علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۴۶، شمارهٔ ۱، بهار ۱۳۹۴ (ص ۸۶-۷۷)

بررسی تأثیر زمان گرده‌افشانی و محیط‌های کشت متفاوت بر تشکیل کپسول بذر، درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور ارکیدهٔ فالانوپسیس (*'Phalaenopsis amabilis* cv. Cool Breeze')

خسرو بالی لاشکی[1*]، روح‌انگیز نادری[2]، سیامک کلانتری[3] و ابوذر سورنی[4]
۱، ۲، ۳ و ۴. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد، استادیار و دانشجوی سابق دکتری، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۳/۲/۲۹)

چکیده

گل‌های ارکیده به‌دلیل زیبایی منحصر به فرد، از گل‌های پرتقاضا در دنیا هستند. در بین جنس‌های ارکیده، از جنس فالانوپسیس استقبال بیشتری شده است و بخش عمده‌ای از فروش جهانی به آن اختصاص دارد. سختی تکثیر به‌دلیل مشکلات جوانه‌زنی بذور و فیزیولوژی پیچیدهٔ این گیاه از مشکلات تولید انبوه آن است. تعیین بهترین زمان گرده‌افشانی برای تولید کپسول بذر و تأثیر آن بر جوانه‌زنی بذور، تعیین بهترین غلظت هیپوکلریدسدیم برای ضد عفونی کپسول‌های تولیدی و مقایسهٔ سه محیط کشت chen، ½MS و Vacin&Went بر جوانه‌زنی بذور فالانوپسیس از آزمایش‌های بررسی‌شده در این مطالعه بود. نتایج نشان داد بیشترین کپسول بذر از گل‌های گرده‌افشانی شده در دی‌ماه با میانگین۴/۰۷ کپسول به‌ازای هر پنج گلچه به دست می‌آید. بهترین نتیجهٔ ضد عفونی نیز از تیمار حاوی ۴ درصد هیپوکلریدسدیم به دست آمد. بیشترین جوانه‌زنی با ۹۷ درصد در محیط chen و از کپسول‌های تولیدی از گل‌های گرده‌افشانی شده در بهمن‌ماه حاصل شد. گیاهچه‌های تولیدشده پس از کشت در محیط حاوی کوکوپیت، زغال، پوکه‌های صنعتی و خرده‌های یونولیت به نسبت حجمی ۱:۱:۲:۴ زنده‌مانی ۹۹ درصد نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: **ارکیده، زنده‌مانی، فالانوپسیس، کپسول بذر، محیط کشت.**

مقدمه

ارکیده یکی از گل‌های معروف در بین جوامع انسانی است، زیبایی ارکیده‌ها به‌دلیل رنگ، شکل، تنوع گل و وجود آن‌ها از سردترین تا گرم‌ترین نقاط جهان است (Griesbach, 2002). امروزه ارکیده‌ها به صنعتی میلیون‌دلاری در کشورهایی مثل تایلند، استرالیا، سنگاپور و مالزی تبدیل شده‌اند و ۸ درصد از تجارت جهانی گل و گیاه را به خود اختصاص داده‌اند. این کشورها با پیشرفت علم ریزازدیادی توانسته‌اند در بین ۱۰ تولیدکنندهٔ برتر گل ارکیدهٔ جهان قرار گیرند (Chugh *et al.*, 2009). جنس فالانوپسیس که معمولاً به‌منزلهٔ ارکیدهٔ مادر شناخته می‌شود ۵۰ تا ۹۰ درصد از بازار گل‌های ارکیده گلدانی را تشکیل می‌دهد (Griesbach, 2002). براساس گزارش‌ها، تولید و فروش ارکیده‌ها طی چند سال اخیر رشد چشمگیری داشته است و در بین آن‌ها فالانوپسیس توانسته است ۷۵ درصد از فروش بازار را از آن خود کند. بزرگ‌ترین تولیدکنندگان فالانوپسیس گلدانی در جهان کشورهای هلند، آلمان، چین، تایوان، آمریکا و ژاپن هستند. معمولاً این تولیدات طی یک همکاری چندجانبه بین کشورهای فوق حاصل می‌شود، به‌طوری‌که تولید کولتیوارهای جدید و کارهای اصلاحی در

* تلفن: ۰۹۳۷۸۲۲۹۴۹۱
E-mail: khosrobali@ut.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

