

اثر زمان پیوند، آنتی‌اکسیدان و تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریزشاخه‌پیوندی
گردو (*Juglans regia* L.)

Effect of Grafting Time, Antioxidant and Plant Growth Regulators on
Minigrafting in Walnut (*Juglans regia* L.)

فرزانه امین‌زاده^۱، محمدرضا فتاحی‌مقدم^۲، علی‌عبادی^۳، داراب حسنی^۴ و حامد بلانیان^۵

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۲- دانشیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج (نگارنده مسئول)

۳- استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

۴- دانشیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج

۵- دانشجوی دکتری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۳۱

چکیده

امین‌زاده، ف.، فتاحی‌مقدم، م. ر.، عبادی، ع.، حسنی، د. و بلانیان، ح. ۱۳۹۲. اثر زمان پیوند، آنتی‌اکسیدان و تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریزشاخه‌پیوندی گردو (*Juglans regia* L.). مجله به‌زراعی نهال و بذر ۲-۲۹ (۱): ۲۸۲-۲۶۹.

یکی از عوامل مهم در گبرایی پیوند گردو ممانعت از اکسیداسیون ترکیبات فنلی و کمک به ایجاد کالوس مناسب توسط پایه و پیوندک است. به همین منظور در این پژوهش تاثیر آنتی‌اکسیدان پلی‌ونیل‌پیرولیدین (PVP)، هورمون ایندول بوتریک اسید (IBA) و بنزیل آمینوبورین (BA) در چهار زمان مختلف (اواخر دی، بهمن، اسفند و اردیبهشت) در ریزشاخه‌پیوندی گردو بررسی شد. پیوندک‌ها از شاخه‌های سال جاری رقم «سِر» در فصل خواب تهیه شدند. سن پایه شش هفته پس از جوانه‌زنی بود. نتایج نشان داد که بهترین زمان برای ریزشاخه‌پیوندی در بهمن ماه با ۸۳/۲۴٪ بود. درصد گبرایی و صفات مربوط به رشد پیوندک در سطوح مختلف آنتی‌اکسیدان در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد. در بین تیمارهای آنتی‌اکسیدان و هورمونی تیمار ترکیبی ۵۰ میلی‌گرم در لیتر IBA همراه با ۸۰ میلی‌گرم در لیتر BA با ۸۳/۹۴٪ گبرایی و حداقل زمان لازم برای گبرایی (حدود ۲۱ روز) بهترین تیمار بود. تیمارهای آنتی‌اکسیدانی در بین همه تیمارها (تیمارهای هورمونی و آنتی‌اکسیدانی) حداقل زمان لازم برای گبرایی (به طور میانگین حدود ۲۰ روز) را نشان داد. با توجه به این نتایج تیمار پیشنهادی برای بهبود گبرایی در روش ریزشاخه‌پیوندی گردو ترکیبی از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر IBA همراه با ۸۰ میلی‌گرم در لیتر BA و زمان پیوند بهمن ماه مناسب بود.

واژه‌های کلیدی: پلی‌ونیل‌پیرولیدین، اکسین، سایتوکینین، تکثیر غیرجنسی گردو و درصد گبرایی.

مقدمه

زمان مناسب پیوند است (Szoke, 1990).

در برخی از تحقیقات، در مقایسه با روش‌های قدیمی پیوند نظیر پیوند امگا (۴۰/۸٪) استفاده از روش‌های جدید از جمله کابل حرارتی (۷۴/۲٪) و پیوند اپی کوتیل (۷۷/۵ درصد) نتیجه بهتری را نشان دادند (Gandev, 2009). دهقان و همکاران (Dehghan et al., 2010) اثر روش‌های مختلف پیوند رومیزی شامل پیوند جانبی، پیوند امگا و پیوند زبانه‌ای را در شرایط کنترل شده روی گیرایی پیوند ارقام مختلف گردو بررسی کرد. نتایج نشان داد که پیوند امگا (۸۴/۳۳٪) بالاترین موفقیت پیوند را داشته است و پیوندهای جانبی (۴۱/۸۹٪) و زبانه‌ای (۲۴/۳۱٪) به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند.

در آزمایشات دیگر نیز انواع روش‌های پیوند گردو در زمان‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته است. برخی از آنها در شرایط خاص بکار رفته نتایج خوبی نشان دادند. به عنوان مثال: ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al., 2008) بیشترین درصد گیرایی را از پیوند وصله‌ای (۹۱٪) در دو زمان تیر ماه و شهریور ماه و از پیوند شکمی و قاشی نیز کمترین درصد گیرایی را بدست آوردند. در مطالعه آنها نتایج تمام روش‌های پیوند در شرایط مزرعه در مقایسه با گلخانه بسیار پایین تر بود.

در آزمایشی دیگر با مقایسه روش‌های پیوند مختلف در شرایط آذربایجان غربی بیشترین

گردو (*Juglans regia* L.) به عنوان یکی از مهمترین میوه‌های خشکباری در مناطق معتدله کشت و کار می‌گردد. خواص تغذیه‌ای گردو و سایر کاربردهای صنعتی درخت گردو باعث کشت و کار وسیع آن در جهان و ایران شده است. ایران رتبه سوم تولید و سطح زیر کشت گردوی جهان را به خود اختصاص داده است، اما سهم چندانی در صادرات این محصول نداشته و تنها مقدار کمی از آن را به صورت میوه خشک و مغز صادر می‌نماید (FAOSTAT, 2010).

