

ازدیاد غیر جنسی گردوی خوراکی (*Juglans regia* L.) با استفاده از تنظیم کننده های رشد 2,4-D و IBA

سعید ذاکرستان آباد^۱، غلامرضا بخشی خانیکی^{۲*}، فاطمه محسن نژاد^۳

^۱ استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، تهران، ایران
^۲ استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، تهران، ایران
^۳ مربی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه پیام نور، واحد ملکان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: گردو (*Juglans regia* L.) گیاهی است سخت ریشه زا و از این رو تکثیر گونه ها و واریته های مختلف آن با روش های متداول غیر جنسی تقریباً امکان پذیر نمی باشد. هدف از این تحقیق بررسی روش های تکثیر غیر جنسی گردوی خوراکی با استفاده از تنظیم کننده های رشد IBA و 2,4-D است.

مواد و روش ها: ابتدا تعداد ۴۰ قلمه ی ۲۰ سانتی متری سالم و مرغوب از یک گردوی اصلاح نژاد شده با نام محلی گردوی کاغذی از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی تبریز انتخاب و در ۵ گروه (یک گروه شاهد و چهار گروه تیمار) قرار گرفتند. آزمایش با توجه به فاکتورهای پیش بینی شده با ۴ تیمار (دو غلظت متفاوت از IBA و 2,4-D) و یک گروه شاهد در اواسط فروردین ۱۳۸۷ انجام شد.

یافته ها: تیمار IBA در روش قلمه زنی نقش موثری در ظهور اولین پرموردیوم ریشه دارد، ولی تیمار 2,4-D روی ظهور اولین پرموردیوم ریشه، تاثیر چندانی از خود نشان نداد. همچنین تیمارهای 2,4-D و IBA هر دو موجب افزایش طول ریشه چه گردیدند.

نتیجه گیری: مطالعات نشان داد که تیمار اندام های هوایی با IBA تاثیر چشم گیری روی ظهور اولین اندام هوایی (ساقه چه) ندارد ولی تیمار 2,4-D، ظهور، رشد و تکثیر اولین اندام هوایی را به شدت تحریک می کند. تیمار همزمان قلمه با تیمارهای 2,4-D و IBA موجب افزایش درصد بقای قلمه ی ریشه دار شده می شود.

کلمات کلیدی: گردو، از دیاد غیر جنسی، ریشه زایی

مقدمه

در حال حاضر، پیوند تنها راه عملی و مفید به شمار می رود (Rezaee et al., 2008; نصیری ۱۳۷۴ و ۱۳۷۳) معمولاً حدود ۱۰-۸ سال طول می کشد تا درختان بذری گردو، دوران نونهالی را طی کرده و به بار بنشینند، در حالی که درختان دو ساله پیوندی بعد از گذشت ۲-۳ سال بعد از کاشت در محل اصلی شروع به تولید محصول می کنند ولی محصول دهی اقتصادی آن ها از سال های چهارم یا پنجم شروع می شود (اشتیاقی ۱۳۷۱، بقالیان ۱۳۶۱). از آنجا که باز شدن گل های نر و ماده گردو، معمولاً همزمان نمی باشد می توان از شاخه ای که باز شدن گل های نر آن با باز شدن گل های ماده ی رقم مرغوب همزمانی دارد روی آن پیوند کرد (اسکندری ۱۳۷۴؛ Goutam et al., 2005) با وجود

گونه ی غالب خانواده Juglandaceae، گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.) است. از آنجایی که ازدیاد جنسی موجب تفرق صفات می گردد و سایر روش های تکثیر غیر جنسی نظیر قلمه زدن، خوابانیدن و ریز ازدیادی نیز هنوز به صورت تجاری متداول نشده اند، بنابراین برای حفظ خصوصیات ژنتیکی، ژنوتیپ های برتر و ارقام خوب و تکثیر رویشی آن ها در کشور

