

Research Article

Plant Prod., 2021, 44(2), 259-270  
<http://plantproduction.scu.ac.ir/>

ISSN (P): 2588-543X  
ISSN (E): 2588-5979

## Effect of Scion Storage and Grafting Time on Graft Union of *Pistachio* Micrografting under *In-Vivo* Condition

Zeinab Sadeghi<sup>1</sup>, Mohammad Hossein Shamshiri<sup>2</sup>, Amanollah Javanshah<sup>3</sup>, Vahed Bagheri<sup>4\*</sup> 

- 1- Ph.D. Student of Horticultural Science, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Iran
- 2- Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Iran
- 3- Assistant Professor, Pistachio Research Institute of Iran (P.R.I.), Rafsanjan, Iran
- 4- \*Corresponding Author: Ph.D. Graduate of Horticultural Science, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University, Rafsanjan, Iran (v.bagheri@vru.ac.ir)

**Citation:** Sadeghi, Z., Shamshiri, M. H., Javanshah, A., & Bagheri, V. (2021). Effect of scion storage and grafting time on graft union of *Pistachio* micrografting under *in-vivo* condition. *Plant Productions*, 44(2), 259-270.

 10.22055/PPD.2020.30517.1799

Received: 31 July, 2019

Accepted: 20 November, 2019

### Abstract

#### Introduction

Micrografting is a relatively new technique for propagation of plants. This technique has been used on woody species to produce viruses-free plants, rejuvenation, and reinvigoration, analysis of grafting compatibility and incompatibility and clone's propagation. Pistachio (*Pistacia vera* L.) is one of the most important commercial trees grown in arid and semi-arid regions of Iran where it is of vital importance to the permanent farming. Increase of pistachio cultivation areas during last three decades has caused a continuous growing demand for pistachio planting materials in Iran. The benefits of applying *in vivo* and *in vitro* micrografting to the pistachio are obvious, especially when considering the need to improve the genetic quality of the planting stock of this slow-growing species while increasing crop potential. The objectives of this study were to determine the influence of scion storage and grafting time on clonal propagation of pistachio from elite-mature trees.

#### Materials and Methods

In order to evaluate the effect of scion storage and grafting time on grafting success of *in-vivo* micrografting of *Pistachio*, an experiment was conducted on an factorial based on completely randomized design (CRD) during 2017-2018 under greenhouse conditions. In the experiment, the success of micrografting in "Ahmad Aghaiee" *Pistachio* on 14-days "Badami-Riz-Zaran" rootstocks were examined. The scion of "Ahmad Aghaiee" were prepared from shoot tips of mature trees at three



different times (February, March and May) and grafted immediately or after one month storage at 4 °C using inverted cleft grafting method. 21 days after grafting, some traits such as graft union percentage, scion growth, time to graft union, scion leaf number and total soluble sugar were recorded.

### **Results and Discussion**


The results showed that the highest graft union percentage (100%) was observed on the grafted plants of February, immediately after grafting. Based on the results, soluble sugars significantly increased in freshly harvested scions in February and March. The results also showed that the maximum time (18 days) for time graft union was obtained in April with the stored scion whereas the lowest time graft union (11 days) was observed in February with scion taken at the same time. In addition, we found that the highest scion growth rate was due to freshly harvested scions and grafts in February. It was found that February was the best time of micrografting with scion taken at the same time because in this period carbohydrate content of the scions was higher than other months. Also, pistachio contains high amount of phenolic compounds. Exudation of phenolic compounds from the cut surfaces and their oxidation by polyphenoloxidase and peroxidase enzymes cause discoloration of the tissues which results in poor micrografting.

### **Conclusion**

Present study showed that micrografting of pistachio was successfully achieved in vivo. The establishment of a micrografting protocol for clonally propagating true-to-type mature *P. vera* genotypes may be an efficient technique overcoming conventional pistachio propagation problems.

**Keywords:** Ahmad Aghaiee, Graft union percentage, Inverted cleft grafting, Scion growth

## تأثیر انبارداری پیوندک و زمان انجام پیوند بر گیرایی پیوند در ریزپیوندی برون شیشه‌ای پسته

زینب صادقی<sup>۱</sup>، محمدحسین شمشیری<sup>۲</sup>، امان‌اله جوانشاه<sup>۳</sup>، واحد باقری<sup>۴\*</sup> 

۱- دانشجوی دکتری باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران

۳- استادیار، پژوهشکده پسته، رفسنجان، ایران

۴- \*نویسنده مسئول: دانش‌آموخته دکتری باغبانی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان، رفسنجان، ایران  
(v.bagheri@vru.ac.ir)

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۵/۰۹

## چکیده

ریز پیوندی یکی از روش‌های نسبتاً جدید برای تکثیر گیاهان می‌باشد. این روش در گیاهان چوبی به‌منظور تولید گیاهان بدون بیماری، بازجوان‌سازی، بررسی مؤثر سازگاری پایه و پیوندک و افزایش غیرجنسی همسانه‌ها استفاده شده است. به‌منظور ارزیابی تأثیر انبارداری پیوندک و زمان انجام پیوند بر گیرایی پیوند در ریزپیوندی برون شیشه‌ای پسته، آزمایش گلخانه‌ای با دو فاکتور شامل عامل زمان پیوند (بهمن‌ماه، اسفندماه و اردیبهشت‌ماه) و انبارداری پیوندک (صفر و ۳۰ روز) با ده تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی طی سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ و در گلخانه دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان انجام شد. در این آزمایش میزان موفقیت ریزپیوندی پسته رقم "احمدآقایی" بر روی پایه‌های ۱۴ روزه بادامی ریز زرنده مورد آزمون قرار گرفت. پیوندک‌های "احمدآقایی" از سرشاخه‌های درختان بالغ در سه زمان مختلف (بهمن‌ماه، اسفندماه و اردیبهشت‌ماه) تهیه و بلافاصله یا پس از یک ماه انبارداری در دمای ۴ درجه سلسیوس با روش اسکنه معکوس پیوند شدند. ۲۱ روز پس از انجام عمل پیوند صفاتی همچون درصد گیرایی پیوند، رشد پیوندک، زمان لازم برای گیرایی، تعداد برگ پیوندک و میزان قندهای محلول کل پیوندک اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بیشترین درصد گیرایی (۱۰۰ درصد) و قندهای محلول مربوط به زمان پیوند بهمین‌ماه و با پیوندک‌هایی بود که به‌صورت تازه برداشت و بلافاصله پیوند شدند. نتایج هم‌چنین نشان داد بیشترین زمان لازم (۱۸ روز) برای گیرایی پیوند در اردیبهشت‌ماه با پیوندک‌های انبارشده به‌دست آمد. در مجموع نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که بهترین زمان برای انجام پیوند در بهمین‌ماه و با پیوندکی بود که در همان زمان برداشت شده بود.