آمریکا، انتخاب و گزینش‌های کلون‌های برتر از طریق کشت بافت در ژاپن، تولید انبوه گیاهچه‌ها در چین و پرورش گیاهچه‌ها از نونهالی تا گل‌دهی در هلند انجام می‌شود (Griesbach, 2002). زیبایی بیش از حد فالانوپسیس موجب به خطر افتادن و انقراض جمعیت‌های وحشی این گیاه شده است. یکی از راه‌حل‌های ممکن برای جلوگیری از این خطر تهیهٔ بانک‌های بذر برای ذخیره‌سازی طولانی‌مدت است. بر این اساس درک کامل از فیزیولوژی بذر برای بانکداری موفق بذر لازم و حیاتی است (Black & Bewley, 1995). بذور ارکیده‌ها بسیار ریز و فاقد مواد ذخیره‌ای و جنین کامل هستند که این موجب سختی جوانه‌زنی آن‌ها شده است. گزارش شده است که قارچ‌ها در جوانه‌زنی بذور ارکیده‌ها نقش دارند و این کار با همزیستی قارچ میکوریزا انجام می‌شود (Pierik, 1986). کار عمدهٔ کشت بافت ارکیده‌ها از سال ۱۹۴۹ با کشت گره‌های فالانوپسیس شروع شد و در سال ۱۹۶۰ گیاه سیمبیدیوم (*Cymbidium Orchid*) عاری از ویروس تولید شد و از آن زمان تا کنون کار بر روی ریزازدیادی ارکیده‌ها با روش‌های مختلف ادامه دارد (Arditti, 1993; Chugh *et al*., 2009). مطالعات نشان می‌دهد که سن گل‌های *Dendrobium tosaense* از روز بازشدن تا ۸ روزگی هیچ تأثیری بر تعداد کپسول تشکیل‌شده نداشته و بهترین جوانه‌زنی متعلق به کپسول‌های ۱۲ هفته‌ای است. همچنین بهترین محیط برای جوانه‌زنی با ۶۷/۵ درصد متعلق به محیط 1/2MS گزارش شده؛ اما بیشترین وزن خشک متعلق به گیاهچه‌هایی بوده است که روی بستر MS محتوی عصارهٔ موز و سیب‌زمینی کاشته شده بودند (Floria *et al*., 2004). شروع رشد تخمک در گونه‌های فالانوپسیس از ۲۸ تا ۴۸ روز پس از گرده‌افشانی است و تقریباً ۷۷ روز پس از گرده‌افشانی کامل می‌شود (Nadeau *et al*., 1996). در مقایسهٔ جوانه‌زنی بذور نابالغ و بالغ ارکیده *Cypripedium* این گونه شرح داده شده است که بذور نابالغی که اندازهٔ جنین آن‌ها ۶۶ درصد بذور بالغ بوده است و ۹ـ ۱۲ سلول و پوستهٔ زنده داشته‌اند جوانه‌زنی بهتری نسبت به بذور بالغ داشته‌اند. علت جوانه‌زنی بهتر بذور نارس تحرک پروتئینی خوب، داشتن پوسته بذر نفوذپذیر و داشتن پوشش جنینی رشدنیافته بیان شده است (Rasmussen, 1995). بررسی تأثیر بلوغ بذر بر تحمل به خشکی در بذور ارکیده *Phalaenopsis amabilis* نشان داده است که بهترین جوانه‌زنی از ۷۵ درصد تا ۹۹/۵ درصد از کپسول‌هایی به دست آمده است که ۹۰ـ ۲۱۶ روز از گرده‌افشانی آن‌ها گذشته بوده است (Rachel & Vanita, 2011). در بررسی جوانه‌زنی بذور ارکیده *Phalaenopsis amabilis*، بهترین جوانه‌زنی از کپسول‌هایی به دست آمد که ۱۲۰ روز از گرده‌افشانی آن‌ها گذشته بود و بهترین دما برای ذخیرهٔ بذور، دمای ۴- درجه گزارش شد (Mweetwa & Welbaum, 2008). بررسی زمان بین جوانه‌زنی بذور تا سازگاری گیاهچه‌های تولیدشدهٔ سه جنس ارکیده *Dendrobium*، *Cattyeya* و *Cattleyopsis* نشان داد، ارکیدهٔ *Dendrobium* با زمان ۳۰۰ روز از کشت بذر تا سازگاری گیاهچه‌ها کمترین و *Cattleyopsis* با ۶۰۰ روز بیشترین زمان را طی کردند و این سیکل برای *Cattyeya*، ۵۰۰ روز طول کشید. در این پژوهش به این نکته اشاره شده است که بذور نارس می‌توانند ۲ـ ۲/۵ ماه، دورهٔ تولید را کاهش دهند (Lyumila & Alla, 2004). در گزارشی بهترین بستر برای جوانه‌زنی دو رقم اندمیک *D.hamaticalcar* و *D.tetrachromum* محیط 1/2MS محتوی عصارهٔ سیب‌زمینی با جوانه‌زنی ۷۸ـ۹۶ درصد اعلام شد (Japer & Latip, 2011).

با توجه به مطالب یادشده، در این آزمایش گرده‌افشانی ارکیدهٔ فالانوپسیس در زمان‌های مختلف سال برای دست‌یابی به بهترین زمان تولید کپسول بذر و تأثیر آن بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور با مقایسه در سه محیط کشت مختلف مطالعه‌شده قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ مواد گیاهی

برای انجام این پژوهش از ارکیدهٔ *'Phalaenopsis amabilis* cv. Cool Breeze' استفاده شد. بوته‌های دوساله از شرکت Anthora کشور هلند خریداری شدند و در بهترین شرایط گلخانه‌ای و تغذیه‌ای قرار گرفتند.

ضد عفونی محلول‌ها و لوازم کشت

کلیهٔ وسایل، شیشه‌آلات و ابزار کار با استفاده از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد و فشار ۱۲۰ کیلوپاسکال (Kpa) به‌مدت ۱۵ـ۲۰ دقیقه ضدعفونی

Archive of SID

www.SID.ir

شدند. هنگام کار برای استریل‌کردن پنس‌ها و اسکالپل‌ها از اتانول ۷۰ درصد و شعلهٔ درون لامین استفاده شد. محیط‌های کشت و آب‌مقطر نیز به وسیلهٔ اتوکلاو به‌مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی شدند.

بررسی تأثیر زمان گرده‌فشانی بر تشکیل کپسول بذر

در این پژوهش طی ۸ ماه از سال (دی‌ماه تا مردادماه) که مطابق با فصل گل‌دهی این گیاه بود ماهانه ۱۵ بوتهٔ گلدار ارکیدهٔ فالانوپسیس انتخاب و به‌ازای هر شاخه گل، ۵ گلچه به‌صورت دستی گرده‌افشانی و ۴ هفته بعد، از نظر تعداد کپسول تشکیل‌شده شمارش شدند.