آدرس نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند

Email: bakhshi@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۴/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۷/۰۶

پایه های گردوی مقاوم به شرایط نامناسب خاک، نظیر شوری، خشکی و بیماری های خاکزی می توان با پیوند ارقام برتر بر روی چنین پایه هایی آن ها را در شرایط نامساعد کشت کرد (Lantos, 1990). برای نگهداری و استفاده از برخی ژنوتیپ ها با خصوصیات ویژه می توان از عمل پیوند استفاده کرد (زند، ۱۳۶۹). باغ های بذری را می توان با استفاده از روش پیوند سرشاخه به باغ های یکنواخت پیوندی از ارقام گزینش شده تبدیل کرد (Morris, 2000). برای جوان سازی درختان مسن، می توان آن ها را با سرزنی و با شاخه های حاصل از ارقام مطلوب پیوند کرد. عوامل موثر در گیرایی پیوند گردو عبارتند از: پایه و پیوندک، (Atefi, 1997) ناسازگاری، (Avantazo et al., 1998) فشار ریشه ای (Goutam et al., 2006, Rezaee et al., 2005) و نوع پیوند که تقریباً تمامی روش های پیوند را می توان در مورد گردو استفاده کرد. درصد گیرایی پیوندهای مختلف بیشتر به شرایط انجام آن ها و مهارت پیوند زن بستگی دارد. با توجه به مجموعه عوامل، از بین پیوندهای جوانه، پیوند وصله ای و از میان پیوندهای چوب، پیوند نیمانییم زبانه ای و جانبی مرسوم ترین و موفق ترین پیوندها برای گردو در اکثر کشورهای گردو خیز جهان بوده اند (Rongting et al., 1993; Lal et al., 1986). هدف از این تحقیق ازدیاد غیر جنسی گردوی خوراکی (*Juglans regia* L.) با استفاده از تنظیم کننده های رشد IBA و 2,4-D می باشد.

مواد و روش ها

تعداد ۴۰ قلمه ی ۲۰ سانتی متری سالم و مرغوب از یک گردوی اصلاح نژاد شده با نام محلی گردوی کاغذی، از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی تبریز انتخاب و در ۵ گروه ۸ تایی (یک گروه شاهد و چهار گروه تیمار) قرار گرفتند و در اواسط فروردین ۱۳۸۷ قلمه زنی شدند. قاعده قلمه ها در نزدیکی جوانه به طور مورب قطع گردیدند، قطر قلمه ها ۱/۴-۰/۷ و به طور میانگین ۵cm ضخامت داشتند انتخاب گردید. همه قلمه ها هم سن بوده و دارای تعداد جوانه یکسانی و همه از یک پایه انتخاب شدند. از آن جا که قلمه ها در ۵ گروه ۸ تایی دسته بندی شدند، آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۸ تکرار انجام شد. قلمه ها در دسته های ۸ تایی با

