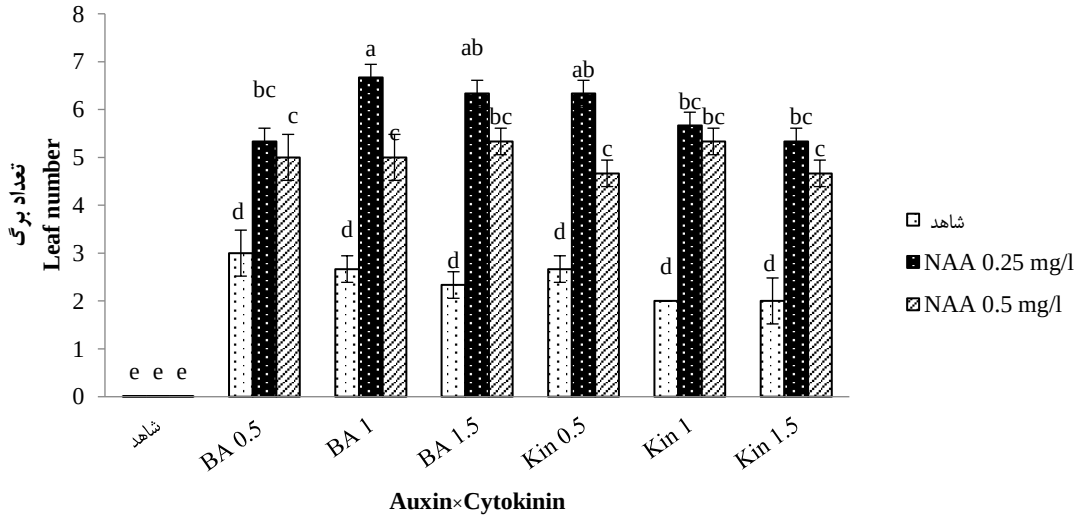


شکل ٤- مقایسه میانگین اثر برهمکنش اکسین و سیتوکینین بر وزن خشک ریشه بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪

Figure 4. Mean comparison of the effect of auxin and cytokinin interaction on root dry weight of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، اثرات ساده و متقابل هورمون اکسین و سیتوکینین بر تعداد برگ، طول شاخه، قهوه‌ای شدن و ضریب پرآوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

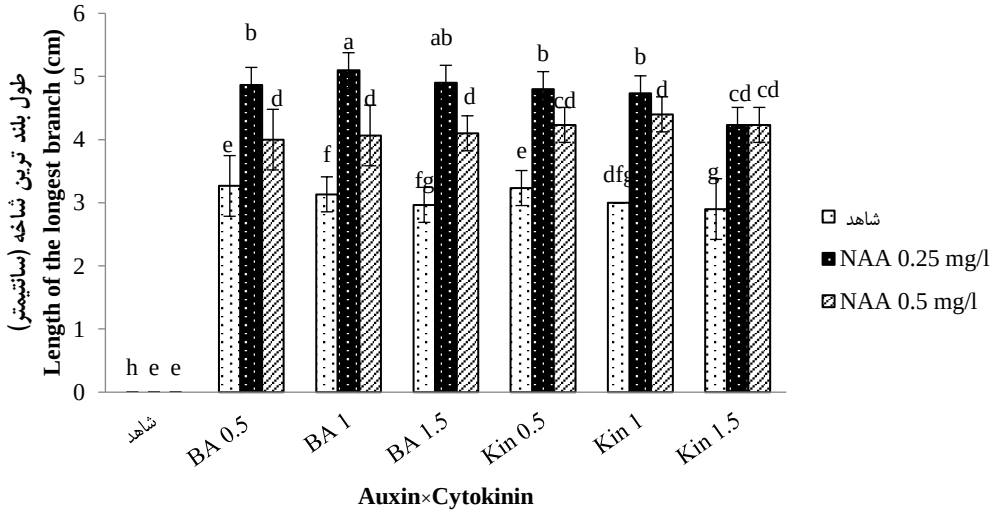
تعداد برگ: مقایسه میانگین برهمکنش ها نشان داد که تعداد برگ در تیمارهای برهمکنش ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA، برهمکنش ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA، برهمکنش ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل ۵).



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر برهمکنش اکسین و سیتوکینین بر تعداد برگ بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪

Figure 5. Mean comparison of the effect of auxin and cytokinin on leaf number of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.

