



به‌نژادی گیاهان زراعی و باغی

دوره ۲ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۳

صفحه‌های ۱۳-۲۱

تعیین محیط مناسب برای جوانه‌زنی غیرهمزیست بذرها حاصل از خودگشنی ارکیده فالانوپسیس رقم 'کیوتو'

پریسا شکرریز^{۱*}، شیرین دیانتی دیلمی^۲، محسن کافی^۳ و مسعود میرمعصومی^۴

۱. کارشناس ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهرشهر کرج، کرج
۲. استادیار، گروه باغبانی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت
۳. استاد گروه مهندسی و علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
۴. مربی دانشکده زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۱/۳۱

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۰۴/۰۴

چکیده

در این پژوهش جوانه‌زنی بذرها حاصل از خودگشنی، درصد بقا و رشد پروتوکورم‌های ارکیده فالانوپسیس رقم 'کیوتو' در کشت درون‌شیشه‌ای و به روش غیرهمزیست بررسی شد. برای این منظور، از پنج نوع محیط کشت مختلف شامل وسین و ونت، موراشیگ و اسکوگ، یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ، نودسون و فاست تغییر یافته و تیمارهای افزودنی‌های آلی شامل دو گرم پیتون، ۱۵ درصد شیر نارگیل استریل یا ترکیبی از هر دو آن‌ها استفاده شد. بررسی نتایج جوانه‌زنی ۳۰ روز بعد از کشت بذر نشان داد بهترین محیط کشت برای جوانه‌زنی بذرها این رقم، محیط کشت نودسون تغییر یافته تیمار ترکیبی پیتون همراه با شیر نارگیل (۶۵/۹ درصد) دارد. محاسبه درصد بقا و رشد قطری پروتوکورم‌ها ۵۰ روز پس از کشت نشان داد بیشترین میزان بقای پروتوکورم در محیط کشت نودسون دارای تیمار پیتون (۹۴/۷ درصد) وجود داشته و بیشترین رشد پروتوکورم‌ها در محیط کشت فاست دارای تیمار ترکیبی پیتون همراه با شیر نارگیل (۳/۳ میلی‌متر) رخ داده است.

کلیدواژه‌ها: بقا و رشد پروتوکورم، پیتون، جوانه‌زنی بذر، شیر نارگیل، کشت غیرهمزیست.

مقدمه

ارکیده فالانوپسیس^۱ یکی از جنس‌های خانواده ارکیده^۲ است که گیاهان آن از جنوبی‌ترین قسمت آسیا واقع در تایوان تا استرالیا پراکنده شده است (۹ و ۱۰). در سال‌های اخیر، به تکتیر این گیاه به صورت گلدانی بسیار توجه شده است. به عنوان مثال ۷۵ درصد ارکیده‌های عرضه شده در آمریکا را شامل می‌شود (۴). گیاه ارکیده بذرها بسیار ریزی دارد و این امر در کنار نیاز به وجود قارچ همزیست برای جوانه‌زنی، تکتیر بذر این گیاه در شرایط خارج از طبیعت را بسیار دشوار کرده است. دانشمندان در قرن نوزدهم برای اولین بار کشت بذرها را به روش غیرهمزیست انجام دادند که موجب توسعه کشت و تولید ارکیده‌ها در سطح وسیعی شد (۱۱ و ۱۳). محیط کشت نودسون تغییر یافته برای جوانه‌زنی فالانوپسیس (۱۲) و محیط کشت موراشیگ و اسکوگ محیط‌هایی مناسب برای جوانه‌زنی رقم‌های 'آبرا'^۳ و 'جین مک هنری'^۴ این جنس معرفی شده است (۶). محیط کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ نیز برای جوانه‌زنی فالانوپسیس رقم 'آمایلیس'^۵ مناسب گزارش شده است (۲). همچنین استفاده از مواد افزودنی نظیر پپتون و سیب‌زمینی هموژنیزه در محیط وسین و ونت تغییر یافته برای جوانه‌زنی فالانوپسیس مناسب است (۱۱).