کلیدواژه‌ها: احمدآقایی، اسکنه معکوس، درصد گیرایی، رشد پیوندک

## مقدمه

بزرگی از درختان وحشی پسته در این مناطق که شامل ایران، ترکمنستان و افغانستان می‌باشد، دیده می‌شود. عمده‌ترین مرکز تولید این محصول در جهان، ایران و استان کرمان محسوب می‌شود (Shamshiri et al., 2015). ریزپیوندی تکنیکی است شامل استفاده از نوک شاخه

درخت پسته اهلی (*Pistacia vera* L) از خانواده آناکاردیاسه، گیاهی دو پایه و خزان‌دار بوده و به‌طور عمده در مناطق نیمه‌گرمسیر دنیا کشت می‌شود. منشأ و خاستگاه پسته، آسیای مرکزی است و امروزه رویشگاه‌های

ریزیونندی زردآلو نقش مهمی دارند ( Deogratias et al., 1991).

در پژوهشی برای تعیین مناسب‌ترین زمان پیوند، آزمایشی با استفاده از ارقام معروف گردو در ترکیه بر روی پایه‌های یک‌ساله "Balaban" در سه زمان ابتدای ژانویه (دی‌ماه)، فوریه (بهمن‌ماه) و مارس (اسفندماه) انجام شد (Ferhatoglu, 1997). پس از پیوند امگا، گیاهان پیوندی در اتاقی با دمای ۲۶ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۰ درصد به مدت سه هفته قرار گرفتند. نتایج این محقق نشان داد که بیشترین گیرایی در پیوند ماه مارس (۸۰ درصد) به دست آمد. در پژوهشی دیگر اثر زمان گرفتن پیوندک‌ها بر کالوس‌زایی و گیرایی پیوند مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش، پیوندک‌های پنج رقم گردو از تاریخ ۲۶ دسامبر تا ۷ مارس به فاصله ۱۴ روز یک‌بار جمع‌آوری و تا زمان انجام پیوند در ماه مارس در محل خنک نگهداری شدند. نتایج نشان داد که بهترین کالوس‌زایی و گیرایی پیوند با پیوندک‌های اواخر دسامبر و اوایل ژانویه به دست آمد (Mitrovic, 1995).

در خصوص کاربرد تکنیک ریزیونندی در پسته نیز تلاش‌های اولیه‌ای برای انجام ریزیونندی در شرایط درون‌شیشه به منظور بازجوان‌سازی مواد گیاهی بالغ گزارش شده است (Barghchi and Alderson, 1985; 1989). آنان پیوندک‌های حاصل از مریستم بالغ را روی پایه نونهال پیوند زدند و مشاهده نمودند که رشد پیوندک کند بوده و طویل شدن آن حتی با وجود اضافه کردن اسیدجیرلیک به محیط کشت با مشکل مواجه بود. یک سیستم ریزیونندی نسبتاً موفق برای رقم متور (Mateur) روی پایه پسته اهلی و نیز پایه آتلانتیکا در شرایط درون‌شیشه گزارش گردیده است (Abousalim and Mantell, 1992). این محققین پیوندک‌هایی به طول ۸ تا ۱۰ میلی‌متر را که از نوک شاخه‌های کشت بافتی گرفته شده بودند و هر یک ۲ تا ۳ جوانه جانبی داشتند را روی پایه‌های ۱۲ روزه و سربرداری شده‌ای که از بذور جوانه‌زده در شرایط درون‌شیشه به دست آمده بود، پیوند زدند. در این تحقیق

به‌خصوص قسمت مریستمی جوانه انتهایی به‌عنوان پیوندک و پیوند آن بر روی پایه، که هم در شرایط درون‌شیشه‌ای (*In vitro*) و هم در شرایط آزاد (*In vivo*) امکان‌پذیر است. این تکنیک اولین بار در دهه ۸۰ میلادی مورد استفاده قرار گرفت (Rehman and Gill, 2015). ریزیونندی در شرایط آزاد شامل استقرار پیوندک بر روی پایه‌های بسیار جوان در شرایط گلخانه‌ای و با استفاده از تکنیک‌های ویژه می‌باشد. این روش را می‌توان در شرایط برون‌شیشه‌ای نیز انجام داد که باعث کاهش تلفات انتقال گیاه به شرایط آزاد می‌شود و حتی در برخی از موارد برای مثال در ریزیونندی پسته گیرایی بالاتری در شرایط برون‌شیشه‌ای نسبت به درون‌شیشه‌ای مشاهده گردیده است (Talaie, & Javanshah, 1996; Onay et al., 2003).

Javanshah (1994) با تحقیقات خود بیان داشت که امکان استفاده پیوند از نوع اپی کوتیل و ریزیونندی در پسته وجود دارد.

سن پایه در توانایی باززایی قسمتی از گیاه ارتباط مستقیم دارد. در پایه‌های جوان به دلیل فعالیت مریستمی بالا تشکیل کالوس سریع تر اتفاق می‌افتد. هم‌چنین گزارش شده است که پایه‌های مسن نسبت به پایه‌های جوان دارای غلظت ترکیبات فنلی و لاتکس می‌باشند که این خود سبب کاهش گیرایی در پیوند شده می‌شود (Nguyen and Yen, 2018). طبق مطالعات انجام‌شده تعادل بین ترکیبات فنولی و هورمون‌ها در بافت گیاه می‌تواند موفقیت در گیرایی پیوند را تحت تأثیر قرار دهد. در اثر زخم ایجادشده در گیاه (پایه و پیوندک) بافت آسیب‌دیده سریع قهوه‌ای و یا سیاه می‌شود و این می‌تواند سبب نکروزه و مرگ گیاه پیوندی شود و درصد گیرایی پیوند را کاهش دهد (Can et al., 2006; Torahi and Ali Hourri, 2012). در ریزیونندی برون‌شیشه‌ای، میزان ترکیبات پلی‌فنلی و پراکسیداز به نسبت بالا بوده (چون پیوندک از درختان بالغ رشد کرده در مزرعه تهیه می‌شود) و این سبب پژمرده شدن و مرگ گیاه پیوندی پس از مدت کوتاهی می‌شود. نتایج آزمایشی نشان داد که مرحله فیزیولوژیکی پیوندک و شرایط محیطی در

ریزیپوندی پسته تا کنون بررسی نشده است.