متأسفانه به علت عدم توسعه‌ی کامل تکثیر غیر جنسی این گیاه، محصول تولیدی کشور ما غیر یکنواخت بوده و قابلیت فروش در بازارهای خارجی را کمتر دارد. از روش‌های جدید پیوند گردو می‌توان به روش پیوند شاخه نرم (Soft grafting) و پیوند اپی کوتیل اشاره کرد. در پیوند شاخه نرم از دانه‌های ۱-۲ ماهه و یا ۱-۳ ساله در صورت رد کردن پیوند به عنوان پایه استفاده می‌شود (Szoke, 1990).

در روش پیوند اپی کوتیل نیز از دانه‌های ۵ تا ۱۰ روزه گردو به عنوان پایه استفاده می‌شود و روی آنها پیوندک‌هایی به طول ۳-۶ سانتی‌متر با روش پیوند اسکنه در فصل خواب و یا فصل رشد پیوند زده می‌شود (Suk-In et al., 2005). عوامل مهم اثر گذار بر گیرایی در این روش‌ها جلوگیری از تبخیر آب در پیوندک، مرحله رشد مناسب پیوندک و

شده و از گیرایی پیوند جلو گیری می کند (Rongting and Pinghai, 1993). بطور کلی مشکلات پیوند گردو شامل: فشار ریشه ای و مواد پلی فنلی بالای آن، وابستگی بالای آن به شرایط آب و هوایی خاص، توقف رشد گیاهان پیوندی و در نهایت از بین رفتن بسیاری از نهال های پیوندی در ۲-۱ سال اول پس از انجام پیوند می باشد، که باعث کاهش موفقیت در تکثیر غیر جنسی این گیاه بوسیله پیوند و کوپیوند می گردند (Rongting and Pinghai, 1990; Rezaei et al., 2007). ژوگلان موجود در ترشحات آوند چوب برای رشد کالوس در گردو مضر است (Vahdati, 2007).

گیرایی و بقاء پیوندک های گردو کمتر تحت تاثیر میزان فنل های کل است. فنل های اسیدی نظیر اسیدفرولیک که بازدارنده فعالیت IAA اکسیداز هستند و سبب افزایش IAA می گردند، سبب افزایش تولید کالوس و در نتیجه گیرایی بالاتر گردیده در صورتی که اسید کوماریک و اسید کاتچینیک بر عکس عمل نموده و منجر به کاهش سطوح IAA می شود (Rongting and Pinghai, 1993).

با افزایش میزان فنل ها در طی ماه های می، جولای و آگوست گیرایی پیوند گردو کاهش پیدا می کند (Karadeniz et al., 1997). اثر آنتی اکسیدان های مختلف در کاهش اکسیداسیون مواد فنلی در طول فرایند ریزپیوندی گردو آزمایش شده است. پلی ونیل

گیرایی مربوط به پیوند زیر پوستی (۹۳٪) و کمترین گیرایی مربوط به روش اسکنه ای بود (Rezaei et al., 2006). سلیمانی و همکاران (Soleimani et al., 2008) با مقایسه ارقام و ژنوتیپ های مختلف به عنوان پایه و پیوندک با استفاده از روش پیوند هیپوکوتیل بیشترین و کمترین گیرایی را به ترتیب از پیوندک های رقم 'Chandler' (۸۰٪) و 'Z30' (۳۶/۷٪) بدست آوردند.

گیرایی موفق در پیوندهای فصل خواب در ماه های ژانویه (Mitrovic, 1995)، فوریه (Suk-In et al., 2005)، مارس (Ferhatoglu, 1997; Hartmann, 1974) و آوریل (Rezaei et al., 2006) به عوامل مختلفی از جمله رفع نیاز سرمایی جوانه های پیوندک بسته به نوع ژنوتیپ یا رقم، دمای مناسب برای کالوس زایی در زمان پیوند و روش پیوند بستگی دارد (Vahdati, 2007). گیرایی پیوندهای فصل رشد (خصوصاً در ماه های اول بهار) با استفاده از پیوندک های همان فصل و یا پیوندک های فصل خواب (Manusev, 1970) نیز به ترتیب به عواملی نظیر عدم رشد کافی پیوندک ها، ذخیره مواد غذایی کم، آبکی بودن بیش از حد آنها و انبارمانی پیوندک ها که باعث مصرف مواد ذخیره ای آنها شده و ممکن است موجب کاهش گیرایی شود، بستگی دارد.

محتوای فنل گردو از سایر درختان میوه بیشتر بوده و اکسیداسیون فنل ها باعث رسوب پروتئین ها در محل پیوند و ایجاد لایه نکروزه