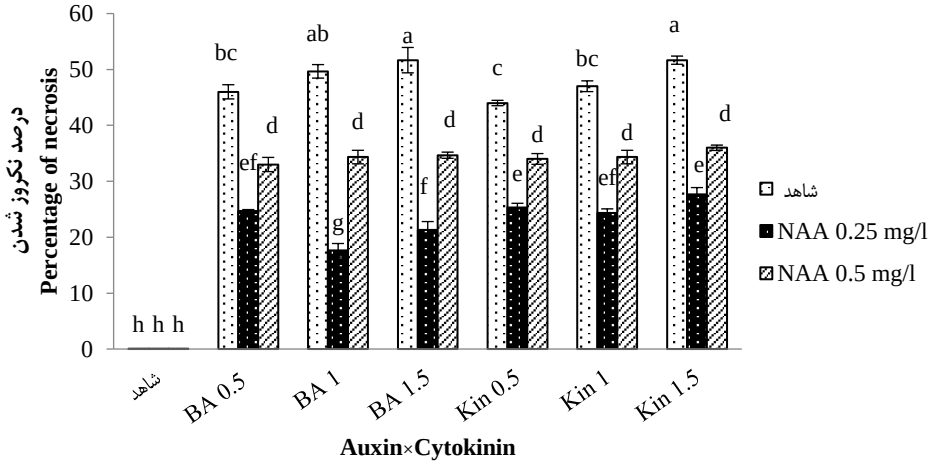
طول شاخه اصلی: نتایج مقایسه میانگین برهمکنش ها نشان داد که طول شاخه اصلی در تیمارهای برهمکنش ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA، برهمکنش ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل ٦).



شکل ٦- مقایسه میانگین اثر برهمکنش اکسین و سیتوکینین بر طول شاخه اصلی بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪.

Figure 6. Mean comparison of the effect of auxin and cytokinin on the length of the main branch of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.

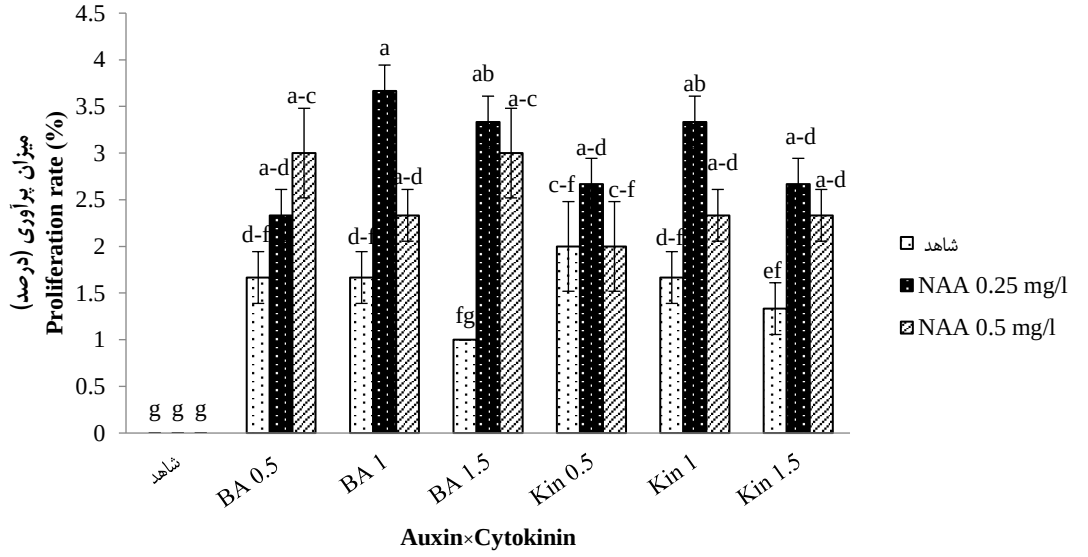
درصد قهوه ای شدن: بر اساس نتایج مقایسه میانگین برهمکنش ها، درصد قهوه ای شدن در تیمارهای برهمکنش عدم کاربرد NAA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA، برهمکنش عدم کاربرد NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و عدم کاربرد NAA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin بیش از سایر تیمارها بود (شکل ۷).



شکل ۷- مقایسه میانگین اثر برهمکنش اکسین و سیتوکینین بر قهوه‌ای شدن برگ بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪.

Figure 7. Mean comparison of the effect of auxin and cytokinin on leaf necrosis of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.

میزان پرآوری: با توجه به نتایج مقایسه میانگین برهمکنش ها، میزان پرآوری در تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA، برهمکنش ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin بیش از سایر تیمارها بود (شکل ۸).



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر برهمکنش اکسین و سیتوکینین بر میزان پراوری بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪.

Figure 8. Mean comparison of the effect of auxin and cytokinin on proliferation rate of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.

