



"مقاله پژوهشی"

تأثیر تیمارهای ایندول بوتیریک اسید و تلقیح قارچ بر ریشه‌زایی و صفات رویشی قلمه نیمه‌خشبی فندق جنگلی (*Corylus avellana* L.)

یونس رستمی کیا^۱، مسعود طبری کوچکسرای^۲، احمد اصغرزاده^۳ و احمد رحمانی^۴

۱- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اردبیل، ایران (younesrostamikia@gmail.com) (نویسنده مسئول)

۲- استاد گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران

۳- مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۴- مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۱/۲۵

صفحه: ۳۴ تا ۴۲

چکیده مبسوط

مقدمه: فندق جنگلی (*Corylus avellana* L.) گیاهی است سخت ریشه‌زا و از این رو تکثیر آن با روش‌های متداول غیرجنسی تقریباً امکان‌پذیر نمی‌باشد. هدف از این تحقیق تعیین تأثیر اکسین و تلقیح قارچ‌های میکوریزی بر کالوس‌ریشه‌زایی و صفات رویشی قلمه‌های فندق جنگلی است.

مواد و روش‌ها: قلمه‌های نیمه‌خشبی فندق دراویل تیرماه از جنگل‌های ارسباران (رویشگاه مکیدی) جمع‌آوری و با غلظت‌های صفر، ۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰ و ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA تیمار و سپس با قارچ‌های *Glomus intraradices* و *Trichoderma harzianum* تلقیح شدند. قلمه‌ها در بستر کاشت مخلوط ماسه-پرلیت (۱:۱) در گلخانه کشت و ۷۰ روز پس از کاشت، صفات کالوس‌زایی، ریشه‌زایی، تعداد ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک کل نهال، طول نهال، سطح برگ و درصد کلنیزاسیون ریشه با قارچ‌های مورد مطالعه اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: در قلمه‌های شاهد (بدون اعمال هورمون و قارچ) و قلمه‌هایی که در غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA همراه با و بدون قارچ *G. intraradices* و *T. harzianum* تیمار شدند هیچ کالوسی تشکیل نشد. بیشترین کالوس‌زایی (۳۴/۳ درصد)، ریشه‌زایی (۲۷/۲ درصد)، تعداد ریشه (۲/۵۸ عدد)، وزن ریشه (۰/۳۵ گرم)، وزن خشک کل نهال (۳/۳۹ گرم)، طول نهال (۱۲/۳۲ سانتی‌متر)، سطح برگ (۲۹/۱۳ سانتی‌متر مربع) و کلنیزاسیون ریشه (۲۸/۷ درصد) در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA در تلقیح با قارچ *G. intraradices* مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: مطلوب‌ترین روش تکثیر رویشی فندق، جمع‌آوری قلمه‌های پاجوش یک‌ساله در تیرماه و تیمار با تنظیم‌کننده رشد IBA (غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با قارچ *G. intraradices* است.

واژه‌های کلیدی: ارسباران، اکسین، سطح برگ، قارچ میکوریزی، کالوس‌زایی، منشاء قلمه

مقدمه

هم از طریق غیرجنسی (خوابانیدن، پاجوش، ریشه‌جوش و قلمه) تکثیر می‌شود (۸). تکثیر جنسی فندق جنگلی به‌دلیل مختلف از جمله خواب بذر، جوانه‌زنی اندک و نامنظم، طولانی‌بودن زمان تکثیر و سیکل بذردهی فندق (سال‌آوری) بامشکلاتی همراه است. فندق اصولاً از طریق خوابانیدن ساده تکثیر می‌شود ولی محدودیتی در این روش وجود دارد و آن تعداد کم نهال تکثیری با این روش است (۳). همچنین مشکلات استفاده از پاجوش‌های این گونه برای جنگل‌کاری در سطح وسیع، به دلیل درصد زنده‌مانی و استقرار اندک در عرصه (کنده شده ریشه) و هزینه زیاد انتقال نهال‌ها به‌عرصه، سبب می‌شود که تکثیر رویشی (قلمه) آن ضرورت پیدا کند. به‌علاوه اینکه، ازدیاد از طریق قلمه به‌دلیل آسان بودن تکثیر، گزینش و حفاظت از پایه‌های نخبه و امکان احداث باغ بذر، اهمیت زیادی دارد (۵).

محققان زیادی در مورد سخت ریشه‌زا بودن قلمه‌های فندق گزارش کرده‌اند (۱۹، ۱۱، ۸، ۶). توانایی ریشه‌زایی قلمه فندق به‌شدت تحت تأثیر عواملی چون زمان برداشت، سن و ژنوتیپ فندق بوده و قلمه‌های نیمه‌چوبی در مقایسه با قلمه‌های چوبی بیشترین میزان ریشه‌زایی را دارند (۲۰، ۱۲، ۱۱). عوامل محیطی، وضعیت تغذیه درختان مادری، تغییرات فصلی، کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و یافتن غلظت

فندق جنگلی (*Corylus avellana* L.) به‌خانواده Corylaceae تعلق دارد (۲۲). انتشار این گونه در ایران، منطقه کلیر روستای مکیدی (۳۳، ۱) توده جنگلی تنباکولو در بخش هوراند اهر، توده‌های پراکنده در مشکین‌شهر (قینرجه و پاشاییگلو)، جنگل فندقلوی اردبیل، گردنه حیران، آستارا (روستای چمپر) توده جنگلی مکش در آق‌اولر تالش و به‌صورت پراکنده در فومن، صومعه‌سرا و حوالی روستای تاریخی ماسوله در گیلان و به‌صورت تک‌درخت در جنگل خیرودکنار چالوس و شصت‌کلاته گرگان است (۲۴). فندق به‌عنوان درختچه پرستار در استقرار و حفاظت نهال‌های گونه جنگلی نقش مهمی ایفاء می‌کند (۷). با تجزیه سریع لاشبرگ، سبب اصلاح خواص فیزیکی و حاصل‌خیزی خاک می‌شود (۵). با وجود ویژگی‌هایی از قبیل درختچه‌ای بودن، جست‌دهی فراوان و کوتاه بودن ارتفاع این گونه، قابلیت استقرار در رویشگاه‌های تخریب شده شمال کشور را دارد (۲۱). همچنین میوه فندق نقش بسیار مهمی در تغذیه و سلامت انسان به‌خاطر داشتن ترکیبات مخصوص از قبیل چربی (غالباً اولئیک اسید) هیدروکربن، فیبر، انواع ویتامین‌ها (ویتامین E) مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌ها دارد (۱۴، ۹). فندق هم از طریق جنسی (بذر) و

