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 تیدیازورون 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]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه باغبانی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران،

[۲]استادیار گروه باغبانی، پردیس ابوریحان دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران،

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

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۰۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰٤/۰٤

چکیده

سابقه و هدف: به‌دلیل 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 به‌منظور 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 تیدیازورن کشت شدند و طی چهار ماه تحت‌تأثیر ٦ 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. واکشت 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 کارآیی فتوسیستم دو (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 تیدیازورن و طیف نوری قرمز- قرمز دور بدون اختلاف معنی‌داری با طیف قرمز بالاترین درصد رویان‌زایی بدنی مستقیم (۱۰۰٪) را داشتند. کم‌ترین میزان رویان‌زایی به‌ترتیب 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 تیدیازورن 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 فتوسیستم دو

مقدمه

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 (۱٤). 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، نمویافته 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 تیدیازورن 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 (۲٤). 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 (۱٤). 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).

فلورسانس کلروفیل به‌طور 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 به‌طور مستقیم به فتوسنتز وابسته نباشد (۲۲). زخم‌زنی به‌دلیل 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 ریخت زایی شده و تشکیل کالوس را تحریک می‌کند. در گیاه گوجه‌فرنگی بالاترین میزان باززایی شاخه از ریز نمونه کوتیلدون در تیمار زخم‌زنی گزارش شده است (٤).

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 لیترساکارز استفاده شد. محیط کشت به‌مدت 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 تیدیازورن به‌عنوان تیمار تنظیم‌کننده رشد و محرک رویان‌زایی به آن اضافه و سپس در ظروف پتری توزیع شد. به‌عنوان 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. ظروف پتری پس از کشت به‌مدت ٤ ماه در شرایط رشدی کنترل شده داخل فیتوترون با دمای ۱± ۲۵ درجه سانتی‌گراد، طول روز ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و تحت شش شرایط روشنایی مختلف با استفاده از طیف‌های نوری سفید دارای طیف ٤۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر، آبی دارای پیک طیفی ٤٦۰ نانومتر، قرمز دارای پیک طیفی ٦٦۰ نانومتر، سبز دارای پیک طیفی ۵۳۰ نانومتر، آبی- قرمز (۵۰ ٪ آبی+ ۵۰ ٪ قرمز)، قرمز- قرمز دور با پیک طیفی ۷٤۰ نانومتر برای نور قرمز دور حاصل از لامپ‌های ال ای دی (شرکت ایران گرولایت) با شدت نور ۸۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و هم‌چنین تاریکی قرار گرفتند.

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و هر تکرار دارای ٦ ریزنمونه به‌عنوان 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 علی‌نیائی‌فرد و فان‌میترن (۱) استفاده شد. در ابتدا نمونه‌ها، به‌مدت 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 تحت‌تأثیر فلش‌های کوتاه در تاریکی است که با F0

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

$$Fv= Fm- F0 \quad (1)$$
$$Fv\ Fm^{-1}= (Fm- F0)\ Fm^{-1}$$

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

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).

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 تغیرات S.O.V
958.96^{**}	6	طیف نور Light spectrum
8.36^{*}	1	نوع ریز نمونه Explant type
7178^{**}	1	تنظیم‌کننده رشد گیاهی (تیدیازورن) 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 تغیرات (درصد) CV (%)

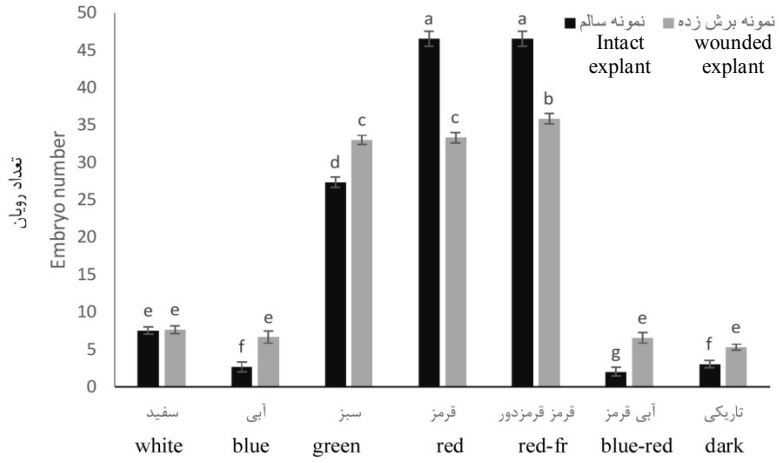
** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، * سطح احتمال ۵ درصد، ns غیرمعنی‌دار.