با توجه به این که اطلاعات محدودی در مورد ریزیپوندی پسته و همچنین نقش زمان پیوند و انبارداری پیوندک بر گیرایی پیوند و رشد پیوندک موجود می باشد، این پژوهش در همین راستا طراحی و اجرا گردید.

### مواد و روشها

این آزمایش به صورت گلخانه‌ای در حدفاصل سال‌های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷ انجام شد که مراحل انجام آزمایش به شرح زیر می باشد.

#### تهیه پایه

بذرهای پسته رقم "بادامی ریزرنند" (تهیه شده از پژوهشکده پسته) پس از شستشو، در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند. سپس بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر استریل خیسانده شده و پس از سه مرتبه شستشو با آب مقطر، در بین پارچه مرطوب در محل تاریک با دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. بذرها پس از گذشت سه روز شروع به جوانه زنی کردند و در گلدان‌های پلاستیکی حاوی نسبت‌های مساوی از ماسه و پرلیت کشت شدند. (لازم به ذکر می باشد که بذرها دو هفته قبل از انجام عمل پیوند در زمان‌های مختلف کشت شدند بدین ترتیب که زمان اول در اواسط دی (۱۳۹۶)، زمان دوم در اواسط بهمن ماه (۱۳۹۶) و زمان سوم در اواسط فروردین (۱۳۹۷). سن پایه‌ها برای پیوند دو هفته و طول پایه‌ها ۲/۵-۲ سانتی متر و قطر پایه بین ۲-۱/۵ میلی متر بود.

#### تهیه پیوندک

پیوندک‌ها از سرشاخه‌های سال جاری رقم "احمدآقایی" تهیه شد که دارای قطر بین ۲-۳ میلی متر و طول ۲-۳ سانتی متر بودند. به منظور بررسی اثر انبارداری پیوندک بر گیرایی پیوند، پیوندک‌ها به دو صورت مورد استفاده قرار گرفتند. گروه اول در سه زمان بهمن، اسفند و اردیبهشت برداشت و بلافاصله پیوند گردیدند و گروه دوم در سه زمان دی، بهمن و فروردین برداشت و پس از یک ماه نگهداری در یخچال، مورد استفاده قرار گرفتند.

در حالی که ۱۰۰ درصد پیوندها تولید کالوس کردند، ۶۰ درصد آن‌ها رشد کرده و شاخه‌های جانبی تولید نمودند. سن پیوندک و استفاده از پیش تیمار هورمونی در میزان گیرایی پیوند اهمیت دارد. در مطالعه‌ای، موفقیت ریزیپوندی پسته رقم "سیرت" (*Pistacia vera* L. cv. "Siirt") در شرایط درون‌شیشه و آزاد مورد بررسی قرار گرفت (Onay et al., 2003). در این آزمایش جوانه انتهایی از شاخه‌های درختان پسته ۱، ۵، ۱۰ و ۳۰ ساله به عنوان پیوندک گرفته شد. دانه‌های ۱۰ تا ۱۲ روزه رشد یافته در شرایط استریل یا دانه‌های ۳ تا ۵ ماهه که در داخل گلدان‌ها در شرایط آزاد رشد یافته بودند، به عنوان پایه مورد استفاده قرار گرفتند. این سیستم جدید ریزیپوندی در شرایط آزاد، رشد مناسب و تکامل شاخه‌های جدید را به همراه داشت و زمانی که از جوانه انتهایی شاخه‌های درختان پسته یک ساله به عنوان پیوندک استفاده شد بهترین نتیجه از نظر موفقیت ریزیپوندی و تکامل شاخه‌های جدید به دست آمد.

در پژوهشی برای تعیین بهترین تیمار برای انبارداری پیوندک و تأثیر انبارداری پیوندک بر درصد گیرایی و رشد پیوندک، آزمایشی بر روی دو رقم گردو و چهار روش مختلف انبارداری پیوندک مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش بیشترین رشد پیوندک و بالاترین درصد گیرایی، مربوط به انبارداری پیوندک در دمای یخچال (۴ درجه سلسیوس) بود (Dev, 2007). در پژوهشی دیگر نیز که بر روی انبه انجام شد، انبارداری پیوندک‌ها در دماهای پایین‌تر از ۹ درجه سلسیوس سبب افزایش رشد و بقای پیوندک‌ها گردد (Thakar et al., 2013).

در روش‌های کنونی عموماً نهال‌های بذری پسته در سال‌های سوم و چهارم مورد پیوند قرار می گیرند که علاوه بر هزینه‌های نگهداری نهال، زمین خزان و فضای گلخانه به مدت زیادی اشغال می گردد که طی این مدت استفاده دیگری نمی توان از آن به عمل آورد. ریزیپوندی تکنیکی است که با انجام آن می توان در زمان و هزینه‌های انجام پیوند صرفه جویی کرد و زودتر به نهال پیوندی دست پیدا کرد. ارتباط بین انبارداری پیوندک و تأثیر آن در

اردیبهشت‌ماه) و انبارداری پیوندک (صفر و ۳۰ روز) بود. هر تیمار دارای ۱۰ تکرار بود. درصد پیوندک‌های شکوفا شده برای هر گروه به‌عنوان درصد گیرایی و میزان رشد اولیه پیوندک‌ها تا سه هفته پس از پیوند ثبت و تجزیه و تحلیل گردید و مدت زمان بین پیوند تا شروع رشد پیوندک به‌عنوان زمان لازم برای گیرایی در نظر گرفته شد.

برای اندازه‌گیری قندهای محلول کل، ۰/۵ گرم نمونه (پوست پیوندک) را با استفاده از ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ در هاون چینی از پیش سرد شده کوبیده و محلول حاصل به لوله فالکون ۱۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد. نمونه‌ها پس از عمل استخراج به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی تهیه‌شده با ۳ میلی‌لیتر آترونی تازه تهیه مخلوط شد. این محلول ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم (دمای ۹۰ درجه سلسیوس) قرار داده شد تا واکنش انجام و رنگی شود. سپس میزان جذب آن در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت و مقدار مجموع قندهای محلول محاسبه شد (Irigoyen et al., 1992).

#### آنالیز داده‌ها

تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS انجام و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند. هم‌چنین با استفاده از برنامه MINITAB ورژن ۱۶ تست نرمالیت بر روی داده‌ها انجام شد.