ضدعفونی کپسول‌های بذر

پیش‌استریل کپسول‌های بذر در ظرفی محتوی ۰/۵ درصد هیپوکلریدسدیم، یک قطره توئین۲۰، یک قطره مایع ظرف‌شویی به‌ازای یک لیتر آب به‌مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. بعد از پیش‌تیمار، ۲۰ کپسول (۵ کپسول به‌ازای هر تیمار) آزمایش خشک شدند و به زیر لامینار انتقال یافتند و پس از قرارگیری ۳۰ ثانیه‌ای در اتانول ۷۰ درصد با چهار غلظت ۲، ۴، ۸ و ۱۰ درصد از هیپوکلریدسدیم و در چهار بازه زمانی ۲۰، ۱۵، ۱۰ و ۷ دقیقه‌ای برای دست‌یابی به بهترین شیوهٔ استریل آزمایش شدند و درنهایت بعد از سه بار شست‌وشوی ۵ دقیقه‌ای با آب‌مقطر استریل شدند.

بررسی اثر زمان برداشت کپسول‌ها و محیط کشت در جوانه‌زنی بذور فالانوپسیس

برای کوتاه‌کردن دورهٔ تکثیر فالانوپسیس و قابلیت جوانه‌زنی بذور نارس، کپسول‌ها ۱۵۰ روز پس از گرده‌افشانی برداشت و در سه محیط کشت chen، ½MS و Vacin & Went کشت شدند (بعد از کشت، نمونه‌ها در اتاقک کشت با دمای ۱±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و فتوپریود ۱۶ ساعت با استفاده از لامپ‌های فلورسنت سرد نگهداری شدند). تأثیر فصل گرده‌افشانی، بهترین محیط برای کشت بذور و کوتاه‌ترین زمان از کشت بذور تا جوانه‌زنی در محیط کشت بررسی شد. در این آزمایش تعداد ۵ کپسول به‌صورت تصادفی از بین گیاهان آزمایش‌شده انتخاب و بعد از ضدعفونی بر روی محیط‌های کشت، پخش شدند (۸۰ شیشه برای هر محیط کشت).

بررسی تأثیر محیط‌های کشت مختلف در سازگاری گیاهچه‌های به‌دست‌آمده

برای تعیین تأثیر محیط‌های کشت بر سازگاری گیاهچه‌های حاصل از کشت بذر، ابتدا در قارچ‌کش کاربوکسی تیرام ۱ درصد ضد عفونی و به‌صورت توده‌های ۱۰۰تایی در سبدهای مخصوص (۱۰سبد برای هر تیمار) و در دو محیط کشت کوکوپیت-زغال به نسبت حجمی ۵ به ۱ و کوکوپیت، زغال، پوکه‌های صنعتی، خرده‌های یونولیت به نسبت حجمی ۱:۱:۲:۴ کاشته شدند و در گلخانه‌ای با دمای روز ۲۵ و شب۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد پس از یک ماه از نظر درصد زنده‌مانی آزمایش شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد و مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج گرده‌افشانی گل‌ها در ماه‌های مختلف

اولین علائم نشان‌دهندهٔ موفقیت در گرده‌افشانی پژمردگی گلبرگ‌هاست که در بین تیمارها، فاصلهٔ گرده‌افشانی تا پژمردگی گلبرگ‌ها اختلاف زیادی از خود نشان داد به‌طوری‌که بیشترین زمان با ۱۷ روز مربوط به گل‌هایی بود که در بهمن‌ماه گرده‌افشانی شدند و کمترین زمان نیز با ۷ روز به گل‌هایی تعلق داشت که در مردادماه گرده‌افشانی شده بودند. نتایج نشان‌دهندهٔ این موضوع است که دمای هوا نقش تعیین‌کننده‌ای در گرده‌افشانی گل‌های فالانوپسیس دارد؛ چون بیشترین و کمترین زمان گرده‌افشانی به‌ترتیب در سردترین و گرم‌ترین ماه سال به دست آمد. از نکات مهم شایان ذکر این است که هرچند پژمرده‌شدن گلبرگ‌ها در گل‌هایی که تولید کپسول می‌کردند و گل‌های دیگر در یک زمان اتفاق می‌افتاد، اما گل‌هایی که به گرده‌افشانی پاسخ نداده بودند ۳ تا ۵ روز پس از پژمرده‌شدن گلبرگ‌ها، زرد می‌شدند و ریزش می‌کردند و هرچه به ماه‌های گرم سال نزدیک می‌شدیم این زردشدن و ریزش نیز سریع‌تر اتفاق می‌افتاد.

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعات نشان می‌دهد هرچند گل‌های گرده‌افشانی نشدهٔ ارکیده می‌توانند مدت زیادی را سالم بمانند؛ اما با گرده‌افشانی و تولید اتیلن در زمان کمی گل‌های ارکیده رو به پژمردگی می‌روند. اولین علائم پژمردگی در گل‌های فالانوپسیس می‌تواند از ۷۲ ساعت پس از گرده‌افشانی شروع شود؛ و دو عامل حساسیت به اتیلن و تولید اتیلن در این امر دخیل‌اند (Arditti, 1993).