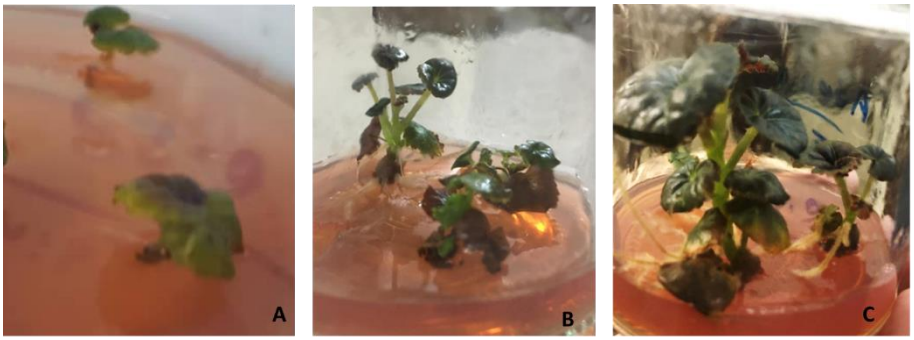
در پژوهش حاضر تمامی سطوح اکسین و سیتوکینین تاثیر مثبتی روی شاخه‌زایی و پرآوری گیاه داشتند. مقدار وزن تر و خشک گیاه و همچنین تعداد برگ و میزان پرآوری در تیمارهای ۱ میلی‌گرم در لیتر BA یا ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin همراه با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بیش از سایر تیمارهای آزمایشی گزارش شد. سیتوکینین‌ها در غلظت بالا سبب تحریک تولید ساقه‌های نابجا می‌شوند و غالبیت انتهایی را حذف می‌کنند (Munir *et al.*, 2012). یکی از مهم‌ترین مراحل ریزافزایی، مرحله پرآوری شاخه است؛ زیرا تهیه شاخساره‌ای مناسب برای ریشه‌زایی از ریزنمونه‌ها برای تکثیر انبوه از این مرحله آغاز می‌شود. سرعت پرآوری متأثر از تنظیم‌کننده‌های گیاهی به‌خصوص سایتوکینین‌ها می‌باشد، حضور سایتوکینین به پرآوری نمونه‌ها در محیط کشت کمک می‌کند (Shabbir *et al.*, 2009). تنظیم کننده‌های رشد و ترکیبات محیط کشت، عوامل کلیدی برای تکثیر در شیشه و باززایی هستند (Christensen *et al.*, 2008). سیتوکینین‌ها نقش بسیار مهمی در رشد و تمایز بافت‌ها دارند و باعث توسعه یاخته می‌شوند. این هورمون علاوه بر آنکه سرعت تقسیم یاخته را تنظیم می‌کند، رشد جوانه‌های جانبی را نیز تحریک می‌نماید. سیتوکینین‌ها نقش‌های متعددی در کنترل نمو گیاه بازی می‌کنند و در تحریک مستقیم یا غیرمستقیم ابتدای شاخه بسیار مؤثر هستند. در اغلب شرایط سنتز پروتئین‌ها را تحریک می‌کنند و اغلب آنزیم‌ها را فعال می‌کنند (Kumari *et al.*, 2017). سیتوکینین‌ها همراه با اکسین‌ها در تنظیم چرخه یاخته‌ای در یاخته‌های گیاهان شرکت می‌کنند (Taiz & Zeiger, 2006). علاوه بر این، اثرات هم‌افزایی کاربرد سیتوکینین و اکسین در پرآوری و رشد شاخه‌ها در گیاهان متعددی گزارش شده است (Hussain *et al.*, 2021؛

Yang *et al*., 2017). تعامل بین اکسین و سیتوکینین نقش تنظیم‌کنندگی مشخصی در رشد و نمو گیاه همچون چیرگی انتهایی، تشکیل و حفظ مریستم دارد. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که سیتوکینین‌ها سطوح اکسین و از طرفی دیگر اکسین‌ها نیز سطوح سیتوکینین‌ها را تنظیم می‌کنند (Fatima *et al*., 2015).

افزایش وزن تر و خشک شاخساره و ریشه و همچنین تعداد برگ تحت تاثیر تیمارهای مورد مطالعه در پژوهش حاضر همسو با نتایج پژوهش Abedini & Golaein, (2012) روی گونه بگونیا رکس می‌باشد. آن‌ها بیان کردند که BA ۲ میلی‌گرم در لیتر همراه با NAA ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بیشترین مقدار وزن تر و خشک شاخساره و ریشه را داشت که با توجه به نسبت سیتوکینین و اکسین استفاده شده همسو با پژوهش حاضر می‌باشد. در پژوهشی روی گونه *B. homonyma* نشان داده شد که بیشترین میزان پرآوری، طول شاخه و همچنین قهوه ای شدن شاخساره در تیمار حاوی ۱۵ میکرومولار BA و ۵ میکرومولار NAA حاصل شد (Kumari *et al*., 2017). طبق نتایج پژوهش حاضر و نتایج پیشین می‌توان نسبت ۳ تا ٤ برابر سیتوکینین به اکسین برای دستیابی به بیشترین پرآوری ارائه داد.

آزمون دوم: ریشه‌زایی

تجزیه واریانس ویژگی های ریشه‌زایی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر IBA روی طول ریشه، تعداد ریشه، وزن تر و خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. کاربرد همه غلظت‌های IBA باعث بهبود ویژگی های ریشه‌زایی بگونیا هیمالیس شد (شکل ۹).

