به‌نژادی گیاهان زراعی و باغی
دوره ۲ ■ شماره ۱ ■ بهار و تابستان ۱۳۹۳
صفحه‌های ۱۳-۲۱

تعیین محیط مناسب برای جوانه‌زنی غیرهمزیست بذرهای حاصل از خودگشنی ارکیدهٔ فالانوپسیس رقم 'کیوتو'

پریسا شکرریز[1]*، شیرین دیانتی دیلمی[2]، محسن کافی[3] و مسعود میرمعصومی[4]

۱. کارشناس ارشد، گروه باغبانی، دانشکدهٔ 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، دانشکدهٔ علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج
۴. مربی دانشکدهٔ زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۲/۰۴/۰۴ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۱/۳۱

چکیده

در این پژوهش جوانه‌زنی بذرهای حاصل از خودگشنی، درصد بقا و رشد پروتوکورم‌های ارکیدهٔ 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 تغییریافته و تیمارهای افزودنی‌های آلی شامل دو گرم پپتون، ۱۵درصد 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 بذرهای این رقم، محیط کشت نودسون تغییریافته تیمار ترکیبی پپتون همراه با شیر نارگیل (۶۵/۹درصد) دارد. محاسبهٔ درصد بقا و رشد قطری پروتوکورم‌ها ۵۰ روز پس از کشت نشان داد بیشترین میزان بقای پروتوکورم در محیط کشت نودسون دارای تیمار پپتون (۹۴/۷درصد) وجود داشته و بیشترین رشد پروتوکورم‌ها در محیط کشت فاست دارای تیمار ترکیبی پپتون همراه با شیر نارگیل (۳/۳ میلی‌متر) رخ داده است.

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

* نویسنده مسئول
Email: parisashekarriz@gmail.com

مقدمه

ارکیدهٔ فالانوپسیس[1] یکی از جنس‌های خانوادهٔ ارکیده[2] است که گیاهان آن از جنوبی‌ترین قسمت آسیا واقع در تایوان تا استرالیا پراکنده شده است (۹ و ۱۰). در سال‌های اخیر، به تکثیر این گیاه به‌صورت گلدانی بسیار توجه شده است. به عنوان مثال ۷۵درصد ارکیده‌های عرضه‌شده در آمریکا را شامل می‌شود (۴). گیاه ارکیده بذرهای بسیار ریزی دارد و این امر در کنار نیاز به وجود قارچ همزیست برای جوانه‌زنی، تکثیر بذر این گیاه در شرایط خارج از طبیعت را بسیار دشوار کرده است. دانشمندان در قرن نوزدهم برای اولین بار کشت بذرهای این گیاه را به روش غیرهمزیست انجام دادند که موجب توسعهٔ کشت و تولید ارکیده‌ها در سطح وسیعی شد (۱۱ و ۱۳). محیط کشت نودسون تغییریافته برای جوانه‌زنی فالانوپسیس (۱۲) و محیط کشت موراشیگ و اسکوگ محیط‌هایی مناسب برای جوانه‌زنی رقم‌های 'آبرا'[3] و 'جین مک هنری'[4] این جنس معرفی شده است (۶). محیط کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ نیز برای جوانه‌زنی فالانوپسیس رقم 'آمابیلیس'[5] مناسب گزارش شده است (۲). همچنین استفاده از مواد افزودنی نظیر پپتون و سیب‌زمینی هموژنیزه در محیط وسین و ونت تغییریافته برای جوانه‌زنی فالانوپسیس مناسب است (۱۱).

فالانوپسیس رقم 'کیوتو'[6] ازجمله ارقام تجاری است که گیاهچه‌های آن برای پرورش گیاهان گلدار گلدانی 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. درمجموع حجم گل ارکیدهٔ تولیدی جوابگوی تقاضای بازار نیست، به همین دلیل به‌رغم ممنوعیت واردات آن به‌طور قانونی از گمرک، این گیاه همچنان به‌صورت 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 پروتوکورم‌های حاصل از بذر فالانوپسیس رقم 'کیوتو' در پنج محیط کشت مختلف بررسی شد (شکل۴).

