Effect of simultaneous application of red light and sodium dikegulac on shoot regeneration and longitudinal growth of olive (*Olea europaea* L.) cv. Zard axillary buds

Farzan Ghane Golmohamadi[1], Ramin Hosseini[2*], Mousa Morad Nezhad[3]

[1.] Biotechnology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

[2.] Biotechnology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

[3.] Biotechnology Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran

Abstract

Micro-propagation of olive has a long history but strong apical dominance at the shoot regeneration stage always affects its proliferation such that even with cytokinin treatments it is not controllable. This problem limits olive micropropagation. In the present study, we attempted to determine suitable concentrations of sodium dikegulac to reduce apical dominance and concomitantly increase lateral buds growth and shoot regeneration rate under two light qualities (red LED and white fluorescent). A factorial experiment was used with a complete randomized design with 4 replications and 4 explants per replication. The maximum number of regenerated shoots (3.10 ± 0.22 per bud) was observed at 5 mg/L of sodium dikegulac under the white fluorescent lamps, during 21 days of post sub culture. Based on the number of generated shoots, red light had a negative effect on shoot regeneration when accompanied by sodium dikegulac. Even though longitudinal growth of buds revealed a downtrend pattern by increasing concentrations of sodium dikegulac, but the longitudinal growth of buds was significantly higher under the red light compared to the white fluorescent in the same sodium dikegulac concentrations. Based on the results, it seems that sodium dikegulac and red light have antagonistic effects on each other and sodium dikegulac is only efficient on proliferation when it is used under the white light.

Keywords: Auxin transfer inhibitor, Propagation, Local cultivar, Phytochrome

* Corresponding Author: r.hosseini@eng.ikiu.ac.ir

Copyright©2019, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال یازدهم، شمارهٔ سی و نهم، بهار ۱۳۹۸، صفحهٔ ۹۶-۸۱
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۰۲/۰۸
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۷/۰۷/۳۰ و ۱۳۹۷/۱۲/۱۱
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۲/۲۵

اثر استفادهٔ همزمان از نور قرمز و دایک گولاک سدیم بر نوساقه‌زایی و رشد طولی جوانه‌های جانبی زیتون (*Olea europea* L.)، رقم زرد

فرزان قانع گل‌محمدی[۱]، رامین حسینی[۲*]، موسی مرادنژاد[۳]
[۱] گروه بیوتکنولوژی، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران
[۲] گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکدهٔ فنی و مهندسی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران
[۳] گروه بیوتکنولوژی، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

چکیده

مدت زمان بسیار طولانی از نخستین تجربهٔ تکثیر *درون شیشه* (*in vitro*) زیتون می‌گذرد؛ هرچند وجود چیرگی انتهایی بسیار قوی در مرحلهٔ نوساقه‌زایی که از طریق تیمارهای مختلف سایتوکینینی نیز کنترل نمی‌شود، امکان تکثیر زیتون را از طریق این روش محدود کرده است. در پژوهش حاضر، غلظت مناسب دایک گولاک سدیم برای کاهش اثر چیرگی انتهایی و درنتیجه، افزایش بازده نوساقه‌زایی و هم‌زمان امکان افزایش توانایی تکثیر جوانه‌های جانبی تحت‌تأثیر دو کیفیت نوری بررسی شد. آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی، تیمارهای آزمایشی با چهار تکرار و چهار نمونه در هر تکرار انجام شد. کمترین زمان مناسب برای کاهش چیرگی انتهایی توسط دایک گولاک سدیم و همچنین تحریک رشد جوانه‌های جانبی زیتون، رقم زرد نیز بررسی شد. بیشترین میانگین نوساقه‌زایی (۰/۲۲±۳/۱۰ عدد به‌ازای هر ریزنمونه) در غلظت ۵ میلی‌گرم‌برلیتر دایک گولاک سدیم در نور فلورسنت سفید و طی مدت ۲۱ روز پس‌از کشت مشاهده شد. تعداد نوساقه‌های ایجادشده اثر منفی کاربرد هم‌زمان نور قرمز و دایک گولاک سدیم را نشان داد. اگرچه رشد طولی ریزنمونه‌ها در هر دو کیفیت نوری با افزایش غلظت دایک گولاک سدیم روند نزولی نشان داد، رشد طولی جوانه‌ها در نور قرمز و در غلظت‌های ثابت دایک گولاک سدیم در مقایسه با نور فلورسنت سفید بیشتر بود. بر اساس نتایج به نظر می‌رسد دایک گولاک سدیم و نور قرمز در تقابل با یکدیگر نوعی اثر بازدارندگی اعمال می‌کنند و اثر دایک گولاک سدیم در افزایش نوساقه‌زایی تنها در نور فلورسنت سفید مشاهده می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بازدارندهٔ انتقال اکسین، تکثیر، فایتوکروم، رقم بومی

* نگارندهٔ مسؤول: نشانی پست الکترونیک: r.hosseini@eng.ikiu.ac.ir، شمارهٔ تماس: ۰۲۸۳۳۹۰۱۱۴۵

Copyright©2019, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

مقدمه

فلات ایران یکی از خاستگاه‌های اولیهٔ زیتون شناخته می‌شود (Besnard *et al*., 2002; López-Escudero and Mercado-Blanco, 2011). رقم‌های مختلف زیتون ویژگی‌های خاصی را برای سازگاری با هر اقلیم یافته‌اند و رقم‌های محلی، مواد گیاهی مناسبی از جنبه‌های اقتصادی و ویژگی‌های ژنتیکی‌اند (Zacchini and De Agazio, 2004). رقم زرد یکی از ارقام بومی ایران است. قلمه‌زنی یکی از متداول‌ترین رویکردهای تکثیر زیتون محسوب می‌شود (Fabbri *et al*., 2004; Foxhall, 2007; Wiesman, 2009) و اگرچه این روش یکنواختی ژنتیکی را تضمین می‌کند، با مشکلات فراوانی روبه‌روست (Roussos and Pontikis, 2002; Fabbri *et al*., 2004). باتوجه‌به قدرت ریشه‌زایی متوسط رقم زرد و درنتیجه، کاهش میزان تکثیر آن از طریق قلمه از یک سو و اهمیت اقتصادی آن در تهیهٔ کنسرو و روغن زیتون از سوی دیگر، استفاده از روش‌های کشت بافت برای تکثیر کارآمدتر آن امری ضروریست.