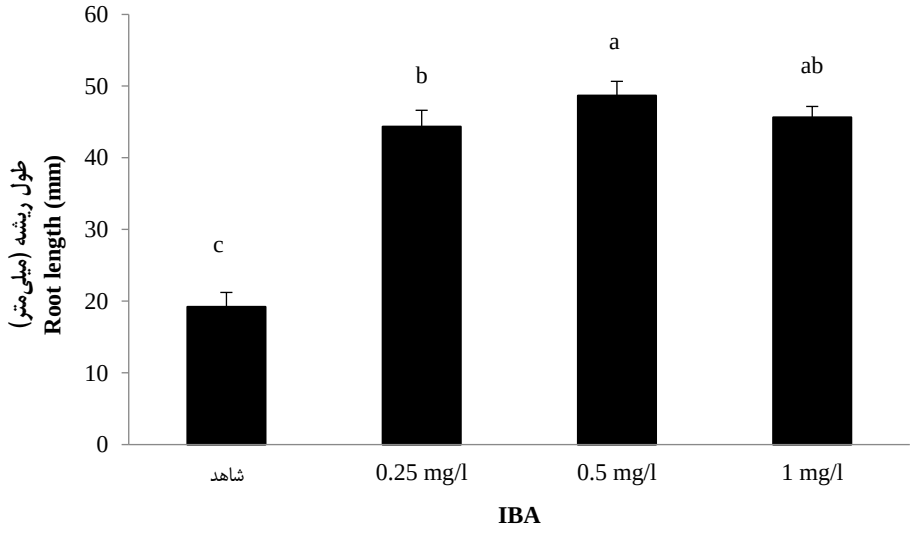


شکل۹- مراحل ریزافزایی *Begonia* × *hiemalis*، A: استقرار ریزنمونه، B: مرحله شاخه‌زایی، C: مرحله ریشه‌زایی.

Figure 9. Micropropagation stages of *Begonia* × *hiemalis*, A: establishment of explant, B: Shooting stage, C: Rooting stage.

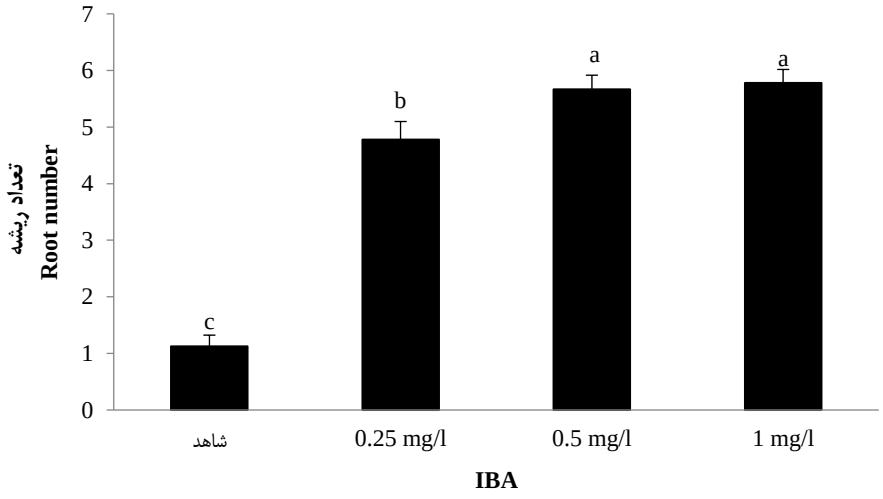
طول ریشه: طول ریشه در تمامی سطوح IBA بیشتر از شاهد و در تیمارهای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بیش از سایر تیمارها گزارش شد (شکل ۱۰).

تعداد ریشه: تعداد ریشه در تمامی سطوح IBA در شرایط شاهد (عدم کاربرد اکسین) کمتر از سایر تیمارها بود، اختلاف معنی‌داری در تعداد ریشه در تیمارهای ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر وجود نداشت (شکل ۱۱).



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف IBA بر طول ریشه بگونیا هیمالیس بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪

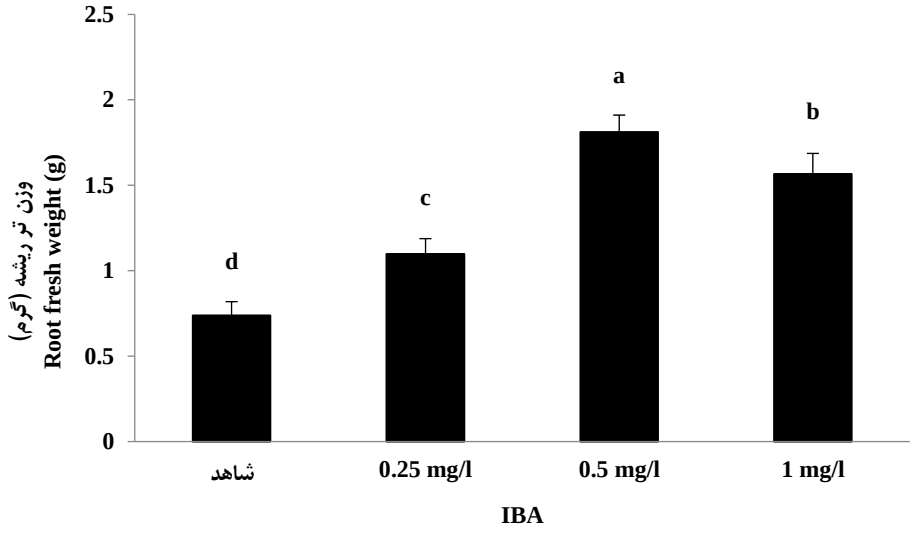
Figure 10. Mean comparison of the effect of different concentrations of IBA on root length of of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف IBA بر تعداد ریشه بگونیا هیمالیس بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪

Figure 11. Mean comparison of the effect of different concentrations of IBA on the number of roots of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.