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 درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۸درصد در گلخانهٔ آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی پردیس علوم دانشگاه تهران نگهداری شدند. گل‌ها بعد از بازشدن کامل و آماده‌شدن گرده و کلاله، به‌صورت مصنوعی خود گرده‌افشانی شدند. برداشت کپسول‌ها ۱۲۰ روز پس از لقاح و قبل از رسیدن کامل و شکاف‌خوردن آن‌ها انجام شد. کپسول‌های برداشت‌شده با استفاده از سفیدکنندهٔ تجاری ۳۰درصد (هیپوکلریت سدیم با غلظت مادهٔ مؤثره ۵/۷درصد) به‌مدت ۲۰ دقیقه و سپس سه بار آبشویی به‌مدت 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

محیط و تیمارهای کشت

محیط‌های کشت استفاده‌شده شامل وسین و ونت[1]، موراشیگ و اسکوگ[2]، یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ[3]، نودسون[4] و فاست[5] تغییریافته بود. برای جامدسازی محیط‌های کشت موراشیگ و اسکوگ، نودسون و وسین و ونت تغییریافته از دو گرم در لیتر و در محیط کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ تغییریافته از ۲/۵ گرم در لیتر و در محیط فاست تغییریافته از سه گرم در لیتر فایتوژل[6] استفاده شد. تیمار افزودنی‌های آلی شامل پپتون[7] و شیر نارگیل استریل[8] به‌تنهایی یا ترکیب این دو بود.

شیر نارگیل تازه به‌وسیلهٔ فیلترهایی با ابعاد ۰/۲ میکرواستریل شد. تیمار مواد افزودنی به‌صورت صفر (CW_1) یا ۱۵۰ میلی‌لیتر در لیتر (CW_2) شیر نارگیل استریل و صفر (P_1) یا دو گرم در لیتر (P_2) پپتون یا ترکیبی از هر دو آن‌ها در پنج محیط کشت استفاده شد. اسیدیتهٔ محیط‌ها پس از افزودن فایتوژل، قبل از اتوکلاو بر روی ۵/۵ تنظیم شد. محیط‌های کشت در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت 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 اتاقک رشد دارای دمای ۲۵ درجهٔ 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 پروتوکرم ۵۰ روز پس از کشت اندازه‌گیری و محاسبه شدند. درصد بقای پروتوکورم‌ها از طریق تقسیم تعداد پروتوکورم رشدیافته بر کل بذرهای جوانه‌زده در هر تیمار به‌دست آمد. برای بررسی رشد قطری پروتوکورم‌ها 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

تجزیهٔ واریانس میانگین درصد جوانه‌زنی فالانوپسیس رقم 'کیوتو' در تیمارهای مختلف نشان داد که تیمارهای محیط کشت، پپتون و شیر نارگیل روی جوانه‌زنی بذرهای این رقم اثر معناداری در سطح یک‌درصد داشته است. همچنین اثرات متقابل تمام تیمارها به‌جز اثر متقابل تیمار شیر نارگیل و پپتون که در سطح پنج‌درصد معنادار شد، همگی اختلاف معنادار در سطح یک‌درصد داشتند (جدول۱). مقایسهٔ میانگین درصد جوانه‌زنی پنج محیط کشت استفاده‌شده نشان داد که مناسب‌ترین محیط‌های کشت برای جوانه‌زنی بذرهای 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. درنتیجه می‌توان محیط کشت وسین و ونت را به‌منزلهٔ مناسب‌ترین محیط برای جوانه‌زنی بذرهای فالانوپسیس رقم 'کیوتو' معرفی کرد (جدول۲).