در تولید کپسول بذر، بین تیمارهای انجام‌شده بیشترین تولید با میانگین ۴/۰۷ کپسول به‌ازای هر پنج گل گرده‌افشانی شده متعلق به گل‌های گرده‌افشانی شده در دی‌ماه بود و کمترین کپسول نیز با ۰/۴ برای ماه مرداد ثبت شد. اما نکتهٔ قابل بحث این است که هرچه در ماه‌های خنک سال یعنی در ماه‌های فصل زمستان عمل گرده‌افشانی صورت گیرد، شانس تولید کپسول نیز بیشتر است و در فصل بهار و تابستان که هوا رو به گرمی می‌رود و طول روزها نیز بیشتر می‌شود گل‌ها کپسول بذر کمتری تولید می‌کنند که شاید بتوان دو عامل بیرونی مثل گرمای زیاد، اتیلن و یا اینکه عوامل فیزیولوژیکی نظیر عمر کم تخمک‌ها، دانه‌های گرده و عدم رشد تخمدان را در آن مؤثر دانست. شکل۱ درصد تولید کپسول به‌ازای گل‌های گرده‌افشانی در ماه‌های مختلف سال را نشان می‌دهد.

شکل ۱. نمودار تولید کپسول به‌ازای گل‌های گرده‌افشانی در ماه‌های مختلف

نتایج بررسی سطوح مختلف ضد عفونی کپسول‌های بذر

نتایج حاصل از ضد عفونی کپسول‌های بذر به این صورت بروز کرد که هرچه غلظت هیپوکلریدسدیم پایین‌تر آمد، درصد آلودگی افزایش یافت و هرچه غلظت هیپوکلریدسدیم بالاتر رفت، از درصد آلودگی کم شد؛ اما خسارت فیزیکی این افزایش غلظت منجر به سیاه‌شدن و از بین رفتن درصدی از بذور شد.

در بین تیمارها، بهترین عملکرد را تیمار ۲ (اتانول ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه، محلول هیپوکلریدسدیم ۴ درصد به مدت ۱۵ دقیقه و یک قطره توئین ۲۰) از خود نشان داد و ۹۴ درصد از نمونه‌های کشت‌شده سالم ماندند. در گزارش‌های دیگر نیز استفاده از این غلظت هیپوکلریدسدیم برای ضدعفونی کپسول‌های *Phalaenopsis amabilis* پیشنهاد شده است (Arditti, 1993; Chen & Chang, 2006).

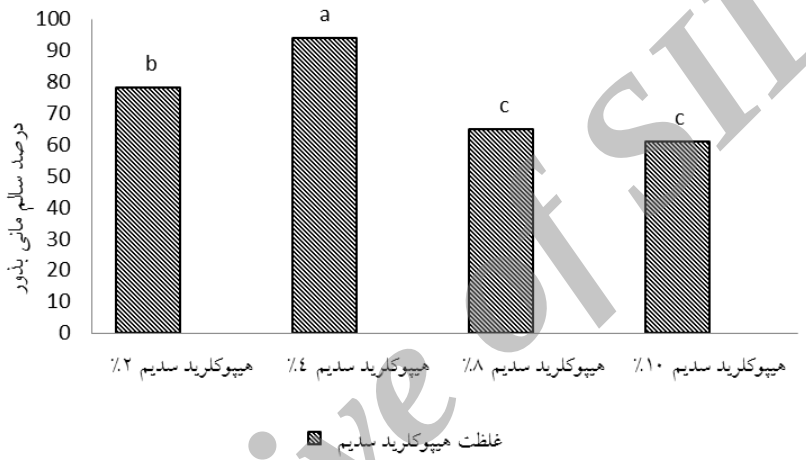
در تیمار ۱ که حاوی ۲ درصد هیپوکلریدسدیم بود تنها ۷۸ درصد از ریزنمونه‌ها سالم ماندند. یکی از اثرات بارز هیپوکلریدسدیم زمانی به دست آمد که غلظت هیپوکلریدسدیم در تیمار سوم به ۸ درصد افزایش یافت و مشاهده شد که هرچند درصد آلودگی کاهش می‌یابد، در هفتهٔ دوم نزدیک به ۲۳ درصد از نمونه‌های کشت‌شده در محیط کشت خود سیاه می‌شوند که با توجه به کاهش آلودگی قارچی این کاهش زنده‌مانی به‌علت تأثیرات فیزیکی غلظت بالای هیپوکلریدسدیم روی نمونه‌هاست. در تیمار چهارم که غلظت هیپوکلریدسدیم به ۱۰درصد رسید، درصد آسیب‌دیدگی به ۲۹ درصد افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

یافت که نشان‌دهندهٔ حساسیت کپسول و بذور آن‌ها به غلظت‌های بالای هیپوکلریدسدیم است.

یکی از قسمت‌های مشکل کشت بذور ارکیده‌ها، ضد عفونی کپسول بذر است هرچند ضد عفونی کردن کپسول گیاهان موجود در طبیعت مشکل‌تر از گیاهانی است که در محیط مصنوعی پرورش یافته‌اند؛ اما تنوع در اندازهٔ گل‌های ارکیده، برای مثال ارقام مینیاتور فالانوپسیس در مقابل ارقام گل‌درشت آن، سبب شده است کپسول‌هایی با اندازه و ضخامت متفاوتی به وجود آیند که این کار ضد عفونی آن‌ها را مشکل‌تر می‌کند (Arditti, 1993). در این آزمایش ما از رقمی استفاده کردیم که بزرگ‌ترین گل در ارقام فالانوپسیس را دارد که کپسول بذر آن هم بسیار درشت است، پس روش استریل آن هم بسیار سخت و زمان‌بر بود. دست‌یابی به روش استریلی با عملکرد بالای ۹۰ درصد یک دستاورد برای کشت بذر فالانوپسیس محسوب می‌شود. شکل۲ اثر غلظت هیپوکلریدسدیم بر ضد عفونی کپسول بذر ارکیدهٔ فالانوپسیس را نشان می‌دهد و شکل۳ نیز مربوط به خسارت فیزیکی ناشی از غلظت‌های بالای هیپوکلریدسدیم است.