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

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 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

متقابل طیف نور، نوع ریزنمونه و تنظیم‌کننده رشد نیز در سطح ۱ درصد کاملاً معنی‌دار بود (جدول ۱). با مقایسه میانگین اثر متقابل نوع ریز نمونه و طیف‌های نور معلوم شد بیش‌ترین درصد رویان‌زایی مربوط به غلظت (۳ میلی‌گرم در لیتر) تیدیازورن در طیف‌های نور قرمز- قرمز دور و قرمز بود و بیش‌ترین جوانه‌زنی نیز در ریزنمونه‌های تحت نور قرمز بود (شکل ۳). پروتوکورم بدون برش با میانگین ٤٦/٥ عدد رویان دارای میانگین بالاتری نسبت به نمونه برش خورده بود (شکل ۱). بالاترین تعداد جوانه‌زنی رویان‌های تشکیل شده در طیف نور قرمز مشاهده شد (شکل ۲).

اثر مثبت تیدیازورن بر رویان‌زایی بدنی مستقیم حاصل از ریزنمونه‌های پروتوکورمی در ارکیده *Xenikophyton smeeanum* و همین‌طور رویان‌زایی مستقیم از ارکیده *Phalaenopsis amabilis* از ریزنمونه پروتوکورمی گزارش شده است (۲۰ و ۲۱). هم‌چنین در گزارش‌های دیگری پژوهشگران به اثر مثبت استفاده از غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد تیدیازورون برای القاء رویان‌زایی در بافت‌های برگ گیاهان خانواده ارکیده اشاره کرده‌اند (۸). نتایج فوق نشان‌دهنده اثر مثبت این تنظیم‌کننده رشد بر ریز نمونه پروتوکورمی برای رویان‌زایی بدنی مستقیم در ارکیده فالانوپسیس است.



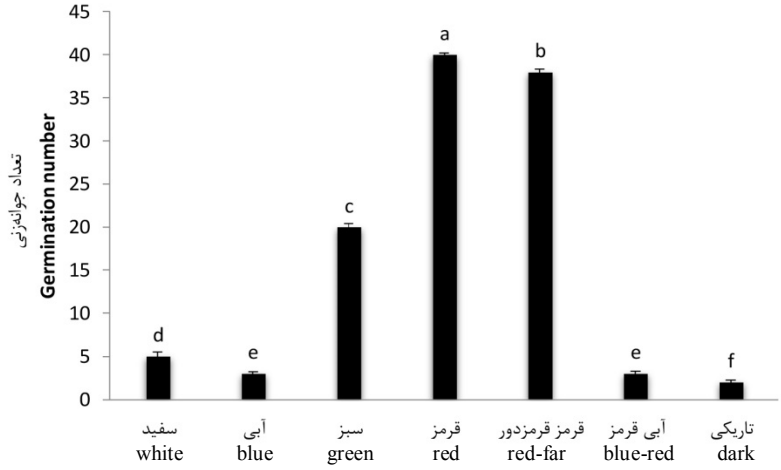
شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش نوع ریز نمونه و طیف‌های نور بر تعداد رویان بدنی تشکیل شده روی ریزنمونه‌های پروتوکورمی ارکیده فالانوپسیس. مقادیر بیانگر سه تکرار و نوارها خطای استاندارد را نشان می‌دهند. میانگین‌ها با حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند (P≤۰/۰۱).

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≤0.01) based on Duncan test.

پژوهشگران برای بررسی اثر طیف‌های نور بر رویان‌زایی بدنی در ارکیده فالانوپسیس از چهار طیف نوری شامل (سفید، قرمز، قرمز- قرمز دور، آبی- قرمز) استفاده کردند و بالاترین درصد رویان‌زایی بدنی را در تیمار نوری قرمز- قرمز دور به‌دست آوردند (٢٤). در ارکیده *Oncidium Gower Ramsey* برای بررسی اثر طیف‌های نور با منابع تولیدکننده نور ال ای دی در مقایسه با شرایط تاریکی با استفاده از طیف‌های آبی، قرمز، قرمز- قرمز دور نشان داده شد که طیف‌های نوری در مقایسه با شرایط تاریکی به شکل معنی‌داری بر رویان‌زایی تأثیر مثبت داشته‌اند (٦). هم‌چنین در بررسی دیگری بر ارکیده اونسیدیوم اثر طیف‌های نوری بر رویان‌زایی بدنی در ریز نمونه‌های مختلف در محیط تغییریافته موراشیگ و اسکوگ مورد بررسی

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 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).



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≤۰/۰۱).

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≤ 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، ٤) 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 تیدیازورن 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.