فالانوپسیس رقم 'کیوتو'^۶ از جمله ارقام تجاری است که گیاهچه‌های آن برای پرورش گیاهان گلدان‌دانی و شاخه‌بریده از کشورهای آسیای شرقی وارد ایران می‌شوند و کشور ما از نظر تولید بذر و گیاهچه‌های بذری آن

همواره به واردات خارجی وابسته است. همین امر موجب بالابودن قیمت این گل زیبا و بازارپسند در ایران شده است. در مجموع حجم گل ارکیده تولیدی جوابگوی تقاضای بازار نیست، به همین دلیل به‌رغم ممنوعیت واردات آن به‌طور قانونی از گمرک، این گیاه همچنان به صورت قاچاق از تایلند و مالزی وارد ایران می‌شود (۱۴). هدف از پژوهش حاضر، دستیابی به راهکاری مناسب برای کمک به رفع این مشکل با دستیابی به بذر و روشی مناسب برای جوانه‌زنی برای تولید انبوه گیاهچه است. در این پژوهش، پس از گرده‌افشانی مصنوعی و تشکیل کپسول‌های محتوی بذر، جوانه‌زنی، تولید پرتوکورم و رشد بعدی پرتوکورم‌های حاصل از بذر فالانوپسیس رقم 'کیوتو' در پنج محیط کشت مختلف بررسی شد (شکل ۴).

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و روش ضد عفونی

برای اجرای این پژوهش از گیاهان گلدانی فالانوپسیس رقم 'کیوتو' استفاده شد. گیاهان مذکور در گلخانه‌ای با دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۸ درصد در گلخانه آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی پردیس علوم دانشگاه تهران نگهداری شدند. گل‌ها بعد از باز شدن کامل و آماده شدن گرده و کلاله، به صورت مصنوعی خود گرده‌افشانی شدند. برداشت کپسول‌ها ۱۲۰ روز پس از لقاح و قبل از رسیدن کامل و شکاف خوردن آن‌ها انجام شد. کپسول‌های برداشت شده با استفاده از سفیدکننده تجاری ۳۰ درصد (هیپوکلریت سدیم با غلظت ماده مؤثره ۵/۷ درصد) به مدت ۲۰ دقیقه و سپس سه بار آبشویی به مدت ۱۰ دقیقه، استریل شدند. سپس بذرها از آن‌ها خارج و روی محیط‌های استریل کشت شد.

1. *Phalaenopsis*
2. *Orchidaceae*
3. *Phalaenopsis abrae*
4. *Phalaenopsis jane mc henry*
5. *Phalaenopsis amabilis var formosa*
6. *Phalaenopsis kyoto*

تعیین محیط مناسب برای جوانه‌زنی غیرهمزیست بذرها حاصل از خودکشتی ارکیده فالانوپسیس رقم 'کیوتو'

محیط و تیمارهای کشت

محیط‌های کشت استفاده‌شده شامل وسین و ونت^۱، موراشیگ و اسکوگ^۲، یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ^۳، نودسون^۴ و فاست^۵ تغییر یافته بود. برای جامدسازی محیط‌های کشت موراشیگ و اسکوگ، نودسون و وسین و ونت تغییر یافته از دو گرم در لیتر و در محیط کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ تغییر یافته از ۲/۵ گرم در لیتر و در محیط فاست تغییر یافته از سه گرم در لیتر فایبوزل^۶ استفاده شد. تیمار افزودنی‌های آلی شامل پیتون^۷ و شیر نارگیل استریل^۸ به‌تنهایی یا ترکیب این دو بود.

شیر نارگیل تازه به‌وسیله فیلترهایی با ابعاد ۰/۲ میکرواستریل شد. تیمار مواد افزودنی به‌صورت صفر (CW₁) یا ۱۵۰ میلی‌لیتر در لیتر (CW₂) شیر نارگیل استریل و صفر (P₁) یا دو گرم در لیتر (P₂) پیتون یا ترکیبی از هر دو آن‌ها در پنج محیط کشت استفاده شد. اسیدینه محیط‌ها پس از افزودن فایبوزل، قبل از اتوکلاو بر روی ۵/۵ تنظیم شد. محیط‌های کشت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه استریل و سپس به میزان ۳۰ سی‌سی در ظروف پتری شیشه‌ای به قطر ۱۰ سانتی‌متر استریل توزیع شدند. شیر نارگیل به‌منظور حفظ پروتئین‌های مورد نیاز پس از اتوکلاو به محیط‌های کشت افزوده شد.