شکل ۲. اثر غلظت هیپوکلریدسدیم بر ضد عفونی کپسول بذر فالانوپسیس

شکل ۳. نمودار خسارت فیزیکی ناشی از غلظت‌های بالای هیپوکلریدسدیم

نتایج اثر محیط‌های کشت و زمان گرده‌افشانی بر درصد جوانه‌زنی بذور

در سه محیط کشت بررسی‌شده بهترین جوانه‌زنی مربوط به محیط chen بود که با ۹۷ درصد بیشترین جوانه‌زنی را از خود نشان داد. محیط Vacin & Went جوانه‌زنی متوسطی داشت و هیچ‌وقت عملکردی بالای ۵۸ درصد از خود نشان نداد. محیط ½MS هم ضعیف‌ترین محیط کشت بود.

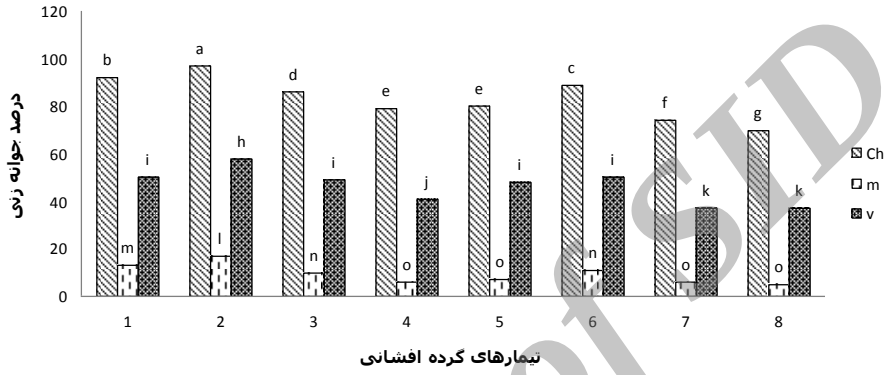
همان طور که در شکل ۴ نشان داده شده است زمان

Archive of SID

www.SID.ir

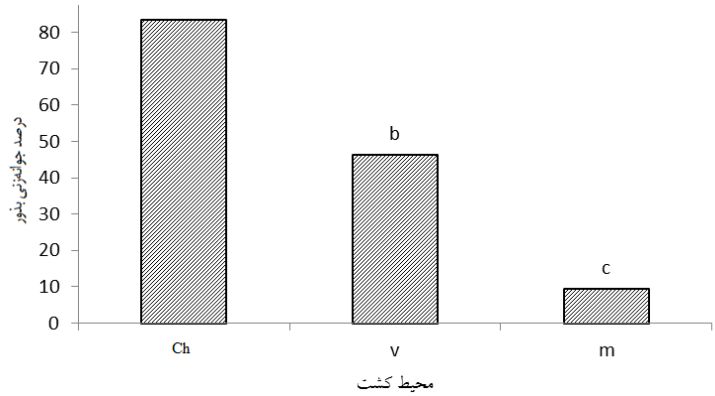
گرده‌افشانی نیز در جوانه‌زنی بذور بسیار مؤثر بود. هرچند کپسول‌های برداشته‌شده پنج‌ماهه و هم‌سن بودند؛ اما درصد جوانه‌زنی آن‌ها اختلاف معناداری نشان داد. بهترین جوانه‌زنی از بذور حاصل از تیمار بهمن‌ماه به دست آمد و بدترین جوانه‌زنی نیز از بذور تیمار مردادماه حاصل شد به‌طوری‌که در محیط chen تنها ۷۰ درصد جوانه‌زنی داشتیم، درحالی‌که در همین محیط و برای بذور تیمار بهمن‌ماه ۹۷ درصد جوانه‌زنی ثبت شد که نشان‌دهندهٔ این نکته است که زمان گرده‌افشانی تأثیر مستقیم در جوانه‌زنی بذور دارد.

اطلاعات ثبت‌شده از جوانه‌زنی بذور نشان داد بهترین زمان برای گرده‌افشانی کپسول برای استفاده از بذر آن‌ها فصل زمستان است؛ اما فصل تابستان در آزمایش ما بدترین فصل برای گرده‌افشانی گل‌هاست. شکل ۴ درصد جوانه‌زنی بذور در محیط‌های کشت متفاوت را نشان می‌دهد.



شکل ۴. درصد جوانه‌زنی بذور در محیط‌های کشت متفاوت

در بین سه محیط کشت استفاده‌شده تفاوت‌های بسیار چشمگیری از لحاظ عملکرد وجود داشت و میانگین جوانه‌زنی بین هشت تیمار نیز نشان داد محیط‌های chen، vacin & went و ½MS با ۸۳/۳۷، ۴۶/۲۵ و ۹/۳۷ درصد در ردیف اول تا سوم از لحاظ میانگین جوانه‌زنی بودند. در این تیمار vacin & went از لحاظ عناصر غذایی سبک‌ترین بود، اما ½MS و chen از نظر عناصر میکرو و ماکرو شبیه به هم بودند و تنها در محیط chen از ژل رایت به جای آگار و همچنین پپتون به‌منزلهٔ افزودنی طبیعی استفاده شد که تأثیر زیادی در جوانه‌زنی نسبت به محیط ½ MS از خود نشان داد. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که افزودنی‌های طبیعی مثل پپتون می‌تواند موجب افزایش جوانه‌زنی بذور ارکیده‌ها شود (Japer & Latip, 2011). همچنین گزارش‌ها نشان می‌دهد که بذور ارکیده‌های گرمسیری مثل فالانوپسیس به بسترهای کشت غنی‌تری نسبت به گونه‌های سردسیری نیاز دارند (Pierik, 1986). شکل ۵ میانگین جوانه‌زنی بذور در بین سه محیط کشت را نشان می‌دهد.



