

## بررسی اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آمینو پورین (BAP) در ترکیب با ایندول بوتیریک اسید (IBA) بر پرآوری گردو چندلر در شرایط درون شیشه‌ای

فائزه ابراهیمی شاقلی<sup>۱</sup>، عباس یداللهی<sup>۱\*</sup>، محمد سادات حسینی<sup>۲</sup> و محبوبه رحیمی<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم باغبانی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه علوم باغبانی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران

### چکیده

رقم چندلر گردو با نام علمی *Juglans regia* L. دارای عملکرد بالا و بیشترین مقاومت در برابر سرمای بهاره در میان ارقام و ژنوتیپ‌های بررسی شده است. با بهره‌گیری از روش کشت بافت، می‌توان گیاهان بالغ و یکنواخت را در بازه زمانی کوتاه و فضای محدود تکثیر و تولید نمود. هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد بنزیل آمینوپورین (BAP) در ترکیب با ایندول بوتیریک اسید (IBA) بر شاخه‌زایی رقم چندلر در شرایط درون شیشه‌ای است. شاخه‌های رشد یافته از قطعات گره‌دار ساقه، پس از استقرار به محیط کشت DKW حاوی دو تنظیم‌کننده رشد، یعنی BAP و IBA، انتقال داده شدند. آزمایش به صورت طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل غلظت‌های مختلف BAP ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر (معادل ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میکرولیتر) در ترکیب با غلظت ثابت IBA ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر (معادل ۱۰۰ میکرولیتر) بودند. پس از گذشت چهار هفته، صفاتی نظیر ارتفاع گیاهچه، تعداد برگ، تعداد گره و تعداد شاخه، مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA بهترین عملکرد را نسبت به سایر غلظت‌ها در شاخص‌هایی مانند: ارتفاع گیاهچه، تعداد برگ و تعداد گره نشان داد. با افزایش غلظت BAP تعداد و طول شاخه‌های گردو چندلر افزایش یافت. تیمار مذکور منجر به تولید بیشترین تعداد شاخه (۳/۵ شاخه در ریزنمونه) و همچنین بیشترین ارتفاع گیاهچه (۴ سانتی‌متر) شد.

واژگان کلیدی: تنظیم‌کننده‌های رشد، کشت درون شیشه‌ای، گردو

### مقدمه

می‌شود که هدف از آن استفاده در مصارف غذایی، صنعتی، دارویی و زینتی است (Vahdati and Hassankhah, 2014). وجود مقادیر بالای پروتئین، اسیدهای چرب و عناصر غذایی

گردو درختی نهان‌دانه است که از مهم‌ترین خشک‌میوه‌های مناطق معتدل محسوب می‌شود و به عنوان گیاهی کاشته

دریافت مقاله: ۱۴۰۴/۰۳/۱۴، بازنگری: ۱۴۰۴/۰۷/۱۱، پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۷، اولین انتشار: ۱۴۰۵/۰۳/۱۲

\* نویسنده مسئول، رایانامه: [yadollah@modares.ac.ir](mailto:yadollah@modares.ac.ir)



حق انتشار این مستند، متعلق به انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران است. © ۱۴۰۳

این مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط بر استناد صحیح به مقاله و با رعایت شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است:

Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

سرشار از مواد فنولی است (Cheniyan *et al.*, 2013) که ریزنمونه‌های آن به شدت مستعد قهوه‌ای شدن هستند و کشت‌بافت آن دشوار است (Tang *et al.*, 2017). عامل اصلی قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها خروج مواد فنولی از ریزنمونه‌ها است که توسط انواع آنزیم‌های اکسیداتیو اکسید می‌شود و کینون‌های قهوه‌ای را تشکیل می‌دهند (Saltveit, 2000).

در بسیاری از مطالعات، از محیط‌های کشت مختلف مانند: DKW (Driver and Kuniyuki, 1984) WPM (Lloyd and Murashige and Skoog, 1962) MS و (Mc Cown, 1980) برای ریزازدیادی گردو بهره گرفته شده است. براساس نتایج محققین، محیط کشت DKW نسبت به دیگر محیط‌ها عملکرد بهتری در کشت گردو در شرایط درون‌شیشه‌ای نشان داده است (Driver and Kuniyuki, 1984; Yegizbayeva *et al.*, 2021). در یک تحقیق دیگر، محیط DKW با غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP به عنوان بهترین محیط برای جوانه‌زنی و تکثیر جنین‌های نارس گردو معرفی شده است (Makara *et al.*, 2010).