اگرچه مدت بسیار طولانی از نخستین تلاش‌های دانشمندان برای تکثیر درون شیشهٔ زیتون می‌گذرد، هنوز تکثیر آن از طریق این روش با مشکلاتی روبه‌روست (Fabbri *et al*., 2004; Chaari-Rkhis *et al*., 2011)؛ زیرا امکان افزایش میزان نوساقه‌زایی در ریزنمونه‌های حاصل از کشت بافت آن فقط به چند رقم محدود است (Kitsaki and Drossopoulos, 2005). چیرگی انتهایی بسیار قوی ویژگی اصلی مرحلهٔ نوساقه‌زایی زیتون است که با تیمارهای مختلف سایتوکینینی نیز از بین نمی‌رود (Fabbri *et al*., 2004; Mendoza-de Gyvez *et al*., 2008) و بنابراین لزوم استفاده از روش‌های مختلف برای تعدیل چیرگی انتهایی کاملاً مشهود است.کنترل اثر چیرگی انتهایی با مواد شیمیایی بازدارندهٔ انتقال اکسین مانند دایک گولاک سدیم (2,3:4,6-Di-O-isopropylidene- 2-keto-L-gulonic acid monohydrate) (Mendoza-de Gyvez *et al*., 2008; Kaya *et al*., 2011) غلبه بر این مشکل را ممکن کرده است؛ اما امکان کاربرد آن در رقم‌های مختلف به‌علت پاسخ متفاوت ژنوتیپ متغیر است و باید از طریق آزمایش‌های دقیق تعیین شود (Mendoza-de Gyves *et al*., 2008). نور قرمز علاوه‌بر افزایش رشد رویشی (Shahak *et al*., 2004)، افزایش رشد طولی ساقه (Poudel *et al*., 2008) و اندام‌زایی سبب آزادشدن جوانه‌های جانبی از چیرگی انتهایی (Hunter and Burritt, 2004) می‌شود؛ لامپ‌های سدیم با فشار زیاد (HPS) به‌طور رایج برای نوردهی استفاده می‌شوند؛ هرچند نوردهی با این لامپ‌ها ازنظر کیفی و اثربخشی انرژیتیکی بهینه نیست. در سال ۱۹۹۰، دیودهای تابندهٔ نور (LEDs) برای رشد گیاه به کار رفتند و امروزه به‌طور روزافزون برای نوردهی گیاهان استفاده می‌شوند. دیودهای تابندهٔ نور نسبت به شکل‌های سنتی نوردهی در باغبانی مزایای بسیاری دارند؛ اندازهٔ کوچک، دوام، طول عمر زیاد، دمای تابش سرد و گزینهٔ انتخاب طول موج‌های ویژه برای پاسخ‌دهی هدفمند گیاه ازجمله ویژگی‌هایی‌اند که دیودهای تابندهٔ نور را به گزینهٔ مناسب‌تری نسبت به دیگر منابع نور برای گیاهان تبدیل کرده است (Brazaityte *et al*.,

(2009. نور LED در گیاهان کاربردهای گوناگونی دارد که مطالعهٔ امکان تولید ریزغدهٔ سیب‌زمینی در نورهای قرمز، آبی و سفید (Asadi *et al*., 2018) ازجملهٔ این کاربردهاست؛ در بررسی یادشده، نور قرمز نسبت به نور سفید و آبی سبب تولید ریزغده‌های بیشتری شد. در بررسی Ahmadi و همکاران (۲۰۱۷)، نور LED قرمز نسبت به نور آبی و سفید باعث افزایش میانگین ارتفاع و میزان رزمارینیک‌اسید در گیاه *Melissa officinalis* L. شد.

باتوجه‌به کاهش رشد طولی ریزنمونه‌ها در اثر کاربرد دایک گولاک سدیم (Mendoza-de Gyves *et al*., 2008)، در مقالهٔ حاضر علاوه‌بر تعیین غلظت مناسب دایک گولاک سدیم برای افزایش شاخسارزایی ریزنمونه‌های رقم زرد، نور قرمز به‌منظور بررسی امکان افزایش میزان شاخسارزایی همراه با جلوگیری از کاهش رشد طولی رقم زرد استفاده شد. بر اساس اطلاعات ما، پژوهش حاضر نخستین گزارش در زمینهٔ کاربرد هم‌زمان دو عامل محرک رشد جوانه‌های جانبی در ریزنمونه‌های زیتون است؛ همچنین باتوجه‌به اثر نامطلوب دایک گولاک سدیم بر میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌ها (Mendoza-de Gyves *et al*., 2008)، مدت زمان لازم برای اعمال اثر آن بر تحریک جوانه‌های جانبی نیز در پژوهش حاضر مطالعه شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: ریزنمونه‌ها از نهال‌های یک‌سالهٔ رقم زرد مرکز تحقیقات کشاورزی استان قزوین، ایران تهیه شدند.

ضدعفونی: شاخه‌های سبز و نیمه‌خشبی شامل جوانه‌های جانبی به قطعه‌های کوچک حاوی دو جوانه تقسیم شدند. پس‌از حذف برگ‌ها و به‌منظور رفع آلودگی‌های سطحی، قطعه‌ها به‌مدت ۲ تا ۳ ساعت در معرض آب جاری قرار گرفتند و سپس ضدعفونی طی چهار مرحله انجام شد:

۱- اتانول ۹۶ درصد (حجمی/حجمی) به‌مدت ۲ تا ۳ ثانیه؛

۲- یک مرتبه شستشو با آب مقطر استریل به‌مدت ۵ دقیقه؛

۳- کلریدجیوه ۰/۱ درصد (وزنی/حجمی) به همراه دو قطره توئین ۸۰ به‌مدت ۵ دقیقه؛

۴- سه مرتبه شستشو با آب مقطر استریل، هر بار به‌مدت ۵ دقیقه.

کنترل چیرگی انتهایی و رشد طولی: اثر دایک گولاک سدیم (Litwinczuk and Prokop, 2010) به‌منظور کنترل و یا کاهش چیرگی انتهایی در غلظت‌های صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر (غلظت‌ها پس‌از آزمایش‌های اولیه انتخاب شدند. جدول‌های ۲ و ۳ انتخاب غلظت‌ها از تأثیر کم تا اثر کشندگی را نشان می‌دهند) و در دو کیفیت نوری شامل نور فلورسنت سفید (شاهد، ۵۵۰۰ لوکس) که به‌طور معمول در اتاق‌های رشد استفاده می‌شود و LED قرمز (۲۰۰۰ لوکس) که در سال‌های اخیر عاملی برای افزایش رشد رویشی و شاخسارزایی شناخته شده است (Poudel *et al*., 2008) بررسی شد. به‌منظور اعمال شرایط یکسان ازنظر شدت نور، فاصلهٔ ریزنمونه‌ها تا منبع نور متناسب با شدت نور اندازه‌گیری‌شده در نظر گرفته شد (Kurepin *et al*., 2007).

بررسی اثر دایک گولاک سدیم و کیفیت نور بر نوساقه‌زایی: دو آزمایش برای بررسی اثر دایک گولاک سدیم و کیفیت نور بر نوساقه‌زایی از جوانه‌های زیتون، رقم زرد انجام شد.

آزمایش اول (بهترین غلظت دایک گولاک سدیم): آزمایش اول با غلظت‌های مختلف (صفر، ۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر) دایک گولاک سدیم در نور قرمز و سفید به‌طور مجزا و به‌مدت یک هفته انجام شد. این آزمایش به‌منظور یافتن بهترین غلظت دایک گولاک سدیم برای تولید نوساقه انجام شد و شاخص‌های رشد طولی، وزن تر، تعداد برگ و تعداد نوساقه بررسی شدند. در این آزمایش، زمان برای همه تیمارها یک هفته در نظر گرفته شد.

آزمایش دوم (مدت زمان لازم برای اثرگذاری دایک گولاک سدیم): در آزمایش دوم، غلظت ثابت دایک گولاک سدیم (۵ میلی‌گرم‌درلیتر که از آزمایش پیش به دست آمده بود) در دو نور قرمز و سفید به‌طور جداگانه استفاده شد. علت استفادهٔ هم‌زمان از نور قرمز و دایک گولاک سدیم این بود که دایک گولاک سدیم رشد جوانه‌های انتهایی را باز دارد و باعث تحریک جوانه‌های جانبی شود (ازبین‌بردن چیرگی انتهایی) و هم‌زمان نور قرمز باعث تحریک رشد طولی جوانه‌های جانبی شود؛ به عبارت دیگر، این‌گونه پیش‌فرض شد که با کاربرد کوتاه‌مدت دایک گولاک سدیم و نور قرمز بتوان به نوساقه‌زایی بدون کاهش میزان رشد طولی جوانه‌ها دست یافت. در این مرحله، جوانه‌های چهاربرگی تا پنج هفته در تیمارهای مختلف و در محیط OM (Rugini, 1984) قرار داده شدند.