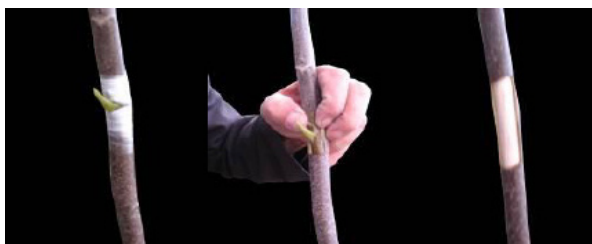
نخ بسته و به مدت دو تا سه دقیقه در ظرف حاوی قارچ کش انویل (با غلظت ۲ در هزار) تیمار شدند (Rezaee et al., 2008). از بین انواع اکسین های تجاری، ایندول بوتیریک اسید انتخاب گردید. برای تهیه ی محلول ppm ۴۰۰۰ و ppm ۸۰۰۰ ایندول بوتیریک اسید به ترتیب ۰/۴ گرم و ۰/۸ گرم از پودر IBA را داخل ۱۰ میلی لیتر الکل اتیلیک حل کرده و حجم آن به ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شد برای تهیه محلول ppm ۱۰^{-۶} و ۱۰^{-۹} از 2,4-D، ۱CC از آن در استوانه مدرج به حجم ۱۰۰۰CC رسانده شد. محلول بدست آمده غلظت ppm ۱۰^{-۳} خواهد داشت، سپس از این محلول ۱CC برداشته و حجم آن به ۱۰۰۰CC رسانده شد محلول حاصل غلظت ppm ۱۰^{-۶} (غلظت مورد نظر) خواهد داشت از این محلول نیز ۱CC برداشته و به حجم ۱۰۰۰CC می رسانیم این محلول غلظت ppm ۱۰^{-۹} (غلظت مورد نظر) خواهد داشت (جدول ۱). قلمه را در دسته های ۸ تایی مرتب کرده و گروه اول را بدون استفاده از هورمون ها نگه داشتیم. ۲cm پایین قلمه های باقیمانده را به صورت دسته های ۸ تایی به مدت ۵ ثانیه در محلول های ۰/۴ و ۰/۸ گرم در میلی لیتر IBA و ۰/۶ و ۰/۹ گرم در میلی لیتر از محلول 2,4-D قرار داده و آماده قلمه زنی می کنیم. طرح آزمایشی مورد استفاده در این تحقیق طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار و ۸ تکرار بود. در طی آزمایش در محیط گلخانه، سطح مورد نظر را به ۴۰ کرت تقسیم نموده و برای هر کرت از هر طرف به اندازه ی ۲۰cm حاشیه در نظر گرفته شد. قلمه ها را به محض در آوردن از محلول ها با پراکنش های کاملاً تصادفی در داخل خاک قرار دادیم به این ترتیب که از پنج جوانه قلمه، سه تا از جوانه ها در زیر ماسه و دو تا از آن ها در بیرون از ماسه قرار گرفت. در طول آزمایش علاوه بر آبیاری منظم به صورت سیستم مه پاش، هر دو هفته یک بار مبادرت به آبیاری و استفاده از قارچ کش انویل گردید، تا محیط بصورت استریل باقی بماند. ۴۰ روز بعد به منظور بررسی میزان کالوس ریشه ای تولید شده در قاعده ی قلمه ها، کلیه ی قلمه ها از خاک خارج و مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۱).

روش تکثیر خوابانیدن هوایی

ابتدا مقدار مناسبی ایندول بوتیریک اسید را بعد از توزین دقیق در ۱ گرم لانولین کاملاً حل کرده و در محل میان گره مناسب روی شاخه

جدول ۱- غلظت های مختلف تنظیم کننده های IBA و 2,4-D.

غلظت	تیمار ها	ردیف
بدون دریافت هورمون	شاهد	گروه اول
۴۰۰ ppm	ایندول بوتیریک اسید	گروه دوم
۸۰۰ ppm	ایندول بوتیریک اسید	گروه سوم
۶۰۰ ppm	علف کش 2,4-D	گروه چهارم
۹۰۰ ppm	علف کش 2,4-D	گروه پنجم



