



دانشگاه گوارش و صنایع غذایی

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و هفتم، شماره اول، ۱۳۹۹

۱۹۷-۲۰۶

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2020.16115.2458

تأثیر طیف‌های نوری و تنظیم‌کننده رشد تیدبازورون بر رویان‌زایی و سامانه فتوسنتزی ارکیده فالانوپسیس

حسین نادری بلداجی^۱، *شیرین دیان‌تی دیلمی^۲، مریم نوروزی^۲، ساسان علی‌نیایی‌فرد^۲ و علی فدوی^۳

^۱دانشجوی کارشناسی ارشد گروه باغبانی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران،

^۲استادیار گروه باغبانی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران،

^۳دانشیار گروه فناوری صنایع غذایی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۰۴

چکیده

سابقه و هدف: به دلیل تخصصی بودن روش کشت فالانوپسیس (*Phalaenopsis amabilis*) و عدم تولید نشاء این گیاه در داخل کشور، پرورش‌دهندگان داخلی مجبور به واردات گیاهچه‌های فالانوپسیس از کشورهای دیگر هستند. معرفی ارقام جدید با کیفیت بالا، زیبایی و جذابیت برای تامین نیاز بازار جهانی، منجر به تقویت و تشدید این وابستگی دائمی شده است. پیدا کردن راهی برای تکثیر ارقام این گیاه اولین گام برای از بین بردن این وابستگی است. بنابراین هدف از این پژوهش ارزیابی اثرات طیف نور، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و اثر زخم‌زنی برای یافتن شرایط مناسب به منظور انگیزش رویان‌زایی بدنی و تولید انبوه کلون این گیاه بود.

مواد و روش‌ها: برای انجام پژوهش پس از کشت بذر از پروتوکورم‌های ۳ ماهه درون‌شیشه‌ای به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد که به دو شکل برش زده و بدون برش روی محیط کشت MS ۱/۲ با غلظت‌های صفر و ۳ میلی‌گرم در لیتر تیدبازورون کشت شدند و طی چهار ماه تحت‌تأثیر ۶ نوع طیف نوری با استفاده از لامپ‌های ال ای دی شامل طیف‌های نوری آبی، قرمز، سفید، سبز، آبی- قرمز، قرمز- قرمز دور و هم‌چنین تاریکی قرار گرفتند. واكشت ریزنمونه‌ها هر بیست روز یک بار تکرار شد. دو بار تصویربرداری فلورسنس (ابتدا دو ماه پس از القاء تیمار و سپس در پایان تیمارهای رویان‌زایی) برای ارزیابی حداکثر کارایی فتوسنتس (QY-max) انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که طیف‌های مختلف نوری و تنظیم‌کننده رشد می‌توانند روی القاء و تشکیل رویان‌های بدنی بسیار مؤثر باشند، اما زخم‌زنی بر رویان‌زایی اثر نداشته است. پروتوکورم‌های بدون برش در تیمار دارای غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر تیدبازورون و طیف نوری قرمز- قرمز دور بدون اختلاف معنی‌داری با طیف قرمز بالاترین درصد رویان‌زایی بدنی مستقیم (۱۰۰٪) را داشتند. کم‌ترین میزان رویان‌زایی به ترتیب در طیف‌های آبی، تاریکی و آبی قرمز مشاهده شد. بالاترین میزان QY-max در تصویربرداری اول در تیمار نور آبی و بالاترین میزان QY-max در تصویربرداری دوم در تیمار نوری سفید و سبز مشاهده گردید.

* مسئول مکاتبه: dianati@ut.ac.ir

نتیجه‌گیری: در مجموع استفاده از طیف نوری قرمز- قرمز دور در کنار استفاده از تنظیم‌کننده رشد گیاهی تیدیا زورن برای القاء موفقیت‌آمیز رویان بدنی در این نوع ارکیده توصیه می‌شود. بر اساس اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل رویان‌های بدنی می‌توان گفت پس از القاء رویان، استفاده از نور آبی و در ادامه نور سفید یا سبز می‌تواند برای رسیدن به حداکثر کارایی سامانه فتوسنتزی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: ال ای دی، پروتوکورم، قرمز- قرمز دور، کارایی فتوسنتز دو

مقدمه

و رویان کاملی را همانند رویان زیگوتی ایجاد می‌کند (۲۳). در میان روش‌های متنوع تکثیر درون‌شیشه‌ای، رویان‌زایی بدنی دارای ارزش ویژه‌ای می‌باشد. این روش امکان تولید گیاهان شبیه والدین با استفاده از تکثیر غیرجنسی، باززایی گیاهان دست‌ورزی‌شده ژنتیکی، دورگ‌گیری بدنی، القاء جهش و انتخاب گیاهان مطلوب را فراهم می‌سازد (۳).