شکل ۵. میانگین جوانه‌زنی بذور در بین سه محیط کشت

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج نشان داد کپسول‌های سبز می‌توانند منبع مناسبی برای کشت بذر فالانوپسیس باشند و گزارش‌هایی را که علت کشت بذور نارس ارکیده را درصد جوانه‌زنی بالاتر از بذور رسیده، دست‌یابی سریع‌تر به گیاهچه، کاهش مدت به گل رفتن گیاه، کاهش دورهٔ اصلاحی، شکافته‌نشدن کپسول‌ها بر اثر خشکی طبیعی می‌دانند را تأیید می‌کند (Shamra *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2006). این دسته از پژوهشگران بهترین زمان برای افزایش جوانه‌زنی بذور ارکیدهٔ فالانوپسیس را استفاده از کپسول‌هایی می‌دانند که ۹۰ـ ۲۱۶ روز از گرده‌افشانی آن‌ها گذشته باشد (Rachel & Vanita, 2011).

طی چند سال اخیر بیشترین استفاده از محیط کشت برای جوانه‌زنی بذور فالانوپسیس استفاده از بستر کشت chen است که آقای Chen در سال ۱۹۹۹ معرفی کرده است و در منابع زیادی استفاده از این محیط کشت پیشنهاد شده است (Arditti, 2008; Chen & Chang, 2006; Penggow, 2010).

سرعت جوانه‌زنی در بین تیمارها اختلاف معناداری را نشان داد که بسته به تیمار و نوع محیط کشت بسیار متفاوت بود، به‌طوری‌که سریع‌ترین جوانه‌زنی با ۱۴ روز متعلق به بذور تیمار دی‌ماه و در محیط chen حاصل شد و کندترین جوانه‌زنی نیز متعلق به تیمار مردادماه و محیط ½MS با ۴۹ روز پس از کشت بود.

نکتهٔ مهمی که در سرعت جوانه‌زنی وجود داشت تأثیر تیمارهای انجام‌شده در فصول مختلف بود. برای مثال در محیط chen که بالاترین و سریع‌ترین جوانه‌زنی در آن مشاهده شد، اختلاف جوانه‌زنی در بذور کشت‌شده از تیمار دی‌ماه تا مردادماه در این محیط معنادار بود به‌طوری‌که یک اختلاف ۲۲ روزه در جوانه‌زنی آن‌ها مشاهده شد.

شکل ۶. تأثیر زمان گرده‌افشانی و محیط کشت بر سرعت جوانه‌زنی بذور

تأثیر محیط‌های کشت بر سرعت جوانه‌زنی نیز چشمگیر بود و بذور به‌دست‌آمده از یک تیمار، در زمان‌های مختلفی در سه محیط کشت جوانه زدند. اما همان طور که در شکل۷ دیده می‌شود میانگین سرعت جوانه‌زنی بین ۸ تیمار برای هر محیط متفاوت بود و در بین آن‌ها محیط chen با میانگین ۲۴/۳۷ روز در مقام اول و محیط‌های went & vacin و ½MS هر کدام با ۳۲/۳۹ و ۳۶/۱۲ روز در مقام دوم و سوم قرار داشتند.

بررسی نتایج سازگاری گیاهچه‌های تولیدشده

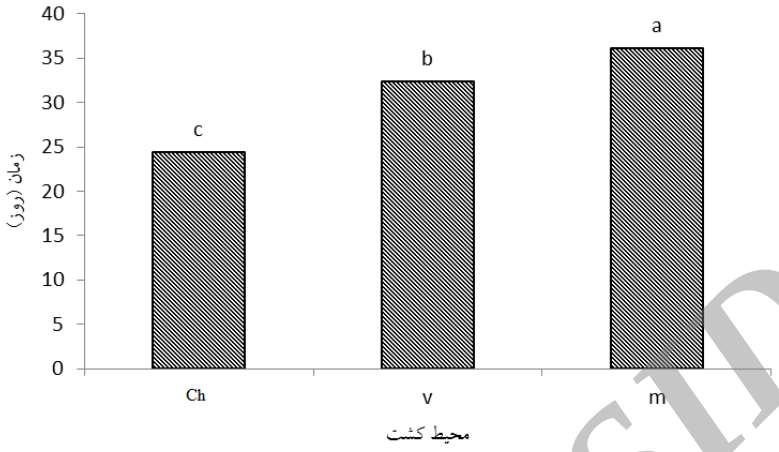
نتایج زنده‌مانی بین گیاهچه‌های تولیدی بسیار به هم نزدیک بود. بهترین سازگاری با ۹۹ درصد از گیاهان کشت‌شده در محیط ۲ (کوکوپیت، زغال، پوکه‌های صنعتی و خرده‌های یونولیت به نسبت حجمی ۱:۱:۲:۴) حاصل شد. در محیط ۱ (کوکوپیت و زغال به نسبت حجمی ۵ به ۱) نیز ۹۶ درصد از ریزنمونه‌ها زنده ماندند.