ریشه‌زایی (۷۷ درصد) در غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر IBA به همراه تلقیح قارچ *T. melanosporum* مشاهده شد (۲۵). طی مطالعه‌ای اثر تیمارهای IBA، باکتریایی و قارچی بر ریشه‌زایی قلمه‌های زالزالک ایرانی (*Crataegus pseudoheterophylla*) نشان داد ترکیب IBA با قارچ *G. intraradices* مشخصه‌های ریشه‌زایی و رشد را نسبت به شاهد افزایش داد و بیشترین وزن خشک و میزان کلروفیل نهال در این تیمار به دست آمد (۲).

رویشگاه‌های فندق جنگلی به دلیل پراکنش محدود و زادآوری طبیعی ضعیف فندق در معرض تهدید قرار دارد. شناخت رفتار ریشه‌زایی قلمه آن می‌تواند در راستای حفاظت از پایه‌های ژنتیکی و توسعه رویشگاه‌های ارزشمند آن موثر باشد. از طرفی تاکنون پژوهشی در مورد تاثیر قارچ‌های میکوریزی ریشه در القاء ریشه‌زایی و رشد قلمه‌های نیمه خشبی فندق جنگلی در داخل و خارج کشور گزارش نشده است و اغلب مطالعات به تاثیر اکسین بر کالوس زایی و ریشه‌زایی ارقام باغی فندق اشاره داشته‌اند. پژوهش حاضر با هدف بررسی ریشه‌زایی گونه جنگلی فندق برای تولید پایه‌های رویشی و تعیین غلظت بهینه IBA در ترکیب با تلقیح قارچ‌های *G. intraradices* و *T. harzianum* بر کالوس‌زایی، ریشه‌زایی و بهبود صفات رویشی نهال‌های قلمه‌رست فندق جنگلی انجام شد.

مواد و روش‌ها

محل جمع‌آوری قلمه‌های گونه مورد مطالعه در این تحقیق، روستای مکیدی از توابع شهرستان کلیر استان آذربایجان شرقی بود که در فاصله ۳۵ کیلومتری از شهرستان کلیر با عرض جغرافیایی $38^{\circ}51'15''$ تا $38^{\circ}54'02''$ شمالی و $39^{\circ}17'39''$ تا $39^{\circ}47'42''$ شرقی واقع شده است. متوسط ارتفاع منطقه ۱۴۹۵ متر از سطح دریا، میانگین بارندگی منطقه ۳۶۸/۵ میلی متر و اقلیم منطقه نیمه مرطوب سرد است. بافت خاک منطقه لومی رسی با اسیدیته ۶/۷ و میزان هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک ۰/۳۴ میلی موس بر سانتی متر است (۳۱).

در تیرماه تعداد ۱۲۰۰ قلمه نیمه خشبی به طول ۱۲ تا ۱۵ سانتی متر و قطر حدود ۶ تا ۸ میلی متر با سه جوانه جانبی از پاجوش یک ساله درختان فندق ۱۰ تا ۱۵ ساله (هفت تاهشت سانتی متر) از روستای مکیدی ارسباران جمع‌آوری شد. قلمه‌ها بلافاصله پس از برداشت به گلخانه مرکز آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اردبیل انتقال داده شدند و بلافاصله با محلول قارچ کش بنومیل با غلظت دو در هزار به مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی سطحی و سپس با آب شستشو داده شدند. به منظور تحریک تولید ریشه، در قسمت تحتانی قلمه‌ها با استفاده از چاقو، روی پوست یک بریدگی به صورت مورب به طول یک سانتی متر و ضخامت دو میلی متر انجام شد (۸).

قلمه‌ها قبل از کشت، با غلظت‌های ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر IBA (تولید شرکت مرک آلمان) به مدت ۵ ثانیه قرار گرفتند (۲۵) و پس از خشک شدن، انتهای قلمه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در مایه تلقیح قارچی

بهینه این مواد از عوامل مهمی هستند که برای افزایش ریشه‌زایی قلمه بایستی مورد توجه قرار گیرند (۶). مهم‌ترین هورمون تنظیم‌کننده القاء ریشه‌زایی و رشد ریشه ایندول بوتیریک اسید (IBA) است (۸). نقش اکسین در القاء ریشه‌زایی اثبات شده است (۱۸). IBA بر سرعت افزایش ریشه‌زایی قلمه تاثیر زیادی دارد (۱۸). در صورتی که مصرف هورمون در هنگام ریشه‌زایی بیش از حد نیاز باشد علاوه بر افزایش هزینه، سبب بر هم خوردن تعادل هورمونی در گیاه می‌شود. لذا تعیین مطلوب‌ترین غلظت هورمون در ریشه‌زایی قلمه‌ها حائز اهمیت است (۱۳).

از مطالعات انجام شده در ارتباط با تاثیر اکسین (IBA) بر کالوس‌زایی و ریشه‌زایی گونه درختچه‌ای فندق می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد. نتایج اثر IBA و پوترسین^۲ زمان جمع‌آوری قلمه بر ریشه‌زایی قلمه‌های سه رقم باغی فندق در گلخانه نشان داد قلمه‌های تهیه شده در دو زمان اواسط خرداد و اواسط تیرماه بیشترین ریشه‌زایی دارند. همچنین کاربرد IBA با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در ترکیب با پوترسین با غلظت ۱۶۰۰ میلی گرم در لیتر بیشترین درصد ریشه‌زایی (۸۰ درصد) را به دنبال دارد (۵). تاثیر غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر IBA در ترکیب با متیل سیکلو پروپان و نیترا ت نقره بر ریشه‌زایی و ریزش جوانه قلمه‌های نیمه خشبی رقم Tonda از *C. avellana* میزان ریشه‌زایی ۷۰ درصد در تیمار IBA با غلظت ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد (۸).