پیوندی ناسازگار ممکن است تمایز آوند چوب و آبکش و همچنین چوبی شدن را تحت تاثیر قرار دهد (Macheix *et al.*, 1986). ریزشاخه پیوندی به عنوان یکی از روش‌های تکثیر غیر جنسی گردو و استفاده از آنتی‌اکسیدان پلی‌وینیل‌پیرولیدین (PVP) علیه مواد فنلی و هورمون‌های رشد ایندول بوتریک‌اسید (Indole-3-Butyric Acid = IBA) و بنزیل‌آدنین (Benzyladenine = BA) به منظور بهبود کالوس‌زایی در این روش می‌تواند به تولید محصول یکنواخت کمک کند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در شرایط نیمه کنترل شده گلخانه در طی سه ماه زمستان سال ۱۳۹۰ (هفته آخر دی، بهمن و اسفند) و اردیبهشت سال ۱۳۹۱ انجام شد. پیوندک‌ها در طی ماه‌های زمستان (زمان انجام ریزشاخه پیوندی) از شاخه‌های سال جاری درختان ۱۷ ساله رقم سِر (Serr) واقع در باغ موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه شدند. در آزمایش اردیبهشت از پیوندک‌هایی که در زمستان جمع‌آوری شده بودند و در سردخانه یک درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد نگهداری شدند، استفاده شد. در محل پیوند به ترتیب از آنتی‌اکسیدان PVP با سه غلظت مختلف ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و از پیوندک‌هایی به طول ۲ تا ۵ سانتی‌متر که دارای یک یا دو جوانه

پیرولیدین (Polyvinylpyrrolidone = PVP) بهترین نتیجه را در مقایسه با سایر آنتی‌اکسیدان‌ها دارا بوده است اما بهترین نتایج در رابطه با رشد پیوندک وقتی مشاهده می‌شود که محلول‌های آنتی‌اکسیدانی توسط اضافه کردن تنظیم کننده رشد بنزیل‌آمینوپورین (Benzylaminopurine) تکمیل شود (Alzate *et al.*, 2002).

تیمار محل پیوند با آنتی‌اکسیدان‌های PVP، اسید آسکوربیک و آلبومین، میزان گیرایی پیوند و درصد زنده ماندن آنها را نسبت به شاهد افزایش می‌دهد که دلیل آن جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده (Indole-3-Acetic Acid = IAA) و اکسید شدن فنل‌ها می‌باشد (Zakinthinos and Rouskas, 1997).

ماده‌ای که در توسعه محل پیوند سازگار نقش دارد اکسین می‌باشد که از رشته‌های آوندی پایه و پیوندک آزاد می‌شود و موجب تمایز بافت آوندی می‌شود (Moore, 1984; Aloni, 1987). انتقال آن از سیستم ریشه در سبب مطالعه شده و با ناسازگاری پیوند ارتباط دارد.

حرکت رو به بالای اکسین می‌تواند الگوی ریخت‌شناسی کل گیاه (Zajaczowski *et al.*, 1983) و تسریع در تشکیل پیوند موفق (Shimomura and Fujihara, 1977) را سازمان‌دهی کند. مقدار کم اکسین در ترکیبات

مورد استفاده قرار گرفت. این تیمارها در هر چهار زمان آزمایش با قرار دادن پیوندک‌ها در داخل هر کدام از این تیمارها به مدت ۲۰ دقیقه مورد استفاده قرار گرفتند.

سن پایه در این آزمایش شش هفته پس از جوانه‌زنی بود. محل پیوند با نوار پلاستیکی محکم بسته شد و روی گیاهان پیوندی پس از اسپری قارچ کش برای حفظ رطوبت پیوندک و محل پیوند با یک لیوان پلاستیکی شفاف پوشانده شدند (شکل ۱- C). گیاهان پیوندی طی سه ماه زمستان در شرایط گلخانه و در اردیبهشت در شرایط تونل پلاستیکی در خارج از گلخانه و در سایه نگهداری شدند.

انتهایی بودند استفاده شد. پیوندک‌ها پس از برش (شکل ۱- A) ابتدا با محلول رقیق قارچ کش توپاس (به مقدار ۰/۲۵ در هزار) برای ضد عفونی شدن پیوندک‌ها شسته شدند. بعد از آن به مدت یک ساعت در داخل محلول آنتی‌اکسیدانی قرار داده شدند و سپس برای ریز شاخه پیوندی مورد استفاده قرار گرفتند.

تیمار اکسین IBA با دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر و تیمار سایتو کینین BA با دو غلظت ۴۰ و ۸۰ میلی گرم در لیتر و تیمارهای ترکیبی ۱۰۰ میلی گرم در لیتر IBA به همراه ۴۰ میلی گرم در لیتر BA و ۵۰ میلی گرم در لیتر IBA به همراه ۸۰ میلی گرم در لیتر BA



شکل ۱- نحوه برش پیوندک (A)، قرار گیری پیوندک روی پایه (B) و قرار دادن درپوش روی گیاه پیوندی (C)

Fig. 1. Cutting the scion (A), positioning of scion on rootstock (B) and covering the grafted plant (C)

یک روز انجام شد و روز انجام آزمایش به عنوان بلوک در نظر گرفته شد. درصد گیرایی، زمان لازم برای گیرایی، طول قسمت رشد کرده، تعداد برگ و طول میانگرمه حدود سه هفته پس از شکوفایی و رشد پیوندک اندازه گیری شد.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، شامل دو عامل زمان پیوند (دی، بهمن، اسفند و اردیبهشت) و تیمارهای مختلف شیمیایی (اکسین، سایتو کینین، PVP) و تیمار شاهد بود. هر تیمار در سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ گیاه بود. هر تکرار در

کرده و باز می‌شود و علاوه بر مصرف مواد غذایی با تبخیر و تعرق باعث از دست رفتن رطوبت پیوندک می‌شود. بر همین اساس می‌توان گيرایی بیشتر پیوند در زمان بهمن نسبت به پیوند در زمان اسفند را توجیه کرد.