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی تأثیرات قابل توجهی بر رشد و توسعه گونه‌های گیاهی دارند. این مواد، شامل هورمون‌های طبیعی و مصنوعی، در تنظیم و کنترل فرآیندهای رشدی و فیزیولوژیکی موجود زنده نقش‌آفرین هستند (سیدطباطبایی و امید، ۱۳۹۰). اکسین‌ها در فرآیندهای تقسیم و رشد طولی ساقه و میان‌گره‌ها نقش دارند (سیدطباطبایی و امید، ۱۳۹۰). همچنین، در تشکیل ریشه نابجا، جلوگیری از رشد طولی ریشه و جوانه‌های جانبی، ریزش برگ‌ها و فرآیندهای مرتبط دخالت می‌کنند (خوشخوی، ۱۳۷۶؛ کافی و همکاران، ۱۳۷۹؛ لسانی و مجتهدی، ۱۳۸۱).

سیتوکینین به‌عنوان مهم‌ترین تنظیم‌کننده رشد، در شاخه‌زایی و تکرار گسترده نقش کلیدی دارد (Carelli and Echeverrigaray, 2002). از اکسین‌ها و سیتوکینین‌های مختلف برای تکثیر گردو بهره گرفته می‌شود، ولی بهترین نتایج معمولاً با استفاده از BAP و IBA حاصل شده است. رایج‌ترین نسبت سیتوکینین به اکسین که مورد استفاده قرار می‌گیرد، ۴/۴۴ به ۰/۰۵ میکرومولار است (Kepene and Kolagasib, 2016).

مفید در مغز گردو، این گیاه را از نظر اهمیت غذایی و اقتصادی، از سوی سازمان خوار و بار جهانی (FAO) به‌عنوان یک گونه استراتژیک در اولویت تولید و مصرف قرار داده است. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و میزان بالای امگا سه موجود در گردو، سبب افزایش تقاضای جهانی برای آن شده است (Anderson *et al.*, 2001; Ros and Mataix, 2006). رقم چندلر از تلاقی رقم پدرو با ژنوتیپ UC56-224 به دست آمده است. این رقم دارای عملکرد بالا و مقاومت قابل توجه در برابر سرمای بهاره است و در میان ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی، بیشترین مقاومت را نشان می‌دهد (شیرالی و همکاران، ۱۴۰۱).

گردو عمدتاً از طریق بذر تکثیر می‌شود و گیاهان حاصل از این فرآیند عموماً هتروزیگوت هستند که این امر معمولاً به کم شدن مقدار تولید، کاهش کیفیت محصولات و طولانی‌شدن دوره‌های نونهالی منجر می‌گردد. چنین دلایلی باعث کاهش اقتصادی این محصول می‌شود (Vahdati *et al.*, 2009). در حال حاضر، گیاهان حاصل از بذر تنها برای تولید پایه استفاده می‌شوند (Hassani *et al.*, 2020) و تنوع زیاد این محصول نیز به کاهش کیفیت آنان دامن می‌زند. در صنعت نهال‌کاری گردو، از تکنیک‌های متعددی برای تکثیر درختان استفاده می‌شود، از جمله تکثیر جنسی، پیوندزدن و ریزازدیادی، اما تنها کشت بافت قادر است مقادیر زیادی را در کم‌ترین زمان ممکن تولید کند و در عین حال، یکنواختی ژنتیکی کلون‌های تکثیرشده را تأمین می‌نماید (Vahdati *et al.*, 2022).

ریزازدیادی روش مناسبی برای تکثیر در مقیاس بزرگ است (Hackett *et al.*, 2009; Vahdati and Aalifar, 2016). اولین گزارش‌های موفقیت‌آمیز در زمینه تکثیر گردو به دهه ۱۹۸۰ باز می‌گردد (Driver and Kuniyuki, 1984; Payghamzadeh and Kazemitabar, 2011; Gruselle *et al.*, 1987). کشت درون‌شیشه‌ای گردو می‌تواند از ریزشاخه‌ها یا جنین‌های گیاهان بالغ آغاز شود (Payghamzadeh and Kazemitabar, 2011). این تکنیک با موفقیت‌های قابل توجهی در تکثیر انبوه ژنوتیپ‌های مختلف گردو، حفاظت و بهبود ژنتیکی، به کار رفته است (Thorpe and Kumar, 1993). گردو

استفاده از BAP در تکثیر شاخساره ضروری است و کاهش غلظت BAP از تشکیل شاخساره جدید جلوگیری میکند (Tabachnik and Kester, 1977). برای رشد گره‌های ساقه در گردو از محیط کشت DKW حاوی BAP (۱ میلی‌گرم بر لیتر)، IBA (۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) و فیتاژل (۲/۵ گرم بر لیتر) بهترین نتایج را داشت (Kayumov, 2019).