در مطالعه‌ای تاثیر تیمار IBA در دو غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر در ترکیب با متیل سیکلو پروپان و نیترا ت نقره بر ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه سخت رقم Tonda فندق نشان داد استفاده از متیل سیکلو پروپان و نیترا ت نقره در ترکیب با IBA با غلظت ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر باعث بهبود ریشه‌زایی و عملکرد قلمه‌های ریشه دار شد (۹).

امروزه از روش‌های نوین برای تحریک ریشه‌زایی قلمه‌های سخت ریشه‌زا مانند کودهای زیستی (تهیه شده از *Agrobacterium rhizogenes* (۴) و برخی از قارچ‌های میکوریزی از قبیل *G. intraradices* استفاده شده است (۲۶). جذب آب و عناصر غذایی و افزایش مقاومت در برابر عامل بیماری‌زا سبب تغذیه گیاه، کاهش تنش‌های زیستی و غیر زیستی و افزایش ریشه‌زایی قلمه می‌شوند (۲۶). در تحقیقی درصد ریشه‌زایی ارقام Ennis و Casina از *Corylus avellana* با تیمارهای IBA و تلقیح باکتریایی *Agrobacterium rhizogenes* و ترکیب این دو تیمار ریشه‌زایی رقم Ennis (۴۶ درصد) و رقم Casina (۱۰۰ درصد) در تیمار تلقیح باکتری به دست آمد (۴).

در بررسی دیگر کالوس‌زایی و ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه خشبی فندق *Corylus avellana* var. *Barcelona* تحت تاثیر غلظت‌های ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ میلی گرم در لیتر IBA در تلقیح با قارچ *Tuber melanosporum* به مدت دو ماه بررسی کردند. نتایج نشان داد که همه غلظت‌های IBA موجب کالوس زایی در تمام نمونه‌ها شدند و بیشترین نرخ

روش استاندارد Phillips و Hayman (۲۹) شستشو و رنگ‌آمیزی شدند. به‌منظور رنگ‌بری و نرم کردن بافت‌ها، ریشه‌ها به‌مدت یک ساعت در محلول KOH ۱۰ درصد و دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند، پس از چند بار شستشو به‌مدت ۲۰ دقیقه در محلول آب اکسیژنه قلیایی ۱۰ درصد (H_2O_2 30ml + NH_4OH 3ml) برای عمل رنگ‌بری کامل قرار داده شد. مجدداً ریشه‌ها چند بار شسته شده و جهت آماده کردن بافت‌ها برای رنگ‌پذیری به‌مدت سه دقیقه در محلول اسید کلریک یک‌درصد قرار گرفت. بعد ریشه‌ها در محلول لاکتوگلیسرین تریپان‌بلو به‌مدت ۴۸ ساعت قرار داده تا ریشه‌ها رنگ بگیرند پس از رنگ‌آمیزی درصد کلنیزاسیون قارچی، ریشه‌ها بر اساس روش تقاطع شبکه در زیر دستگاه بینوکولار تعیین شد (۱۶). در این روش هر نمونه ریشه رنگ‌آمیزی شده، در داخل پتری‌دیش که در زیر آن یک صفحه شبکه‌بندی شده قرار دارد پخش شد. سپس در هر خط افقی و عمودی تعداد برخوردهای ریشه و تعداد برخوردهای ریشه‌های میکوریزی شده (وجود ساختارهایی از قبیل هیف، آربوسکولار، ویزیکول و اسپور) با اضلاع شبکه تعیین شد. آنگاه از تقسیم تعداد ریشه‌های میکوریزی به تعداد ریشه‌های برخورد کرده با اضلاع شبکه ضربدر ۱۰۰، درصد کلنیزاسیون ریشه مشخص شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل دو عامله برای اعمال تیمارهای IBA و تلقیح قارچ (*G. intraradices* و *T. harzianum*) در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و در هر تکرار ۲۰ قلمه فندق (۸۰ قلمه در هر تیمار) انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت. نرمال بودن داده‌ها از آزمون نرمال‌یته Shapiro - Wilk و همگنی واریانس داده‌ها از طریق آزمون لون (Levene) تعیین شد. تبدیل داده‌ها با استفاده از جذر صورت گرفت. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

نتایج و بحث

نتایج آزمون تجزیه واریانس نشان داد اثرات تیمارهای اصلی هورمون IBA و قارچ میکوریزی بر تمام صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. اثرات متقابل تیمار $IBA \times$ قارچ نیز برای تمامی صفات مورد بررسی به‌جز تعداد ریشه معنی‌دار شد (جدول ۱).

G. intraradices و *T. harzianum* ترکیب شده با صمغ عربی ۲۰ درصد به‌طور مجزا نگهداری و سپس در گلدان‌های پلی‌اتیلنی با ابعاد (۲۰×۱۵×۱۵ سانتی‌متر) که قبلاً با مخلوط نسبت حجمی ۱:۱ از ماسه: پرلیت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه در آون استریل شده‌بود، کاشته شدند (۲۷). لازم به‌ذکر است تعداد ۸۰ قلمه در چهار تکرار (۲۰ قلمه در هر تکرار) بدون استفاده از IBA و بدون تلقیح قارچ به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند.

شایان ذکر است جمعیت قارچ میکوریزی *G. intraradices* برابر با ۲۵۰ پروپاگول در گرم از کشت درون شیشه‌ای روی ریشه هویج و قارچ *T. harzianum* با جمعیت ۱۰۰ پروپاگول در گرم نیز به‌صورت مایه تلقیح پودری در بستر بذر گندم و پرلیت که از بخش بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کشور تهیه شدند.