زمان مناسب برای گرفتن قلمه و یا پیوندک به طور معمول به شرایط درونی و فیزیولوژیک گیاه مادری بستگی دارد. البته برطرف شدن رکود فیزیولوژیک جوانه‌ها و بخش‌های دیگر گیاه بی‌تأثیر نخواهد بود به طوری‌که برخی از بازدارنده‌های احتمالی از بین می‌روند و مواد رشد گیاهی تحریک کننده تولید خواهند شد (Hartmann *et al.*, 1990).

گیرایی بیشتر در بهمن ماه با نتایج سوک-این و همکاران (Suk-In *et al.*, 2005) که ۷۸/۹٪ گیرایی را با روش پیوند اپی کوتیل در شرایط اقلیمی کشور کره جنوبی در فوریه بدست آوردند مشابه بود. همچنین با نتایج تسورکان (Tsurkan, 1990) که با انجام پیوند رومیزی در فصل خواب از سپتامبر تا آوریل نتیجه گرفت که انجام پیوند در ماه‌های اول زمستان منجر به گیرایی بالاتری می‌شود مطابقت دارد.

نتایج این پژوهش با نتایج فرهاتگلو (Ferhatoglu, 1997) که بیشترین گیرایی را در ماه مارس و با نتایج میتروویچ (Mitrovic, 1995) که بیشترین گیرایی و بهترین کالوس‌زایی را با پیوندک‌های گرفته شده در اواخر دسامبر و اوایل ژانویه (در شرایط

تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار SAS (Version 9.1) انجام و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ مقایسه شدند. برای داده‌های مربوط به صفات درصد گیرایی، طول رشد و فاصله میانگره به منظور نرمال کردن آنها به ترتیب از تبدیل زاویه‌ای، لگاریتمی و جذری استفاده شد.

نتایج و بحث

اثر زمان ریزپیوند بر درصد گیرایی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌داری بود (جدول ۱). بیشترین درصد گیرایی (۸۳/۲۴٪) و کمترین آن (۵۱/۵٪) به ترتیب مربوط به زمان پیوند بهمن و اردیبهشت بود (شکل ۲). نتایج تحقیق حاضر در زمان پیوند اردیبهشت ماه با نتایج مانوسف (Manusev, 1970) هماهنگی دارد که نشان داد تهیه پیوندک در فصل خواب و انجام پیوند در ماه آگوست سال بعد گیرایی را به کمتر از ۲۰ درصد کاهش داد. به نظر می‌رسد که این کاهش گیرایی احتمالاً به دلیل انبارمانی پیوندک‌ها در سردخانه است. احتمالاً مواد ذخیره‌ای پیوندک‌ها در طی مدت انبارمانی مصرف شده و به همین دلیل باعث کاهش گیرایی می‌شود (Manusev, 1970).

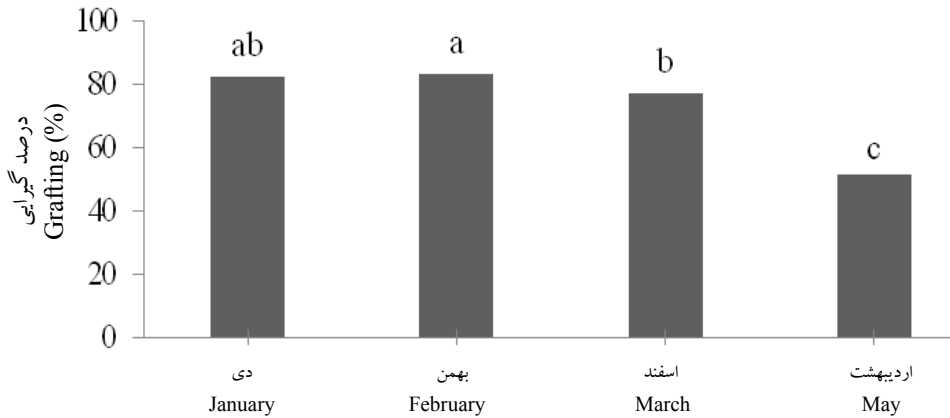
فعالیت جوانه‌ها به ترتیب از ماه‌های اول زمستان به طرف فصل بهار بیشتر می‌شود. در نتیجه در زمان سریع‌تری پس از انجام پیوند مواد ذخیره‌ای پیوندک مصرف می‌شود چرا که قبل از اتصال کامل، جوانه فعالیت خود را آغاز

جدول ۱- تجزیه واریانس برای زمان پیوند و تیمارهای شیمیایی بر گیرایی ریزشاخه پیوندی در گردو
Table 1. Analysis of variance for grafting time and chemical treatments on minigrafting in walnut

S.O.V.	منابع تغییرات	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS				طول میانگره Internode length
			درصد گیرایی Grafting percentage	زمان لازم برای گیرایی Grafting duration	رشد پیوندک Scion growth	تعداد برگ Leaf number	
Replication	تکرار	2	0.04 ^{ns}	1.18 ^{ns}	0.05 ^{ns}	2.74 ^{**}	0.79 ^{ns}
Grafting time (GT)	زمان پیوند	3	1.02 ^{**}	92.6 ^{**}	0.06 ^{ns}	2.44 ^{**}	0.21 ^{ns}
Chemical treatment (CT)	تیمار شیمیایی	9	0.16 ^{**}	21.75 ^{**}	0.03 ^{ns}	0.35 ^{ns}	0.22 ^{ns}
GT × CT	زمان پیوند × تیمار شیمیایی	27	0.06 ^{ns}	3.5 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.32 ^{ns}	0.33 ^{ns}
Error	خطا	78	0.04	2.87	0.03	0.33	0.43
C.V. (%)	درصد ضریب تغییرات		18.23	8.07	9.47	14.61	18.35

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵٪ و ۱٪.
ns: غیر معنی دار

* and **: Significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively.
ns: Not-significant



زمان ریز شاخه پیوندی Miningrafting time

شکل ۲- مقایسه میانگین اثر زمان ریز شاخه پیوندی بر روی درصد گیرایی آن در گردو

(ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند).