شکل ۳- مراحل مختلف پیوند وصله ای J.regia L

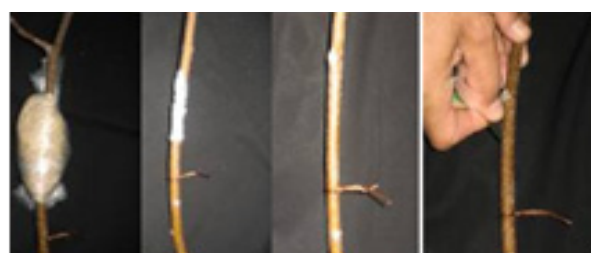
یافته ها

نتایج حاصل از قلمه زنی از ۷ جنبه مورد بررسی قرار گرفتند. از آنجا که ریشه زایی کمی در قلمه ها به وجود آمد، اطلاعات مربوط به کالوس زایی نیز ثبت گردید. قلمه های تیمار شده با IBA (با غلظت های ۴۰۰ ppm به عنوان تیمار اول و ۸۰۰ ppm به عنوان تیمار دوم) و قلمه های تیمار شده با 2,4-D (با غلظت های ۶۰۰ ppm به عنوان تیمار سوم و ۹۰۰ ppm به عنوان تیمار چهارم) در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد که تاثیر کاربرد تیمار IBA در ریشه زایی بیشتر از تیمار 2,4-D می باشد. هم چنین کاربرد 2,4-D در تولید و ایجاد تعداد پریموردیوم ها بهتر از تیمار IBA بوده است. از طرفی تاثیر کاربرد تیمار 2,4-D بهتر از IBA تیمار بوده است. تاثیر هورمون در بروز ظهور اولین اندام هوایی نشان می دهد که تیمار IBA بهتر از 2,4-D عمل کرده است و در ارتباط با درصد بقای قلمه های ریشه دار شده تاثیر کاربرد تیمار IBA بهتر از 2,4-D بوده است. انجام اتیولاسیون و طوقه برداری شاخه ها، قبل از برداشت قلمه ها، مقدار کل ازت، فنل ها و اسیدهای آمینه را کاهش می دهد و مقدار C/N به طور کلی افزایش می یابد. این روش در مورد ریشه زایی قلمه های خشبی و نیمه خشبی مؤثر بوده ولی در مورد قلمه های برگ دار بی تاثیر می باشد. نتایج به صورت نمودار در اشکال ۴-۱۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- قلمه زنی جوانه ها در گلخانه.

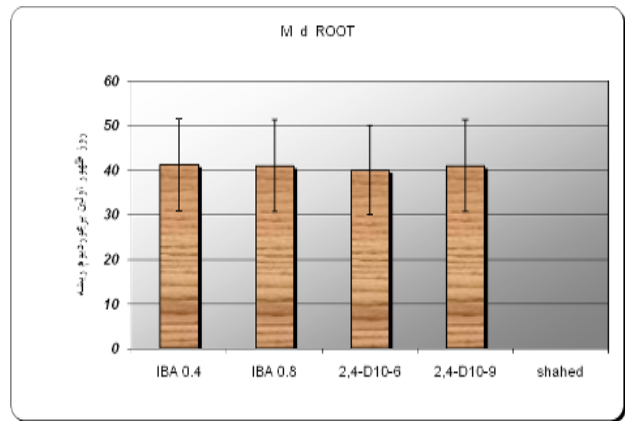
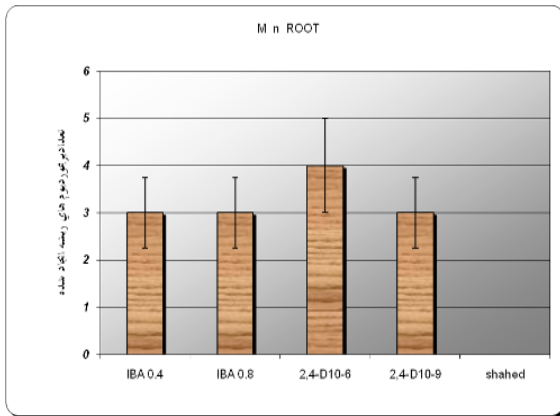
مالیده و پایین تر از محل گره را با سیم مسی محکم بسته و در بالاتر از محل سیم چند خراش ایجاد می نماییم. سپس در اطراف محل آغشته به لانولین مقداری خاک اریه مرطوب که رطوبت آن کمتر از حدی باشد که آب از آن بچکد (جهت جلوگیری از آلودگی قارچی) با نوار پارچه ای و پلاستیکی می بندیم و در تمام مدت ریشه زایی آن را مرطوب نگه می داریم و از نظر زمان خوابانیدن در دو مرحله اواخر زمستان قبل از جوانه زدن درخت و اوایل بهار و بعد از جوانه زدن درخت اقدام می نماییم (شکل ۲).