آزمایش در گلخانه مجهز به سیستم مه‌پاش با فاصله زمانی روزها هر ۴۵ دقیقه و شب‌ها هر ۶۰ دقیقه با مدت زمان پاشش ۲۰ ثانیه و شرایط رطوبتی ۷۰ درصد و دمای حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۶ درجه سانتی‌گراد در شب برای یک فصل رویش انجام گرفت. شدت نور به‌وسیله نورسنگ (USA, Li250, LI-COR) سنجیده شد طوری که در اوایل دوره کشت به‌دلیل تاریک نمودن محیط جهت ریشه‌زایی قلمه‌ها، ۱۸۵ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و سپس با روشن نمودن محیط گلخانه به‌صورت تدریجی، میزان شدت نور به‌میزان ۵۰۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه رسید. دمای گلخانه در طول روز 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد و شب 19 ± 1 درجه سانتی‌گراد بود. رطوبت نسبی اطراف قلمه‌ها، ۸۵ تا ۹۰ درصد با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج تنظیم شد.

در انتهای این آزمایش (انجام شده به‌مدت ۷۰ روز)، ۱۰ قلمه از هر تکرار به‌آرامی از گلدان بیرون آورده شدند و سپس صفات درصد کالوس‌زایی، درصد ریشه‌زایی، سطح برگ، تعداد ریشه (ریشه‌های روی کالوس و قلمه)، وزن خشک ریشه، وزن خشک کل و طول قلمه اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه و اندام هوایی نهال‌ها، نمونه‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در دستگاه آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (۳۲). برای تعیین سطح برگ، سه‌برگ سالم و کاملاً توسعه‌یافته از بالاترین قسمت هر نهال برداشت شده و با دستگاه اسکنر Meter Leaf Area اندازه‌گیری شدند. برای تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه با قارچ‌ها، به‌ازای هر تیمار سه قلمه ریشه‌دار به‌طور تصادفی انتخاب و از هر نهال ۱۰ قطعه ریشه یک سانتی‌متری تهیه و با استفاده از

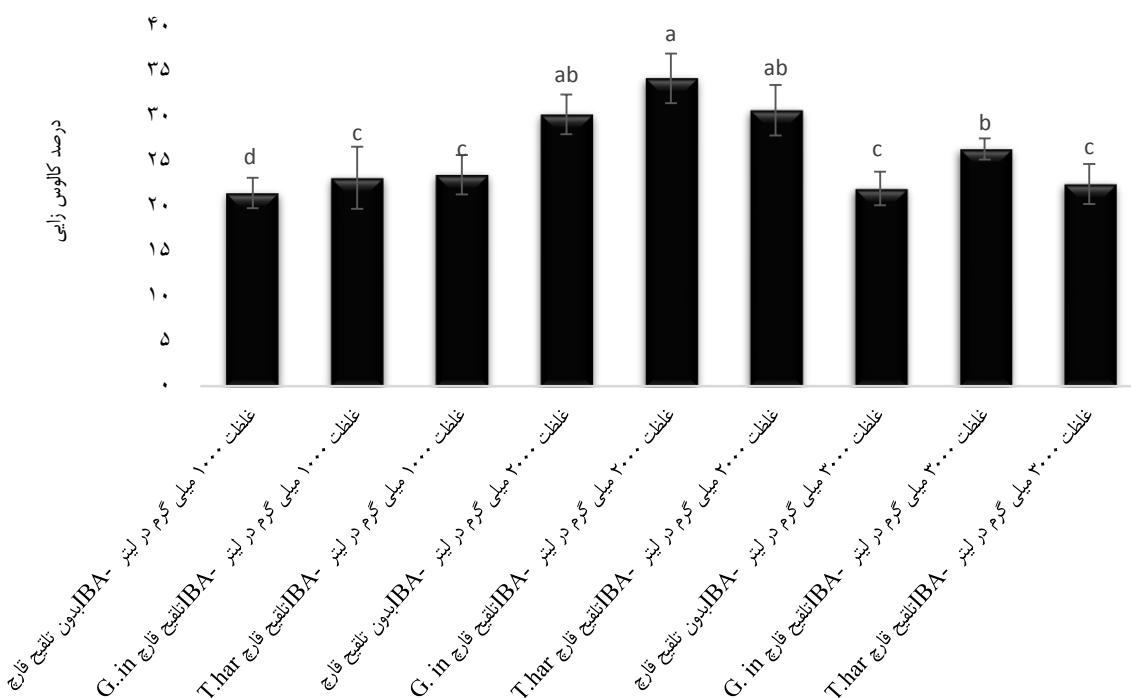
جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی قلمه‌های فندق تحت تأثیر غلظت IBA در ترکیب با قارچ‌های *G. intraradices* و *T. harzianum*
Table 1. Analysis of variance of studied traits of hazelnut cuttings under the influence of IBA concentration in combination with *G. intraradices* and *T. harzianum*

منبع تغییرات	درجه آزادی	کالوس‌زایی (درصد)	ریشه‌زایی (درصد)	تعداد ریشه	وزن خشک ریشه (گرم)	وزن خشک کل نهال (گرم)	طول (سانتی‌متر)	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	کلنیزاسیون (درصد)
غلظت IBA	۴	۳۸/۲۱*	۱۵۴/۱۱*	۲۲۵/۱۱**	۲/۹۳*	۱۴۴/۰۴*	۴۶/۱۱*	۸۹/۱۳*	۱/۲۳ ^{ns}
تلقیح قارچ	۱	۲۳/۰۱*	۶/۱۲*	۱۱/۶۵*	۶/۸۹*	۷/۶۶*	۳۳/۰۵*	۱۱/۱۷*	۷/۵۰*
IBA × تلقیح قارچ	۴	۴/۰۳*	۳/۳۹*	۱۰/۰۱ ^{ns}	۳/۱*	۵/۳۴*	۳/۸۷*	۲/۰۹*	۴/۸۱*
ضرب تغییرات		۹/۵۴	۸/۰۸	۱۳/۲۵	۱۷/۲۱	۱۳/۰۹	۹/۲۶	۱۲/۳۳	۱۰/۰۹

*, **, و^{ns} به ترتیب معنی‌داری در سطح خطای کمتر از ۵، ۱ درصد و عدم معنی‌داری است.