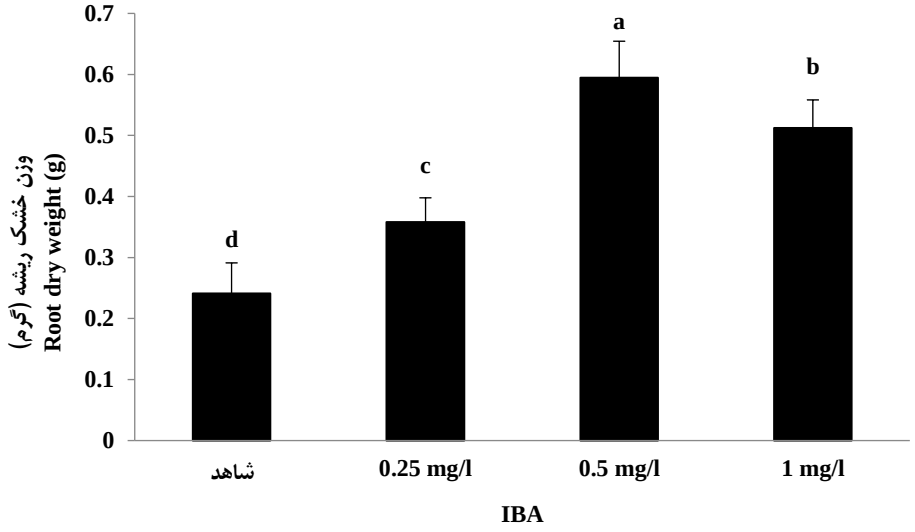
وزن تر ریشه: وزن تر ریشه در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر (۱/۸ گرم) بیش از سایر تیمارها بود که افزایش ۲/٤ برابری وزن تر ریشه نسبت به شاهد در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۱۲).



شکل ۱۲- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف IBA بر وزن تر ریشه بگونیا هیمالیس بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪

Figure 12. Mean comparison of the effect of different concentrations of IBA on root fresh weight of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.

وزن خشک ریشه: در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر (۰/۵۹ گرم) میزان وزن خشک ریشه بیش از سایر تیمارها بود (شکل ۱۳).



شکل ۱۳- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف IBA بر وزن خشک ریشه بگونیا هیمالیس بگونیا هیمالیس با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪

Figure 12. Mean comparison of the effect of different concentrations of IBA on root dry weight of *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. shoot using Duncan's multi-range test at 1% level.

در پژوهش حاضر، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA دارای بیشترین تاثیر روی ریشه‌زایی بود. در طی مراحل ریزافزایی، ریشه‌زاییِ شاخساره‌های تولید شده از اهمیت قابل توجهی برخوردار است و عدم ریشه‌زایی مناسب، سازگاری گیاهچه‌های تولید شده را

به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد. ریشه‌زایی به عنوان مرحله‌ای مجزا در نظر گرفته می‌شود که در این مرحله اکسین‌ها نقش اساسی ایفا می‌کنند (Fatima & Anis, 2012).

نتایج به‌دست آمده از تاثیر غلظت‌های مختلف IBA بر ریشه‌زایی دورگه بگونیا هیمالیس نشان داد که استفاده از این تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی تاثیر مثبتی بر ریشه‌زایی و تعداد ریشه گیاه داشته است. گزارش‌های زیادی تاثیر مثبت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی اکسین بر روی ریشه‌زایی گیاهان زینتی را نشان داده‌اند (Ghafari *et al*., 2012؛ Kaviani *et al*., 2011؛ Kumari *et al*., 2017). نتایج حاصل از پژوهش حاضر همسو با نتایج Ghasemi *et al*., 2012 و Yahyanataj *et al*., 2018 روی بگونیا (*Begonia* × *hiemalis*) است. بررسی ریشه‌زایی سه گونه بگونیا (گونه *B. soli-mutata*، *B. elatior* و *B. tiger*) نشان داد که کاربرد IAA با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با ۳۰ گرم در لیتر ساکارز بیشترین درصد ریشه‌زایی را به همراه داشت و سازگاری مطلوبی از گیاهچه‌ها در بستر حاوی مخلوط کوکوپیت و پرلیت و یا پیت ماس به تنهایی به دست آمد (Hosseini *et al*., 2021). به طور کلی کاربرد برون‌زای IBA سبب افزایش فعالیت اکسین درونی شده و همچنین ممکن است با افزایش حساسیت بافت به IBA، سبب تحریک ریشه‌زایی شود. کاربرد IBA سبب جابجایی و انتقال ریزوکالین‌ها[1] و کربوهیدرات‌ها به انتهای نزدپاهنگ قلمه شده و سبب آغازش و تمایزیابی ریشه شود (Kumari *et al*., 2017).