شرایط کشت: تمام آزمایش‌ها در ظرف‌های شیشه‌ای ۱۳۰ سانتی‌مترمکعبی حاوی حدود ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت OM (Rugini, 1984) دارای ۳ میلی‌گرم‌برلیتر زاتین (Duchefa, Netherlands)، ۰/۵ میلی‌گرم‌برلیتر BA (Duchefa, Netherlands) (Binet *et al*., 2007) ۳۶ گرم‌برلیتر مانیتول (Duchefa, Netherlands) و ۶/۲ گرم‌برلیتر فایتوآگار (Duchefa, Netherlands) (Mendoza-de Gyves *et al*., 2008) انجام شدند. گزارش‌های متعددی از تأثیر بهتر مانیتول بر رشد زیتون وجود دارند (Roussos and Pontikis, 2002; Zacchini and De Agazio, 2004)؛ ازاین‌رو در مطالعهٔ اولیه، مقدار ۳۰ گرم‌برلیتر ساکارز و میزان ۳۶ گرم‌برلیتر مانیتول بررسی شد و مانیتول اثر بهتری بر شاخص‌های رشدی نشان داد (نتایج ارائه نشده‌اند). قندهایی که به محیط کشت اضافه می‌شوند ممکن است برای اعمال فشار اسمزی یا منبع کربن استفاده شوند. اگرچه مانیتول اغلب برای اعمال فشار اسمزی استفاده می‌شود، برخی سلول‌های گیاهی آن را جذب و متابولیزه می‌کنند؛ بنابراین، مانیتول به روشی متفاوت از دیگر قندها باعث رشد سلولی می‌شود (Leva *et al*., 1994). اسیدیتهٔ محیط‌های کشت پیش‌از اتوکلاو (۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه) روی ۵/۷۵ تنظیم شد. زاتین و دایک گولاک سدیم با استفاده از فیلتر ۲۲ میکرومتر سترون و به محیط کشت افزوده شدند (Sigma-Aldrich, USA). ریزنمونه‌ها پس‌از کشت، در اتاق رشدی با دورهٔ نوری ۸/۱۶ (روشنایی/تاریکی) ساعت و دمای ۲±۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ روز (Mazinani, 2009) نگهداری شدند.

تجزیه‌وتحلیل آماری: آزمایش‌ها به‌طور فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۴ تکرار و ۴ نمونه در هر تکرار انجام شدند. نرم‌افزارهای SAS 9.1 و SPSS 16.00 برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها استفاده شدند ($P\leq0.05$). پیش‌از تجزیه‌وتحلیل داده‌ها، باقیماندهٔ داده‌های خام محاسبه و نرمال‌بودن آنها با آزمون‌های Ryain-Jainer، Kolmogorov-Smironv، Cramer-Vonmises، Anderson-Darling و Chi-Sqare بررسی و برای داده شمارشی از تبدیل لگاریتمی استفاده شد.

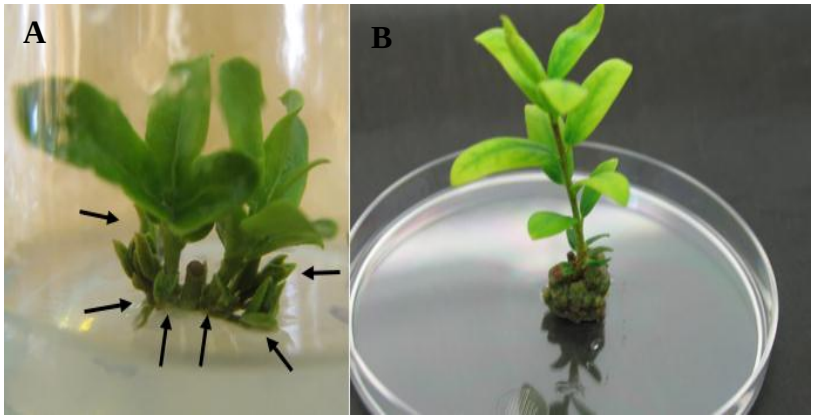
نتایج و بحث

آزمایش اول (بهترین غلظت دایک گولاک سدیم): اختلاف بسیار معناداری در کیفیت نوری، غلظت‌های دایک گولاک سدیم و اثر متقابل این دو عامل برتمام صفت‌های مطالعه‌شده در سطح P<۰/۰۱ مشاهده شد (جدول ۱). تعداد نوساقه‌های ایجادشده اثر منفی نور قرمز را بر نوساقه‌زایی ریزنمونه‌های تحت‌تأثیر غلظت ثابت دایک گولاک سدیم و در مقایسه با نور فلورسنت سفید نشان داد. بیشترین میانگین نوساقه‌زایی (۳/۱۰±۰/۲۲ عدد به‌ازای هر ریزنمونه) در غلظت ۵ میلی‌گرم‌برلیتر دایک گولاک سدیم و نور فلورسنت سفید مشاهده شد (شکل ۱، A) و پس‌ازآن، میانگین نوساقه‌زایی در غلظت ۷/۵ میلی‌گرم‌برلیتر دایک گولاک سدیم به ۲/۱۵±۰/۱۹ عدد به‌ازای هر ریزنمونه رسید و این کاهش در تعداد ساقه با کاهش رشد طولی همراه بود؛ به عبارت دیگر، افزایش غلظت دایک گولاک سدیم نه‌تنها سبب کاهش تولید میزان نوساقه‌زایی شد، رشد طولی گیاه را نیز تحت‌تأثیر قرار داد. در کیفیت نور ثابت، افزایش غلظت دایک گولاک سدیم با رشد طولی ریزنمونه‌ها رابطهٔ معکوس داشت؛ به‌طوری‌که میانگین طول ریزنمونه‌ها روند نزولی را از ۱۶/۳۰±۰/۳۳ و ۲۰/۱۵±۰/۳۱ میلی‌متر به‌ترتیب در نور فلورسنت سفید و قرمز (شکل ۱، B) برای تیمار شاهد تا ۸/۱۰±۰/۲۵ و ۹/۷۰±۰/۲۷ میلی‌متر در غلظت ۱۰ میلی‌گرم‌برلیتر طی کرد (جدول ۲). درمجموع، میزان رشد طولی ریزنمونه‌ها در نور قرمز و غلظت ثابت دایک گولاک سدیم در مقایسه با نور فلورسنت سفید بیشتر بود. به نظر می‌رسد نور قرمز بر رشد طولی جوانه‌ها اثر مثبت داشته و تا حدی از اثر منفی دایک گولاک سدیم بر رشد طولی جوانه‌ها کاسته است. افزایش تعداد نوساقه در نور قرمز تنها در غلظت ۷/۵ میلی‌گرم‌برلیتر (۱/۲۰±۰/۰۹ عدد به‌ازای هر ریزنمونه) مشاهده شد. استفاده از دایک گولاک سدیم در غلظت ۱۰ میلی‌گرم‌برلیتر در نور فلورسنت سفید (۱/۲۵±۰/۰۹ عدد به‌ازای هر ریزنمونه) و همچنین نور قرمز (۰/۸۵±۰/۱۵ عدد به‌ازای هر ریزنمونه) سبب کاهش میانگین تعداد نوساقه شد (جدول ۲). نور قرمز در مقایسه با نور فلورسنت تنها در افزایش میزان رشد طولی ریزنمونه‌ها (به‌ترتیب ۱۵/۱۳±۰/۴۵ و ۱۱/۳۴±۰/۳۱میلی‌متر) مؤثر بود (شکل ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر کیفیت نور و سطوح مختلف دایک گولاک سدیم بر صفت‌های بررسی‌شده