بذرها برای کشت در محلول غذایی مایع، مشابه محیط کشت مربوط به هر تیمار معلق شدند و با استفاده از سمپلر و به‌صورت یکنواخت در ظروف پتری پراکنده شدند. پتری‌ها پس از کشت به اتافک رشد دارای دمای ۲۵ درجه

1. Modified Vacin & Went (V & W)
2. Modified Mourashing and skoog (MS)
3. Modified 1/2 Mourashing and skoog (1/2 MS)
4. Modified Knudsone (Kc)
5. Modified Fast
6. Poudier Phytogel Merck P 8427
7. Peptone
8. Strile Coconut Water (CW)

سانتی‌گراد، شدت نور ۳۰ میکرومول بر ثانیه در متر مربع و طول روز ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی منتقل شدند. درصد جوانه‌زنی ۳۰ روز بعد از کشت، درصد بقا و رشد قطری پروتوکوم ۵۰ روز پس از کشت اندازه‌گیری و محاسبه شدند. درصد بقای پروتوکوم‌ها از طریق تقسیم تعداد پروتوکوم رشد یافته بر کل بذرهاى جوانه‌زده در هر تیمار به‌دست آمد. برای بررسی رشد قطری پروتوکوم‌ها از کاغذ شطرنجی استفاده شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد.

نتایج و بحث

جوانه‌زنی بذر

تجزیه واریانس میانگین درصد جوانه‌زنی فالانوپسیس رقم 'کیوتو' در تیمارهای مختلف نشان داد که تیمارهای محیط کشت، پیتون و شیر نارگیل روی جوانه‌زنی بذرهاى این رقم اثر معناداری در سطح یک‌درصد داشته است. همچنین اثرات متقابل تمام تیمارها به‌جز اثر متقابل تیمار شیر نارگیل و پیتون که در سطح پنج‌درصد معنادار شد، همگی اختلاف معنادار در سطح یک‌درصد داشتند (جدول ۱). مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی پنج محیط کشت استفاده‌شده نشان داد که مناسب‌ترین محیط‌های کشت برای جوانه‌زنی بذرهاى این رقم شامل وسین و ونت، نودسون، یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ و به‌ترتیب با میانگین ۴۴/۲، ۴۲/۴ و ۴۲/۴ درصد و بدون اختلاف معنادار بود. کمترین درصد جوانه‌زنی نیز مربوط به محیط‌های موراشیگ و اسکوگ و فاست به‌ترتیب با میانگین ۳۰/۲ و ۲۴/۳ درصد بدون اختلاف معنادار بود. در نتیجه می‌توان محیط کشت وسین و ونت را به‌منزله مناسب‌ترین محیط برای جوانه‌زنی بذرهاى فالانوپسیس رقم 'کیوتو' معرفی کرد (جدول ۲).

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر محیط‌های کشت و افزودنی‌های آلی بر روی جوانه‌زنی، بقا و رشد قطری پروتوکورم ارکیده فالانوپسیس رقم 'کیوتو'

منابع متغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات درصد جوانه‌زنی	میانگین مربعات درصد بقای پروتوکورم	میانگین مربعات رشد قطری پروتوکورم
شیر نارگیل	۱	۴۸۴۰/۷**	۳۱/۹۸**	۱۴/۱**
پیتون	۱	۱۵۴۷**	۵/۸۸*	۱/۸۲*
محیط کشت	۴	۹۶۶/۶**	۱۴/۶**	۱/۱۹*
شیر نارگیل × پیتون	۱	۱۹۷/۵*	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۷ ^{ns}
شیر نارگیل × محیط کشت	۴	۴۷۱/۵**	۲۱/۱**	۲/۵۴**
پیتون × محیط کشت	۴	۴۷۳/۸**	۴/۶۱**	۰/۵ ^{ns}
شیر نارگیل × پیتون × محیط کشت	۴	۳۵۸/۶**	۲۱/۸۶**	۲/۱۲**
خطا	۲۳	۳۸/۷	۰/۸۷	۰/۴۱

* نشانه معنادار بودن در سطح ۵ درصد ** نشانه معنادار بودن در سطح ۱ درصد ns نشانه معنادار نبودن