شکل ۲- مراحل مختلف روش خوابانیدن هوایی.

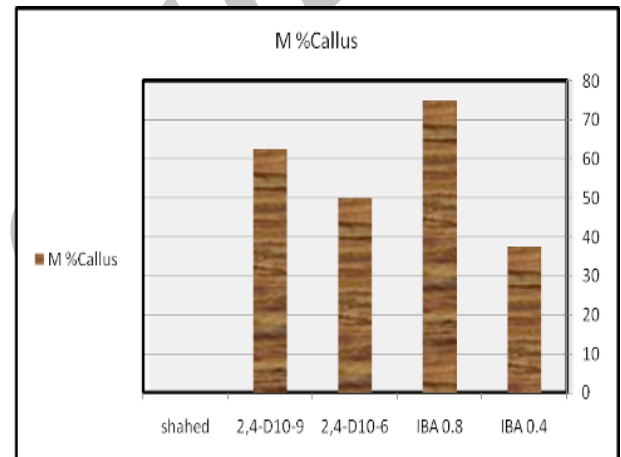
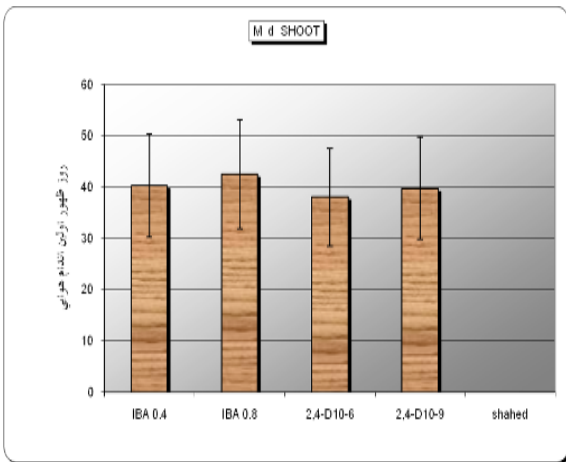
روش پیوند زنی (پیوند وصله ای)

برای این کار از بین همه روش های متداول پیوند زنی از روش پیوند وصله ای در دو گروه متفاوت استفاده شد که در گروه اول پیوند جوانه های در حال خواب در اواخر زمستان و در گروه دوم پیوند جوانه های بیدار شده در اوایل بهار انتخاب و پیوند زنی شدند (شکل ۳).



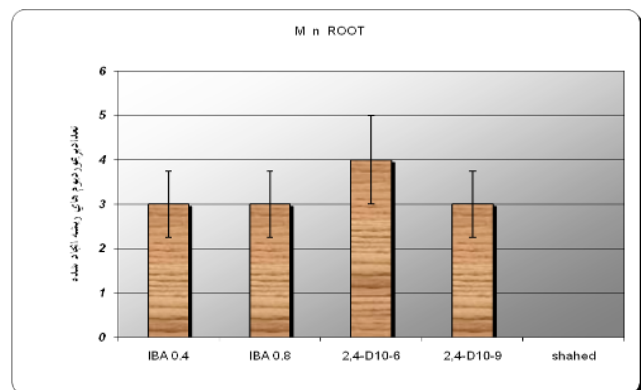
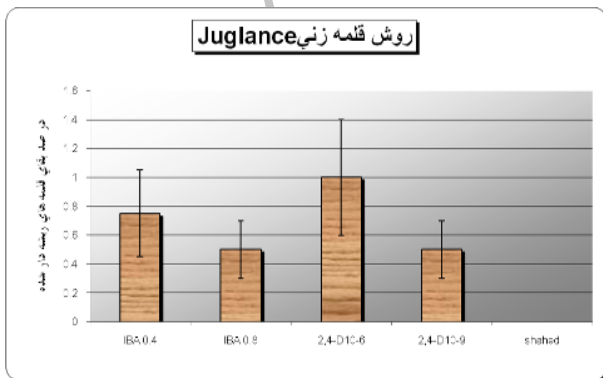
شکل ۷- نمودار ستونی ارتباط غلظت هورمون IBA و علف کش 2,4-D با طول ریشه های ظاهر شده بر حسب سانتی متر (مبدأ روز ۴۱ در نظر گرفته شد).