1. Modified Vacin & Went (V & W)
2. Modified Mourashing and skoog (MS)
3. Modified 1/2 Mourashing and skoog (½ MS)
4. Modified Knudsone (Kc)
5. Modified Fast
6. Pouder Phytogel Merck P 8427
7. Peptone
8. Strile Coconut Water (CW)

جدول۱. تجزیهٔ واریانس تأثیر محیط‌های کشت و افزودنی‌های آلی بر روی جوانه‌زنی، بقا و رشد قطری پروتوکورم ارکیدهٔ فالانوپسیس رقم 'کیوتو'

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

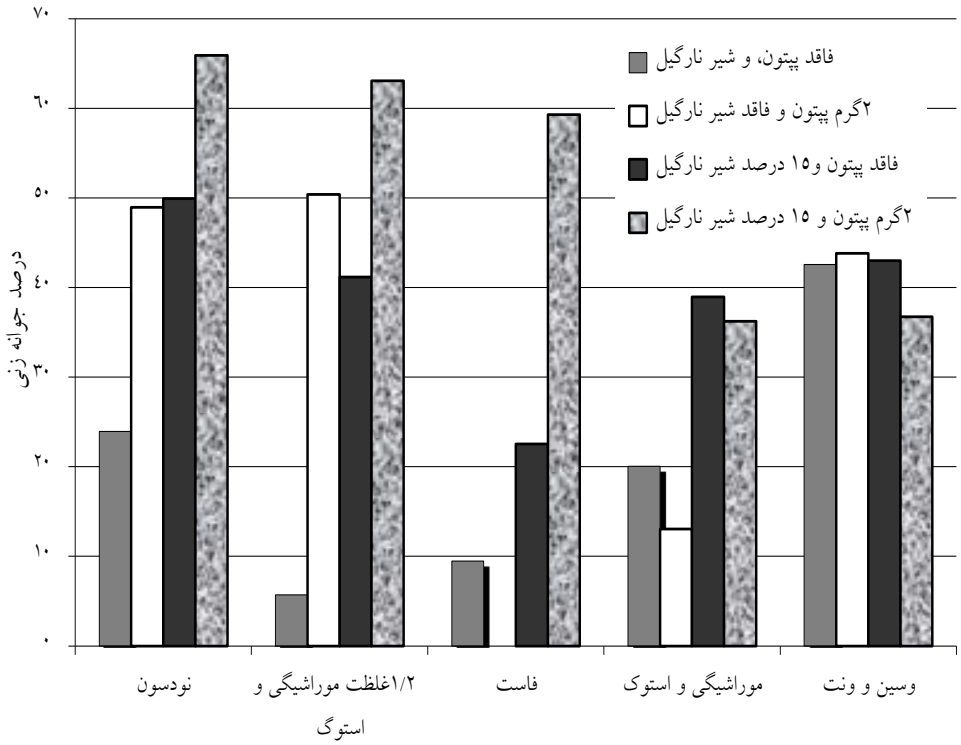
* نشانهٔ معنادار بودن در سطح ۵درصد ** نشانهٔ معنادار بودن در سطح ۱درصد ns نشانهٔ معنادار نبودن

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

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

تیمار ترکیبی پپتون و شیر نارگیل در محیط‌های کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ و نودسون سبب افزایش جوانه‌زنی به‌ترتیب تا ۶۳ و ۶۵/۹ درصد شد (شکل۱). محیط‌های نودسون تغییریافته و یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای ۲۰ گرم بر لیتر ساکارز و ۳۰ گرم بر لیتر سیب‌زمینی هموژنیزه را محیط‌هایی مناسب برای جوانه‌زنی فالانوپسیس گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد (۶ و ۱۲). همچنین، نودسون تغییریافته برای جوانه‌زنی ارکیدهٔ فالانوپسیس مناسب ارزیابی شده است (۱۵). در مورد جوانه‌زنی دندروبیوم رقم 'تتراجروموم'[1] محیط کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ و افزودنی ۱۵درصد شیر نارگیل و دو گرم پپتون مفید بود (۷). همچنین محیط کشت نودسون پایهٔ تغییریافته به‌منظور جوانه‌زنی دندروبیوم رقم 'آکوم'[2] مناسب گزارش شد (۵).