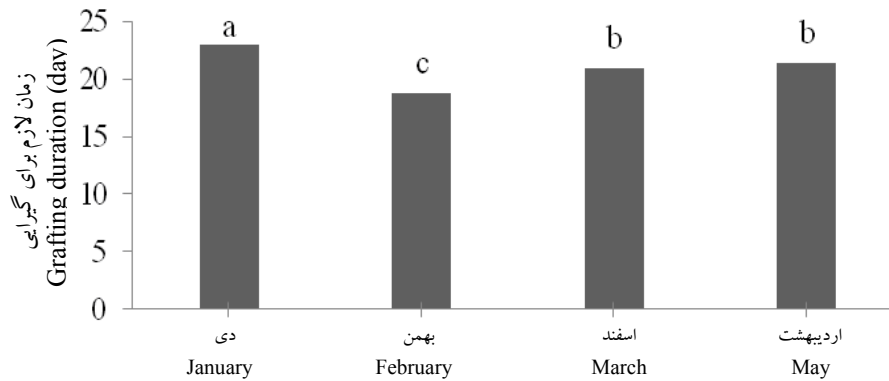
Fig. 2. Mean comparison of the effect of minigrafting time on grafting percentage in walnut

(Columns with similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Rang Test).

به طور کلی گیرایی پیوند در زمان‌های مختلف سال شدیداً تحت تاثیر رطوبت نسبی (بالای ۷۰ درصد) و میانگین دمای محیط است (Karadeniz, 2005). نتایج باکستر (Baxter, 1993) نشان داد که دمای مناسب برای تشکیل کالوس حدود ۲۷ درجه سانتی‌گراد و رونگتینگ و پینگهای (Rongting and Pinghai, 1990) دمای ۲۲-۲۷ درجه سانتی‌گراد را مناسب برای تشکیل کالوس در محل پیوند دانستند. در آزمایش حاضر دمای متوسط گلخانه به ترتیب در ماه‌های دی، بهمن و اسفند ۲۳، ۲۶ و ۲۸/۵ درجه سانتی‌گراد و میانگین دمای تونل پلاستیکی ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود. بنابراین می‌توان گفت بهمن بهترین شرایط دمایی را برای گیرایی پیوند

اقلیمی کشور یوگوسلاوی) بدست آوردند مغایرت داشت.

اثر زمان پیوند و تیمار شیمیایی بر زمان لازم برای گیرایی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. کمترین (۱۸/۷۴ روز) و بیشترین (۲۳ روز) زمان لازم برای گیرایی به ترتیب متعلق به پیوندهای بهمن ماه و دی ماه بود (شکل ۳). بنابراین در مورد کمتر بودن درصد گیرایی در دی نسبت به بهمن باید گفت احتمالاً به این دلیل است که جوانه‌ها ساعات کمتری نیاز سرمایی دیدند و بنابراین ممکن است سخت‌تر و یا دیرتر باز شوند. این اثر را می‌توان بر روی زمان لازم برای گیرایی هم مشاهده کرد به طوری که پیوند در دی ماه زمان بیشتری برای گیرایی نسبت به سه زمان دیگر لازم داشت (شکل ۳).



زمان ریز شاخه پیوندی **Minigrafting time**

شکل ۳- مقایسه میانگین اثر زمان ریز شاخه پیوندی روی مدت زمان لازم برای گیرایی در گردو (ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند).

Fig. 3. Mean comparison of the effect of minigrafting time on grafting duration in walnut

(Columns with similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Rang Test).

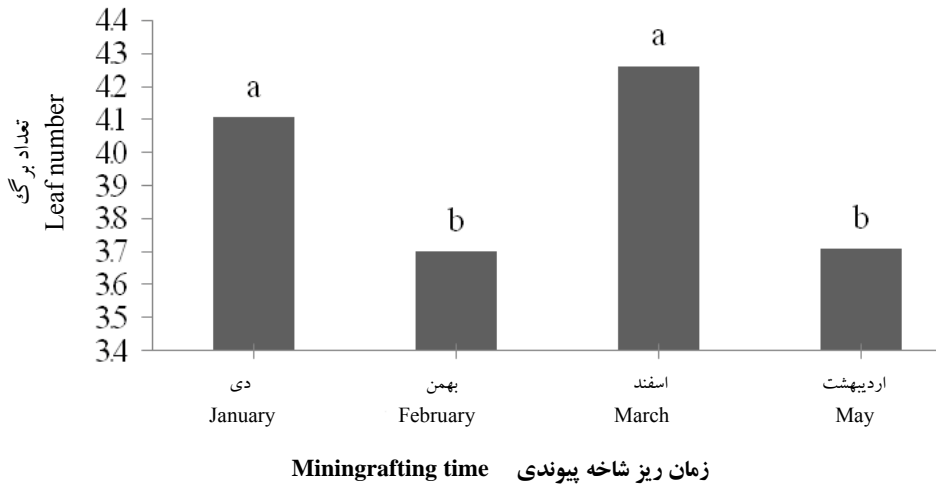
کالوس دهی می‌شوند. استفاده از هورمون IBA در محل پیوند از طریق افزایش تقسیم سلولی و طولیل شدن دیواره سلولی منجر به تشکیل سریعتر و بهتر کالوس و متعاقباً موجب ترمیم و اتصال بهتر محل پیوند می‌شود. این هورمون باعث می‌شود که پیوندک قبل از خشک شدن و از دست دادن مواد غذایی بتواند با پایه ارتباط کامل ایجاد کند. اکسین نه تنها فعالیت لایه زاینده را کنترل می‌کند بلکه نوع سلول‌های در حال تشکیل حاصل از لایه زاینده را نیز تعیین می‌کند (Hartmann *et al.*, 1990; Artega, 1996).