آزمون سوم: سازگاری

دو تیمار برتر از مرحله پرآوری جهت بررسی برخی از ویژگی های بیوشیمیایی در مرحله سازگاری (*ex vitro*) به صورت طرح کاملا تصادفی انتخاب شدند. گیاهان انتخابی دارای مشخصات ذیل بودند:

تیمار ۱: گیاهان پرآوری‌شده در محیط حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA

تیمار ۲: گیاهان پرآوری‌شده در محیط حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تاثیر نوع تیمار حاوی دو سیتوکینین مختلف تاثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه در مرحله سازگاری دارد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، نوع سیتوکنین موجب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد بر میزان کلروفیل a و کلروفیل کل و نیز فنول کل شد، این در حالی است که اثر نوع سیتوکنین تفاوت معنی‌داری در بین سایر ویژگی های بیوشیمیایی (کلروفیل b، کاروتنوئید و میزان فلاونوئید کل) در مرحله سازگاری نداشت. در مجموع می‌توان تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA را به خاطر افزایش میزان کلروفیل a، کلروفیل کل، فنول کل و نیز فلاوونوئید کل به عنوان بهترین تیمار برای ریزافزایی گیاه بگونیا هیمالیس معرفی کرد.

گیاه تولید شده در مرحله سازگاری از نظر بیوشیمیایی باید تقریبا مشابه گیاه رشد یافته در محیط بدون شرایط درون شیشه باشد، تا بتواند به مقدار انبوه تولید شود. از شاخص‌های مهم ارزیابی کیفیت رشد گیاهان می‌توان به محتوای فتوسنتزی گیاه اشاره کرد (Kubica *et al*., 2019). رنگ و شادابی گیاه نیز می‌تواند از جمله ویژگی‌های ظاهری باشد که نشان دهنده محتوای فنولی و فلاونوئیدی متناسب در گیاه است (Nadeem *et al*., 2019). پژوهش حاضر با هدف بررسی اینکه آیا میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و هچنین مقدار کلروفیل و کارتنوئید در بازه نرمال گیاه بگونیا است یا نه، انجام شد. نتایج نشان داد که تمامی ویژگی‌ها بازه نرمالی از ترکیبات نامبرده را در مقایسه با نتایج سایر تحقیقات پیشین دارند (Jose *et al*., Zhang *et al*., 2010

۱- Rhizocalins

2016:). وجود محتوای کلروفیلی بالا در گیاه بگونیای حاصل از BA نشان دهنده توان ماده‌سازی و فتوسنتز مناسب در مرحله سازگاری این گیاهان است (جدول ۱). ترکیبات فنولی یکی از آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی در مقابل تنش اکسیداتیو هستند. تجمع ترکیبات فنولی در بافت‌های گیاهی برای تثبیت کربن فتوسنتزی و ارتقای مکانیسم‌های دفاعی بسیار مهم است (Hamdoon *et al.*, 2013)، در پژوهش اخیر محتوای فنول کل در گیاهان بگونیای تولید شده از محیط پراوری حاوی BA افزایش یافت که این ویژگی درگیاه، منجر به رشد بهینه، سبزینگی بیشتر و شادابی گیاه خواهد شد.

جدول ۱- محتوای ترکیبات بیوشیمیایی در گیاهان سازگار شده.

Table 1. Content of biochemical compounds in adapted plants.

تیمار (میلی‌گرم بر لیتر) Treatment (mg L^{-1})	کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Chlorophyll a (mg / g wet weight)	کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Chlorophyll b (mg / g wet weight)	کلروفیل کل (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Total Chlorophyll (mg / g wet weight)	کاروتنوئید (میلی‌گرم در گرم وزن تر) Carotenoids (mg / g wet weight)	فنول کل (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم وزن خشک) Total phenol (mg gallic acid per gram dry weight)	فلاونوئید کل (میلی‌گرم کوئرستین در گرم وزن خشک) Total flavonoids (mg quercetin per gram dry weight)
0.25 NAA+1 BA	0.59a	0.24a	0.89a	0.28a	32.97a	7.8a
0.25 NAA+1 Kin	0.54b	0.24a	0.84b	0.29a	30.77b	7.3a

حروف مشترک بیانگر نبود معنی‌داری در سطح ۵٪ بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن می‌باشد.

Similar letters indicate non-significance at 5% level based on Duncan's Multiple Range Test.

فلاونوئیدها گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانوی هستند که تقریباً در همه گیاهان وجود دارند. تعداد و موقعیت گروه‌های OH- فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Hamdoon *et al.*, 2013). این ترکیبات در بسیاری از گیاهان یافت می‌شوند و اثرهای دارویی و بیولوژیکی با ارزشی از خود نشان می‌دهند (Shafaghat, 2010). مقدار فلاونوئید در گیاهچه‌های تازه سازگار شده در هر دو تیمار در حد قابل قبولی به‌دست آمد که این نتیجه، نشان دهنده برهمکنش هورمون‌های طبیعی درونی گیاه و تیمار تنظیم کننده‌های رشدی بود که در مراحل درون شیشه استفاده شده بود.