پیوندک‌ها در هر دو گروه به مدت ۲۰ دقیقه توسط محلول هیپوکلریت سدیم ۳ درصد ضدعفونی شدند. پیوندک‌های گروه دوم درون کیسه پلاستیکی معمولی که حاوی دستمال مرطوب بود قرار داده شده و به یخچال (۴ درجه سلسیوس) منتقل شدند و هر سه روز یک‌بار به‌منظور حفظ رطوبت، پیوندک‌ها با آب مقطر اسپری شدند.

#### نحوه‌ی انجام پیوند (ریزپیوندی)

برای انجام عمل ریزپیوندی، دو هفته پس از کشت بذر، پایه‌ها از دو سانتی‌متری بالای لپه‌ها سربرداری شدند. پس از سربرداری پایه و ایجاد برش‌های مورب در دو سمت ساقه به‌منظور برداشتن پوست (شکل ۱- A)، انتهای پیوندک‌ها شکاف داده شد (شکل ۱- B) و انتهای پایه درون شکاف پیوندک‌ها جای گرفت (شکل ۱- C). به‌منظور حفظ رطوبت محل پیوند، با استفاده از یک نوار پارافیلیم به‌عرض یک سانتی‌متر، محل پیوند پوشانده و سپس روی گلدان‌ها با لیوان‌های یک بار مصرف شفاف پوشانده شد (شکل ۱- D). گیاهان سپس از پیوند به مدت سه هفته در اتاقک رشد قرار گرفتند و سپس به گلخانه منتقل شدند. گیاهان در گلخانه تحقیقاتی با ۱۳ ساعت نور طبیعی (با دمای  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ ) و ۱۱ ساعت تاریکی (با دمای  $18 \pm 2^\circ\text{C}$ ) و رطوبت نسبی  $65 \pm 5$  درصد رشد کردند. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، شامل دو عامل زمان پیوند (بهمن‌ماه، اسفندماه و

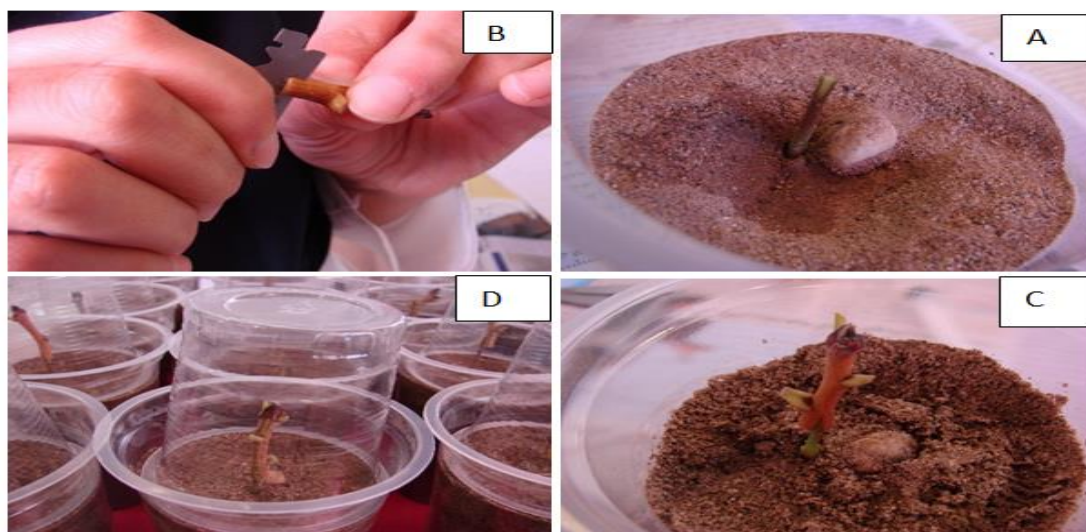


Figure 1. Preparation of rootstock (A), Preparation of scion (B), a grafted seedling (C) and covering of grafted seedling (D)

## نتایج و بحث

راستا در پژوهش حاضر در ارتباط با قندهای محلول کل پیوندک قابل ارزیابی می‌باشد به طوری که میزان قندهای محلول کل در پایان دوره انبارداری کاهش یافت. نتایج پژوهش حاضر مبنی بر گیرایی بیشتر در بهمن ماه (فوریه) با نتایج (Suk-In et al., 2005) بر روی گردو با روش پیوند اپی کوتیل مشابه بود. همچنین نتایج پژوهش حاضر با نتایج گزارش شده بر روی گردو که با انجام پیوند رومیزی در فصل خواب از سپتامبر تا آوریل انجام شد، مطابقت دارد (Tsurkan, 1990). این محقق نتیجه گرفت که انجام پیوند در ماه‌های اول زمستان منجر به گیرایی بالاتری می‌شود. نتایج پژوهش حاضر در این پژوهش نشان داد که میزان گیرایی پیوندک احمدآقایی در بهمن ماه با اختلاف قابل توجهی بیشتر از زمان اسفندماه و اردیبهشت ماه می‌باشد (شکل ۲). از طرفی تفاوت‌های ژنتیکی بین ارقام مختلف پسته در فنل‌ها و قندهای محلول باعث ایجاد تفاوت در گیرایی پیوند ارقام مختلف می‌شود. به طور نمونه میزان فنل کل در جوانه گل احمدآقایی در طی ماه‌های مختلف نسبت به ارقام کله کوچی، اوحدی و اکبری کمتر می‌باشد (Pakkish et al., 2009).

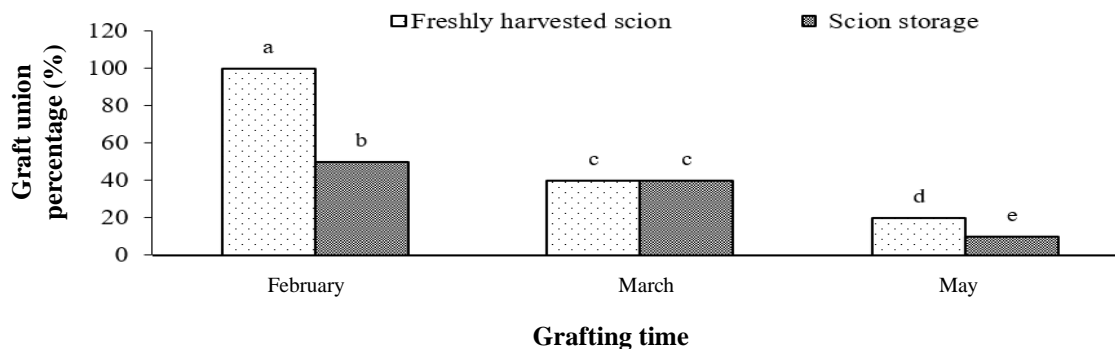
بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، زمان پیوند، انبارداری پیوندک و اثر متقابل این دو بر درصد گیرایی در سطح یک درصد اثر معنی‌دار داشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین درصد گیرایی (۱۰۰ درصد) مربوط به زمان پیوند بهمن ماه و با پیوندک‌هایی بود که بلافاصله پیوند شدند و کمترین آن (۱۰ درصد) مربوط به زمان اردیبهشت ماه با پیوندک‌هایی بود که یک ماه بعد از برداشت پیوند شدند (شکل ۲). نتایج تحقیق حاضر در زمان پیوند اردیبهشت ماه با نتایج دیگر محققین بر روی گردو مطابقت دارد (Manusev, 1970; Aminzadeh et al., 2013). این محققین نشان دادند انبارداری پیوندک‌ها گیرایی را به کمتر از ۲۰ درصد کاهش داد.