تنظیم‌کننده‌هایی رشد از جمله سیتوکینین‌ها که یکی از مهم‌ترین آن‌ها تیدیا زورن است در تقسیم سلولی و برای القاء رویان‌زایی نقش ایفا می‌کنند (۲۷). در میان تمام عوامل مؤثر بر رشد و توسعه گیاهان در شرایط درون‌شیشه‌ای نور یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر ریخت‌زایی و رشد اندام‌های گیاهی است (۵). در سال‌های اخیر، تأثیر طیف‌های نور بر رشد و جنین‌زایی گیاهان خانواده ارکیده به‌شدت مورد علاقه قرار گرفته است (۲۴). به‌عنوان مثال کاربرد طیف‌های نور در گیاهانی مانند هیبرید کاتلیا می‌تواند ریخت‌شناسی گیاهچه‌های ارکیده رشد پیدا کرده در شرایط درون‌شیشه‌ای را تغییر دهد (۷) و نور قرمز بیش‌ترین میزان القاء کالوس از پروتوکورم‌های بدنی را در ارکیده *Cymbidium* و ترکیب قرمز و آبی بالاترین ازدیاد کالوس را داشته است (۱۴). یکی از دقیق‌ترین روش‌ها برای اندازه‌گیری پتانسیل فتوسنتزی گیاهان اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل است. اندازه‌گیری حداکثر کارایی سامانه نوری دو یکی از روش‌های متداول در فیزیولوژی گیاهی است که به‌عنوان یک شاخص برای اندازه‌گیری پاسخ گیاهان در برابر عوامل محیطی مورد توجه است (۲).

امروزه ارکیده فالانوپسیس از نظر اقتصادی یکی از انواع مهم و با ارزش گیاهان زینتی در بازارهای جهانی محسوب می‌گردد (۱۰). این جنس با دارا بودن درصد بالایی از بازار فروش ارکیده، بزرگ‌ترین سهم را در تکثیر، پرورش و تجارت ارکیده به خود اختصاص داده است و به‌عنوان گل شاخه بریده و گلدانی کاربرد دارد. دست یافتن به پیشرفت‌های بسیار زیاد در تکثیر از طریق کشت بافت و تولید هیبریدها، این گیاه را به‌عنوان یکی از برترین گل‌های شاخه بریده در جهان تبدیل کرده است (۱۱). مشکل بزرگ در مسیر تکثیر گیاهان خانواده ارکیده وجود بذر ریز و رویان نابالغ است که برای جوانه‌زنی نیازمند همزیستی با قارچ مایکوریزا می‌باشند. از آنجایی‌که یافتن و استفاده از قارچ‌های مناسب جهت کشت همزیست دشوار است، همین‌طور درصد پایین جوانه‌زنی و بروز مشکلاتی مانند تنوع در نتاج، تکثیر جنسی ارکیده از نظر باغبانی مطلوب نیست (۲۵). بنابراین با توجه به محدودیت‌های تکثیر با بذر حتی در شرایط درون‌شیشه‌ای مانند تهیه بذر به‌علت گرده‌افشانی تخصصی و مشکلات استریل کردن بذر نیازمند روشی غیرجنسی برای تولید با مقیاس انبوه و یکنواخت می‌باشد (۱۴). مهم‌ترین نکته آن است که تکثیر غیرجنسی گیاه، یکنواختی را برای تولید تجاری و حرفه‌ای افزایش می‌دهد. استفاده از رویان‌زایی بدنی می‌تواند امکان غلبه بر مشکلات تکثیری این گیاه و رسیدن به هدف فوق را فراهم سازد. در روش رویان‌زایی بدنی سلول‌های بدنی تقسیم شده، نمو یافته

ظروف پتری پس از کشت به مدت ۴ ماه در شرایط رشدی کنترل شده داخل فیتوترون با دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد، طول روز ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و تحت شش شرایط روشنایی مختلف با استفاده از طیف‌های نوری سفید دارای طیف ۴۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر، آبی دارای پیک طیفی ۴۶۰ نانومتر، قرمز دارای پیک طیفی ۶۶۰ نانومتر، سبز دارای پیک طیفی ۵۳۰ نانومتر، آبی-قرمز (۵۰٪ آبی + ۵۰٪ قرمز)، قرمز-قرمز دور با پیک طیفی ۷۴۰ نانومتر برای نور قرمز دور حاصل از لامپ‌های ال ای دی (شرکت ایران گروولایت) با شدت نور ۸۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و هم‌چنین تاریکی قرار گرفتند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و هر تکرار دارای ۶ ریزنمونه به عنوان واحد آزمایش انجام شد و هر ۲۰ روز یکبار با استفاده از دستگاه استریومیکروسکوپ مراحل تشکیل و شمارش تعداد رویان‌های تشکیل شده انجام شد. جهت اندازه‌گیری حداکثر کارایی سامانه نوری دو از تصویربرداری فلورسنس کلروفیل با استفاده از دستگاه فلورکم مدل FC (1000-H) و به روش علی‌نهایی فرد و فانمیترن (۱) استفاده شد. در ابتدا نمونه‌ها، به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. پس از سازگاری در تاریکی، گیاهچه‌ها بلافاصله برای اندازه‌گیری حداکثر کارایی کوانتومی سامانه نوری دو زیر دستگاه قرار گرفتند. تصویربرداری در تاریکی با استفاده از فلش‌های کوتاه انجام شد. در انتهای فلش‌های کوتاه، نمونه‌ها با یک پالس اشباع (سه هزار و ۹۰۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه) مواجه شدند که منجر به اشباع ناپایدار فوتوشیمیایی می‌شود و گیرنده‌های اولیه سامانه نوری دو را کاهش می‌دهد (۸). پس از رسیدن به حالت پایدار فلورسنس ۲ گروه میانگین داده‌های آنالیز شده بر صفحه رایانه نمایان می‌شوند. گروه اول مربوط به اندازه‌گیری‌های تحت تأثیر فلش‌های کوتاه در تاریکی است که با FO