درصد، تعداد ریشه (۲/۵۸ عدد) وزن ریشه (۰/۳۵ گرم)، وزن خشک کل (۳/۳۹ گرم)، طول قلمه با ۱۲/۳۲ سانتی‌متر، کلنیزاسیون (۲۸/۷۸ درصد) (جدول ۲) و سطح برگ با ۲۹/۱۳ سانتی‌متر مربع در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA و در تلقیح قارچ *G. intraradices* مشاهده شد (شکل ۲).

کالوس‌زایی و ریشه‌زایی قلمه‌ها در غلظت‌های صفر و ۵۰۰ میلی‌لیتر IBA، در هیچ یک از تیمارها مشاهده نشد و شروع کالوس‌زایی با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیشترین میزان کالوس‌زایی با ۳۴/۳ درصد (شکل ۱) و ریشه‌زایی با ۲۷/۲



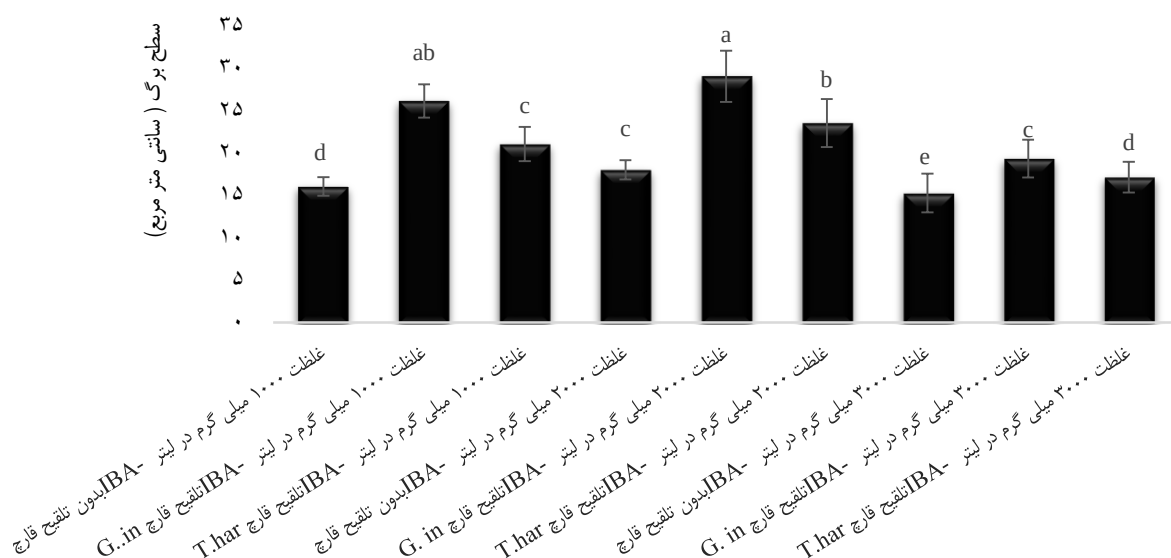
شکل ۱- نمودار میانگین $\pm$ اشتباه معیار اثر متقابل غلظت IBA در تلقیح با قارچ بر درصد کالوس‌زایی قلمه‌های فندق
Figure 1. Mean Graph error of the interaction of IBA concentration in fungal inoculation on the callus formation percentage of hazelnut cuttings

جدول ۲- میانگین $\pm$ اشتباه معیار مشخصه‌های رشد قلمه‌های نیمه‌خشبی تحت تأثیر تیمارهای IBA در ترکیب با قارچ‌های *T. harzianum* و *G. intraradices*

Table 2. Mean $\pm$ standard error of growth characteristics of semi-woody cuttings under the influence of IBA treatments in combination with *G. intraradices* and *T. harzianum*

تیمار	ریشه‌زایی (درصد)	تعداد ریشه	وزن ریشه (گرم)	وزن خشک کل نهال (گرم)	طول نهال (سانتی‌متر)	کلنیزاسیون (درصد)
IBA قارچ						
.	8.5 ± 1.1^a	1.31 ± 0.23	0.21 ± 0.07^c	2.22 ± 0.13^c	7.19 ± 0.64^d	.
<i>G.int</i>	16.8 ± 0.9^d	1.62 ± 0.17	0.29 ± 0.01^{ad}	2.65 ± 0.30^d	9.51 ± 1.33^d	17.0 ± 1.33^{dc}
<i>T.har</i>	10.1 ± 0.8^c	1.28 ± 0.11	0.26 ± 0.03^d	2.75 ± 0.30^d	9.22 ± 1.52^d	14.12 ± 1.64^c
.	19.6 ± 2.3^{ad}	2.01 ± 0.22	0.22 ± 0.03^c	2.71 ± 0.1^d	8.69 ± 0.77^c	.
<i>G.int</i>	27.2 ± 2.3^{ad}	2.58 ± 0.13	0.36 ± 0.05^a	3.29 ± 0.27^a	12.32 ± 1.25^a	28.72 ± 2.56^a
<i>T.har</i>	20.3 ± 1.8^{ad}	2.32 ± 0.25	0.30 ± 0.01^{ad}	3.11 ± 0.33^{ad}	10.65 ± 0.94^{ad}	23.2 ± 2.11^d
.	16.6 ± 2.3^d	2.21 ± 0.12	0.20 ± 0.03^c	2.25 ± 0.23^c	8.76 ± 0.79^c	.
<i>G.int</i>	20.3 ± 2.3^{ad}	2.37 ± 0.23	0.27 ± 0.03^{ad}	3.11 ± 0.20^{ad}	10.21 ± 1.19^{ad}	13.14 ± 2.11^c
<i>T.har</i>	13.5 ± 2.1^{dc}	2.22 ± 0.28	0.23 ± 0.03^c	2.96 ± 0.11^{ad}	9.86 ± 1.13^{ad}	8.56 ± 1.11^d

حروف مختلف در ستون هر پارامتر مبین معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح خطای کمتر از ۵ درصد است.