گیرایی موفق در پیوندک‌های برداشت شده در دوره رکود رشدی به عوامل مختلفی بستگی دارد از جمله تأمین نیاز سرمایی جوانه‌های پیوندک، نوع ژنوتیپ یا رقم، شرایط محیطی مناسب برای کالوس‌زایی در زمان پیوند و روش پیوند (Vahdati, 2007). به نظر می‌رسد که کاهش گیرایی در آزمایش حاضر احتمالاً به دلیل کاهش مواد ذخیره‌ای پیوندک باشد (Farsi et al., 2018). در همین

**Table 1. Analysis of variance for grafting time and Scion storage on micrografting in *pistachio***

Source of Variation	df	Mean Square				
		Graft union percentage	Time graft union	Scion growth	Leaf number	Total soluble sugar
Grafting Time	2	18166.06**	56.06**	0.57**	18.91**	4.34**
Scion Storage	1	6000.00**	93.75**	0.00 <sup>ns</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	1.05*
Time × Storage	2	3500.00**	35.00**	0.41**	3.37**	0.37**
Error	54	14.30	1.10	0.04	0.20	0.05
C.V. (%)		8.64	7.10	15.84	10.56	9.21

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



**Figure 2. Effect of micrografting time and scion storage on graft union percentage (Columns with similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level using Duncan's Multiple Rang Test)**

اثر متقابل زمان پیوند و انبارداری پیوندک بر مدت زمان لازم برای گیرایی پیوند در سطح ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۱) به طوری که بیشترین زمان لازم (۱۸ روز) برای گیرایی پیوند در اردیبهشت ماه با پیوندک های انبار شده و کمترین آن (۱۱ روز) در بهمن ماه با پیوندک های تازه برداشت شده به دست آمد (شکل ۳). نتایج پژوهش حاضر هم چنین نشان داد که بیشترین میزان رشد پیوندک مربوط به پیوندک هایی بود که بلافاصله پس از برداشت در بهمن ماه پیوند شده بودند، هر چند که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری بین پیوندک های تازه برداشت شده و انبارداری شده معنی دار نبود (جدول ۱). پیوندک هایی که در فروردین ماه برداشت و در اردیبهشت ماه پیوند شدند کمترین مقدار رشد را دارا بودند. بین سه زمان بهمن ماه، اسفندماه و اردیبهشت ماه در پیوندک های تازه برداشت شده، بهترین نتیجه و بالاترین رشد پیوندک ها برای پیوندک هایی مشاهده شد که در بهمن ماه پیوند شدند (شکل ۴).

همان طور که نتایج نشان داد گیرایی پیوند در پیوندک های انبارداری شده نسبت به پیوندک های تازه تهیه شده کاهش یافت. چنین به نظر می رسد که دمای پایین به عنوان یک استراتژی مقاومت باعث افزایش ترکیبات فنولی می شود (Lee and Oh, 2015) که این عامل می تواند بازداره گیرایی پیوند باشد (Baron et al., 2019). وجود غلظت های بالای ترکیبات فنولی در بافت های رویشی که منجر به قهوه ای شدن در اثر ایجاد زخم می گردد مانع بزرگی برای تولید کالوس در زمان پیوند می باشد. محتوای فنل در اندام های مختلف پسته زیاد می باشد (Nadernejad et al., 2013) به طوری که اکسیداسیون فنل ها در محل پیوند باعث رسوب پروتئین ها و مانع تشکیل ارتباط آوندی بین کامبیوم پایه و پیوندک می شود. نتایج تحقیق حاضر مبنی بر کاهش گیرایی در ماه می (اردیبهشت ماه) با نتایج دیگر محققین در طی ماه های می، جولای و آگوست در پیوند گردو به دلیل افزایش فنل مطابقت دارد (Karadeniz et al., 1997).

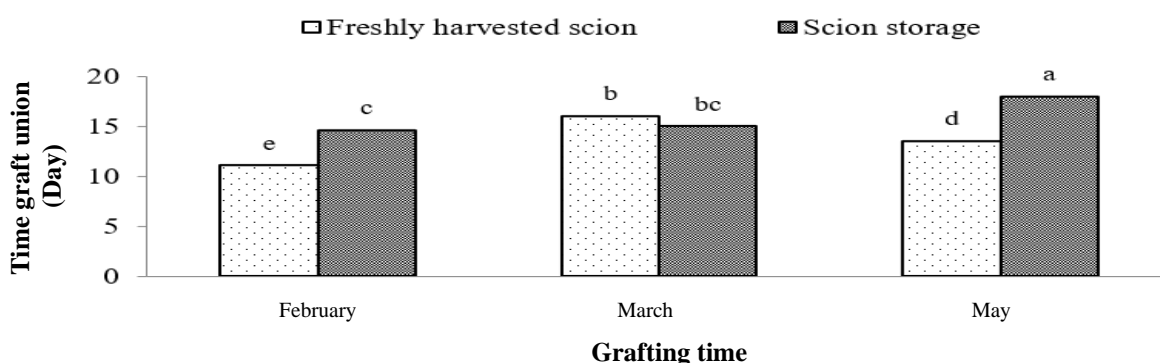


Figure 3. Effect of micrografting time and scion storage on time graft union (Columns with similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Rang Test)