اما نکتهٔ مهم در بین دو محیط کشت این است که محیط ۱ آب بیشتری را در خود نگه می‌داشت و مرطوب‌تر بود و گیاهچه‌های کشت‌شده در آن نیز اغلب از ناحیهٔ ریشه شروع به پوسیده‌شدن می‌کردند. محیط ۲، وضعیت متخلخل‌تری داشت و این هم به علت وجود پوکهٔ صنعتی، ذغال و خرده‌های یونولیت بود.

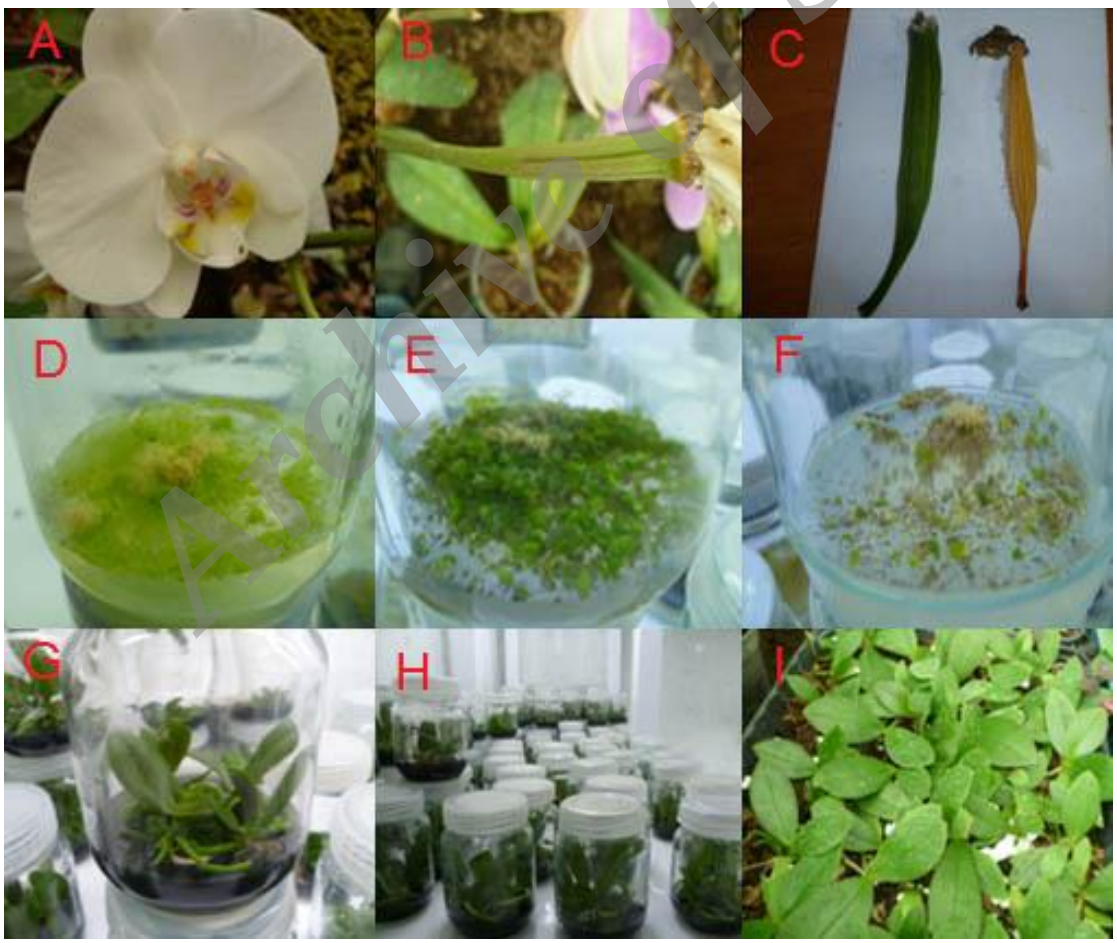
Archive of SID

www.SID.ir

گیاهچه‌های کشت‌شده در این محیط سازگاری و رشد بهتری داشتند. یکی از عواملی که می‌تواند در بهتر بودن این محیط مؤثر باشد اپی‌فیت بودن ارکیدهٔ فالانوپسیس است که در محیط‌هایی مثل محیط ۲ رشد بهتری از خود نشان می‌دهند. شکل ۹ نمودار سازگاری گیاهچهٔ تولیدی در دو محیط کشت متفاوت را نشان می‌دهد.



شکل ۷. نمودار میانگین سرعت جوانه زنی در بین سه محیط کشت

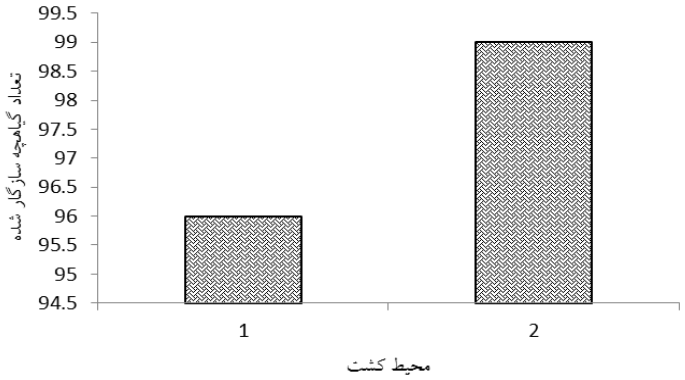


شکل ۸. مراحل مختلف از کشت بذر تا سازگاری گیاهچه‌ها از چپ به راست

A: گل گرده‌افشانی شده B: متورم‌شدن تخمدان و تشکیل کپسول بذر C: مقایسهٔ کپسول‌های نارس و رسیده D: بذور جوانه‌زده در محیط کشت E chen: بذور جوانه‌زده در محیط کشت F Vacin & Went: بذور جوانه‌زده در محیط کشت ½MS G: گیاهچه‌های کشت‌شده در محیط حاوی دو گرم در لیتر زغال فعال H: گیاهچه‌های آمادهٔ انتقال I: گیاهچه‌ها دو ماه پس از سازگاری.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۹. نمودار سازگاری گیاهچه‌های تولیدی در دو محیط کشت متفاوت