S. O. V.	درجهٔ آزادی	MS			
		رشد طولی	تعداد نوساقه	وزن تر	تعداد برگ
نور	۱	۷۱۸/۲۰**	۰/۳۱**	۰/۰۷**	۱۵/۶۲**
دایک گولاک سدیم	۴	۶۱۸/۵۵**	۰/۲۳**	۰/۱۱**	۶۴/۰۲**
نور × دایک گولاک سدیم	۴	۵۶/۲۹**	۰/۱۳**	۰/۰۲**	۴/۴۸**
خطای نمونه‌برداری	۳۰	۱/۱۰	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۸
خطای کل	۱۶۰	۱/۶۵	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰۲	۰/۲۱
C.V %		۹/۷۲	۷/۷۶	۱۱/۸۹	۹/۱۰

**اختلاف معنادار در سطح α=۰/۰۱



شکل ۱- اثر دایک گولاک سدیم بر رشد جوانه‌های جانبی ریزنمونه‌ها؛ A. نور فلورسنت سفید و غلظت ۵ میلی‌گرم‌برلیتر دایک گولاک سدیم (پیکان‌ها ساقه‌های توسعه‌یافته از جوانه‌های جانبی را نشان می‌دهند)، B. نور قرمز و غلظت صفر دایک گولاک سدیم

جدول ۲- مقایسه میانگین و انحراف معیار نوساقه‌زایی در آزمایش بررسی اثر کیفیت نور و سطوح مختلف دایک گولاک سدیم

صفت‌های آزمایش‌شده	سطوح نوری	سطوح دایک گولاک سدیم (میلی‌گرم‌برلیتر)				
		صفر	۲/۵	۵	۷/۵	۱۰
رشد طولی (میلی‌متر)	فلورسنت	۱۶/۳۰±۰/۳۳[a]	۱۱/۸۵±۰/۲۹[b]	۱۱/۸۰±۰/۱۷[b]	۸/۶۵±۰/۱۹[c]	۸/۱۰±۰/۲۵[c]
	قرمز	۲۰/۱۵±۰/۳۱[a]	۱۹/۵۵±۰/۴۰[a]	۱۵/۳۵±۰/۲۵[b]	۱۰/۹۰±۰/۲۳[c]	۹/۷۰±۰/۲۷[d]
تعداد نوساقه (به‌ازای هر ریزنمونه)	فلورسنت	۱/۰۰±۰/۰۰[d]	۱/۰۵±۰/۰۵[d]	۳/۱۰±۰/۲۲[a]	۲/۱۵±۰/۱۹[b]	۱/۲۵±۰/۰۹[c]
	قرمز	۱/۰۰±۰/۰۰[c]	۱/۰۰±۰/۰۰[c]	۱/۰۰±۰/۰۰[c]	۱/۲۰±۰/۰۹[b]	۱/۴۰±۰/۱۱[a]
وزن تر (گرم)	فلورسنت	۰/۲۴±۰/۰۰۳[a]	۰/۱۳±۰/۰۰۴[c]	۰/۲۲±۰/۰۰۲[b]	۰/۱۰±۰/۰۰۳[d]	۰/۰۶±۰/۰۰۳[e]
	قرمز	۰/۱۶±۰/۰۰۲[a]	۰/۱۳±۰/۰۰۲[b]	۰/۱۱±۰/۰۰۲[c]	۰/۰۸±۰/۰۰۴[d]	۰/۰۷±۰/۰۰۳[e]
تعداد برگ (به‌ازای هر ریزنمونه)	فلورسنت	۱۱/۸۵±۰/۲۳[b]	۱۱/۰۵±۰/۲۸[c]	۱۲/۷۵±۰/۱۹[a]	۶/۷۵±۰/۱۷[d]	۵/۹۵±۰/۳۲[e]
	قرمز	۱۱/۹۵±۰/۱۶[a]	۱۰/۲۰±۰/۱۷[b]	۸/۶۵±۰/۲۰	۵/۷۵±۰/۱۶[d]	۵/۳۰±۰/۲۴[e]

مقادیر میانگین ۴ تکرار ± انحراف معیار هستند. حرف‌های مشترک عدم‌اختلاف معنادار در سطح α<۰/۰۵ را بر اساس آزمون دانکن نشان می‌دهند.

شکل ۲- فعال‌شدن جوانه‌های جانبی در هفتهٔ چهارم در نور فلورسنت سفید و تیمار غلظت ۵ میلی‌گرم‌برلیتر دایک گولاک سدیم

نور قرمز و سفید به‌تنهایی (بدون دایک گولاک سدیم) تفاوت چندانی در تعداد نوساقه، وزن تر و تعداد برگ نشان ندادند؛ اما در رشد طولی جوانه‌های جانبی، نور قرمز نسبت به نور سفید اثر مثبت داشت و می‌توان نتیجه‌گیری کرد استفادهٔ هم‌زمان از دایک گولاک سدیم و نور قرمز روی نوساقه‌زایی اثر مثبتی نداشته است. نور سفید توانست میزان نوساقه‌زایی را در غلظت ۵ میلی‌گرم‌درلیتر دایک گولاک سدیم نسبت به نور قرمز تا ۳/۱ نوساقه افزایش دهد؛ درنتیجه، نور سفید در این غلظت دایک گولاک سدیم بر چیرگی انتهایی غلبه کرده و باعث تولید نوساقه‌های جدید شده است. احتمالاً اثر ترکیبی این دو عامل به‌شکلی متابولیسم جوانه‌ها را تغییر داده است که آنها بیشتر به تولید جوانه‌های جدید متمایل شوند تا اینکه رشد طولی یابند.

میزان زیست‌تودهٔ تولیدشده تحت‌تأثیر دایک گولاک سدیم در محیط‌کشت کاهش درخور توجهی را در غلظت‌های ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم‌برلیتر نشان داد (جدول ۲) و افزایش غلظت دایک گولاک سدیم در نور فلورسنت سفید نسبت به شاهد سبب کاهش تعداد برگ شد؛ هرچند این امر در غلظت ۵ میلی‌گرم‌برلیتر (۱۲/۷۵±۰/۱۹ عدد به‌ازای هر ریزنمونه) صادق نبود. روند کاهش تعداد برگ با افزایش غلظت دایک گولاک سدیم ادامه و میانگین تعداد برگ در غلظت ۷/۵ میلی‌گرم‌برلیتر تقریباً به نصف کاهش یافت. در نور قرمز نیز روند کاهش تعداد برگ با افزایش غلظت دایک گولاک سدیم مشاهده شد (جدول ۲). میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در نور قرمز با افزایش غلظت دایک گولاک سدیم کاهش یافت؛ به‌طوری‌که میزان زنده‌مانی در غلظت ۷/۵ میلی‌گرم‌برلیتر به ۸۰ درصد و در غلظت ۱۰ میلی‌گرم‌برلیتر به ۴۰ درصد رسید. آسیب بافتی ریزنمونه‌ها در نور فلورسنت فقط در غلظت ۱۰ میلی‌گرم‌برلیتر مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳- درصد زنده‌مانی جوانه‌ها در آزمایش بررسی اثر کیفیت نور و سطوح مختلف دایک گولاک سدیم

سطوح نوری	سطوح دایک گولاک سدیم (میلی‌گرم‌برلیتر)				
	صفر	۲/۵	۵	۷/۵	۱۰
نور فلورسنت	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۴۵
نور قرمز	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۸۰	۴۰

باتوجه‌به درصد زنده‌مانی جوانه‌ها به نظر می‌رسد دایک گولاک سدیم در نور فلورسنت تا غلظت ۷/۵ میلی‌گرم‌درلیتر اثر منفی نداشته و تنها در غلظت ۱۰ میلی‌گرم‌درلیتر باعث کاهش شدید درصد زنده‌مانی شده است؛ این اثر در نور قرمز و در غلظت ۷/۵ میلی‌گرم‌درلیتر دایک گولاک سدیم مشاهده شد و درنتیجه در نور قرمز، اثر منفی دایک گولاک سدیم بر زنده‌مانی جوانه‌ها در غلظت کمتری بروز می‌کند.