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



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

محیط کشت فاست دارای پپتون و شیر نارگیل در گروه بعدی قرار می‌گیرد، درنتیجه 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 تغییریافته وسین و ونت برای جوانه‌زنی دندروبیوم رقم 'تتراجروموم' نامناسب گزارش شد (۵)، البته محیط وسین وونت تغییریافته برای جوانه‌زنی فالانوپسیس رقم 'سیلکی‌مون'[1] مناسب گزارش بود (۱۱). تیمارهای مختلف موراشیگ و اسکوگ کمترین جوانه‌زنی در بین سایر تیمارها داشتند. این امر در حالی است که محیط کشت موراشیگ و اسکوگ به‌منظور جوانه‌زنی دندروبیوم رقم 'آفیلوم'[2] مناسب گزارش شد (۳). کمترین جوانه‌زنی مربوط به تیمارهای موراشیگ و اسکوگ دارای دو گرم پپتون (۱۳درصد جوانه‌زنی) و فاست دو گرم پپتون با (صفر درصد جوانه‌زنی) داشت.

میزان بقای پروتوکورم‌ها

میانگین درصد بقا نشان می‌دهد، تیمارهای شیر نارگیل و محیط‌های کشت ساده به‌صورت معناداری در سطح یک‌درصد و پپتون در سطح پنج‌درصد سبب افزایش بقای پروتوکورم‌ها شده‌اند (جدول۱). در بین اثرات متقابل تنها ترکیب پپتون و شیر نارگیل معنادار نشد، سایر تیمارها در سطح یک‌درصد اثرات معنادار داشتند. این امر در حالی

1. *Phalaenopsis* silky moon

2. *D.*aohyllum

است که در دیگر پژوهش‌های، استفاده از ترکیب پپتون به همراه شیر نارگیل را برای افزایش رشد پروتوکورم‌های دندروبیوم رقم 'تتراکروم'[1] و دندروبیوم رقم 'هاماتیکالکار'[2] 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 (شکل۲). این مطلب گویای این است که محیط وسین و ونت محیطی مناسب برای جوانه‌زنی و بقای این رقم است. این نتیجه برخلاف گزارش‌های قبلی در مورد بقای پروتوکورم‌های دندروبیوم رقم 'نوبایل'[3] و دندروبیوم رقم 'آکوم' 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 پپتون بود. این نتیجه نظیر گزارش دیگر پژوهشگران در مورد بقای پروتوکورم‌های دندروبیوم رقم 'آفیلوم'[4] است، با این تفاوت که محیط کشت موراشیگ و اسکوگ استفاده‌شدهٔ آن‌ها فاقد افزودنی خاصی بود (۳). محیط‌های کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای پپتون و شیر نارگیل بدون اختلاف با هم در گروه بعد نسبت به موراشیگ و اسکوگ قرار گرفته‌اند. این نتیجه با نتایج پژوهش‌های گذشته در مورد فالانوپسیس مطابقت دارد، زیرا آن‌ها نیز این محیط‌ها را برای بقای پروتوکورم فالانوپسیس[5] نامناسب گزارش کرده‌اند (۶). درحالی‌که در مورد فالانوپسیس رقم 'استاندارد'[6]، بیشترین جوانه‌زنی و بقا در محیط یک دوم و یک چهارم غلظت موراشیگ و اسکوگ گزارش شده است و موراشیگ و اسکوگ کامل مانع جوانه‌زنی بوده است (۱۲). همچنین محیط یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای هورمون تیادیازورون[7] برای بقای پروتوکورم های فالانوپسیس رقم 'آمابیلیس' مناسب بود (۱).