در پژوهش حاضر با توجه به کم هزینه‌تر بودن سیتوکینین بنزیل آدنین و همچنین ایجاد پاسخ بهتر در ویژگی‌های فیتوشیمیایی گیاهچه‌های سازگار شده بگونیا هیمالیس و نیز در دسترس بودن این تنظیم کننده رشد گیاهی در اغلب آزمایشگاه‌ها می‌توان آن را در ترکیب با NAA در ریزفزایی گیاه بگونیا هیمالیس به عنوان تیمار موثر و مفید معرفی کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج کلی پژوهش نشان داد که تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بهترین تاثیر روی شاخه‌زایی داشت. از سطوح انتخابی Kin، غلظت ۱ یا ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA دارای بیشترین تاثیر روی شاخه‌زایی بود. برای ریشه‌زایی بهتر بگونیا می‌توان از غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA استفاده نمود تا به بیشترین درصد ریشه‌زایی دست یافت. بررسی ویژگی های بیوشیمیایی در مرحله سازگاری گیاهان حاصل از تیمارهای برتر مرحله پرآوری، مقادیر ویژگی های فیتوشیمیایی اندازه گیری شده در هر دو تیمار قابل قبول بود ولی در مجموع تیمار BA در اغلب ویژگی‌ها

مقادیر بالاتری نشان داد بنابراین می‌توان BA را به عنوان سیتوکینین مفید برای پرآوری و افزایش تجاری بگونیا هیمالیس معرفی کرد.

منابع

Abedini, M., Golaein, B. (2012). Effect of different concentrations of growth regulators on tissue culture of *Begonia* Rex Plant (Scientific Short Article). *Seed and Plant Production Journal, 28-2*(1), 107-111. (In Persian).

Aron, D., 1949. Copper enzymes isolated chloroplasts, polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, *24*, 1-15.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., Chern, J.Ch. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two comple mentary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, *10*(3), 178-182.

Christensen, B., Sriskandarajah, S., Serek, M., Muller, R. (2008). In vitro culture of *Hibiscus rosa-sinensis* L.: influence of iron, calcium and BAP on establishment and multiplication. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. *93*(2), 151-161.

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.

Ghafari Esizad, S., Kaviani, B., Tarang, R., Bohlooli Zanjani, S. (2012). Micropropagation of lisianthus, an ornamental plant. *Plant Omics Journal*, *5*, 314-319. (In Persian).

Ghasemi, Y., Nemat zadeh, Gh.A., Kabirnataj, S., Hashemi, H.R. (2012). The effect of growth and microbial regulators on plant samples on direct regeneration of *Begonia* Rex bottles. *International Journal of Applied Research and Basic Sciences. 3*, 901-896. (In Persian).

Ghaznavi, M.H., Ghanbari Jahromi, M., Mousavi, S.A. (2020). Optimization of seed germination and micropropagation of *Althea rosea* L. *in vitro* condition. *Journal of Medicinal Plants Biotechnology*, *5*(2), 24-41. (In Persian).

Hamdoon, A.M., Salmin, K.A., Awad, G. (2013). Abdellatif antioxidant and quantitative estimation of phenolic and flavonoids of three halophytic plants growing in Libya. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *12*, 89-94.

Hosseini, F., Moshtaghi, N., Sharifi, A., Bagheri, A., Marashi, H., Keykh Akhar, F. (2021). Effect of kind and plant growth regulator composition on micropropagation of three Begonia species. *Plant Productions, 44*(1), 25-36. (In Persian).

Hussain, S., Nanda, S., Zhang, J., Rehmani, M.I.A., Suleman, M., Li, G., Hou, H. (2021). Auxin and cytokinin interplay during leaf morphogenesis and phyllotaxy. *Plants (Basel), 10*(8),1732.

Inbar, J., Abramsky, M., Cohen, D., Chet, I. (1994). Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. *European Journal of Plant Pathology*, *100*(5), 337-346.

Ismaini, L., Lailaty, I.Q., Efendi, M. (2021) Micropropagation of Three Endemic Begonias Using Various Hormones Concentration and Culture Media Application. *Jurnal Biodjati*, *6*(2), 284-294.

Jose, S., Sivakumar, T., Alekutty, N.A. (2016). Estimation of phenolic contents and anti-oxidant activity of *Begonia trichocarpa*. *Der Pharmacia Lettre*, *8*(19), 122-127.

Kaviani, B., Ahmadi Hesar, A., Tarang, A.R., Bohloli Zanjani, S., Hashemabadi, D., Rezaei, M.A. (2011). Callus induction and root formation on the leaf micro-cuttings of *Matthiola incana* using Kn and NAA. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences 11*(3), 456-461.

Kazeroonian, R., Kalatejari, S., Mousavi, A., Tohidfar, M. (2017). Reaction of various explants of a *Chrysanthemum morifolium* cultivar to plant growth regulators *in vitro*. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *48*(3), 527-534. (In Persian).

Kubica, P., Szopa, A., Prokopiuk, B., Komsta, Ł., Pawłowska, B., Ekiert, H. (2019). The influence of light quality on the production of bioactive metabolites–Verbascoside, isoverbascoside and phenolic acids and the

content of photosynthetic pigments in biomass of *Verbena officinalis* L. cultured in vitro. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 111768.

Kumari, A., Baskaran, P., Van Staden, J. (2017). In vitro regeneration of *Begonia homonyma*—A threatened plant. *South African Journal of Botany*, *109*, 174-177.

Ljung, K. (2013). Auxin metabolism and homeostasis during plant development. *Development, 140*(5), 943-50.