فلورسنس کلروفیل به طور مستقیم با میزان جریان انرژی از طریق زنجیره حمل و نقل الکترون ارتباط دارد و در نتیجه هر گونه اختلالی که بر سوخت و ساز گیاه تأثیر می‌گذارد بر صفات مربوط به فلورسنس کلروفیل نیز اثرگذار خواهد بود، حتی اگر به طور مستقیم به فتوسنتز وابسته نباشد (۲۲). زخم‌زنی به دلیل ایفا نقش در پاسخ‌های ریخت‌شناختی، در گیاهان مورد توجه است. در گیاهان محل‌هایی که زخم ایجاد شده است بنا به دلایلی چون هرس و خراش مکانیکی اغلب باعث تغییر ریخت‌زایی شده و تشکیل کالوس را تحریک می‌کند. در گیاه گوجه‌فرنگی بالاترین میزان باززایی شاخه از ریز نمونه کوتیلدون در تیمار زخم‌زنی گزارش شده است (۴).

از این‌رو در پژوهش حاضر تلاش شده است تا با بررسی عوامل مؤثر بر رویان‌زایی بدنی مستقیم مانند طیف‌های نور، تأثیر ایجاد برش روی ریزنمونه پروتوکورمی، در کنار استفاده از تنظیم‌کننده رشد به جهت تولید و کاهش هزینه‌های آن برای تشکیل رویان غیرجنسی در ارکیده فالانوپسیس پرداخته شود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش از محیط کشت MS ۱/۲ موراشیگ و اسکوگ (۱۷) دارای ۳۰ گرم در لیتر ساکارز استفاده شد. محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه و فشار ۱/۲ کیلوگرم بر سانتی‌متر اتوکلاو استفاده شد و پس از خنک‌شدن محیط کشت، دو غلظت صفر و ۳ میلی‌گرم در لیتر تیدیاژورن به عنوان تیمار تنظیم‌کننده رشد و محرک رویان‌زایی به آن اضافه و سپس در ظروف پتری توزیع شد. به عنوان ریزنمونه از پروتوکورم‌های کشت بافتی ۳ ماهه فالانوپسیس استفاده گردید که به دو شکل سالم (بدون برش) و برش زده روی محیط‌های کشت و درون ظروف پتری قرار گرفتند (شکل ۳-۱). برای انجام برش یک سوم پایین پروتوکورم‌ها حذف شدند.

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از برنامه SAS نسخه ۹ مورد تجزیه قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌ها بیانگر اثرات معنی‌دار طیف نور و استفاده از تنظیم‌کننده رشد و تمام اثرات مقابل آن‌ها به غیر از اثر متقابل تنظیم‌کننده رشد و نوع ریزنمونه روی رویان‌زایی بود (جدول ۱).

مشخص شده و دسته دوم که با F_m نشان داده می‌شوند مربوط به اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل حاصل شده از نور اشباع است. با استفاده از این دو داده میزان F_v و حداکثر کارایی کوانتومی فوتوسیستم دو ($F_v F_m^{-1}$) طبق رابطه زیر محاسبه می‌شود:

$$F_v = F_m - F_0 \quad (1)$$

$$F_v F_m^{-1} = (F_m - F_0) F_m^{-1}$$

میانگین داده‌های $F_v F_m^{-1}$ و انحراف معیار مربوط به هر تصویر، با استفاده از نرم‌افزار فلورکم نسخه ۷ محاسبه شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر طیف نور، نوع ریزنمونه و تنظیم‌کننده رشد گیاهی تیدیازورون بر رویان‌زایی بدنی ارکیده فالانوپسیس.

Table 1. Analysis of variance for the effect of light spectrum, explant type and concentrations of thidiazuron (TDZ) on somatic embryogenesis of *Phalaenopsis*.

| میانگین مربعات Mean Square | درجه آزادی df | منابع تغییرات S.O.V |
|-------------------------------|------------------|---|
| 958.96** | 6 | طیف نور Light spectrum |
| 8.36* | 1 | نوع ریز نمونه Explant type |
| 7178** | 1 | تنظیم‌کننده رشد گیاهی (تیدیازورون) Plant growth regulator (TDZ) |
| 47.45** | 6 | اثر متقابل (طیف نور × نوع ریز نمونه) Interaction of Light spectrum × Explant type |
| 869.10** | 6 | اثر متقابل (طیف نور × تنظیم‌کننده رشد گیاهی) Interaction of Light spectrum × Plant growth regulator |
| 3.24 ^{ns} | 1 | اثر متقابل (تنظیم‌کننده رشد گیاهی × نوع ریزنمونه) Interaction of plant growth regulator × Explant type |
| 41.16** | 6 | اثر متقابل (طیف نور × تنظیم‌کننده رشد گیاهی × نوع ریزنمونه) Interaction of Light spectrum, Plant growth regulator and explant type |
| 1.54 | 56 | خطا Error |
| 12.95 | | ضریب تغییرات (درصد) CV (%) |

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، * سطح احتمال ۵ درصد، ^{ns} غیرمعنی‌دار.