جدول ۲. درصد جوانه‌زنی فالانوپسیس 'کیوتو' در محیط کشت‌های مختلف

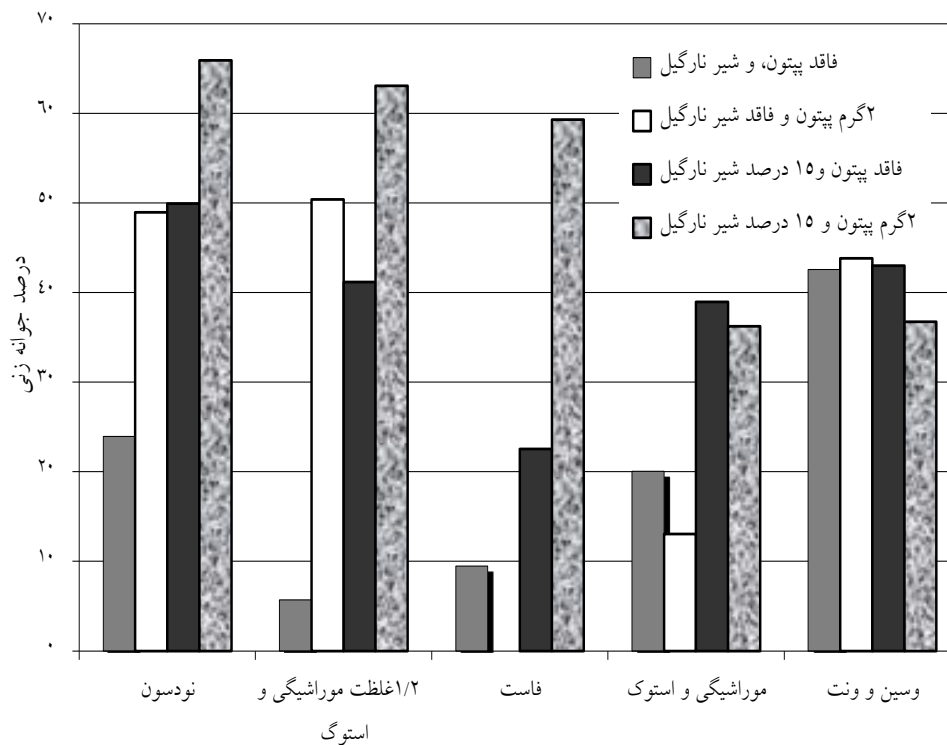
درصد جوانه‌زنی	محیط کشت
۴۴/۹ ^a	وسین و ونت
۴۲/۹ ^a	یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ
۴۲/۴ ^a	نودسون
۳۰/۲ ^b	موراشیگ و اسکوگ
۲۴/۳ ^b	فاست
۱۵/۸	حداقل استاندارد اشتباه

ارزیابی شده است (۱۵). در مورد جوانه‌زنی دندروبیوم رقم 'تراجروموم'^۱ محیط کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ و افزودنی ۱۵ درصد شیر نارگیل و دو گرم پیتون مفید بود (۷). همچنین محیط کشت نودسون پایه تغییر یافته به منظور جوانه‌زنی دندروبیوم رقم 'آکوم'^۲ مناسب گزارش شد (۵).

تیمار ترکیبی پیتون و شیر نارگیل در محیط‌های کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ و نودسون سبب افزایش جوانه‌زنی به ترتیب تا ۶۳ و ۶۵/۹ درصد شد (شکل ۱). محیط‌های نودسون تغییر یافته و یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۳۰ گرم بر لیتر سیب‌زمینی هموزنیزه را محیط‌هایی مناسب برای جوانه‌زنی فالانوپسیس گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (۶ و ۱۲). همچنین، نودسون تغییر یافته برای جوانه‌زنی ارکیده فالانوپسیس مناسب

1. *Dendrobium tetrachromum*
2. *Dendrobium aqueum* Lindl.

تعیین محیط مناسب برای جوانه‌زنی غیرهمزیست بذره‌های حاصل از خودکشتی ارکیدۀ فالانوپسیس رقم 'کیوتو'



شکل ۱. برهمکنش محیط‌های کشت و تیمارهای شیر نارگیل و پیتون روی درصد جوانه‌زنی فالانوپسیس 'کیوتو'

است که محیط کشت موراشیگی و اسکوگ به‌منظور جوانه‌زنی دندروبیوم رقم 'آفیلموم'^۲ مناسب گزارش شد (۳). کمترین جوانه‌زنی مربوط به تیمارهای موراشیگی و اسکوگ دارای دو گرم پیتون (۱۳ درصد جوانه‌زنی) و فاست دو گرم پیتون با (صفر درصد جوانه‌زنی) داشت.

میزان بقای پروتوکورم‌ها

میانگین درصد بقا نشان می‌دهد، تیمارهای شیر نارگیل و محیط‌های کشت ساده به‌صورت معناداری در سطح یک درصد و پیتون در سطح پنج درصد سبب افزایش بقای پروتوکورم‌ها شده‌اند (جدول ۱). در بین اثرات متقابل تنها ترکیب پیتون و شیر نارگیل معنادار نشد، سایر تیمارها در سطح یک درصد اثرات معنادار داشتند. این امر در حالی