Munir, M., Hussain, A., Ul-Haq, I., Qureshi, R., Munazir, M., Rshad, M., Khan, M. (2012). Callogenesis potential of cotyledonary explants of *Althaea rosea from Pakistan. Pakistan Journal of Botany, 44*, 271-75.

Nadeem, M., Ahmad, W., Zahir, A., Hano, C., Abbasi, B.H. (2019). Salicylic acid-enhanced biosynthesis of pharmacologically important lignans and neo lignans in cell suspension culture of *Linum ussitatsimum* L. *Engineering in Life Sciences*, *19*(3), 168-174.

Nakashima, T. 2019. Development of stable flowering and quality improvement of autumn cropping-type *Begonia* × *hiemalis* Fotsch. using night cold storage and intermittent lowtemperature storage (In Japanese). Ph.D. Thesis. Okayama Univ., Okayama.

Noruzpour, M., Zare, N., Asghari Zakaria, R., Sheikhzade Mosadegh, P. (2019). Effect of culture media and plant growth regulators on in vitro growth and production of secondary metabolites in *Vaccinium arctostaphylos* L. *Iranian journal of horticultural sciences (Iranian journal of agricultural sciences), 50*(2), 435-448. (In Persian).

Nourafcan, H. & Ansari, F. (2017). The effect of MS and B_5 media on growth indices of lemon 'Verbena' in in vitro condition. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *48*(1), 249-252. (In Persian).

Ouchikh, O., Chahed, T., Ksouri, R., Ben Taarit, M., Faleh, H., Abdelly, C., Kchouk, M.E., Marzouk, B. (2011). The effects of extraction method on the measured tocopherol level and antioxidant activity of *L. nobilis* vegetative organs. *Journal of Food Composition Analysis, 24*, 103–110.

Shabbir, A., Hameed, N., Ali, A., Bajwa, R. (2009). Effect of different cultural conditions on micropropagation of rose (*Rosa Indica* L.). *Pakistan Journal of Botany*, *41*(6), 2877-2882.

Shafaghat, A. (2010). Antioxidant activity, extraction and determining of chemical structure of flavonoids and chalcone in flowers of *Tanacetum parthenium* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 2*(2 (48)), 157-167. (In Persian).

Taiz, L., Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*. Sinauer Associates. (3rd ed).

Tripathi, M.K., Mishra, N., Tiwari, S., Singh, S., Shyam, C., Ahuja, A. (2019). Plant tissue culture technology: sustainable option for mining high value pharmaceutical compounds. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *8*(2), 102-110.

Yang, Z., Liu, G., Liu, J., Zhang, B., Meng, W., Müller, B., Hayashi, K., Zhang, X., Zhao, Z., De Smet, I. (2017). Synergistic action of auxin and cytokinin mediates aluminum-induced root growth inhibition in Arabidopsis. *EMBO Reports*, *18*, 1213–1230.

Zhang, K.M., Yu, H.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q., Xia, X.J. (2010). Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*. *Plant Science*, *179*(3), 202-208.

Flower and Ornamental Plants (2022), 7(1): 119-134
Research article
DOI: 10.61186/flowerjournal.7.1.119

Optimization of proliferation and regeneration of Elatior Begonia (*Begonia* × *hiemalis* Fotsch.)

Sousan Sarv[1], Marzieh Ghanbari Jahromi[1]*, Leila Hakimi[2]

1- Department of Horticultural Science and Agronomy, Science and Research Branch, Islamic Azad University (SRBIAU), Tehran
2- Faculty of Agriculture, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh
✉ ghanbari@srbiau.ac.ir
Received: 2022/05/26, Revised: 2022/07/12, Accepted: 2022/07/14

Abstract

Elatior Begonia (*Begonia* × *hiemalis* Fotsch.) is a flowering and beautiful pot plant that is particularly notable due to its flower color variations. The present study was conducted to investigate shoot proliferation and rooting of *B. hiemalis* under the influence of plant growth regulators *in vitro*. Shoot proliferation was carried out as a factorial experiment based on a completely randomized design (CRD) using NAA at 0, 0.25, 0.5, and 1 mg L^{-1} as auxin and BA and Kin at 0, 0.5, 1, 1.5 mg L^{-1} as cytokinin. Results showed that the highest amounts of fresh and dry weight of shoot and root, the number of leaves, and proliferation rate were observed in the treatments containing 0.25 mg L^{-1} NAA and 1 mg L^{-1} BA/Kin. Among different levels of cytokinin, BA 1 mg L^{-1} was more effective than the other levels. The percentage of necrosis in treatments without NAA was higher than the others. Rooting experiment was conducted as a CRD employing IBA at levels of 0, 0.25, 0.5 and 1 mg L^{-1}. The highest rate of rooting was obtained in 0.5 mg L^{-1} IBA. Evaluation of adapted plants showed that in the acclimatization stage, the plants obtained from both cytokinin treatments had acceptable values in terms of phytochemical properties. Because BA treatment resulted in greater total chlorophyll, chlorophyll a, and total phenol levels, BA can be recommended as the most effective and preferable cytokinin for *B. hiemalis* proliferation and its commercial reproduction.

Keywords: Naphthalene Acetic Acid (NAA), Benzyl adenine (BA), Elatior Begonia, Proliferation rate.