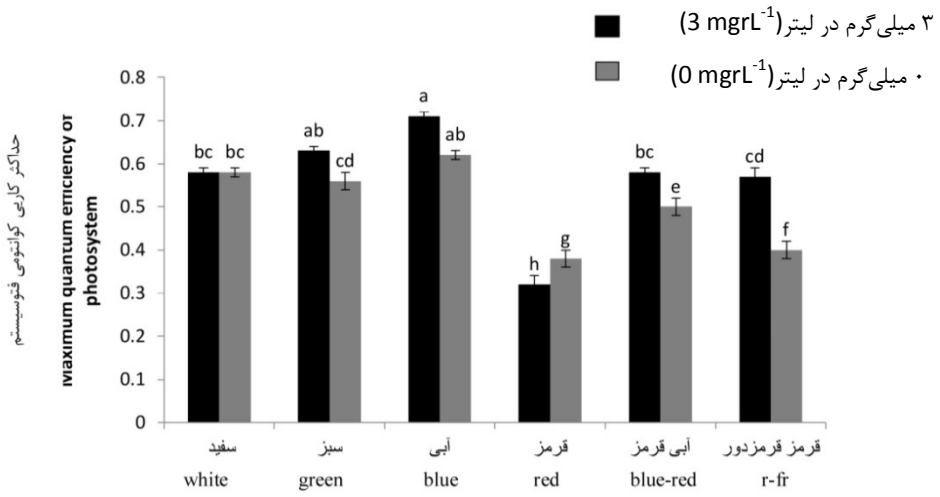
میانگین مربعات Mean Square	درجه آزادی df	منابع تغیرات S.O.V
0.144^{**}	6	طیف نور Light spectrum
0.003^{ns}	1	تنظیم‌کننده رشد گیاهی Plant growth regulator
0.073^{**}	1	زمان Time
0.02^{**}	6	اثر متقابل (طیف نور × زمان) Interaction of Light spectrum × Time
0.006^{ns}	6	اثر متقابل (طیف نور × تنظیم‌کننده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

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 تیدیازرون 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).

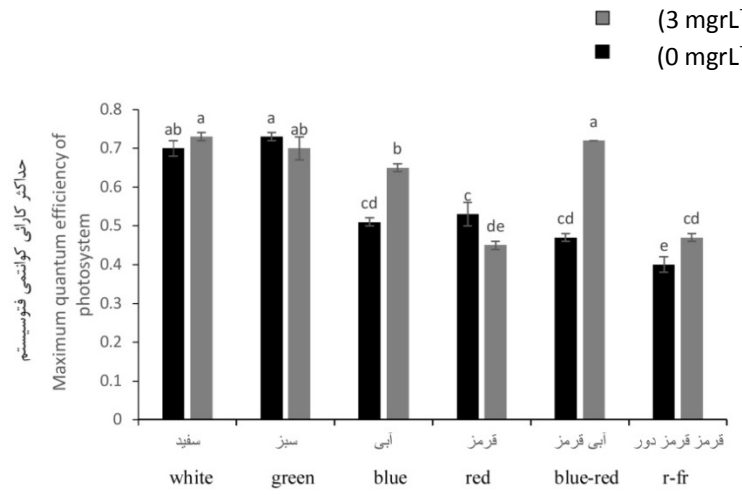
در آزمایش حاضر اولین اندازه‌گیری فلورسنس کلروفیل نشان داد که حداکثر کارائی کوانتومی سامانه نوری دو ($Fv\,Fm^{-1}$) مربوط به نمونه‌های موجود تحت طیف نور آبی و در پروتوکورم‌های دارای غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. مقدار $Fv\,Fm^{-1}$ در طیف نور آبی ۰/۷۱ در تیمار ۳ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون و میزان ۰/٦۲ در ریزنمونه شاهد و همین‌طور ۳ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون در طیف سبز مشاهده شد. پس از آن بالاترین میزان $Fv\,Fm^{-1}$ مربوط به طیف نور سفید بود (شکل ٤).



شکل ٤- مقایسه میانگین برهمکنش اثر طیف‌های نور و تنظیم‌کننده رشد تیدیازورون 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 ($P\leq ۰/۰۱$).

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 ($P\leq 0.01$) based on Duncan test.

در تصویربرداری دوم از فلورسنس کلروفیل گیاهچه‌ها بالاترین میزان $Fv\ Fm^{-1}$ در نمونه‌های موجود تحت طیف‌های سفید، سبز و آبی قرمز مشاهده گردید. میزان $Fv\ Fm^{-1}$ در تصویربرداری دوم ۰/۷۳ ثبت گردید و کم‌ترین میزان آن مربوط به طیف قرمز قرمز دور با عدد ۰/٤٥ بود (شکل ٥).



شکل ٥- مقایسه میانگین برهمکنش اثر طیف‌های نور و تنظیم‌کننده رشد تیدیازورن 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 ($P\leq ۰/۰۱$).

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 ($P\leq 0.01$) based on Duncan test.

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 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 کارائی کوانتومی سامانه نوری دو $Fv\ Fm^{-1}$ 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 $Fv\ Fm^{-1}$ 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 کارائی فتوسیستم دو رسید.

منابع

1. Aliniaeifard, 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.
2. Baker, N.R. and Rosenqvist, E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies. J. Exp. Bot. 55: 1607-1621.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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. Agri. 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, Q.Y. and Qu, 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.