محیط کشت فاست دارای پیتون و شیر نارگیل در گروه بعدی قرار می‌گیرد، در نتیجه محیط‌هایی با غلظت نمک کم برای جوانه‌زنی این رقم مناسب‌اند. تیمارهای مختلف وسین و ونت در گروه‌های بعدی قرار گرفته‌اند. بنابراین، این محیط در مقایسه با سایر محیط‌های استفاده‌شده زیاد برای جوانه‌زنی این رقم مناسب نیست. این امر با دیگر گزارش‌ها مطابقت دارد که محیط تغییر یافته وسین و ونت برای جوانه‌زنی دندروبیوم رقم 'تراجروموم'^۲ نامناسب گزارش شد (۵)، البته محیط وسین و ونت تغییر یافته برای جوانه‌زنی فالانوپسیس رقم 'سیلکی مون'^۱ مناسب گزارش بود (۱۱). تیمارهای مختلف موراشیگی و اسکوگ کمترین جوانه‌زنی در بین سایر تیمارها داشتند. این امر در حالی

2. *D.aohyllum*

1. *Phalaenopsis silky moon*

بقا در محیط یک دوم و یک چهارم غلظت موراشیگ و اسکوگ گزارش شده است و موراشیگ و اسکوگ کامل مانع جوانه زنی بوده است (۱۲). همچنین محیط یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای هورمون تیادیازورون^۷ برای بقای پروتوکورم های فالانوپسیس رقم 'آمابیلیس' مناسب بود (۱).

در بین تیمارهای محیط کشت وسین و ونت تیمار شاهد بیشترین درصد بقا را داشت و تیمار پیتون به همراه شیر نارگیل بقای کمتری نسبت به سایر تیمارها داشت، درحالی که در محیط کشت فاست نتیجه ای متضاد با این نتیجه دیده می شود زیرا تیمار ترکیبی پیتون و شیر نارگیل بیشترین بقا را داشت. در آزمایش حاضر، محیط فاست دارای پیتون مانع تولید پروتوکورم شد و تمام بذره ای جوانه زده بدون تشکیل پروتوکورم از بین رفتند.

رشد قطری پروتوکورمها

شیر نارگیل به صورت معناداری در سطح یک درصد سبب افزایش قطر پروتوکورمها شد (جدول ۲). همچنین تیمارهای پیتون و محیط کشت سبب افزایش قطر پروتوکورمها شدند (شکل ۳). در نتیجه برای رشد قطری پروتوکورمهای این رقم استفاده از شیر نارگیل مؤثرتر از پیتون است. اثرات ترکیبی تیمارهای پیتون و شیر نارگیل همراه با هم و افزودن پیتون به تنهایی در محیطهای کشت سبب افزایش قطر پروتوکورمها نشدند، ولی برهمکنش افزودن شیر نارگیل در محیط کشت و افزودن پیتون همراه با شیر نارگیل در محیطهای کشت به صورت کاملاً معناداری در سطح یک درصد سبب افزایش قطر پروتوکورمها شد. بنابراین، پیتون به همراه شیر نارگیل در محیطهای کشت به منظور افزایش رشد قطری پروتوکورمهای فالانوپسیس رقم 'کیوتو' مفید است.

است که در دیگر پژوهشهای، استفاده از ترکیب پیتون به همراه شیر نارگیل را برای افزایش رشد پروتوکورمهای دندروبیوم رقم 'تتراکروم'^۱ و دندروبیوم رقم 'هاماتیکیالکار'^۲ مناسب گزارش شد (۷).