درصد گیرایی پیوند در این پژوهش تنها در تیمارهای هورمونی ۵۰ میلی گرم در لیتر IBA همراه با ۸۰ میلی گرم در لیتر BA (۸۳/۹۴٪) و تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر IBA (۷۷/۶۴٪) از

داشت.

اثر زمان ریز پیوند بر میزان رشد و فاصله میانگره‌ها معنی‌دار نبود (جدول ۱). اما بیشترین میزان رشد مربوط به پیوندهای اسفند (۶۰/۹۴ میلی‌متر) و کمترین میزان رشد مربوط به پیوندهای بهمن (۴۷/۵۷ میلی‌متر) بود. اثر زمان ریز پیوند بر تعداد برگ در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین تعداد برگ (حدود ۳ هفته پس از شکوفایی پیوندک) مربوط به اسفند (۴/۲۶) و کمترین تعداد برگ مربوط به بهمن (۳/۷) بود (شکل ۴). هارتمن (Hartmann, 1974) نیز گزارش کرد که نهال‌هایی که در گلخانه در فصل خواب دیرتر پیوند شدند رشد بیشتری را در مزرعه در سال دوم نشان دادند.

اکسین‌ها و سائتوکینین‌ها موجب تحریک



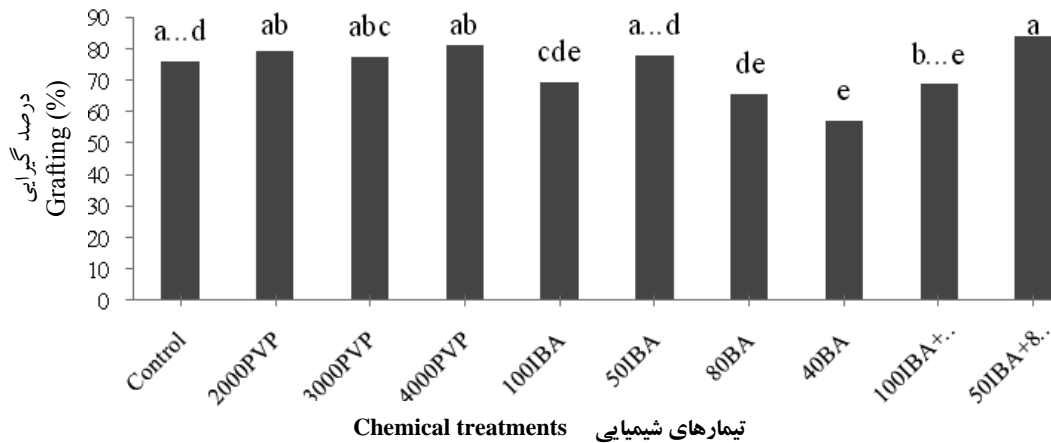
شکل ۴- مقایسه میانگین اثر زمان پیوند بر روی تعداد برگ در سه هفته پس از ریز شاخه پیوندی گردو (ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند).

Fig. 4. Mean comparison of the effect of minigrafting time on leaf number in three weeks after minigrafting in walnut

(Columns with similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Rang Test).

پیوندک‌هایی برش داده که در مدت زمان مشخصی در محلول تیمار هورمونی نگهداری و تیمار شدند مشاهده شد که شاید به دلیل اکسیداسیون مواد فنلی در اثر قرار گرفتن محل زخم پیوندک‌ها در معرض هوا بود. به نظر می‌رسد که این دلیلی برای کمتر بودن نسبی درصد گیرایی برخی تیمارها نسبت به شاهد بود. اثر تیمار شیمیائی بر مدت زمان لازم برای گیرایی پیوند در سطح احتمال ۱٪ معنی‌داری بود (جدول ۱). اکثر تیمارهای هورمونی بکار رفته بجز تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر IBA (۲۰/۲۷ روز) زمان بیشتری را برای گیرایی پیوند نسبت به شاهد (۲۰/۵ روز) لازم داشتند. احتمالاً ایجاد یک لایه سلول مرده در محل زخم به دلیل اکسیداسیون مواد فنلی در تیمارهای