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که زمان گرده‌افشانی گل‌های ارکیدهٔ فالانوپسیس می‌تواند نقش بسزایی در تعداد کپسول تشکیل‌شده و حتی درصد جوانه‌زنی بذور آن‌ها داشته باشد. همچنین مشخص شد که بهترین زمان برای تولید کپسول فصل زمستان است، به‌طوری‌که بیشترین تعداد کپسول‌ها از گل‌های گرده‌افشانی شده در دی‌ماه به دست آمد. بیشترین و بهترین جوانه‌زنی از بذر کپسول‌های گرده‌افشانی شده در بهمن‌ماه به دست آمد. از طرفی تأثیر محیط‌های کشت مختلف بر جوانه‌زنی نشان داد غلظت عناصر بر جوانه‌زنی تأثیر می‌گذارد. درواقع نتایج این آزمایش بیانگر آن است که فیزیولوژی بذور ارکیدهٔ فالانوپسیس تحت‌تأثیر عوامل محیطی است و این عوامل می‌تواند نقش تعیین‌کننده‌ای بر جوانه‌زنی و نمو بذر داشته باشد.

REFERENCES

1. Arditti, J. (1993). *Fundamental of Orchid Biology*. Wiley Interscience, New York. 1992 PP.
2. Arditti, J. (1993). *Orchid Biology*. Kluwer Academic Press. Boston. 312 PP.
3. Arditti, J. (2008). *Micropropagation of Orchid*. Blackwell Press. USA, 1550 PP.
4. Bewley, J.D. & Black, M. (1995). *Seeds: Physiology of Development and Germination*, (2nd ed.). Plenum Press, New York/London.
5. Chen, J. & Chang, W. (2004). Induction of Repetitive embroyo Genesisfrom seed-drived porotocorm of *Phalaenopsis amabilis* Var. *formash imadzv*. *Developmental Biology*, 40, 290-293.
6. Chen, J. & Chang, W.C. (2006). Direct Somatic embryogenensis and plant regeneration from leaf explants *Phalaenopsis*. *Plant Biology*, 50, 169-173.
7. Chugh, H.S., Guha, S. & Rao, U. (2009). Micropropagation of Orchid: A review on the potential of different explants. *Scientia Horticulture*, 122, 507-520.
8. Floria, R., Rodrigues, F., Oliveria, L. & Muller, C. (2004). In vitro Dendrobium nobile plant growth and rooting in different sucrose concentration. *Horticultura Brasileria*, 22, 780-783.
9. Griesbach, R.J. (2002). *Development of Phalaenopsis orchids for the mass-market*. In: Janick, J., Whipkey, A. (eds) Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA, pp 458-465.
10. Japer, M. & Latip, M. (2011). Invitro seed Germination of Bornean Endemic Orchids *Dendrobium tetrachromum* and *D.hamaticalcar*. *Empowering Science*, 122, 770-778.
11. Kumar, K., Majumdar, S., Sharma, R. & Sharma, B. (2006). Green pod Culture and rapid Micropropagation of *Dendrobium Chrysanthum*. *Folia horti Culture*, 18, 81-90.
12. Lyumila, B. & Alla, L. (2004). Invitro germination of seed of somerare tropical Orchids.Aca universita tislatviensis. *Biology*, 676, 159-162.
13. Mweetwa, A.M. & Welbaum, D. (2008). Effect of development,tempe rapture and calcium hypochlorite treatment on in vitro germinability of *Phalaenopsis* seeds. *Scientia Horticulturae*, 117, 527- 262.
14. Nadeau, J.A., Zhang, X.S., Li, J. & O'Neill, S.D. (1996). Ovule development: identification of stage-specific and tissue-specific cDNAs. *Plant Cell*, 8, 213-239.
15. Penggow, W., Chang, J.T. & Chang, W.C. (2010). Enham cement of direct somatic embryogenesis and plant grow from leaf explants of *Phalaenopsis* by adjusting culture Periodand explants length. *Acta Physiologiae Plant*, 32, 621- 627.

Archive of SID

www.SID.ir

16. Pierik, R.L.M. (1986). *In vitro culture of higher plant*. Nirokawa prees, Netherland 406 p.
17. Rachel, S. & Vanita, B. (2011). The influence of seed maturation on desiccation to lerance in *Phalaenopsis amabilis* hybrids. *Scientia Horticulturae*, 128, 136-140.
18. Rasmussen, H.N. (1995). *Terrestrial Orchids from Seed to Mycotrophic Plants*. Cambridge University Press, Cambridge. 1564 PP.
19. Shamra, R.D.K., Shamra, B. & Majumdar, S. (2005). Micropropagation of *Dendrobium Filmbriatum* Hook by Green pod Culture. *Journal of Plant Biology*, 48, 253-257.

Archive of SID

www.SID.ir