شکل ۲- نمودار میانگین $\pm$ اشتباه معیار اثر متقابل غلظت IBA در تلقیح قارچ بر سطح برگ قلمه‌های فندق
Figure 2. Mean $\pm$ Graph error of the interaction effect of IBA concentration on fungal inoculation on the leaf surface of hazelnut cuttings

اکسین‌ها، با افزایش غلظت کربوهیدرات‌ها در منطقه ریشه و هیدرولیز آنزیم‌ها بر ریشه‌زایی و تحریک فعالیت مریستمی تأثیر می‌گذارند (۴). البته مطالعات زیادی به سخت ریشه‌زا بودن و عدم امکان ریشه‌زایی قلمه‌های فندق بدون حضور هورمون IBA اشاره داشته‌اند (۶، ۸، ۲۵).

در پژوهش حاضر، شروع مراحل کالوس‌زایی و ریشه‌زایی در قلمه‌های نیمه‌خشبی در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA در ترکیب با تلقیح قارچ مشاهده شد. به عبارت دیگر غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به عنوان یک آغازگر در ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه‌خشبی تیرماه نقش داشت.

در این زمینه Contessa و همکاران (۸) بیشترین درصد ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه‌خشبی ارقام باغی فندق را با ۷۲/۵ درصد در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به دست آوردند. از دلایل آن می‌توان به تفاوت بودن شرایط محیطی پایه‌های

در پژوهش حاضر قلمه‌های شاهد (بدون اعمال هورمون و قارچ) و نیز قلمه‌هایی که با IBA در غلظت‌های صفر و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر همراه با تلقیح قارچ *G. intraradices* و *T. harzianum* تیمار شدند کالوس‌زایی انجام نشد. از دلایل آن می‌توان به کم بودن هورمون‌ها و کوفاکتورهای تولید ریشه در قلمه‌های جنس فندق و افزایش مواد فنلی و لیگنینی شدن بافت‌های استحکامی مانند لایه اسکلرانشیم و کلانشیم که سبب کاهش سریع آب بافت ساقه می‌شود، اشاره کرد (۴). نتایج این پژوهش نشان داد امکان ریشه‌زایی قلمه‌های فندق با تلقیح قارچ‌های *G. intraradices* و *T. harzianum* (بدون کاربرد IBA) به تنهایی وجود ندارد حتی در ترکیب با غلظت پایین IBA (۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) نیز امکان ریشه‌زایی قلمه وجود ندارد. این امر نشان‌دهنده نقش مهم اکسین در تحریک بافت مریستمی انتهای ریشه است (۲۳).

می‌دهد. Santelices و Palfner (۲۴) همچنین نشان دادند تلقیح قلمه‌های فندق با قارچ *Tuber melanosporum* بیشترین تعداد و طول ریشه قلمه‌ها را در پی دارد.

در پژوهش حاضر، ترکیب IBA با هر یک از دو قارچ *G. intraradices* و *T. harzianum* باعث افزایش وزن خشک ریشه در مقایسه با تیمارهای شاهد شد. صفات رویشی نهال‌های قلمه‌رُست نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمار تلقیح قارچ‌ها قرار گرفت به‌طوری که بیشترین مقدار طول نهال‌های فندق در تلقیح با قارچ *G. intraradices* به‌دست آمد که با نتایج Scagel (۲۶) در مورد قلمه‌های *Rose spp.* و احمدلو و همکاران (۲) در مورد قلمه‌های زالزالک ایروانی مطابقت دارد. در این زمینه Scagel و همکاران (۲۶) نشان دادند بیشترین طول و وزن ریشه قلمه‌های *Rose spp.* کاربرد محلول ترکیبی هورمونی ۱/۰۳ گرم در لیتر IBA و ۰/۶۶ گرم در لیتر NAA و تلقیح با قارچ *G. intraradices* را به‌دست آوردند.

ترکیب IBA همراه با تلقیح قارچ *G. intraradices* در قلمه‌های زالزالک ایروانی، مشخصه‌های ریشه‌زایی و رشد را نسبت به شاهد افزایش داد و بیشترین وزن خشک نهال در این تیمار بدست آمد (۲). در همین راستا Santelices و Palfner (۲۵) بیشترین تشکیل کالوس و ریشه‌زایی قلمه‌های نیمه‌خشبی فندق با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌همراه تلقیح قارچ *Tuber melanosporum* به‌دست آوردند. مطالعات Tamasloukht و همکاران (۲۸) در این زمینه نشان داد سیگنال‌هایی بین قارچ و قلمه منتقل می‌شود که متابولیسم قلمه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و تغییرات اولیه در القاء کالوس‌زایی و ریشه‌زایی و توسعه آن و در نهایت رشد نهال انجام می‌گیرد.

در مجموع، می‌توان اظهار داشت که فندق جنگلی از گونه‌های سخت‌ریشه‌زا به‌شمار می‌رود و پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد IBA برای ریشه‌زایی قلمه‌های چوب نیمه خشبی فندق ضروری است. پیشنهاد می‌شود برای تکثیر پایه‌های رویشی آن از طریق قلمه‌های نیمه‌خشبی با منشأ پاجوش یک‌ساله و قرار دادن انتهای قلمه در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA در ترکیب با قارچ *G. intraradices* در تیرماه استفاده شود. در همین راستا لازم است قلمه‌های ریشه‌دار شده از محیط گلخانه خارج و در شرایط بیرون از گلخانه کاشته شوند. با توجه به حصول ۲۷ درصد ریشه‌زایی قلمه‌های فندق در این پژوهش پیشنهاد می‌شود برای افزایش درصد ریشه‌زایی، تیمارهای مختلف هورمونی، منشأ قلمه (ریشه جوش و یا شاخه‌های یک‌ساله)، زمان قلمه‌گیری و بسترهای مختلف کاشت در ترکیب با این قارچ‌ها و نیز با سایر قارچ‌های میکوریزی مورد مطالعه قرار گیرد.

مادری، مقدار و ترکیبات هیدروکربنی، مواد فنولی و لیگنین در پوست قلمه اشاره کرد (۱۵). به‌عبارت دیگر از آنجایی که پایه مادری ارقام‌باغی از شرایط مطلوب محیطی (فاصله کاشت منظم، آبیاری و کوددهی) در مقایسه با گونه جنگلی در رویشگاه‌های طبیعی (رقابت زیاد) برخوردارند، قلمه‌های تهیه شده به‌غلظت‌های پایین IBA پاسخ بهتری داده‌اند.