تیمار شاهد بیشتر بود (شکل ۵). البته در بقیه تیمارهای هورمونی که درصد گیرایی کمتری نسبت به شاهد داشتند بجز تیمار ۴۰ میلی‌گرم در لیتر BA که در کلاس متفاوتی نسبت به شاهد قرار گرفت و دارای کمترین درصد گیرایی است (۵۷/۰۸٪) بود، بقیه اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نداشتند (شکل ۵). مواد تنظیم کننده رشد گیاهی دارای منحنی غلظت پاسخ زنگوله‌ای شکل هستند و در غلظت‌های بالاتر از حداکثر به صورت بازدارنده عمل می‌کنند (Arteca, 1996). دلیل اینکه برخی از تیمارهای هورمونی نسبت به شاهد درصد گیرایی پیوند کمتری دارند را احتمالاً می‌توان به غلظت پایین هورمون‌های بکار رفته نسبت داد. در این پژوهش مقداری قهوه‌ای شدن در



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف شیمیایی بر روی درصد گیرایی در ریزشاخه پیوندی گردو
 PVP: پلی‌ونیل پیرولیدین، BA: بنزیل آدنین، IBA: ایندول بوتیریک اسید و اعداد کنار آنها نشان‌دهنده غلظت ماده مذکور بر حسب میلی‌گرم در لیتر هستند.
 (ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند).

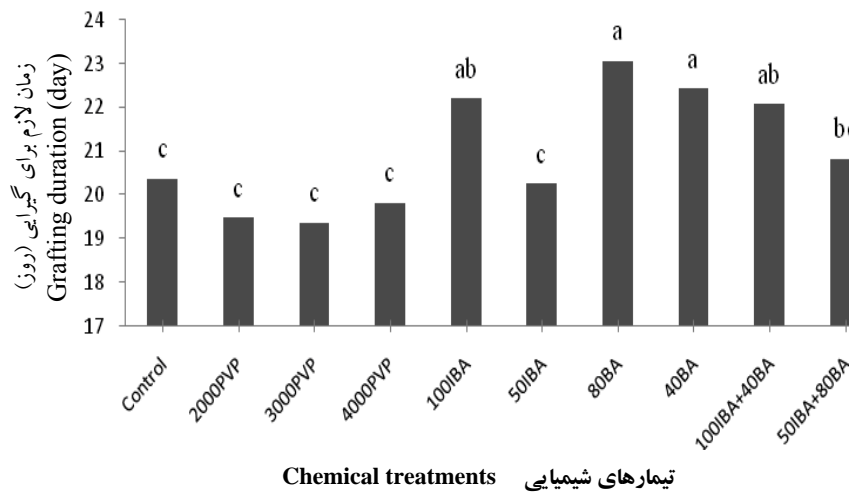
Fig. 5. Mean comparison of the effect of chemical treatments on the grafting percentage in minigrafting in walnut
 PVP: Polyvinylpyrrolidone; BA: Benzyladenine; IBA: Indole-3-butyric acide, numbers next to them showing their concentration in $mg\ l^{-1}$.

(Columns with similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level using Duncan's Multiple Rang Test).

گردو است که وجود آن در ترشحات آوند چوب، از تشکیل بافت کالوس جلوگیری می‌کند (Rongting and Pinghai, 1993; Karadeniz *et al.*, 1997; Rezaei *et al.*, 2007). ثابت شده است که میزان فنل گردو از سایر درختان میوه بیشتر است و فنل‌های کل در طی ماه‌های می، جولای و آگوست افزایش پیدا می‌کند. اکسیداسیون فنل‌ها باعث رسوب پروتئین‌ها در محل پیوند می‌شود و لایه‌ای نکروزه از سلول‌های مرده در محل پیوند ایجاد می‌شود که از گیرایی پیوند جلوگیری می‌کند (Rongting and Pinghai, 1993). علاوه بر این، فلاونوئیدها از حرکت اکسین در بافت‌های

هورمونی که بیشتر در معرض هوا بود، دلیل این تأخیر در گیرایی باشد. بیشترین زمان لازم برای گیرایی (۲۳/۰۷ روز) مربوط به تیمار ۸۰ میلی‌گرم در لیتر BA است (شکل ۶). تنظیم‌کننده‌های رشد نظیر بنزیل آمینوپورین (BAP) می‌تواند باعث رشد سریع‌تر پیوندک شود و به گیاهچه‌ها اجازه می‌دهد که در کمتر از ۶ هفته بعد از ریزپیوندی به میزان رشد لازم برای انتقال به گلخانه برسند (Alzate *et al.*, 2002).

یکی از عوامل مهم بازدارنده در گیرایی پیوند گردو وجود غلظت‌های بالای ترکیبات پلی‌فنلی خصوصاً ژوگلان در بافت‌های رویشی



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر تیمارهای شیمیایی بر زمان لازم برای گیرایی در ریزشاخه پیوندی گردو PVP: پلی‌ونیل پیرولیدین، BA: بنزیل آدنین، IBA: ایندول بوتیریک اسید و اعداد کنار آنها نشان‌دهنده غلظت ماده مذکور بر حسب میلی‌گرم در لیتر هستند. (ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند).

Fig. 6. Mean comparison of the effect of chemical treatments on grafting duration in minigrafting in walnut

PVP: Polyvinylpyrrolidone; BA: Benzyladenine; IBA: Indole-3-Butyric Acide, numbers next to them show their concentration in mg l^{-1} . (Columns with similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level using Duncan's Multiple Rang Test).

گیاهی جلوگیری می‌کنند. اکسین‌ها در فرآیند تقسیم سلولی و تشکیل کالوس نقش بسزایی دارند.