شکل ۴- نمودار ستونی ارتباط غلظت هورمون IBA و علف کش 2,4-D با روز ظهور اولین پرموردیوم های ریشه (مبدأ روز ۴۱ در نظر گرفته شد).



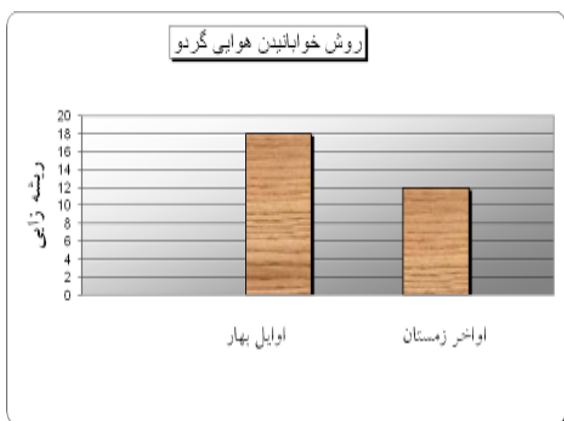
شکل ۸- نمودار ستونی ارتباط غلظت هورمون IBA و علف کش 2,4-D با روز ظهور اولین اندام های هوایی (جوانه زنی).

شکل ۵- نمودار ستونی ارتباط غلظت هورمون IBA و علف کش 2,4-D با تعداد قلمه های کالوس دار شده (تا روز ۴۱ در نظر گرفته شده).

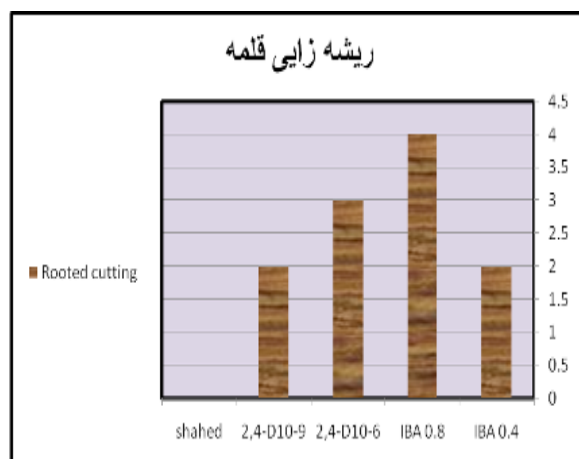


شکل ۹- نمودار ستونی ارتباط غلظت هورمون IBA و علف کش با 2,4-D درصد بقای قلمه های ریشه دار شده.

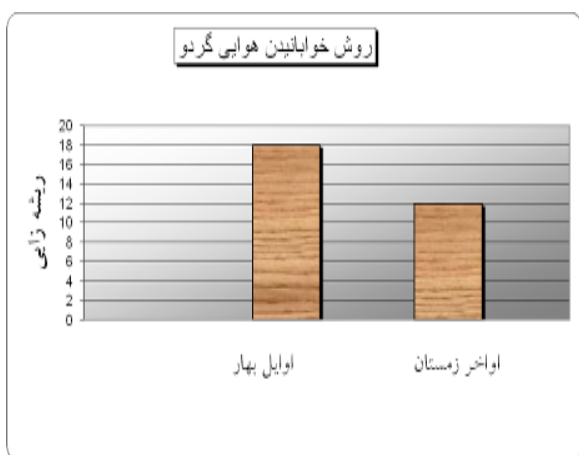
شکل ۶- نمودار ستونی ارتباط غلظت هورمون IBA و علف کش 2,4-D با تعداد پرموردیوم های ریشه (مبدأ روز ۴۱ در نظر گرفته شده).