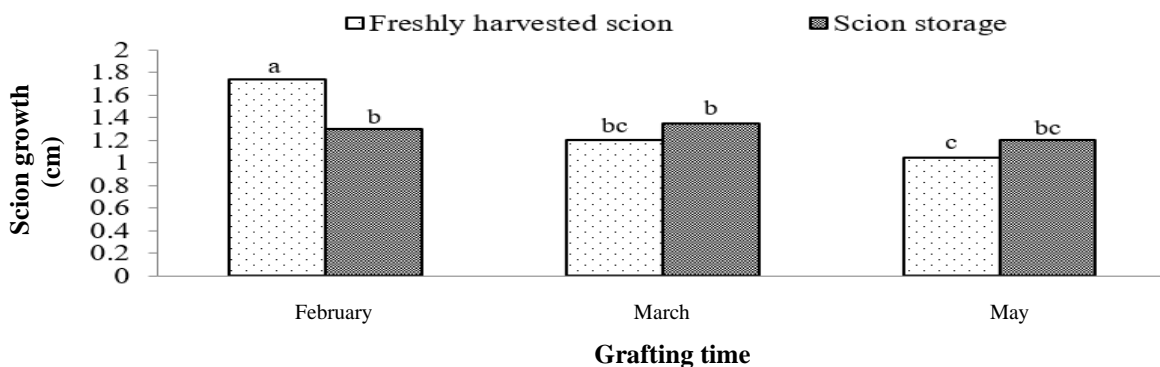


Figure 4. Effect of micrografting time and scion storage on scion growth (Columns with similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Rang Test)



همان‌طور که مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد بیشترین میزان قندها در بهمن‌ماه و اسفندماه و به‌ویژه در پیوندک‌های تازه تهیه شده به‌دست آمد (شکل ۵). به‌طور مثال در اسفندماه میزان قندهای محلول کل در پیوندک‌های انبارداری شده نزدیک به ۶۲ درصد نسبت به پیوندک‌های تازه تهیه شده کاهش نشان داد.

در برخی از تحقیقات بر روی گردو نشان داده شده است که استفاده از پایه‌های پررشد و قوی در افزایش گیرایی پیوند تأثیر مثبت داشته است (Rezaee et al., 2008). این تأثیر بیشتر به‌خاطر توانایی بالای این پایه‌ها در تامین آب و مواد غذایی مورد نیاز و ذخیره بالای کربوهیدرات‌ها و قندهای محلول در اندام‌های آن‌ها ذکر شده است که در موقع جوش خوردن محل پیوند مورد استفاده قرار می‌گیرند (Jacobs et al., 2006). با توجه به تحقیقات انجام شده، نشان داده شده که در ارتباط با تغییرات فصلی قندهای قابل حل، انباشته شدن قندها در طول ماه‌های رکود در جوانه‌ها انجام می‌گیرد. در رقم "احمدآقایی" میزان ترکیبات قندی در زمان اواسط فروردین و اوایل اردیبهشت‌ماه نسبت به بقیه ارقام پسته کمتر بوده (Mansouri et al., 2011) و از آنجایی که ترکیبات قندی یکی از عوامل مؤثر در گیرایی پیوند می‌باشد پس می‌توان کاهش گیرایی در ماه اردیبهشت با هر دو نوع انبارداری پیوندک (صفر و ۳۰ روز) را از یک نظر به کم بودن مواد ذخیره‌ای پیوندک من جمله ذخایر

در مجموع گیاه پایه در پیوندهای اپی کوتیل به دلیل عدم توسعه کامل از لحاظ فیزیولوژی دارای غلظت پایینی از ترکیبات متابولیکی بازداره می‌باشد. از طرفی گیاه پایه در شرایط نونهالی نیز به سر می‌برد و همه این عوامل می‌توانند در گیرایی پیوند مؤثر باشند. نتایج به‌دست آمده در همین راستا قابل ارزیابی می‌باشد.

همان‌طور که نتایج پژوهش حاضر در شکل (۴) نشان داد، رشد پیوندک تازه تهیه شده در بهمن‌ماه از رشد بیشتری برخوردار بود. به‌نظر می‌رسد پیوندک‌های تازه تهیه شده از نظر ذخیره غذایی وضعیت به مراتب بهتری نسبت به پیوندک‌های انبارداری شده داشتند و این ذخیره در رشد بعدی پیوندک مؤثر بود. از طرفی فعالیت جوانه‌ها از ماه‌های اول زمستان به طرف فصل بهار زیاد 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 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 گیرایی بیشتر پیوند در زمان بهمن‌ماه نسبت به پیوند در زمان اسفندماه و اردیبهشت‌ماه را توجیه کرد (Aminzadeh et al., 2013).

نتایج پژوهش حاضر در ارتباط با قندهای محلول کل پیوندک نشان داد که اثر متقابل زمان پیوند و انبارداری پیوندک در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

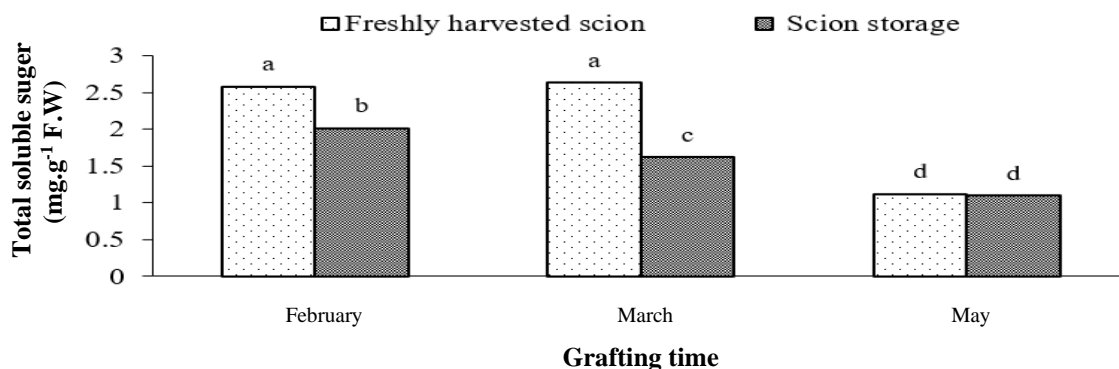


Figure 5. Effect of micrografting time and scion storage on total soluble sugar (Columns with similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Rang Test)

به اردیبهشت ماه بود (شکل ۶) که با نتایج دیگران مبنی بر این که نهال‌هایی که در فصل خواب دیرتر پیوند شده بودند تعداد برگ و رشد بیشتری را در مزرعه در سال دوم نشان دادند مطابقت داشت (Hartmann, 1990). به نظر می‌رسد تعداد برگ بیشتر در گیاهان پیوندشده در بهمن ماه و اسفندماه باعث افزایش سطح فتوسنتز و رشد گیاه می‌شود. این نتایج با نتایج رشد پیوندک در شکل (۴) همخوانی دارد به طوری که بیشترین رشد در بهمن ماه به دست آمد.