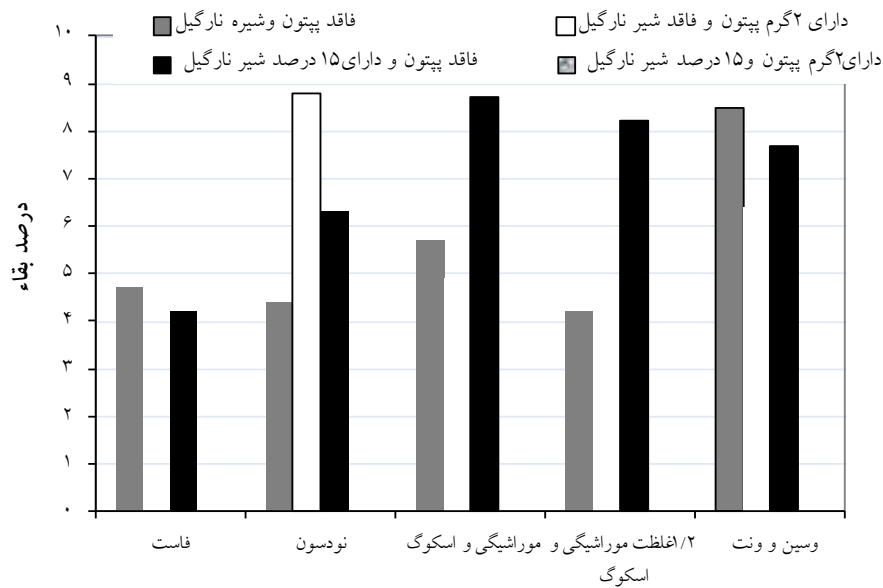
میزان بقای پروتوکورمها بین صفر تا ۱۰ درصد بود و بیشترین بقا در محیط کشت وسین و ونت وجود داشت و افزودن تیمار آلی شیر نارگیل در این محیط مفید بود (شکل ۲). این مطلب گویای این است که محیط وسین و ونت محیطی مناسب برای جوانه زنی و بقای این رقم است. این نتیجه برخلاف گزارشهای قبلی در مورد بقای پروتوکورمهای دندروبیوم رقم 'نوبایل'^۳ و دندروبیوم رقم 'آکوم'^۴ است، زیرا بیشترین رشد و بزرگترین پروتوکورم در محیط نودسون برای آنها مشاهده شد (۵ و ۸).

محیط کشت موراشیگ و اسکوگ دارای تیمار شیر نارگیل با اختلاف معناداری در گروه بعد موراشیگ و اسکوگ دارای پیتون بود. این نتیجه نظیر گزارش دیگر پژوهشگران در مورد بقای پروتوکورمهای دندروبیوم رقم 'آفیوم'^۵ است، با این تفاوت که محیط کشت موراشیگ و اسکوگ استفاده شده آنها فاقد افزودنی خاصی بود (۳). محیطهای کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای پیتون و شیر نارگیل بدون اختلاف با هم در گروه بعد نسبت به موراشیگ و اسکوگ قرار گرفته اند. این نتیجه با نتایج پژوهشهای گذشته در مورد فالانوپسیس مطابقت دارد، زیرا آنها نیز این محیطها را برای بقای پروتوکورم فالانوپسیس^۶ نامناسب گزارش کرده اند (۶). درحالی که در مورد فالانوپسیس رقم 'استاندارد'^۶، بیشترین جوانه زنی و

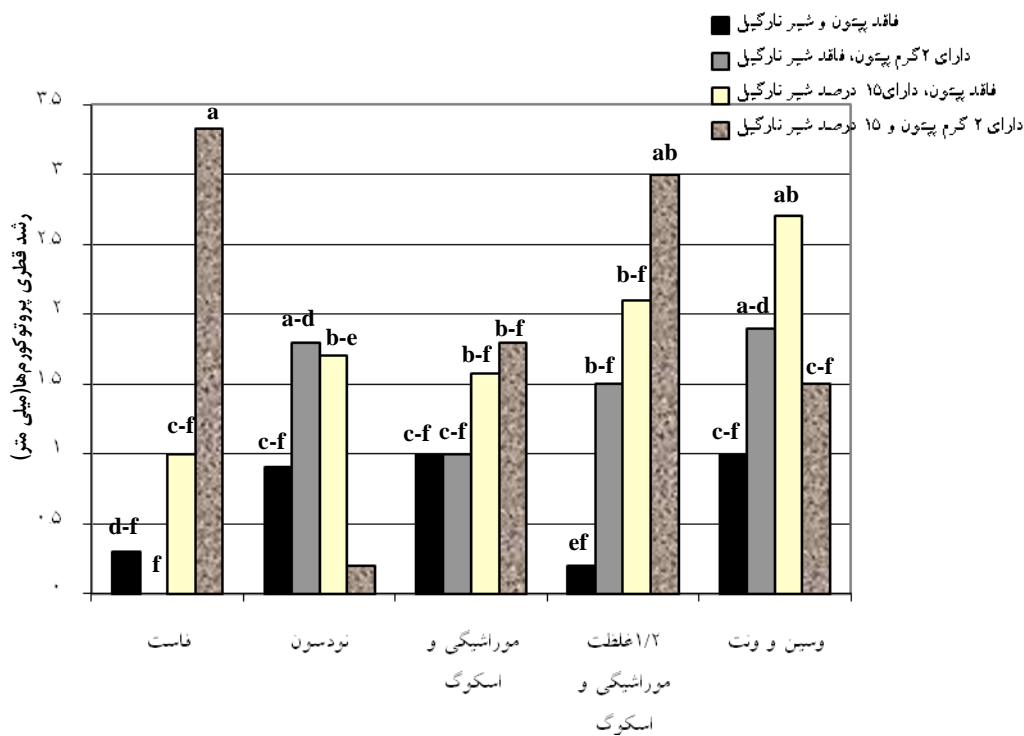
1. *Dendrobium tetracrom*
2. *Dendrobium hamaticalcar*
3. *Dendrobium nobile*
4. *Dendrobium afium*
5. *Phalaenopsis formosana*
6. *Phalaenopsis Standard*