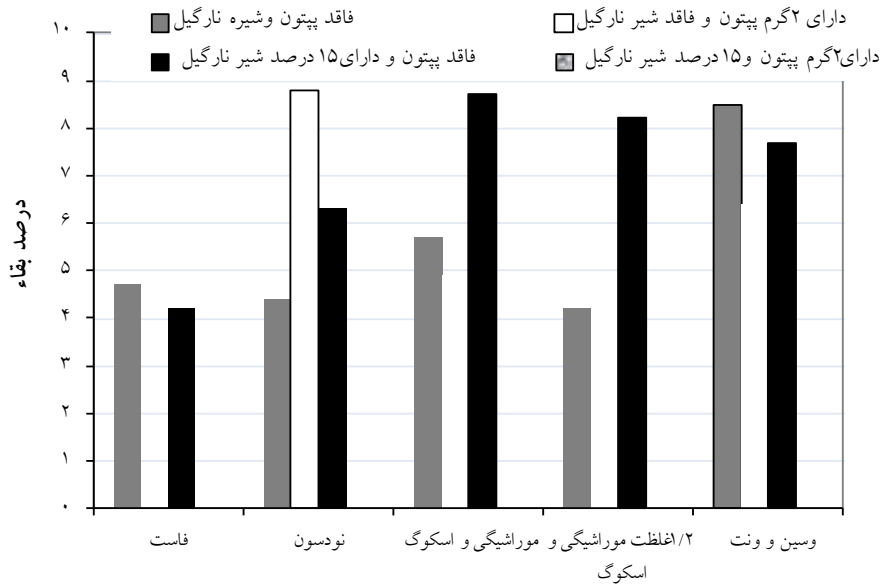
در بین تیمارهای محیط کشت وسین و ونت تیمار شاهد بیشترین درصد بقا را داشت و تیمار پپتون به همراه شیر نارگیل بقای کمتری نسبت به سایر تیمارها داشت، درحالی‌که در محیط کشت فاست نتیجه‌ای متضاد با این نتیجه دیده می‌شود زیرا تیمار ترکیبی پپتون و شیر نارگیل بیشترین بقا را داشت. در آزمایش حاضر، محیط فاست دارای پپتون مانع تولید پروتوکورم شد و تمام بذرهای جوانه‌زده بدون تشکیل پروتوکورم از بین رفتند.

رشد قطری پروتوکورم‌ها

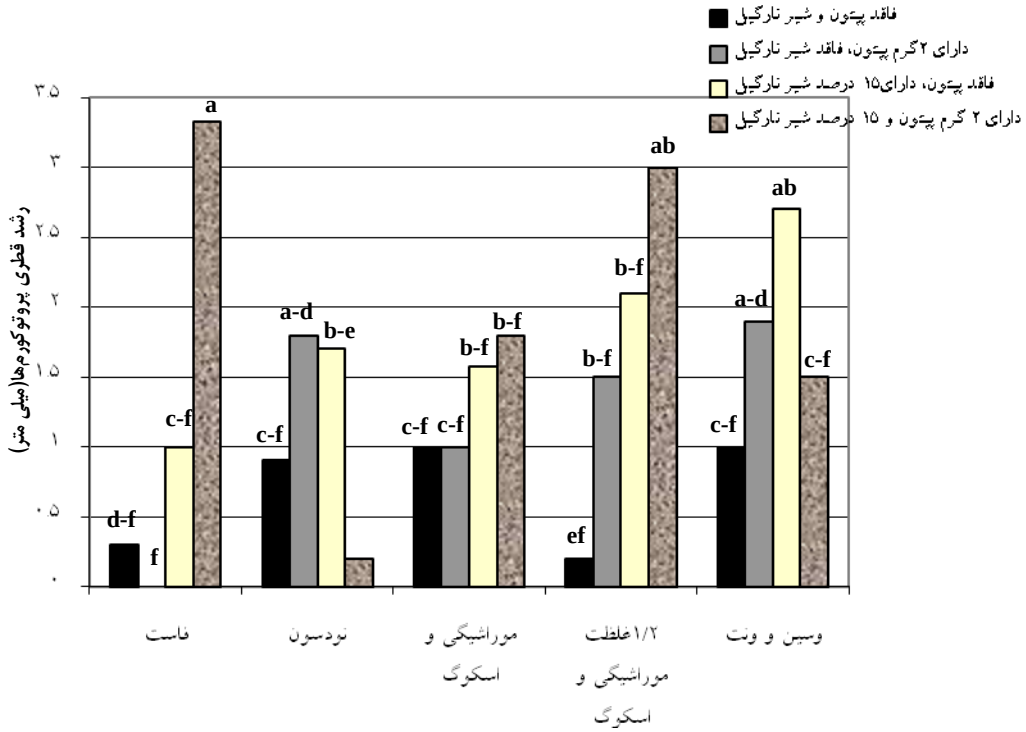
شیر نارگیل به‌صورت معناداری در سطح یک‌درصد سبب افزایش قطر پروتوکورم‌ها شد (جدول۲). همچنین تیمارهای پپتون و محیط کشت سبب افزایش قطر پروتوکورم‌ها شدند (شکل۳). درنتیجه برای رشد قطری پروتوکورم‌های این رقم استفاده از شیر نارگیل مؤثرتر از پپتون است. اثرات ترکیبی تیمارهای پپتون و شیر نارگیل همراه با هم و افزودن پپتون به‌تنهایی در محیط‌های کشت سبب افزایش قطر پروتوکورم‌ها نشدند، ولی برهمکنش افزودن شیر نارگیل در محیط کشت و افزودن پپتون همراه با شیر نارگیل در محیط‌های کشت به‌صورت کاملاً معناداری در سطح یک‌درصد سبب افزایش قطر پروتوکورم‌ها شد. بنابراین، پپتون به همراه شیر نارگیل در محیط‌های کشت به‌منظور افزایش رشد قطری پروتوکورم‌های فالانوپسیس رقم 'کیوتو' مفید است.