نتایج نشان داد ترکیب غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA با قارچ *G. intraradices* صفات ریشه‌زایی نسبت به شاهد را افزایش داد که با نتایج Scagel (۲۰۰۱) در مورد قلمه‌های *Rosa spp.* مطابقت دارد. تلقیح همزمان قارچ‌های میکوریزی در ترکیب با اکسین‌ها به‌دلیل تولید اثر سینرژیکی می‌تواند سبب افزایش در القای ریشه و رشد آن باشد (۲۶).

همچنین پژوهشگران بیان کرده‌اند که سیگنال‌هایی بین قارچ و قلمه منتقل می‌شود که متابولیسم قلمه را تغییر می‌دهد. ازجمله این سیگنال‌ها می‌توان به آزاد کردن متابولیت‌هایی مانند دی‌اکسیدکربن از انتهای قلمه اشاره کرد که سبب تحریک تولید اسپورها یا هیف‌های قارچ می‌شود و تغییرات اولیه در القای کالوس، ریشه‌زایی و افزایش وزن ریشه قلمه انجام می‌گیرد (۲۸).

Scagel و همکاران (۲۷) نیز بیشترین وزن خشک ریشه، طول ریشه و تعداد ریشه *Rose spp.* را در محلول هورمونی ترکیبی ۱/۰۳ گرم در لیتر IBA و ۰/۶۶ گرم در لیتر NAA با تلقیح با *G. intraradices* نتیجه گرفتند. قارچ میکوریزی *G. intraradices* در ترکیب با هورمون سبب هیدراته شدن بافت قلمه و حفظ رطوبت آن می‌شود و از این طریق وزن ریشه و رشد آن را افزایش می‌دهد و می‌تواند از طریق ذخیره کربن و تجمع قند محلول در ریشه‌های گیاهان نیز سبب رشد نهال شود.

نتایج نشان داد با افزایش غلظت IBA به ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر، کاهش ریشه‌زایی و به‌دنبال آن کاهش رشد در قلمه‌ها مشاهده شد. به‌عبارت دیگر غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر نقش بازدارنده را بازی کرد. با توجه به اینکه قلمه‌های چوب نرم حاوی برگ هستند بنابراین قادر به ساخت اکسین و کوفاکتورهای ریشه‌زایی بوده در نتیجه وجود مقدار کمی هورمون در مراحل اولیه ریشه‌زایی به افزایش سرعت و درصد ریشه‌زایی منجر می‌شود در حالی که اکسین در غلظت‌های بالا باعث سنتز هورمون اتیلن می‌شود که از رشد ریشه جلوگیری می‌کند و یا با ایجاد مسمومیت باعث مرگ قلمه‌ها شده و ریشه‌زایی را کاهش می‌دهد (۱۹).

تلقیح قلمه‌ها با قارچ *G. intraradices* و *T. harzianum* درصد کلنیزاسیون میکوریزی ریشه نهال‌ها را نسبت به شاهد افزایش داد و این عامل باعث افزایش طول نهال‌ها و نیز سطح برگ آنها در مقایسه با شاهد شد. این نتیجه تعامل ریشه قلمه‌های فندق با قارچ‌های مورد مطالعه را نشان

منابع

1. Abedi, R. 2019. Effect of stand structural characteristics on natural regeneration of *Acer Campestre* L. in Arasbaran forest. *Ecology of Iranian Forests*, 7(19): 46-53.
2. Ahmadloo, F., M. Tabari Kouchaksaraei and Gh.R. Goodarzi. 2016. Effects of IBA, bacterial and mycorrhizal treatments on the rooting of *Crataegus pseudohetophylla* Pojark. Cuttings. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 24(2): 344-355.
3. Aygun, A., V. Erdogan and E. Bozkurt. 2009. Effect of some pre-treatments on seed germination of Turkish Hazel (*Corylus colurna* L.). *Acta Horticulture*, 845: 203-206.
4. Bassil, N.V., W.M. Proebsting, L.M. Moore and D.A. Lightfoot. 1991. Propagation of hazelnut stems cuttings using *Agrobacterium rhizogenes*. *Horticultural Science*, 26(8): 1058-1060.
5. Bombeli, J., G. Zuccherelli, S. Zuccherelli and V. Capaccio. 2002. An investigation of vegetation types and Plantation Structural with Hazelnut, Oak, and Beach in Caldrea, Italy. *The Malaysian Forester*, 66(1): 58-69.
6. Cristofori, V., Y. Roupheal and E. Rugini. 2010. Collection time, cutting age, IBA and putrescine effects on root formation in *Corylus avellana* L. cuttings. *Scientia Horticulturae*, 124(2): 189-194.
7. Clark, J.R., G.E. Hemery and P.S. Savill. 2008. Early growth and form of common walnut (*Juglans regia* L.) in mixture with tree and shrub nurse species in southern England. *Forestry*, 81(5): 631-644.
8. Contessa, C., N. Valentini and R. Botta. 2011. Decreasing the concentration of IBA or combination with ethylene inhibitors improve bud retention in semi-hardwood cuttings of hazelnut cultivar Tonda. *Scientia Horticulturae*, 131: 103-106.
9. Contessa, C., N. Valentini, R. Botta and M. Corte. 2014. Investigation on effects of IBA treatment and ethylene inhibitors on the rooting and bud retention of semi- hardwood cutting from Tonda gentile delle Langhe Hazelnut cuture. *Acta Horticulture*, 1052: 151-156.
10. Delgado, T., R. Malheiro, J.A. Pereira and E. Ramalhosa. 2010. Hazelnut (*Corylus avellana* L.) kernels as a source of antioxidants and their potential in relation to other nuts. *Industrial Crops and Products*, 32: 621-626.
11. Ercisli, S. and P.E. Read. 2001. Propagation of hazelnut by softwood and semi-hardwood cuttings under Nebraska condition. *Acta Horticulturae*, 556: 275-279.
12. Erdogan, V. and D.C. Smith. 2005. Effect of tissue removal and hormone application on rooting of hazelnut layers. *Horticultural Science*, 40: 1457-1460.
13. Ersoy, N. and M. Aydin. 2008. The effect of some hormone and humidity levels on rooting of Mahaleb (*Prunus mahaleb*) soft- wood top cutting. *Suleyman Demirel Universitesi Ziraat Fakultesi Dergisi*, 3(1): 32-41.
14. Fukuda, T., H. Ito and T. Yoshida. 2003. Antioxidant polyphenols from walnuts (*Juglans regia* L.). *Photochemistry*, 63: 795-801.
15. Ghirardello, D., C. Contessa, N. Valentini, G. Zeppa, L. Rolle, V. Gerbi and R. Botta. 2013. Effect of storage conditions on chemical and physical characteristics of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 81: 37- 43.
16. Giovannetti, M. and B. Mosse. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytology*, 84: 489-500.
17. Hartmann, H.T., T. Hudson, D.E. Kester, E.K. Dale, J.R.F.T. Davies and R.L. Geneve. 2002. *Plant Propagation: Principles and Practices*. Prentice-Hall of London, 770 pp.
18. Henrique, A., E.N. Campinhos and S.Z. Depinho. 2006. Effect of plant growth regulators in rooting of *Pinus* cuttings. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49: 189-196.
19. Jull, L.G., S.L. Warren and F.A. Blazich. 1994. Rooting yoshino cryptomeria stem cutting as influenced by growth stage, branch order and IBA treatment. *Scientia Horticulturae*, 29(12): 1532-1535.
20. Kantarci, M. and M. Ayfer. 1994. Propagation of some important Turkish hazelnut varieties by cuttings. *Acta Horticulturae*, 351: 353-360.
21. Mossadegh, H. 1998. *Silviculture*. Tehran University press, 1th Ed., Tehran, 481 pp.
22. Mozaffarian, V. 2004. *Trees and Shrubs of Iran*. Farhang-e Moaser Press, Tehran. 810 pp.
23. Nayagam, J. R. 2015. Sprouting Value Index: A New Concept in Evaluation of Rooting of Cuttings. *Journal of Agricultural Research*, 3(4): 139-142.
24. Sabeti, H. 1994. *Forests, trees and shrubs of Iran*. Tehran, University of science and Technology press: 810 (In Persian).
25. Santelices, R. and G. Palfner. 2010. Controlled Rhizogenesis and Mycorrhiza of Hazelnut (*Corylus avellana*) cutting with Black Truffle (*Tuber melanosporum*). *Chilean journal of Agricultural Research*, 70(2): 204-210.
26. Scagel, C.F. 2001. Cultivar specific effects of mycorrhizal fungi on the rooting of miniature rose cuttings. *Journal of Environmental Horticulture*, 19(1): 15-20.
27. Scagel, C.F. 2004. Changes in cutting composition during early stages of adventitious rooting of miniature rose altered by inoculation with Arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(5): 624-634.