7. Phenyl-N-(1,2,3-thiadiazol-5-yl) urea.Thiadiazuron (TDZ)

تعیین محیط مناسب برای جوانه‌زنی غیرهمزیست بذرهای حاصل از خودکشتی ارکیدۀ فالانوپسیس رقم 'کیوتو'



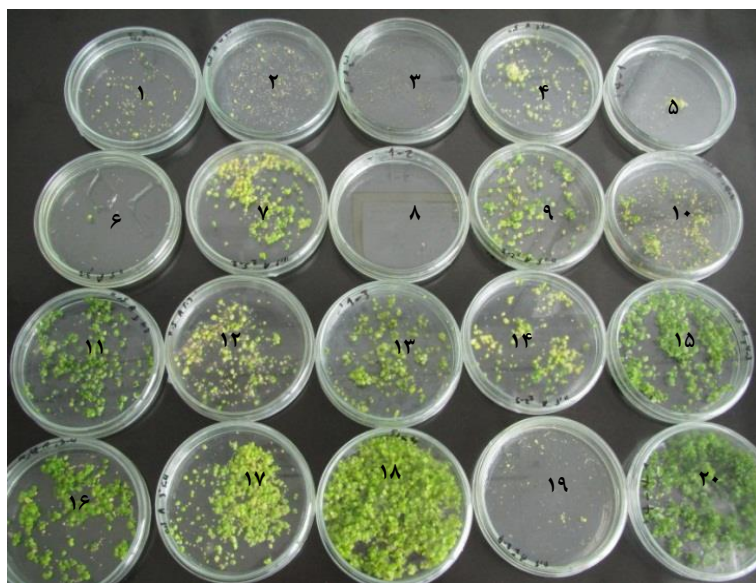
شکل ۲. برهمکنش محیط‌های کشت و تیمارهای شیر نارگیل و پیتون روی درصد بقای پروتوکورم فالانوپسیس رقم 'کیوتو'



شکل ۳. برهمکنش محیط‌های کشت و تیمارهای شیر نارگیل و پیتون روی میزان رشد پروتوکورم

بین ۱۹ تیمار دیگر به‌منظور افزایش قطر پروتوکورم 'کیوتو' گزارش کرد (شکل‌های ۳ و ۵). این نتیجه نظیر گزارش‌های دیگر پژوهشگران درباره استفاده از پیتون و شیر نارگیل به‌منظور افزایش رشد قطری پروتوکورم‌هاست (۷).

مقایسه محیط‌های کشت نشان می‌دهد، محیط کشت فاست دارای تیمار ترکیبی پیتون همراه با شیر نارگیل بیشترین میانگین قطری را (۳/۳ میلی‌متر) داشته است. در نتیجه می‌توان این تیمار را به‌منزله مناسب‌ترین ترکیب در



شکل ۵. مقایسه رشد پروتوکورم‌های فالانوپسیس کیوتو ۵۰ روز پس از کشت در تیمارهای مختلف

و ونت دارای پیتون و شیر نارگیل، ۱۸. فاست دارای پیتون و شیر نارگیل، ۱۹. نودسون دارای پیتون و شیر نارگیل و ۲۰. یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای پیتون و شیر نارگیل

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، افزودن دو گرم پیتون و ۱۵ درصد شیر نارگیل به محیط‌های کشت تیمارهایی مناسب برای جوانه‌زنی، بقا و رشد پروتوکورم فالانوپسیس رقم 'کیوتو' است. ترکیب پیتون و شیر نارگیل مؤثرتر از هر یک از تیمارهای پیتون و شیر نارگیل به‌تنهایی است و محیط‌های کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ، نودسون و وسین و ونت محیط‌هایی مناسب برای جوانه‌زنی این رقم هستند. در مجموع می‌توان نودسون را به‌منزله بهترین محیط کشت برای جوانه‌زنی و بقای پروتوکورم‌های این رقم معرفی کرد. محیط کشت فاست نیز به‌منزله بهترین محیط برای افزایش رشد قطری پروتوکورم‌ها پیشنهاد می‌شود.