آزمایش دوم (مدت زمان لازم برای اثرگذاری دایک گولاک سدیم): در بررسی مدت زمان لازم برای تأثیر دایک گولاک سدیم بر افزایش بازده رشد جوانه‌های جانبی، تمام صفت‌ها در سطح P<۰/۰۱ معنادار شدند (جدول ۴). افزایش رشد طولی با گذشت زمان کاملاً مشهود بود و در هفتهٔ چهارم در هر دو نور به بیشترین میزان خود (۲۲/۵۵±۰/۲۲ میلی‌متر برای نور سفید و ۲۵/۷±۰/۲ میلی‌متر برای نور قرمز) رسید. مشاهده می‌شود رشد طولی از هفتهٔ اول تا چهارم درحال افزایش بوده و پس‌ازآن، کاهش رشد در هر دو نور دیده شده است؛ این امر ممکن است به‌علت بروز اثر منفی دایک گولاک سدیم پس‌از چهار هفته باشد. Poudel و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند گیاهان انگوری که در نور LED قرمز رشد کنند، ساقه‌های بلندتر و فاصلهٔ بین‌گرهی بیشتری دارند. در پژوهش حاضر نیز نور LED قرمز نسبت به نور سفید توانست اثر بیشتری روی رشد طولی ساقه‌ها داشته باشد و این در حالیست که در نور سفید، میانگین تعداد ساقه‌های رشدیافته در ابتدای هفتهٔ چهارم با تأثیر دایک گولاک سدیم افزایش (۳/۸۰±۰/۱۵ عدد به‌ازای هر جوانه) یافت و تعداد ساقه‌های مشابهی (۳/۷±۰/۱۷ عدد به‌ازای هر جوانه) نیز در هفتهٔ پنجم به دست آمد؛ جالب است این افزایش تعداد نوساقه در مدت زمان کوتاهی رخ داده است. تعداد نوساقه در نور قرمز نتوانست از ۱ عدد بیشتر شود؛ به این معنا که نور قرمز قادر به غلبه بر اثر بازدارندگی دایک گولاک سدیم نبود (جدول ۴).

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر مدت زمان لازم برای اثر دایک گولاک سدیم بر صفت‌های بررسی‌شده

		رشد طولی	تعداد نوساقه	وزن تر	تعداد برگ
زمان	۴	۹۰۱/۳۸**	۰/۷۴**	۰/۰۸**	۳۲۳/۳۴**
خطای نمونه‌برداری	۳۰	۰/۳۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۵۱
خطای کل	۱۶۰	۱/۳۰	۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۲	۰/۸۸
C.V %		۶/۱۹	۲۲/۹۷	۱۰/۸۵	۱۳/۳۵

**اختلاف معنادار در سطح α =۰/۰۱

روند افزایش تعداد نوساقه‌ها در نور سفید در ابتدای هفتهٔ پنجم نیز ادامه داشت؛ هرچند طی این مدت از رشد طولی جوانه‌ها نسبت به هفتهٔ چهارم کاسته شد و به میانگین ۲۰/۰۵±۰/۱۹ میلی‌متر رسید و این امر ممکن است درنتیجهٔ استفادهٔ طولانی‌تر از دایک گولاک سدیم در محیط‌کشت باشد (جدول ۵).

میزان زیست‌توده و تعداد برگ (جدول ۵) نیز طی زمان افزایش یافت و در هفتهٔ پنجم به بیشترین مقدار خود (به‌ترتیب ۰/۱۵±۰/۰۰۱ گرم و ۱۱/۷۲±۰/۱۲ عدد به‌ازای هر جوانه) رسید. اگرچه تمایل بسیاری برای توسعه و بهبود روش‌های نوین تکثیر زیتون از طریق ریزازدیادی وجود دارد و

تاکنون تلاش‌های گسترده‌ای در این زمینه انجام شده است، همچنان پاسخ متفاوت ارقام به شرایط کشت بافت، سرعت کم رشد و ... (Roussos and Pontikis 2002; Leva, 2011) اجازه نداده است این روش جایگزین روش‌های سنتی شود؛ درنتیجه، کاربرد آن در سطح تجاری توسعهٔ چندانی نیافته است. مطالعه‌های اخیر ریزازدیادی زیتون را با هزینهٔ کمتر و در مقیاس وسیع‌تر ممکن کرده‌اند (Micheli *et al*., 2009; Wiesman, 2009). هدف در شرایط کشف بافت، افزایش بازده نوساقه‌زایی برای رسیدن به سطوحی از تولید با توجیه اقتصادی است. مطالعه‌های بسیاری وجود چیرگی انتهایی قدرتمند را در ریزنمونه‌های زیتون و در شرایط *درون شیشه* (*In vitro*) تأیید می‌کنند؛ به‌طوری‌که این امر سبب ایجاد محدودیت رشد و ازدیاد شاخه‌های جانبی می‌شود (Mendoza-de Gyves *et al*., 2008; Micheli *et al*., 2009). رشد ساقه ترکیبی از رشد میان‌گره و نمو واحدهای تشکیل ساقه (Phytomer) است (Muleo and Morini, 2008)؛ همچنین میزان نوساقه‌زایی محصول القای جوانه‌ها و رهاشدن آنها از چیرگی انتهایی است. تلاش‌هایی که برای کنترل چیرگی انتهایی در کشت بافت انجام شده‌اند به سه دستهٔ روش فیزیکی یا ریزهرسی، استفاده از ترکیبات شیمیایی و تأثیر عوامل محیطی به‌ویژه کیفیت نور تقسیم می‌شوند. اگرچه ریزهرسی یا حذف جوانهٔ انتهایی هنگام واکشت در برخی از ارقام زیتون مؤثر گزارش شده است، عموماً بازده زنده‌مانی ریزنمونه‌های زیتون از طریق اکسیداسیون بافتی به ترکیبات فنلی نسبت داده می‌شود. باتوجه‌به اینکه آسیب بافتی خود محرک تولید ترکیبات فنلی است (Roussos *et al*., 2007; Roussos and Pontikis, 2001)، این روش برای افزایش نوساقه‌زایی در ریزازدیادی زیتون مناسب به نظر نمی‌رسد. استفاده از ترکیباتی که با اتصال و جداشدن اکسین از جایگاه‌های انتقال آن هنگام عبور از عرض غشای پلاسمایی تداخل می‌کنند (Gaither, 1975; Donthineni *et al*. 2014) از دیگر راهکارهاست. اگرچه استفاده از ترکیبات یادشده به‌منظور غلبه بر چیرگی انتهایی در شرایط *درون شیشه* (*In vitro*) طی سالیان گذشته رو به افزایش بوده است (Ebrahim, 2004; Elhiti and Stasolla, 2010; Pumisutapon *et al*., 2011)، استفاده از دایک گولاک سدیم به‌طور محدود و تنها در چند رقم زیتون گزارش شده است (Mendoza-de Gyves *et al*., 2008; Kaya *et al*., 2011). دایک گولاک سدیم ماده‌ای مصنوعی است که چندین اثر بر رشد گیاه دارد و بازدارندگی رشد میان‌گره‌ها ازجملهٔ آنهاست. این ماده به‌سرعت به جوانهٔ انتهایی منتقل می‌شود و در آنجا با سنتز DNA وابسته به جیبرلیک‌اسید و احتمالاً اکسین اثر متقابل دارد و اثر بازدارندگی دیگر آن بیشتر روی RNA پلاستیدی است تا RNA سیتوپلاسمی؛ حتی در غلظت‌های زیاد نیز به‌سختی سلول‌های درحال سکون را باز می‌دارد، اما سلول‌های درحال تقسیم به‌شدت نسبت به آن حساسند (Bhattacharjee and Gupta, 1981; Sun *et al*., 2015).