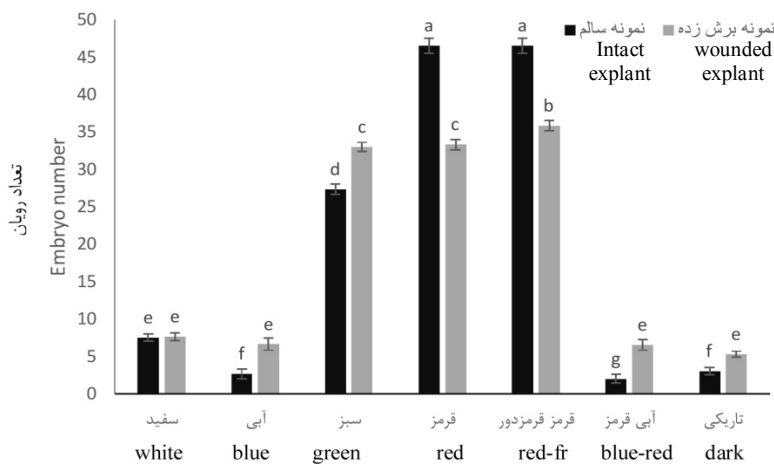
^{ns}, *, ** non-significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively.

اثرات متقابل طیف نور، برش ریز نمونه همانند اثر متقابل تنظیم‌کننده رشد و نور در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند. اما اثر متقابل نوع ریزنمونه و تنظیم‌کننده رشد تفاوت معنی‌داری نداشتند. اثرات

تیمار طیف‌های مختلف نور بر رویان‌زایی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (شکل ۱). در تیمارهای نوع ریزنمونه، پروتوکورم بدون برش اثر مثبت بر رویان‌زایی در ارکیده فالانوپسیس داشت. بررسی

اثر مثبت تیدیا زورن بر رویان زایی بدنی مستقیم حاصل از ریزنمونه های پروتوکورمی در ارکیده *Xenikophyton smeeanum* و همین طور رویان زایی مستقیم از ارکیده *Phalaenopsis amabilis* از ریزنمونه پروتوکورمی گزارش شده است (۲۰ و ۲۱). هم چنین در گزارش های دیگری پژوهشگران به اثر مثبت استفاده از غلظت های مختلف تنظیم کننده رشد تیدیا زورن برای القاء رویان زایی در بافت های برگ گیاهان خانواده ارکیده اشاره کرده اند (۸). نتایج فوق نشان دهنده اثر مثبت این تنظیم کننده رشد بر ریز نمونه پروتوکورمی برای رویان زایی بدنی مستقیم در ارکیده فالانوپسیس است.

مقابل طیف نور، نوع ریزنمونه و تنظیم کننده رشد نیز در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار بود (جدول ۱). با مقایسه میانگین اثر متقابل نوع ریز نمونه و طیف های نور معلوم شد بیشترین درصد رویان زایی مربوط به غلظت (۳ میلی گرم در لیتر) تیدیا زورن در طیف های نور قرمز- قرمز دور و قرمز بود و بیشترین جوانه زنی نیز در ریزنمونه های تحت نور قرمز بود (شکل ۳). پروتوکورم بدون برش با میانگین ۴۶/۵ عدد رویان دارای میانگین بالاتری نسبت به نمونه برش خورده بود (شکل ۱). بالاترین تعداد جوانه زنی رویان های تشکیل شده در طیف نور قرمز مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش نوع ریز نمونه و طیف های نور بر تعداد رویان بدنی تشکیل شده روی ریزنمونه های پروتوکورمی ارکیده فالانوپسیس. مقادیر بیانگر سه تکرار و نوارها خطای استاندارد را نشان می دهند. میانگین ها با حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی دار ندارند ($P \leq 0.01$).

Fig. 1. Means comparison of interaction between explant type and light spectrum on somatic embryo number on *Phalaenopsis* protocorms. Values are the means of three replicates and bars represent the standard errors ($n = 3$). Means with at least one similar letter are not significantly different ($P \leq 0.01$) based on Duncan test.