شکل ۱۲- نمودار ستونی نتایج حاصل از تکثیر گردو با خوابانیدن هوایی شاخه.



شکل ۱۰- نمودار ستونی ارتباط غلظت هورمون IBA و علف کش با 2,4-D ظهور و عدم ظهور پریموردیوم های ریشه.



شکل ۱۳- نمودار ستونی نتایج حاصل از تکثیر گردو با پیوند وصله ای (هر تکرار ۴۰ شاخه پیوند شده).



شکل ۱۱- قلمه تیمار شده و ریشه دار شده با 2,4-D و IBA

بحث

بافت ساقه گردو معمولاً به سختی ریشه تولید می کند. استفاده از قلمه های چوبی، اغلب اقتصادی ترین روش تولید پایه های رویشی یا ارقامی بر روی ریشه های خود روی درختان میوه می باشد. از آنجایی که در این نوع قلمه ها برگ وجود ندارد و گیاه در حال خواب است مواد گیاهی نه تنها تبخیر آب کمتری دارند بلکه حمل و نقل آن ها نیز آسان تر از قلمه های علفی است این موضوع

در ارتباط با نتایج حاصل از خوابانیدن هوایی شاخه که در دو فاصله زمانی اواخر زمستان و اوایل بهار با تکرارهای مناسب انجام شد، تعداد پا گرفته ها در اواخر زمستان ۶۰٪ و در اوایل بهار ۹۰٪ می باشند (شکل ۱۲). نتایج حاصل از تکثیر با پیوند وصله ای که در دو فاصله ی زمانی اواخر زمستان و اوایل بهار با تکرار های مناسب انجام شد تعداد پیوند های پا گرفته در اواخر زمستان ۷۲٪ و در اوایل بهار ۳۰٪ می باشد (شکل ۱۳).

ژنوتیپ های برتر و ارقام خوب روش پیوندزنی با توجه اقتصادی بالا، در حال حاضر تنها راه عملی و مفید کلون کردن درختان سخت ریشه زایی مثل گردو محسوب می شود.

قلمه ها را برای تولید گیاهان یکنواخت در سطح تجاری مناسب می سازد (Hartman et al., 1990, 1997). از آن جایی که گردو درختی سخت ریشه زا است و ریشه زایی ارقام مختلف آن بسیار با یکدیگر متفاوت است شاید نتوان نتایج حاصل از ریشه زایی یک رقم را به دیگر ارقام تعمیم داد (Mackena et al., 1996). از طرفی تفاوت زیادی بین سهولت ریشه زایی گردوی ایرانی (*J. regia* L) و گردوی سیاه شمال کالیفرنیا (*J. hindssi*) با هیبرید این دو گونه وجود دارد. شواهد نشان می دهد که هیبرید، دارای درصد ریشه زایی بیشتری نسبت به هر دو والد خود می باشد (Lal et al., 1986 و Rezaee et al., 2006, 2008). استفاده از گرما با دمای ۲۶-۲۲ درجه ی سانتی گراد عامل مهمی در ریشه زایی قلمه های خشبی و نیمه خشبی گردو است. به نظر می رسد که به کارگیری و توسعه ی روش خوابانیدن برای تکثیر گردو مفید باشد (درویشیان، ۱۳۶۴). درخت ۵۰۰ ساله ی گردوی جیرفت نیز که تعدادی از شاخه های نزدیک به زمین آن بر اثر تماس با زمین بعد از گذشت سال ها ریشه دار شده اند و هر کدام از این نهال های جدید هنوز به گیاه والدی خود اتصال دارند، هم سن درخت مادری خود با تمام ویژگی های آن که کلون شده اند نیز مؤید این مسئله است. با وجود مزایای بسیار زیاد این روش برای تکثیر غیرجنسی گردوی ایرانی تحقیقات بسیار کمی بر روی آن انجام شده است (نصیری، ۱۳۷۳). با توجه نتایج کاربرد IBA و 2,4-D هر یک با تحریک ریشه زایی در قلمه های گردو، کاربردشان مفید ارزیابی شدند و استعمال هر یک از این ها به اهداف مورد انتظار از طرح بستگی دارد. همچنین از بین سایر روش های تکثیر غیر جنسی، پیوند های جوانه ها، پیوند وصله ای و از میان پیوند های چوب، نیمانیم زبانه ای و پیوند جانبی مرسوم ترین و موفق ترین پیوند گردو در اکثر کشورهای گردو خیز جهان بوده اند. برای جلوگیری از تفرق صفات که معمولاً در تکثیر جنسی روی می دهد و گران قیمت و غیر اقتصادی بودن سایر روش های غیر جنسی نظیر قلم، خوابانیدن، آپومیکس و ریزازدیادی برای حفظ خصوصیات ژنتیکی و