جدول ۵- مقایسه میانگین و انحراف معیار نوساقه‌زایی در آزمایش بررسی مدت زمان لازم برای اثر دایک گولاک سدیم

صفت‌های آزمایش‌شده		مدت زمان (هفته)				
	سطح نوری	۱	۲	۳	۴	۵
رشد طولی (mm)	فلورسنت	۹/۸۰±۰/۲۵^{e}	۱۳/۶۵±۰/۱۹^{d}	۱۶/۴۰ ±۰/۲۶^{c}	۲۲/۵۵ ±۰/۲۲^{a}	۲۰/۰۵ ±۰/۱۹^{b}
	قرمز	۱۴/۲۰±۰/۲۶^{e}	۱۷/۶۰±۰/۲۱	۲۱/۰۰±۰/۳۰^{c}	۲۵/۷۰±۰/۲۰^{a}	۲۳/۳۰±۰/۲۴^{b}
تعداد نوساقه (به‌ازای هر ریزنمونه)	فلورسنت	۱/۰۰±۰/۰۰^{b}	۱/۰۰±۰/۰۰^{b}	۱/۱۰ ±۰/۰۶^{b}	۳/۸۰±۰/۱۵^{a}	۳/۷۰±۰/۱۷^{a}
	قرمز	۱/۰۰±۰/۰۰^{b}	۱/۰۰±۰/۰۰^{b}	۱/۰۰ ±۰/۰۰^{b}	۱/۲۵±۰/۰۹^{a}	۱/۳۰±۰/۱۰^{a}
وزن تر (گرم)	فلورسنت	۰/۰۵±۰/۰۰۳^{e}	۰/۰۸±۰/۰۰۲^{d}	۰/۱۰ ±۰/۰۰۳^{c}	۰/۱۴ ±۰/۰۰۳^{b}	۰/۱۵ ±۰/۰۰۱^{a}
	قرمز	۰/۰۷±۰/۰۰۵^{e}	۰/۱۳ ±۰/۰۰۲^{d}	۰/۱۶ ±۰/۰۰۱^{c}	۰/۱۷ ±۰/۰۰۲^{b}	۰/۲۰±۰/۰۰۱^{a}
تعداد برگ (به‌ازای هر ریزنمونه)	فلورسنت	۴/۷۰±۰/۱۷^{a}	۵/۸۵±۰/۱۸^{a}	۶/۴۰ ±۰/۲۲^{a}	۷/۷۵ ±۰/۱۹^{a}	۱۱/۸۰ ±۰/۱۵^{a}
	قرمز	۳/۹۰±۰/۱۴^{a}	۵/۲۰±۰/۱۸^{a}	۵/۸۵±۰/۳۱^{a}	۷/۵۰±۰/۱۹^{a}	۱۱/۶۵±۰/۲۰^{a}

مقادیر میانگین ۴ تکرار ± انحراف معیار هستند. حرف‌های مشترک عدم‌اختلاف معنادار در سطح $\alpha<۰/۰۵$ را بر اساس آزمون دانکن نشان می‌دهند.

Antonopoulou و همکاران (۲۰۱۸) اثر دایک گولاک سدیم را بر تحریک جوانه‌های جانبی رقم Chondorola Chalkidikis زیتون بررسی کردند. در مطالعهٔ آنها، ۸/۹ میکرومولار ایندول ۳ بوتریک(بوتیریک) اسید همراه با ۱۰۰/۵ میکرومولار دایک گولاک سدیم (تقریباً ۳۰ میلی‌گرم‌درلیتر) توانست باعث تکثیر جوانه‌های جانبی و نوساقه‌زایی شود؛ اما تأکید آنها بر این بود که نتایج آنها نتایج اولیه است و باید این موضوع در رقم‌های مختلف زیتون نیز بررسی شود. در مطالعهٔ حاضر نیز مقدار ۵ میلی‌گرم‌درلیتر (تقریباً ۱۶ میکرومولار) توانست باعث تکثیر جوانه‌های جانبی در رقم زرد زیتون شود که با نتیجهٔ Antonopoulou و همکاران (۲۰۱۸) متفاوت است؛ به این معنا که رقم زرد نسبت به رقم Chondorola Chalkidikis به یک‌ششم میزان دایک گولاک سدیم برای نوساقه‌زایی نیاز دارد.

کنترل چیرگی انتهایی (Hunter and Burritt, 2004) یکی از کاربردهای کیفیت‌های نوری مختلف است؛ البته گفتنی است گزارشی در زمینهٔ بررسی اثر کیفیت نوری بر رشد جوانه‌های جانبی زیتون در منابع یافت نشد. نور یکی از عوامل محیطی است که روی گیاهان عمل می‌کند و نه‌تنها به‌عنوان منبع انرژی، به‌شکل منبع اطلاعات خارجی نیز بر رشدونمو آنها اثر می‌گذارد. گیاهان به آرایه‌هایی از گیرنده‌های نوری مجهزند که پاسخ‌های متفاوت آنها را به شاخص‌های نوری مانند طیف، شدت، جهت و مدت زمان کنترل می‌کنند. این گیرنده‌های نور شامل فیتوکروم‌های جذب‌کنندهٔ نور قرمز و مادون قرمز، کریپتوکروم‌های جذب‌کنندهٔ نور UVA و آبی، فتوتروپین‌ها و دیگر گیرنده‌های نوری در محدودهٔ UVA و نور سبز هستند. تغییر نوردهی، پاسخ‌های فتوسنتزی و ریخت‌شناختی متفاوتی را برمی‌انگیزد

که بین گونه‌های گیاهی مختلف متفاوت است (Urbonaviciute *et al*., 2007). فیتوکروم‌ها به دو شکل فعال Pfr و غیرفعال Pr وجود دارند. شکل Pfr فعال از سیتوپلاسم به هسته منتقل می‌شود و با عوامل رونویسی واکنش می‌دهد تا تغییراتی را در فیزیولوژی گیاه سبب شود. شکل فعال Pfr توازن بین فیزیولوژی تنش و رشد را در گیاهان تعیین می‌کند. در نور مستقیم خورشید که غنی از نور قرمزاست، Pfr تشکیل می‌شود و به فرستادن مجصولات فتوسنتزی در جهت رشد گیاه تمایل دارد؛ برخلاف آن، نور منعکس‌شده از پوشش گیاهی مجاور که غنی از نور مادون قرمز است، Pfr فعال را از بین می‌برد و باعث می‌شود محصولات فتوسنتزی به‌سمت فیزیولوژی تنش بروند (Devlin, 2016). نورهای مختلف اثرهای متفاوتی بر فیزیولوژی و عملکرد گیاهان دارند و این اثرها ممکن است در گیاهان مختلف یکسان نباشند؛ برای نمونه، یک طیف نوری در گیاهی باعث گل‌دهی شود، اما در گیاه دیگر اثر عکس داشته باشد. در همین راستا، Hirai و همکاران (۲۰۰۶) عنوان کردند نور آبی سبب افزایش چشمگیر رشد طولی ساقه در گیاه بادمجان می‌شود و دیگر نورها ازجمله قرمز و سبز چنین اثری را از خود نشان نمی‌دهند؛ هرچند نور قرمز در گیاه کاهو همین اثر را دارد. آنها نتیجه‌گیری کردند اثر نور بر رشد طولی ساقه به گونهٔ گیاه بستگی دارد.