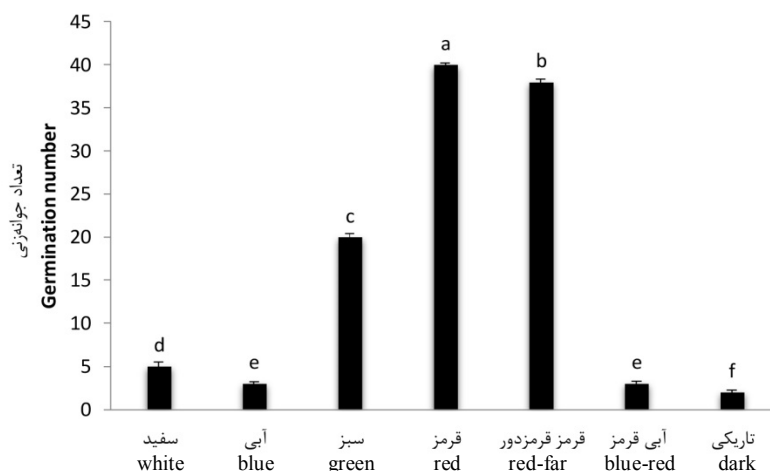
مقایسه با شرایط تاریکی با استفاده از طیف های آبی، قرمز، قرمز- قرمز دور نشان داده شد که طیف های نوری در مقایسه با شرایط تاریکی به شکل معنی داری بر رویان زایی تأثیر مثبت داشته اند (۶). هم چنین در بررسی دیگری بر ارکیده اونسیدیوم اثر طیف های نوری بر رویان زایی بدنی در ریز نمونه های مختلف در محیط تغییر یافته موراشیگ و اسکوک مورد بررسی

پژوهشگران برای بررسی اثر طیف های نور بر رویان زایی بدنی در ارکیده فالانوپسیس از چهار طیف نوری شامل (سفید، قرمز، قرمز- قرمز دور، آبی- قرمز) استفاده کردند و بالاترین درصد رویان زایی بدنی را در تیمار نوری قرمز- قرمز دور به دست آوردند (۲۴). در ارکیده *Oncidium Gower Ramsey* برای بررسی اثر طیف های نور با منابع تولید کننده نور ال ای دی در

با لامپ‌های ال ای دی روی ریزنمونه پروتوکورمی استفاده شد. طیف‌های مختلفی چون سفید، آبی، قرمز و نسبت‌های مختلف ترکیب شده از دو طیف آبی و قرمز باهم با شرایط تاریکی مورد مقایسه قرار گرفتند. در طیف نوری آبی- قرمز رویان‌های بدنی بزرگ‌تری به نسبت سایر طیف‌ها شکل گرفت (۱۶).

قرار گرفت، در این مطالعه از طیف‌های قرمز، آبی، زرد، سبز و ترکیب آن‌ها استفاده شد و طیف قرمز با مقدار تولید ۹۶/۷ درصد رویان به‌عنوان بهترین طیف نور گزارش شد (۱۷).

هم‌چنین در مطالعه‌ای روی ارکیده دندروبیوم *Dendrobium officinale*، از طیف‌های مختلف نور



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر طیف‌های نور بر جوانه‌زنی رویان بدنی تشکیل شده در ارکیده فالانوپسیس. مقادیر بیانگر سه تکرار و نوارها خطای استاندارد را نشان می‌دهند. میانگین‌ها با حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند ($P \leq 0.01$).

Fig. 2. Means comparison of effect of different light spectra on somatic embryo germination in *Phalaenopsis*. Values are the means of three replicates and bars represent the standard errors (n = 3). Means with at least one similar letter are not significantly different ($P \leq 0.01$) based on Duncan test.



شکل ۳- مشاهده رویان‌زایی مستقیم از ریزنمونه پروتوکورمی فالانوپسیس در طیف نور قرمز (۱) ریزنمونه اولیه پروتوکورمی، (۲) رویان‌های بدنی کروی (۲۵۰ میکرون)، (۳) جوانه‌زنی رویان‌های بدنی، (۴) گیاهچه‌های بدنی فالانوپسیس.

Fig. 3. Observation of direct somatic embryogenesis on protocorm explant of *Phalaenopsis* in red light 1) Primary protocorm explant 2) Globular somatic embryos (250 μm) 3) Germination of somatic embryos 4) Somatic plantlet of *Phalaenopsis*.

جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر طیف نور، زمان اندازه‌گیری و تنظیم‌کننده رشد گیاهی تیدیاورون بر حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم دو در ارکیده فالانوپسیس.

Table 2. Analysis of variance in effect of light spectrum, measure time and TDZ plant growth regulator on quantum efficiency of photosystem II of *Phalaenopsis* orchid.