در گروه بعدی، محیط‌های کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای شیر نارگیل و پیتون وسین و ونت دارای شیر نارگیل بدون اختلاف معناداری با هم قرار گرفته‌اند. در این پژوهش، تیمارهای محیط کشت نودسون میانگین قطر کمتری دارند و در نتیجه به‌منزله تیماری مناسب گزارش نمی‌شوند، درحالی‌که در گزارش‌های قبلی محیط کشت نودسون به‌منظور رشد پروتوکورم مناسب گزارش شده است (۸).

تیمارها به‌ترتیب عبارت‌اند از: ۱. موراشیگ و اسکوگ، ۲. وسین و ونت، ۳. فاست، ۴. نودسون، ۵. $\frac{1}{2}$ غلظت موراشیگ و اسکوگ، ۶. موراشیگ و اسکوگ دارای پیتون، ۷. وسین و ونت دارای پیتون، ۸. فاست دارای پیتون، ۹. نودسون دارای پیتون، ۱۰. $\frac{1}{2}$ غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای پیتون، ۱۱. موراشیگ و اسکوگ دارای شیر نارگیل، ۱۲. وسین و ونت دارای شیر نارگیل، ۱۳. فاست دارای شیر نارگیل، ۱۴. نودسون دارای شیر نارگیل، ۱۵. $\frac{1}{2}$ غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای شیر نارگیل، ۱۶. موراشیگ و اسکوگ دارای پیتون و شیر نارگیل، ۱۷. وسین

منابع

1. Chen J and Chen Chang W (2004) Induction of repetitive embryogenesis from seed-derived protocorms of *Phalaenopsis amabilis* var. *formosa* Shimadzu. *In Vitro Cell and Development Biology Plant*. 40: 290-293.
2. Chen J and Chang W (2006) Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf explant of *Phalaenopsis amabilis*. *In Vitro Cell and Development Biology Plant*. 40: 290-293.
3. Dutta S, Chowdhury A, Bhattacharjee B, Nath PK and Dutta K (2011) *In Vitro* multication and protocorm development of *Dendrobium aphyllum* (Roxb) CEC Fisher. *Biological and Environmental Sciences*. 7: 57-61.
4. FloraHolland (2010) Published estimates data base (PEDB). Available at <http://www.floraholland.com/nl/overfloraholland/Cooperatie/Documents/>.
5. Jayachandran PR, Veluchamy B and Britto J (2009) *In Vitro* Seed Germination and Protocorm Development of *Dendrobium aqueum* Lindl. A Rare Orchid Species from Eastern Ghats of Tamil Nadu. *Botany Research International*. 2(2): 99-102.
6. Lee Y, Chen MC and Huang CY (2010) Effect of medium composition on asymbiotic seed germination of five *Phalaenopsis* species. *Acta Horticulture*. 878: 225-230.
7. Maslili JA, Rosmah M and Latip M (2011) *In Vitro* Seed Germination of Bornean Endemic Orchids *Dendrobium tetrachromum* and *Dendrobium hamaticalcar*. *Empowering Science*. 122: 770-778.
8. Rachuwanshi AN, Mishra RR and Sharma GD (1985) Effect of Synthetic Media on Asymbiotic Seed Germination and Seedling Growth of *Dendrobium nobile* and *Sarcanthus pallidus*. *Science Academy*. 51(3): 360-363.
9. Sushmita B and Khan HA (2000) Effect of growth adjuvants on *In Vitro* seed germination of *Phalaenopsis* hybrid. *Indian Journal of Horticulture*. 57: 90-93.
10. Teob ES (1989) *Orchids of Asia* Singapore. Times Books International. Pp. 121-134.
11. Thongpukdee A, Thepsithar C and Rojanawong T (2010) Optimum condition for seed germination of *Phalaenopsis silky moon*. *Acta Horticulture*. 878: 237-242
12. Tu MC (1986) Studies on capsule development and effects of media composition on seed germination and seedling growth in *Phalaenopsis* (white hybrid). National Taiwan University, Masters Thesis.
13. Wing Y and Arditti J (2009) History of orchid propagation: a mirror of the history of biotechnology. *Plant Biotechnology*. 3: 1-56.
14. www.uiran.com/newscrawler/news/content
15. Xu Xia O, Sh Lin Shao, J Yao li, Ch, Zhong lin and Y Ju Bing (2004) Study on the factors affecting seed embryo germinating of butterfly orchid (*Phalaenopsis*). *Acta Agriculture Zhejiangensis*. 04.