نتایج بررسی میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در شرایط استفادهٔ هم‌زمان دایک گولاک سدیم و نور قرمز دو جنبه از پاسخ رقم زرد را نشان می‌دهد: اولاً در غلظت ۱۰ میلی‌گرم‌برلیتر دایک گولاک سدیم و در هر دو کیفیت نوری، میانگین تعداد نوساقه‌ها و زیست‌تودهٔ ایجادشده کاهش می‌یابد که این امر آثار نامناسب این ماده بر رقم زرد را در این محدودهٔ غلظتی نشان می‌دهد؛ البته Mendoza-de Gyves و همکاران (۲۰۰۸) کاهش میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در این غلظت را در ارقام Rosciola و Paintone de Moiano نیز گزارش کرده‌اند. ثانیاً باتوجه‌به افزایش میزان تلفات در نور قرمز، این عامل را می‌توان محرک ایجاد مرگ سلولی در رقم زرد و در غلظت‌های زیاد دایک گولاک سدیم در نظر گرفت؛ زیرا میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در کیفیت‌های نوری مختلف بسته به نوع رقم متفاوت است (Donini *et al*., 2008). از سوی دیگر، مشاهدهٔ کاهش تمام شاخص‌های رشد به‌جز رشد طولی دلیلی بر آثار منفی نور قرمز بر رشد ریزنمونه‌های رقم زرد قرارگرفته در معرض نور قرمز در مقایسه با نور فلورسنت سفید است؛ هرچند افزایش رشد طولی در نور قرمز باتوجه‌به تعداد برگ تولیدشده و در مقایسه با نور فلورسنت نشان می‌دهد افزایش ارتفاع مشاهده‌شده نتیجهٔ افزایش طول میان‌گره‌هاست.

نتایج نشان می‌دهند استفاده از نور قرمز و دایک گولاک سدیم به‌منظور تولید ساقه‌های دارای گرهٔ بیشتر مؤثر نیست. اگرچه بیشترین میزان رشد طولی در غلظت‌های ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم‌برلیتر (در نور فلورسنت) مشاهده شد، بیشترین میزان نوساقه‌زایی در غلظت ۵ میلی‌گرم‌برلیتر به دست آمد؛ همچنین میزان رشد طولی در این تیمار اختلاف درخور توجهی نسبت به تیمار شاهد نشان داد. ترکیب زئاتین با دایک گولاک سدیم از طریق تحریک تقسیم سلولی و افزایش رشد طولی سلول سبب افزایش

رشد بافت می‌شود و تنها غلظت‌های کم دایک گولاک سدیم، امکان فعالیت زئاتین را به‌عنوان محرک تقسیم سلولی فراهم می‌کنند و افزایش غلظت آن به‌علت ماهیت اصلی دایک گولاک سدیم سبب می‌شود به‌شکل بازدارندهٔ رشد باعث توقف تقسیم سلولی (Mendoza-de Gyves *et al.*, 2008) و درنتیجه کاهش بیشتر رشد طولی یا آسیب بافتی و کاهش زنده‌مانی شود. همان‌طور که مشاهده شد کاربرد دایک گولاک سدیم در محیط‌کشت به‌مدت ۲۱ روز تأثیر مناسب‌تری نسبت به کاربرد طولانی‌مدت آن بر افزایش میزان نوساقه‌زایی دارد. حداکثر میزان رشد طولی در هفتهٔ چهارم مشاهده شد؛ هرچند تأثیر طولانی‌مدت‌تر دایک گولاک سدیم تنها کاهش رشد طولی ریزنمونه‌های را در پی داشت.

تعداد برگ ریزنمونه‌های مطالعه‌شده با افزایش غلظت دایک گولاک سدیم (به‌جز غلظت ۵ میلی‌گرم‌برلیتر) نسبت به شاهد کاهش یافت. افزایش تعداد برگ در غلظت ۵ میلی‌گرم‌برلیتر در اثر افزایش میزان نوساقه‌های تولیدشده بود و کاهش دوبارهٔ این شاخص با افزایش غلظت دایک گولاک سدیم ممکن است از آغاز ایجاد آسیب بافتی در اثر کاربرد دایک گولاک سدیم ناشی شود؛ این نتیجه با مشاهدهٔ آسیب تعداد درخور توجهی از ریزنمونه‌ها در غلظت ۱۰ (زنده‌مانی برابر با ۴۵ درصد) اثبات شد. روند کاهش تعداد برگ با افزایش غلظت دایک گولاک سدیم در نور قرمز رابطهٔ مستقیم داشت که این وضعیت احتمالاً بر اثر افزایش‌نیافتن نوساقه‌زایی در این کیفیت نور است.

جمع‌بندی

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهند دایک گولاک سدیم و نور قرمز به‌نوعی در تقابل با یکدیگر اثر بازدارندگی اعمال می‌کنند و اثر دایک گولاک سدیم در افزایش نوساقه‌زایی فقط در نور فلورسنت سفید مشاهده می‌شود. همچنین هنگام استفاده از دایک گولاک سدیم، نور قرمز فقط در افزایش میزان رشد طولی نسبت به نور فلورسنت مؤثر است. گفتنی است گزارشی در زمینهٔ کاربرد دایک گولاک سدیم در نور قرمز یافت نشده است.

سپاسگزاری

از حمایت گروه بیوتکنولوژی، دانشکدهٔ کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) از پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

References

Ahmadi, T., Shabani, L. and Sabzalian, M. R. (2017) Effects of LED light spectrum on growth and rosmarinic acid content in *Melissa officinalis* L. Iranian Journal of Plant Process and Function 6(21): 213-222 (in Persian).

Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I. and Chatzissavvidis, C. (2018) Does dikegulac affect *in vitro* shoot proliferation and hyperhydricity incidence in olive explants? Horticultural Science 45(3): 125-130.

Asadi, A., Kafi, M., Nabati, J. and Goldani, M. (2018) Effect of different light sources in *in viro* on growth, morphology and minituber production of potato (*Solanum tuberosum* L.) in hydroponic conditions. Iranian Journal of Horticultural Science 48(4): 937-941 (in Persian).

Besnard, G., Khadari, B., Baradat, P. and Bervillé, A. (2002) *Olea europaea* (Oleaceae) phylogeography based on chloroplast DNA polymorphism. Theoretical and Applied Genetics 104(8): 1353-1361.

Bhattacharjee, A. and Gupta, K. (1981) Effect of dikegulac on growth and correlative biochemical changes in leaves of sunflower (*Helianthus annuus* L. cv Ec 68414). Biochemie und Physiologie der pflanzen 176(4): 306-313.