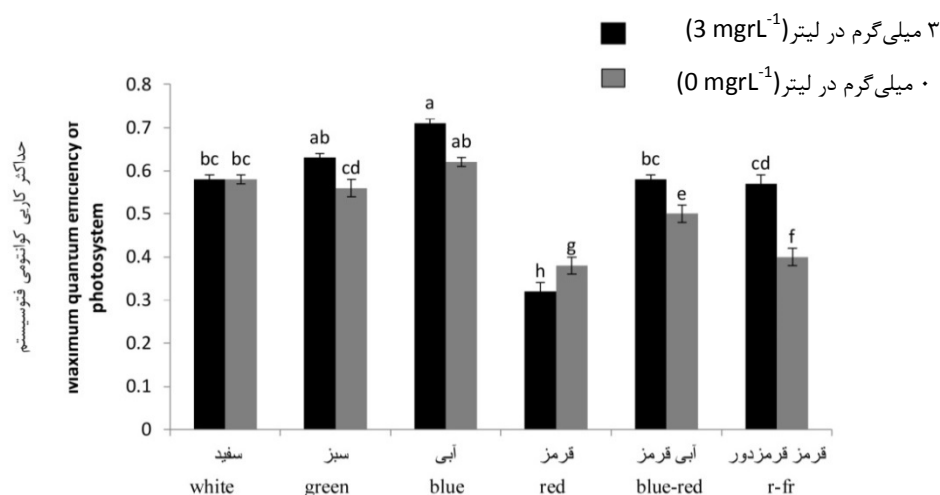
| میانگین مربعات Mean Square | درجه آزادی df | منابع تغییرات S.O.V |
|-------------------------------|------------------|--|
| 0.144** | 6 | طیف نور Light spectrum |
| 0.003 ^{ns} | 1 | تنظیم‌کننده رشد گیاهی Plant growth regulator |
| 0.073** | 1 | زمان Time |
| 0.02** | 6 | اثر متقابل (طیف نور × زمان) Interaction of Light spectrum × Time |
| 0.006 ^{ns} | 6 | اثر متقابل (طیف نور × تنظیم‌کننده رشد گیاهی) Interaction of Light spectrum × Plant growth regulator |
| 1.54 | 53 | خطا Error |
| 10.56 | | ضریب تغییرات (درصد) CV (%) |

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، * سطح احتمال ۵ درصد، ^{ns} غیرمعنی‌دار.

^{ns}, *, ** non-significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively.

در آزمایش حاضر اولین اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل نشان داد که حداکثر کارایی کوانتومی سامانه نوری دو ($Fv Fm^{-1}$) مربوط به نمونه‌های موجود تحت طیف نور آبی و در پروتوکورم‌های دارای غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. مقدار $Fv Fm^{-1}$ در طیف نور آبی ۰/۷۱ در تیمار ۳ میلی‌گرم در لیتر تیدیاورون و میزان ۰/۶۲ در ریزنمونه شاهد و همین‌طور ۳ میلی‌گرم در لیتر تیدیاورون در طیف سبز مشاهده شد. پس از آن بالاترین میزان $Fv Fm^{-1}$ مربوط به طیف نور سفید بود (شکل ۴).

نتایج حاصل از تجزیه آماری داده‌ها بیانگر اثرات معنی‌دار طیف نور، زمان اندازه‌گیری و اثر متقابل طیف نور و زمان اندازه‌گیری بوده است. اما استفاده از تنظیم‌کننده رشد تیدیاورون اثر معنی‌دار بر حداکثر کارایی کوانتومی سامانه نوری دو نداشت. همین‌طور اثر متقابل طیف نور و تنظیم‌کننده رشد گیاهی معنی‌دار نشد (جدول ۲). تیمار طیف‌های مختلف نور بر حداکثر کارایی کوانتومی سامانه نوری دو در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. در تیمارهای نوع طیف نور اثر مثبت بر حداکثر کارایی کوانتومی سامانه نوری دو در ارکیده فالانوپسیس داشت. بررسی اثرات متقابل طیف نور و زمان اندازه‌گیری در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بودند (شکل ۲).

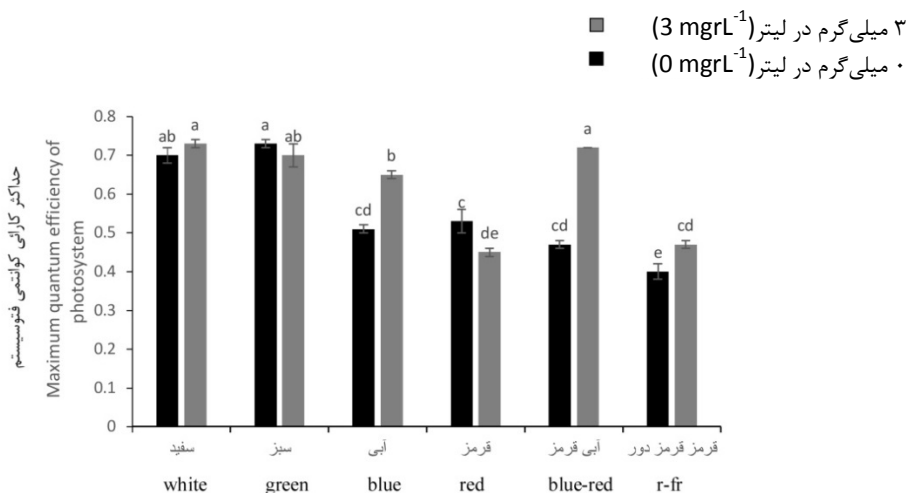


شکل ۴- مقایسه میانگین برهمکنش اثر طیف‌های نور و تنظیم‌کننده رشد تیدیاژورن بر کارایی کوانتومی فتوسیستم (Fv Fm⁻¹). مقادیر بیانگر سه تکرار و نوارها خطای استاندارد را نشان می‌دهند. میانگین‌ها با حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند (P ≤ 0.01).