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 خودگشنی ارکیدهٔ فالانوپسیس رقم 'کیوتو'

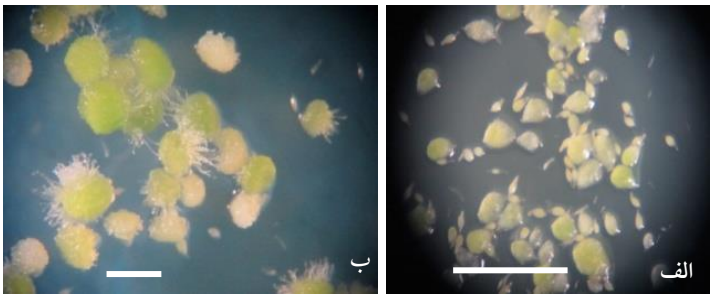


شکل ۲. برهمکنش محیط‌های کشت و تیمارهای شیر نارگیل و پپتون روی درصد بقای پروتوکورم فالانوپسیس رقم 'کیوتو'

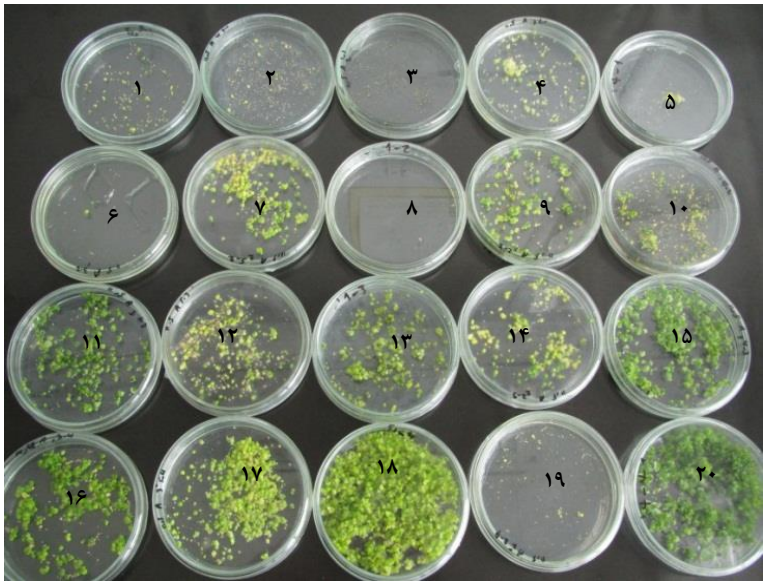


شکل ۳. برهمکنش محیط‌های کشت و تیمارهای شیر نارگیل و پپتون روی میزان رشد پروتوکورم