Binet, M., Lemoine, M., Martin, C., Chambon, C. and Gianinazzi, S. (2007) Micropropagation of olive (*Olea europaea* L.) and application of mycorrhiza to improve plantlet establishment. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant 43(5): 473-478.

Brazaityte, A., Puchovskis, P., Urbonaviciute, A., Sanuoline, G., Jankauskiene, J., Kazenas, V., Kasiuleviciute-Bonakere, A., Bliznikas, Z., Novikovas, A., Breive, K. and Zukauskas, A. (2009) After-effect of light-emitting diodes lighting on tomato growth and yield in greenhouse. Sodininkyste ir Darzininkyste 28(1): 115-126.

Chaari-Rkhis, A., Maalej, M., Drira, N. and Standardi, A. (2011) Micropropagation of olive tree *Olea europea* L. Queslati. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 35(4): 403-412.

Devlin, P. F. (2016) Plants wait for the lights to change to red. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 113(2): 7301-7303.

Donini, L., Schuch, M., Riberio, M., Souza, J. and Soares, G. (2008) Response evaluation of three olive cultivers to the *in vitro* cultivation under different light wavelength and effects of the combination between zeatine and gibberellic acide. Scientia Agraria 9(2): 229-233.

Donthineni, K., Sravanthi, V. and Mayure, V. K. (2014) Chemistry on plant growth regulators: An overview. PharmaTutor 2(9): 68-80.

Ebrahim, M. K. (2004) Comparison, determination and optimizing the conditions required for rhizome and shoot formation, and flowering of *in vitro* cultured calla explants. Scientia Horticulturae 101(3): 305-313.

Elhiti, M. and Stasolla, C. (2010) Ectopic expression of the Brassica shoot meristemless attenuates the deleterious effects of the auxin transport inhibitor TIBA next term on somatic embryo number and morphology. Plant Science 180(2): 383-390.

Fabbri, A., Bartolini, G., Lambardi, M. and Kailis, S. (2004) Olive propagation manual. Landlinks Press, Collingwood.

Foxhall, L. (2007) Olive cultivation in ancient Greece: seeking the ancient economy. Oxford University Press, Oxford.

Gaither, D. H. (1975) Auxin and the response of pea roots to auxin transport inhibitors: morphactin. Plant Physiology 55(6): 1082-1086.

Hirai, T., Amaki, W. and Watanabe, H. (2006) Action of blue or red monochromatic light on stem internodal growth depends on plant species. 5th International Symposium on Artificial Lighting in Horticulture, Lillehammer, Norway.

Hunter, D. C. and Burritt, D. J. (2004) Light quality influences adventitious shoot production from cotyledon explants of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *In Vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant 40(2): 215-220.

Kaya, E., Akdemir, H., Ozudogru, E. A. and Ozden, Y. (2011) *In vitro* propagation of turkish Olive cultivar "Edremit yaglik" via temporary immersion bioreactor systems. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology

47(1): S64-S64.

Kitsaki, C. and Drossopoulos, J. (2005) Environmental effect on ABA concentration and water potential in olive leaves (*Olea europaea* L. cv "Koroneiki") under non-irrigated field conditions. Environmental and Experimental Botany 54(1): 77-89.

Kurepin, L. V., Walton, L. J. and Reid, D. M. (2007) Interaction of red to far red light ratio and ethylene in regulating stem elongation of *Helianthus annuus*. Plant Growth Regulation 51(1): 53-61.

Leva, A. R., Petruccelli, R. and Bartolini, G. (1994) Mannitol *in vitro* culture of *Olea europaea* L. (cv. Maurino). Acta Horticulturae 356(356): 43-46.

Leva, A. (2011) Innovative protocol for "*ex vitro* rooting" on olive micropropagation. Central European Journal of Biology 6(3): 352-358.

Litwinczuk, W. and Prokop, A. (2010) The usefulness of dikegulac in propagation of highbush blue berry (*Vaccinium corymbo* sum L.) Herbert. Journal of Fruit and Ornamental plant Research 18(2): 85-92.

López-Escudero, F. J. and Mercado-Blanco, J. (2011) *Verticillium wilt* of olive: a case study to implement an integrated strategy to control a soil-borne pathogen. Plant and Soil 344(1-2): 1-50.

Mazinani, S. (2009) Mass production of *Olea europea* L. (cv. rowghani) through Micropropagation. General and Applied Plant Physiology 35(1-2): 35-43.

Mendoza-de Gyves, E., Mira, F. R., Ruiu, F. and Rugini, E. (2008) Stimulation of node and lateral shoot formation in micropropagation of olive (*Olea europaea* L.) by using dikegulac. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 92(2): 233-238.

Micheli, M., Standardi, A., El Behi, A., Zakhour, D. and Yasin, M. (2009) *In vitro* proliferation of olive (Dolce Agogia and Moraiolo): effect of different cytokinins. 11th International Symposium on Plant Bioregulators in Fruit Production 88. Bologna, Italy.

Muleo, R. and Morini, S. (2008) Physiological dissection of blue and red light regulation of apical dominance and branching in M9 apple rootstock growing *in vitro*. Journal of Plant Physiology 165(17): 1838-1846.

Poudel, P. R., Kataoka, I. and Mochioka, R. (2008) Effect of red-and blue-light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 92(2): 147-153.

Pumisutapon, P., Visser, R. and De Klerk, G. J. (2011) Hormonal control of the outgrowth of axillary buds in Alstroemeria cultured *in vitro*. Biologia Plantarum 55 (4): 664-668.

Roussos, P. and Pontikis, C. (2001) Phenolic compounds in olive explants and their contribution to browning during the establishment stage *in vitro*. Gartenbauwissenschaft 66(6): 298-303.

Roussos, P. and Pontikis, C. (2002) *In vitro* propagation of olive (*Olea europaea* L.) cv. Koroneiki. Plant Growth Regulation 37(3): 295-304.

Roussos, P. A., Matsoukis, A. C., Pontikis, A. and Chronopoulou-Sereli, A. (2007) Relations of environmental factors with the phenol content and oxidative enzyme activities of olive explants. Scientia Horticulturae 113(1): 100-102.

Rugini, E. (1984) *In vitro* Propagation of some olive (*Olea europea* L.) cultivars with different root-ability and medium development using analytical data from developing shoot and embryos. Scientia Horticulturae 24(2): 123-134.

Shahak, Y. E., Gussakovsky, E., Cohen, Y., Lurie, S., Stern, R., Kfir, S., Naor, A., Atzmon, I., Doron, I. and Greenblat-

Avron, Y. (2004) ColorNets: a new approach for light manipulation in fruit trees. 26th International Horticultural Congress: Key Processes in the Growth and Cropping of Deciduous Fruit and Nut Trees, Toronto, Canada.

Sun, Y., Bi, G., Niu, G. and Perez, C. (2015) Foliar application of dikegulac sodium increases branching of 'Merritt's Supreme' bigleaf hydrangea. HortTechnology 25(3): 306-312.

Urbonaviciute, A., Pinho, P., samuoline, G., DUchorskis, P., Vitta, P., Stokus, A., Tamulaitis, G., Zukauskas, A. and Halonen, N. (2007) Influence of biocomponent complementary illumination on development of radish. Sodinin Kyste ir Darzininkyste 26(4): 309-316.

Wiesman, Z. (2009) Desert olive oil cultivation: advanced biotechnologies. Academic Press, Beer Sherva.

Zacchini, M. and De Agazio, M. (2004) Micropropagation of a local olive cultivar for germplasm preservation. Biologia Plantarum 48(4): 589-592.