Fig. 4. Means comparison of interaction in effect of light spectra and thidiazuron plant growth regulator on quantum efficiency of photosystem (Fv Fm⁻¹). Values are the means of three replicates and bars represent the standard errors (n = 3). Means with at least one similar letter are not significantly different (P ≤ 0.01) based on Duncan test.

مشاهده گردید. میزان Fv Fm⁻¹ در تصویربرداری دوم ۰/۷۳ ثبت گردید و کم‌ترین میزان آن مربوط به طیف قرمز دور با عدد ۰/۴۵ بود (شکل ۵).

در تصویربرداری دوم از فلورسنس کلروفیل گیاهچه‌ها بالاترین میزان Fv Fm⁻¹ در نمونه‌های موجود تحت طیف‌های سفید، سبز و آبی قرمز



شکل ۵- مقایسه میانگین برهمکنش اثر طیف‌های نور و تنظیم‌کننده رشد تیدیاژورن بر حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم (Fv Fm⁻¹). مقادیر بیانگر سه تکرار و نوارها خطای استاندارد را نشان می‌دهند. میانگین‌ها با حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند (P ≤ 0.01).

Fig. 5. Means comparison of interaction in effect of light spectra and thidiazuron plant growth regulator on quantum efficiency of photosystem (Fv Fm⁻¹). Values are the means of three replicates and bars represent the standard errors (n = 3). Means with at least one similar letter are not significantly different (P ≤ 0.01) based on Duncan test.

مشاهده شد. بنابراین استفاده از آن برای رویان‌زایی مستقیم پیشنهاد می‌شود. در طیف‌های نوری مورد استفاده، طیف نور قرمز و قرمز دور بالاترین درصد القاء رویان را داشتند. تفاوت معنی‌داری در استفاده از برش بر روی پروتوکورم مشاهده نشد. تفاوت معنی‌دار بین طیف‌های نور بر حداکثر کارایی کوانتومی سامانه نوری دو $F_v F_m^{-1}$ مشاهده شد. با اندازه‌گیری این شاخص می‌توان به حداکثر کارایی سامانه نوری دو در گیاهچه پی برد. مدیریت شرایط نوری رویان‌زایی می‌تواند تأثیر مثبت بسیار زیادی بر القاء و در ادامه رشد و توسعه گیاهچه‌ها داشته باشد. اندازه‌گیری $F_v F_m^{-1}$ می‌تواند به‌عنوان یک شاخص برای بررسی پاسخ گیاه به شرایط محیطی در نظر گرفته شود. نور یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی که در این پژوهش برای نخستین بار برای بررسی واکنش رویان‌ها به نور و یافتن طیف مناسب نوری برای ادامه رشد مورد بررسی قرار گرفت. استفاده از طیف نوری آبی پس از القاء رویان و در ادامه طیف سفید می‌توان به بالاترین کارایی فتوسنتز دو رسید.

در پژوهشی برای بررسی اثر طیف‌های نور آبی و قرمز بر کارایی سامانه نوری دو و یک محصول خیار، کم‌ترین میزان کارایی سامانه نوری دو در نور قرمز و بالاترین میزان کارایی آن در نور آبی گزارش شده است. طیف نور قرمز غالباً مانع از انتقال عادی الکترون در زنجیره انتقال الکترون می‌شود و این امر به‌علت اثر بازدارندگی پس‌خوردی در سامانه فتوسنتزی به‌دلیل تجمع کربوهیدرات‌ها می‌باشد، اما در طیف نور آبی بالاترین ظرفیت انتقال الکترون در سامانه نوری دو مشاهده شده است (۱۸) که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد. در پژوهش دیگری با بررسی اثر طیف‌های نور سفید، قرمز و سبز بر خصوصیات فتوسنتزی گیاه فلفل نشان داده شد که بالاترین میزان فعالیت فتوسنتزی مربوط به طیف سبز می‌باشد (۲۷) که با نتایج این پژوهش یکسان است.

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش رویان‌زایی مستقیم ارکیده هیبرید فالانوپسیس مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر مثبت ۳ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون بر رویان‌زایی مستقیم

منابع

- Aliniaiefard, S. and van Meeteren, U. 2014. Natural variation in stomatal response to closing stimuli among *Arabidopsis thaliana* accessions after exposure to low VPD as a tool to recognize the mechanism of disturbed stomatal functioning. *J. Exp. Bot.* 65: 6529-6542.
- Baker, N.R. and Rosenqvist, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies. *J. Exp. Bot.* 55: 1607-1621.
- Bakhshaie, M., Babalar, M., Mirmasoumi, M. and Khalighi, A. 2010. Somatic embryogenesis and plant regeneration of *Lilium ledebourii*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 102: 229-235.
- Bhatia, P., Ashwath, N. and Midmore, D.J. 2005. Effects of genotype, explant orientation and wounding on shoot regeneration in tomato. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 41: 4. 457-464.
- Chen, J.R., Wu, L., Hu, B.W., Yi, X., Liu, R., Deng, Z.N. and Xiong, X.Y. 2014. The influence of plant growth regulators and light quality on somatic embryogenesis in China rose (*Rosa chinensis*). *J. Plant Grow Reg.* 33: 2. 295-304.
- Chung, J.P., Huang, C.Y. and Dai, T.E. 2010. Spectral effects on embryogenesis and plantlet growth of *Oncidium*. *Sci. Hort.* 124: 4. 511-516.
- Cybularz-Urban, T., Hanus-Fajerska, E. and Swiderski, A. 2007. Effect of light wavelength on in vitro organogenesis of a *Cattleya* hybrid. *Acta Biol. Crac. Ser. Bot.* 49: 113-118.
- Genty, B., Briantais, J.M. and Baker, N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Bot. Agr.* 990: 87-92.