مقایسهٔ محیط‌های کشت نشان می‌دهد، محیط کشت فاست دارای تیمار ترکیبی پپتون همراه با شیر نارگیل بیشترین میانگین قطری را (۳/۳ میلی‌متر) داشته است. درنتیجه می‌توان این تیمار را به‌منزلهٔ مناسب‌ترین ترکیب در بین ۱۹ تیمار دیگر به‌منظور افزایش قطر پروتوکورم 'کیوتو' گزارش کرد (شکل‌های ۳ و ۵). این نتیجه نظیر گزارش‌های دیگر پژوهشگران دربارهٔ استفاده از پپتون و شیر نارگیل به‌منظور افزایش رشد قطری پروتوکورم‌هاست (۷).



شکل ۴. مراحل متفاوت رشد پروتوکورم‌های فالانوپسیس کیوتو در محیط کشت وسین و ونت دارای شیر نارگیل. الف) بذرهای فالانوپسیس کیوتو دو هفته بعد از کشت؛ب) جوانه‌زنی بذرها و تولید پروتوکورم‌های کروی؛ خطوط مقیاس روی عکس‌ها برابر دو میلی‌متر است.



شکل ۵. مقایسهٔ رشد پروتوکورم‌های فالانوپسیس کیوتو ۵۰ روز پس از کشت در تیمارهای مختلف
تیمارها به‌ترتیب عبارت‌اند از: ۱. موراشیگ و اسکوگ، ۲. وسین و ونت، ۳. فاست، ۴. نودسون، ۵. ۱/۲ غلظت موراشیگ و اسکوگ، ۶. موراشیگ و اسکوگ دارای پپتون، ۷. وسین و ونت دارای پپتون، ۸. فاست دارای پپتون، ۹. نودسون دارای پپتون، ۱۰. ۱/۲ غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای پپتون، 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. ۱/۲ غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای شیر نارگیل، ۱۶. موراشیگ و اسکوگ دارای پپتون و شیر نارگیل، ۱۷. وسین و ونت دارای پپتون و شیر نارگیل، ۱۸. فاست دارای پپتون و شیر نارگیل، ۱۹. نودسون دارای پپتون و شیر نارگیل و ۲۰. یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای پپتون و شیر نارگیل.

در گروه بعدی، محیط‌های کشت یک دوم غلظت موراشیگ و اسکوگ دارای شیر نارگیل و پپتون 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 درنتیجه به‌منزلهٔ تیماری مناسب گزارش نمی‌شوند، درحالی‌که در گزارش‌های قبلی محیط کشت نودسون به‌منظور رشد پروتوکورم مناسب گزارش شده است (۸).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، افزودن دو گرم پپتون و ۱۵درصد شیر نارگیل به محیط‌های کشت تیمارهایی مناسب برای جوانه‌زنی، بقا و رشد پروتوکورم فالانوپسیس رقم 'کیوتو' است. ترکیب پپتون و شیر نارگیل مؤثرتر از هر یک از تیمارهای پپتون 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. درمجموع می‌توان نودسون را به‌منزلهٔ بهترین محیط کشت برای جوانه‌زنی و بقای پروتوکورم‌های این رقم معرفی کرد. محیط کشت فاست نیز به‌منزلهٔ بهترین محیط برای افزایش رشد قطری پروتوکورم‌ها پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Chen J and Chen Chang W (2004) Induction of repetitive emberyogenesis 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 Enviromental 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. Empowing 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 factors affecting seed embryo germinating of butterfly orchid *(Phalaenopsis*). Acta Agriculture Zhejiangensis. 04.