منابع

- اسکندری، س. ۱۳۷۴، بررسی حالت های دیکوگامی و تعیین بهترین ژنوتیپ از لحاظ تطابق گرده افشانی در گردوی ایرانی. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.
- اشتیاقی، ز. ۱۳۷۱، تهیه کلون های الیت گردوی ایرانی. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.
- بقالیان ک. تکنیک های کاربردی پیوند گردو و زیتون. مجله علوم باغبانی، ۱۳۶۱، شماره ۵۴: ۵۱-۱۴۲.
- درویشیان م. پرورش گردو. انتشارات موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر. ۱۳۶۴.
- نصیری م. تکثیر گردوی ایرانی از طریق پیوند. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۲۲ سال ششم، ۱۳۷۳.
- نصیری م. ریشه زایی شاخه های گردوی ایرانی از طریق خوابانیدن هوایی. پژوهش و سازندگی، شماره ۲۴، ۱۳۷۴.

- Atefi J. Comparison of hypocotyle and hot callus cable graft with traditional grafting method. *Acta Hort*, 1997; 442:309-312.
- Avantazo D, Atefi J. Walnut grafting by heating the graft point directly in the field. *Acta Hort*, 1998; 44: 291-294.
- Goutam DR, Banyal A. Suitability of shoots portion and methods of summer budding /grafting in topworking of alnut. *Acta Hort*, 2005; 705:319-323.
- Karadeniz T. Relationship between graft success and climatic values in walnut. *J cenT Eur Agr*, 2005; 6:631-634.
- Lantos A. Bench grafting in walnut. *Acta Hort*, 1990; 284:53-57, 2,294-304.
- Morris G.Cline. Execution of the auxin repla cement apical dominance experiment in temp rate woody species. *Am J Bot*, 2000; 87:182- 190.
- Rezaee K, Vahdati K, Grigoorian V, Valizadeh M. Walnut grafting success and bleeding rateas affected by different grafting methods and seedling vigour. *J Hort Sci Biotechnol*, 2008; 83(1): 94-99.
- Rezaee R, Grigoorian W, Vahdati K, Valizadeh M. Evaluation of Morphological Traits associated with the Vigour. *Journal of Horticultural Science and Technology*, 2006; 7: 25-31.
- Rezaee R, Vahdati K. Introducing a simple and efficient procedure for topworking Persian walnut trees. *Journal of the American pomological society*, 2008; 62 (1):21-26.
- Rongting X, Pinghai D. A study on the uniting process of walnut grafting and the factors affecting. *Acta Horticultu rae*, 1993; 311, 160-171.