عواملی چون عدم رشد کافی پیوندک، ذخیره مواد غذایی کم، آبکی بودن بیش از حد پایه‌ها به علت سن کم پایه و انبارداری پیوندک‌ها که باعث مصرف مواد غذایی آن‌ها شده، از مشکلات مربوط به ریزپیوندی با وجود مزایای زیاد می‌باشد. انبارداری پیوندک در دمای پایین سبب افزایش ترکیبات قندهای محلول می‌گردد که افزایش این ترکیبات سبب افزایش کالوس‌زایی در پیوند و افزایش رشد پیوندک می‌گردد (Peche et al., 2016). البته گزارش‌های دیگری نیز جود دارد که نشان‌دهنده این است که افزایش دوره‌ی انبارداری سبب افزایش قندهای محلول و به طبع آن افزایش درصدگیری و میزان رشد پیوندک می‌گردد. نتایج این تحقیقات با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارند که کاهش‌گیری و رشد پیوندک در طی انبارداری پیوندک در این پژوهش ممکن است به دلیل آبکی بودن بیش از حد پایه‌ها به دلیل سن کم پایه‌ها باشد و به طور حتم دلایلی دیگری در کاهش‌گیری طی انبارداری پیوندک در پسته وجود دارد که نیاز به تحقیق بیشتری دارد.

قندی نسبت داد. هم‌چنین طبق آزمایشات انجام شده مشخص شده که در میزان کربوهیدرات‌های محلول و نشاسته در طی زمستان در ارقام "اکبری"، "احمدآقایی"، "اوحدی" و "کله‌قوچی" افزایش معنی‌داری وجود دارد (Mansouri et al., 2011). بنابراین می‌توان افزایش‌گیری پیوند در زمان رکود جوانه در ماه‌های بهمن و اسفند نسبت به ماه اردیبهشت را توجیه کرد. هم‌چنین نتایج نشان داده که رقم "احمدآقایی" و "کله‌قوچی" چون جزء ارقام زود گل بوده، در طول فصل سرد میزان قند بالایی داشته و به دلیل آن که در آغاز فصل رشد زودتر شروع به رشد کرده و قندها را به مصرف خود رسانده است، پس میزان ترکیبات قند کمتری دارد (Mansouri et al., 2011). بنابراین گرفتن پیوندک از این ارقام در فصل رشد (فروردین ماه و اردیبهشت ماه) می‌تواند‌گیری را تحت تأثیر قرار داده و از آنجایی که پیوندک ذخایر کربوهیدراتی کمتری نسبت به پیوندک‌های تهیه شده در فصل رکود (بهمن ماه و اسفندماه) دارد پس‌گیری کمتری نیز نسبت به این ماه‌ها نشان می‌دهد. این نتایج با نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر همخوانی دارد.

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که اثر زمان ریزپیوندی و متقابل زمان و انبارداری بر تعداد برگ در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود اما اثر انبارداری به تنهایی معنی‌دار نشد. بر همین اساس، مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تعداد برگ (حدود سه هفته پس از شکوفایی پیوندک) مربوط به پیوندهای اسفندماه و کمترین آن مربوط

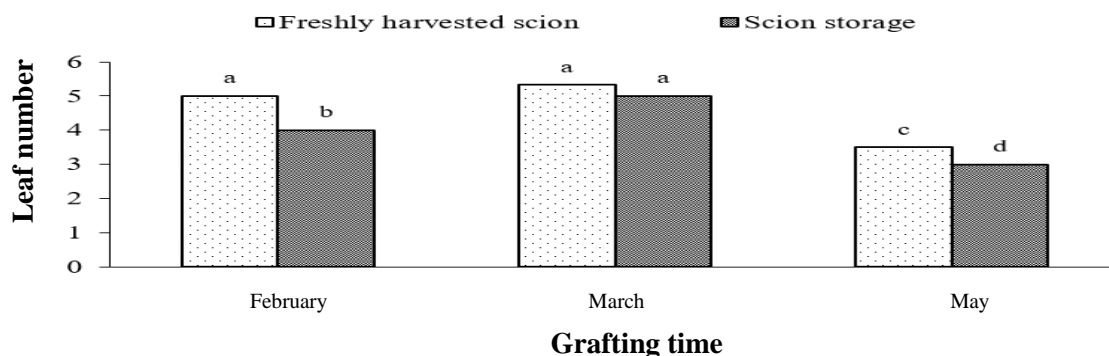


Figure 6. Effect of micrografting time and scion storage on leaf number of grafted seedling, 3 weeks after micrografting (Columns with similar letter(s) are not significantly different at the 5% probability level using Duncan's Multiple Rang Test)

### نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که علی‌رغم تکثیر پسته از روش پیوند سنتی که سن باردهی را به ۷ و ۸ سال کاهش می‌دهد اما امکان استفاده از پیوند اپی کوتیل در پسته وجود دارد به طوری که گیرایی پیوند در این شیوه در آزمایش حاضر نزدیک به ۱۰۰ درصد رسید. بهترین نتیجه به دست آمده پژوهش حاضر با پیوندهای بهمن‌ماه با پیوندک‌هایی در همان زمان به صورت تازه برداشت شده بود. انبارداری پیوندک در این پژوهش نتایج مثبتی نداشت و برای پسته

توصیه نمی‌شود چون به نظر می‌آید که دمای یخچال (۴ درجه سلسیوس) سبب انقباض و یخزدگی بافت پیوندک شده و چون بافت آسیب می‌بیند در نتیجه کالوس‌زایی کاهش می‌یابد که نیاز به بررسی و تحقیقات گسترده‌تری دارد.