28. Tamasloukht, M.B., N. Séjalon-Delmas, A. Kluever, A. Jaunean, C. Roux and G. Bécard. 2003. Cuttings of the Gisela cherry rootstock. Horticulture Technology, 19(2): 254-259.
29. Phillips, J.M. and D.S. Hayman. 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55: 158-161.
30. Wu, Q.S. 2011. Mycorrhizal efficacy of trifoliolate orange seedlings on alleviating temperature stress. Plant. Soil and Environment, 57(10): 459-464.
31. Wu, Q.R. and X. Xia. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions. Journal of Plant Physiology, 163: 417-425.
32. Yang, Y., Q. Liu, C. Han, Y.Z. Qiao, X.Q. Yao and H.J. Yin. 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. Photosynthetica, 45: 613-619.
33. Yazdian, F. and M.R. Marvi Mohajer. 2001. A study of oak forests in Arasbaran region. Iranian Journal of National Resources, 54(2): 153-165 (In Persian).

Effects of IBA and Fungi Inoculation Treatments on Rooting and Growth traits of the semi-Hardwood cuttings of Hazel (*Corylus Avellana* L.)

Younes Rostamikia¹, Masoud Tabari Kouchaksaraei², Ahmad Asgharzadeh³ and Ahmad Rahmani⁴

1- Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Education and Extension Organization (AREEO), Ardabil, Iran, (Corresponding Author: younesrostamikia@gmail.com)

2- Professor, Department of Forestry, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

3- Research Institute of Soil and Water, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

4- Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: September 10, 2019

Accepted: April 13, 2020

Extended Abstract

Introduction and Objective: Forest hazelnut (*Corylus avellana* L.) is a hardy rooting plant and therefore its propagation by conventional asexual methods is almost impossible. The aim of this study was to determine the effect of auxin and inoculation of mycorrhizal fungi on callus, rooting and vegetative traits of hazelnut cuttings.

Materials and Methods: semi hardwood cuttings were collected on July from Arasbaran forests (Makidi site). Cuttings were firstly treated with concentrations of 0, 500, 1000, 2000 and 3000 mg L⁻¹ IBA and then were inoculated individually with *Glomus intraradices* and *Trichoderma harzianum* fungi. Cuttings were cultured in perlite - sand medium and then they were kept in a mist system equipped greenhouse. After 70 days from planting, the percentage of callusing, rooting, root number, root dry weight, total plant dry weight, length cuttings, leaf area and Colonization were recorded.

Results: The highest callusing (34.3 %), rooting (27.2 %), root number (2.6 n), root dry weight (0.35 g), total plant dry weight (3.39 g), length cutting (12.32 cm), leaf area (29.13 cm²) and Colonization (28.77%) was observed in cuttings that treated with IBA 2000 mg. L⁻¹ and then inoculated with *G. intraradices*. Overall, it was confirmed that the hazelnut is difficult rooted via cuttings and application of IBA growth regulator is necessary for rooting of semi-hardwood cuttings plants.

Conclusion: The best form its vegetative propagation is collecting cuttings from 1-year old cutting off shoots in June and treating by IBA growth regulator (2000 mg L⁻¹) in combination with *Glomus intraradices*.

Keywords: Arasbaran, Auxin, Callousing, Cuttings origin, Leaf area, Mycorrhizal fungi