9. Gow, W.P., Chen, J.T. and Chang, W.C. 2009. Effects of genotype, light regime, explant position and orientation on direct somatic embryogenesis from leaf explants of *Phalaenopsis* orchids. *Acta Physiol. Plant.* 31: 2. 363-371.
10. Gow, W.P., Chen, J.T. and Chang, W.C. 2010. Enhancement of direct somatic embryogenesis and plantlet growth from leaf explants of *Phalaenopsis* by adjusting culture period and explant length. *Acta Physiol. Plant.* 32: 4. 621-627.
11. Griesbach, R.J. 2002. Development of *Phalaenopsis* orchids for the mass-market. *Trends in new crops and new uses.* ASHS Press. Pp: 458-465.
12. Guo, W.L., Chang, Y.C. and KAO, C.Y. 2010. Protocorm-like bodies initiation from root tips of *Cyrtopodium paranaense* (Orchidaceae). *Hort. Sci.* 45: 1365-1368.
13. Hamada, K., Shimasaki, K., Ogata, T., Nishimura, Y., Nakamura, K., Oyama, H. and Yoshida, K. 2010. Effects of spectral composition conversion film and plant growth regulators on proliferation of *Cymbidium* protocorm like body (PLB) cultured *in vitro*. *Ech. Cul. Bot.* 48: 3. 127-132.
14. Huan, L.V.T. and Tanaka, M. 2004. Callus induction from protocorm-like body segments and plant regeneration in *Cymbidium* (Orchidaceae). *J. Hort. Sci.* 79: 3. 406-410.
15. Vij, S. and Pathak, P. 2012. Orchid diversity conservation and utilization. *Biol. Sci.* 82: 2. 295-300.
16. Lin, Y., Li, J., Li, B., He, T. and Chun, Z. 2011. Effects of light quality on growth and development of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale* *in vitro*. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 105: 3. 329-335.
17. Mengxi, L., Zhigang, X., Yang, Y. and Yijie, F. 2011. Effects of different spectral lights on *Oncidium* PLBs induction, proliferation and plant regeneration. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 106: 1. 1-10.
18. Miao, Y.X., Wang, X.Z., Gao, L.H., Chen, O.Y. and Ou, M. 2016. Blue light is more essential than red light for maintaining the activities of photosystem II and I and photosynthetic electron transport capacity in cucumber leaves. *J. Integr. Agric.* 15: 1. 87-100.
19. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 3. 473-497.
20. Mose, W., Indrianto, A., Purwantoro, A. and Semiarti, E. 2017. The influence of thidiazuron on direct somatic embryo formation from various types of explant in *Phalaenopsis amabilis* orchid. *Hayati J. Biosci.* 24: 4. 201-205.
21. Mulgund, G.S., Nataraja, K., Malabadi, R.B. and Kumar, S.V. 2011. TDZ induced *in vitro* propagation of an epiphytic orchid *Xenikophyton smeeanum*. *Res. Plant Biol.* 1: 4. 320-324.
22. Murchie, E.H. and Lawson, T. 2013. Chlorophyll fluorescence analysis a guide to good practice and understanding some new applications. *J. Exp. Bot.* 64: 13. 3983-3998.
23. Naing, A.H., Chung, J.D., Park, I.S. and Lim, K.B. 2011. Efficient plant regeneration of the endangered medicinal orchid *Coelogyne cristata* using protocorm-like bodies. *Acta Physiol. Plant.* 33: 3. 659-666.
24. Park, S.Y., Yeung, E.C. and Paek, K.Y. 2010. Endoreduplication in *Phalaenopsis* is affected by light quality from light-emitting diodes during somatic embryogenesis. *Plant Biotech. Rep.* 4: 4. 303-309.
25. Porras-Alfaro, A. and Bayman, P. 2007. Mycorrhizal fungi of *Vanilla* diversity, specificity and effects on seed germination and plant growth. *Mycologia.* 99: 4. 510-525. 23.
26. Guo, W.L., Chang, Y.C.A. and KAO, C.Y. 2010. Protocorm-like bodies initiation from root tips of *Cyrtopodium paranaense* (Orchidaceae). *Hort. Sci.* 45: 1365-1368.
27. Terashima, I., Fujita, T., Inoue, T., Chow, W.S. and Oguchi, R. 2009. Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light revisiting the enigmatic question of why leaves are green. *Plant Cell Physiol.* 50: 4. 684-697.
28. Von Arnold, S., Sabala, I., Bozhkov, P., Dyachok, J. and Filonova, L. 2002. Developmental pathways of somatic embryogenesis. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 69: 3. 233-249.