### سپاس‌گزاری

بدین وسیله از گروه علوم باغبانی دانشگاه ولی عصر (عج) و پژوهشکده پسته رفسنجان برای انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

### References

- Abousalim, A., & Mantell, S. H. (1992). Micrografting of Pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Mateur). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 29(3), 231-234.
- Aminzadeh, F., Fattahi, M. M., Ebadi, A., Hasani, D., & Balaniyan, H. (2013). Effect of grafting time, antioxidant and plant growth regulators on minigrafting in walnut (*Juglans regia* L.). *Seed and Plant Production Journal*, 292, 269-282. [In Farsi]
- Barghchi, M., & Alderson, P. G. (1985). *In vitro* propagation of *Pistacia vera* L., & the commercial cultivars Ohadi and Kalleghochi. *Journal of Horticultural Science*, 60(3), 423-430.
- Barghchi, M., & Alderson, P. G. (1989). Pistachia (*Pistachia vera* L.). In: Bajaj, Y. P.S. (Ed), *Biothechnology in agriculture and forestry* 5, (pp.68-98.) Springer Science.
- Baron, D., Amaro, A. C. E., Pina, A., & Ferreira, G. (2019). An overview of grafting re-establishment in woody fruit species. *Scientia Horticulturae*, 243, 84-91.
- Can, C., zaslán, M., Toremén, H., Sarpkaya, K., & Iskende, E. (2006). *In vitro* micrografting of pistachio, *pistacia vera* L. var. Siirt, on wild pistachio rootstocks. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 1(5), 25-31.
- Deogratias, J. M., Castelloni, V., Dosba, F., Juarez, J., Arregui, J. M., Ortega, C., Ortega, V., Llacer, G., & Navarro, L. (1991). Study of growth parameters on apricot shoot tip grafting *in vitro*. *Acta Horticulturae*, 293(43), 363-371.
- Dev, K. (2007). *Studies on the effect of collection time, storage condition of scion wood and grafting environment on propagation of walnut*. M.Sc. Thesis, University of Horticulture and Forestry, Solan (HP), India.
- Farsi, M., Fatahimoghadam, M. R., Zamani, Z., & Hasani, D. (2018). Effects of scion cultivar, rootstock age and hormonal treatment on minigrafting of persian walnut. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 5(2), 185-197.
- 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(47), 303-307.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., & Davies, F. T. (1990). *Plant propagation, principles & practices* (4th ed.). Englewood Cliffs, N.J., USA: Prentice-Hall Inc.
- Irigoyen, J. J., Emerich, D. W., & Sanchez-Diaz, M. (1992). Water stress induced changing concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated Alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84(1), 67-72.
- Jacobs, D. F., Woeste, K. E., Wilson, B. C., McKenna, J. R., & Improvement, H. T. (2006). Stock quality of black walnut (*Juglans nigra*) seedlings as affected by half-sib seed source and nursery sowing density. *Acta Horticulturae*, 705(53), 375-381.
- Javanshah, A. (1994). *Epicotyl grafting in pistachio (Pistachio vera L.)*. 1<sup>st</sup> international symposium on pistachio nut, Adena-Turkey.

- Karadeniz, T., Balta, F., Sen, S. M., Tekintas, F. E., & Tanrisever, A. (1997). Effects of the flavon contents extracted from walnut (*Juglans regia* L.) on coleoptyl growth, and a comparison of relations between the total flavones and the graft success with these effects. *Acta Horticulturae*, 442, 187-192.
- Lee, J.H., & Oh, M.M. (2015). Short-term low temperature increases phenolic antioxidant levels in kale. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 56(5), 588-596.
- Mansouri Dehshoabi, R., Davarynejad, G. H, Hokmabadi, H., & Tehranifar, A. (2011). Evaluation of proline, proteins and sugar during phonological processes of flower buds of commercial pistachio cultivars. *Journal of Horticultural Science*, 25(2), 116-121.
- Manusev, B. (1970). Studies on some method of grafting walnuts in the region of foce. *Jugoslovensko Vocarstvo*, 4(13), 51-9.
- Mitrovic, M. (1995). The effect of the cutting date on walnut scionwood on the take and callusing of grafts. *Jugoslovensko Vocarstvo*, 29(1-2), 59-63.
- Nadernejad, N., Ahmadimoghadam, A., Hossyinfard, J., & Poorseyedi, S. (2013). Effect of different rootstocks on PAL activity and phenolic compounds in flowers, leaves, hulls and kernels of three pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars. *Trees*, 27(6), 1681-1689.
- Nguyen, V. H., & Yen, C. R. (2018). Rootstock age and grafting season affect graft success and plant growth of papaya (*Carica papaya* L.) in greenhouse. *Chilean journal of Agricultural Research*, 78(1), 59-67.
- Onay, A., Pirinc, V., Adiyaman, F., Isikalan, C., Tilkat, E., & Basaran, D. (2003). In vivo and in vitro micrografting of pistachio, *Pistacia vera* L. cv Siirt. *Turkey Journal of Biology*, 27(2), 95-100.
- Pakkish, Z., Rahemi, M., & Baghizadeh, A. (2009). Seasonal changes of peroxidase, polyphenol oxidase enzyme activity and phenol content during and after rest in pistachio (*Pistacia vera* L.) flower buds. *World Applied Sciences Journal*, 16(9), 1193-1199.
- Peche, P. M., Figueiredo, A. L., Pio, R., Andrade, C. A., Melo, E. T. D., & Barbosa, C. M. D. A. (2016). Cold storage of budsticks/clefts for staggered grafting in persimmon trees. *Ciência Rural*, 46(8), 1344-1349.
- Rehman, H. U., & Gill, M. I. S. (2015). Micrografting of fruit crops-A review. *Journal of Horticulture*, 2(3), 1-7.
- Rezaee, R., & Vahdati, K. (2008). Introducing a simple & efficient procedure for top working persian walnut trees. *Journal of the American Pomological Society*, 62(1), 21-26.
- Shamshiri, M. H., Hasani, M. R., Karimi, H. R., & Esmaail Zadeh, M. (2015). Effect of arbuscular mycorrhizae and salicylic acid on nutrient elements content of abareqi pistachio seedling under drought stress. *Plant Productions*, 38(1), 75-89. [In Farsi]
- Suk-In, H., Moon-Ho, L., & Yong-Seok, J. (2005). Study on the new vegetative proportion method 'epicotyl grafting' in walnut trees (*Juglans* SPP.). *Acta Horticulture*, 705(52), 371-374.
- Talaei, A. R., & Javanshah, A. (1996). *Propagation of pistachio trees using epicotyl grafts*. Presented at 93<sup>rd</sup> Annual Conference of the American Society for Horticultural Science, Lexington, Kentucky, USA.
- Thakar, P. D., & Shah, N. I. (2013). Effect of scion stick storage methods on growth and success softwood grafts of mango (*Mangifera indica* L.) cv. KESAR. *Asian Journal Horticulture*, 8(2), 498-501.
- Torahi, A., & Ali Hour, M. (2012). The most suitable method and time of ber tree (*Ziziphus spina-christi* L.) budding in Ahvaz. *Plant Productions*, 34(2), 75-89. [In Farsi]
- Tsurkan, I. P. (1990). Production technology of English walnut planting materializing winter table grafting. *Acta Horticulture*, 284(9), 65-68.
- Vahdati, K. (2007). *Nursery management and grafting of walnut*. Tehran: Khanyran Publications. [In Farsi]