References

- Aloni, R. 1987. Differentiation of vascular tissues. *Plant Physiology* 38: 179–204.
- Alzate, A., Royero, N., Nunez, V., Cabra, J., Tohme, J., and Mejia-Jimenez, A. 2002. Optimization of the in vitro propagation methodology of selected clones of soursop (*Annona muricata* L.) and evaluation of the compatibility of different scion and rootstock combinations for in vitro micrografting. *Assessing and Utilizing of agrobiodiversity through biotechnology. Project SB-2*: 318-323.
- Arteca, R. N. 1996. *Plant Growth Substances: Principles and Applications*. Springer. 332 pp.
- Baxter, P., and Tankard, G. 1993. *Growing fruit in Australia*. Pan Macmillan,

Sydney, Australia.

- Dehghan, B., Vahdati, K., Rezaee, R., and Hassani, D. 2010.** Mature walnut grafting (Topworking) as affected by grafting cover and scion cultivar. *Acta Horticulture* 861: 353-360.
- Ebrahimi, A., Fattahi Moghadam, M. R., and Vahdati, K. 2008.** Effects of environmental conditions, method and date of grafting on bud grafting of walnut (*Juglans regia*). *Iranian Journal of Agriculture Science* 39: 9-18.
- FAO. 2010.** FAOSTAT. FAO Statistical Databases. <http://faostat.Fao.org>.
- Ferhatoglu, Y. 1997.** The study on the effect of potting and omega grafting in relation to different time on graft taking percent of some standard walnut varieties. *Acta Horticultur* 442: 303-307.
- Gandev, S. 2009.** Propagation of walnut (*Juglans regia* L.) under controlled temperature by the methods of omega bench grafting, hot callus and epicotyl grafting. *Propagation of Ornamental Plants* 13: 56-61.
- Hartmann, W. 1974.** Studies on grafting walnuts. I. *Erwerbs Obstbau* 16: 88-91.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., and Davies, F. T. 1990.** Plant propagation: principles and practices. 5th edition. Prentice-Hall, Inc. 647 pp.
- Karadeniz, T., Balta, F., Sen, S. M., Tekintas, F. E., and Tanrisever, A. 1997.** Effects of the flavon contents extracted from walnut (*Juglans regia* L.) on coleoptile growth, and a comparison of relations between the total flavones and the graft success with these effects. Pp. 187-191. In: Proceedings of the 3rd International Walnut Congress.
- Karadeniz, T. 2005.** Relations between graft success and climate values in walnut (*Juglans regia* L.). *Journal of Central European Agriculture* 6: 631-634.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A., and Quessada, M. P. 1986.** Involvement of phenols and peroxidases in wound healing and grafting. Pp. 267-276. In: Greppin, H., Penel, C., Gaspar (eds.) *Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases*.
- Manusev, B., 1970.** Studies on some method of grafting walnuts in the region of Foce. *Horticulture Abstracts* 41: 6040.
- Mitrovic, M. 1995.** The effect of the cutting date on walnut scionwood on the take and callusing of grafts. *Horticulture Abstracts* 67: 2792.
- Moore, R., 1984.** A model for graft compatibility–incompatibility in higher plants.

- American Journal of Botany: 752-758.
- Rezaei, R., Grigorian, W., Vahdati, K., and Valizadeh, M. 2007.** Effects of walnut seedling vigor on root pressure, grafting success, and scion growth. Iranian Journal of Horticulture Science and Technology 8(1): 21-30 (In Persian).
- Rezaei, R., Hassani, GH., and Jalilimarandi, R. 2006.** Determination of the most suitable method and date of grafting walnut (*Juglans regia* L.) in the climatic conditions of West Azarbayegan. Journal of Agriculture Science 16: 29-37.
- Rongting, X., and Pinghai, D. 1990.** Theory and practice of walnut grafting. Acta Horticulturae 284: 69-89.
- Rongting, X., and Pinghai, D. 1993.** A study on uniting process of walnut grafting and the factors affecting. Acta Horticulture 311: 160-170.
- Shimomura, T., and Fujihara, K. 1977.** Physiological study of graft union formation in cactus. II. Role of auxin on vascular connection between stock and scion. Horticulture Science 45: 397-406.
- Soleimani, A., Rabiei, V., Hassani, D., and Valizadeh, M. 2008.** Effects of rootstock and cultivar on propagation of persian walnut (*Juglans regia* L.) using hypocotyle grafting. Seed and Plant Production Journal 25 (2): 93-101.
- Suk-In, H., Moon-Ho, L., and Yong-Seok, J. 2005.** Study on the new vegetative propagation method ‘epicotyl grafting’ in walnut trees (*Juglans* spp.). Acta Horticulture 705: 371-374.
- Szoke, F. 1990.** Soft grafting of walnut. Acta Horticulture 284: 27-31.
- Tsurkan, I. P. 1990.** Production technology of English walnut planting materializing winter table grafting. Acta Horticulture 284: 65-68.
- Vahdati, K. 2007.** Nursery management and grafting of walnut. Khaniran Publisher. 132 pp.
- Zajaczowski, S., Wodzicki, T. J., and Bruinsma, J. 1983.** A possible mechanism for whole plant morphogenesis. Plant Physiology 57: 306-310.
- Zakinthinos, G., and Rouskas, D. 1997.** Specific treatment on walnut grafting improvement. Acta Horticulture 442: 285-289.