ریزازدیادی گردو در محیط درون‌شیشه‌ای از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، زیرا امکان تولید انبوه و کنترل دقیق عوامل محیطی را فراهم می‌آورد، که این امر منجر به افزایش کیفیت، یکنواختی و سلامت گیاهان می‌گردد. روش‌های ریزازدیادی سرعت تولید پایه‌های اصلاح‌شده و سالم را تسریع کرده و نقش مهمی در توسعه و اصلاح نژادهای گردو ایفا می‌نماید. علاوه بر این، تقلیل نیاز به فضای فیزیکی بزرگ و بهره‌وری بهینه از منابع، موجب کاهش هزینه‌های اجرایی و تسهیل عرضه گسترده و سریع‌تر نهال‌ها در بازارهای هدف می‌شود.

هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر غلظت‌های بهینه BAP در ترکیب با IBA بر پرآوری رقم چندلر گردو در محیط درون‌شیشه‌ای است. این مطالعه می‌کوشد با شناسایی بهترین غلظت‌ها، گیاهچه‌های سالم‌تر و با رشد سریع‌تری از گردو رقم چندلر را تولید کند که در نهایت، به توسعه فناوری‌های نوین در پرآوری گردو، کاهش زمان و هزینه‌های تولید و افزایش بهره‌وری در تولید پایه‌ها و نهال‌های این رقم منجر شود.

#### مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در آزمایشگاه کشت‌بافت گیاهی گروه علوم باغبانی دانشگاه جیرفت انجام شد. قطعات گره‌دار ساقه، پس از ضدعفونی با الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه (ابراهیمی و همکاران، ۱۴۰۲)، به محیط کشت DKW حاوی ۳۰ گرم ساکارز، ۵/۵ گرم ژلگان و pH ۵/۷ منتقل شدند (Vahdati et al., 2009; Hassankhah et al., 2014). قطعات ساقه دارای جوانه جانبی در محیط کشت‌هایی که دارای ترکیبی

کاربرد BAP به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد در کشت‌بافت گیاهان مختلف، نشان داد که این هورمون می‌تواند به طور قابل توجهی تعداد جوانه‌ها و رشد آنها را افزایش دهد (Ahmed et al., 2024). همچنین به عنوان یکی از هورمون‌های کلیدی در بهینه‌سازی شرایط کشت‌بافت برای تولید گیاهان جدید معرفی شده است. مطالعه‌ای، نشان داد که نسبت مناسب BAP به سایر هورمون‌ها می‌تواند به بهبود نرخ تکثیر کمک کند (Taghavi et al., 2021). در تحقیق دیگری، غلظت‌های BAP و IBA به طور همزمان مورد استفاده قرار گرفتند و نتایج نشان داد که استفاده همزمان این دو هورمون تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی و رشد گیاهان دارد (Payghamzadeh and Kazemitabar, 2010). این غلظت‌ها و ترکیبات می‌توانند بسته به نوع و شرایط کشت‌بافت متفاوت باشند، اما به‌طور کلی، غلظت‌های بین ۰/۵ تا ۲ میلی‌گرم بر لیتر BAP معمولاً برای بهینه‌سازی رشد و تکثیر گیاهان گردو استفاده می‌شوند.

در کشت‌بافت گردو، غلظت‌های مختلف BAP برای بهینه‌سازی رشد و تکثیر گیاهان استفاده می‌شود. در پژوهشی دیگر، غلظت‌های مختلف BAP (شامل صفر، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) مورد بررسی قرار گرفت. بهترین درصد رشد در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP به دست آمد (Toosi and Dilmagani, 2010). BAP در ترکیب با IBA در غلظت‌های مختلف به‌ویژه، غلظت ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA برای بهبود رشد و تکثیر گردو در شرایط کشت‌بافت مؤثر شناخته شده است (Payghamzadeh and Kazemitabar, 2010).

نتایج تحقیقی نشان داد که ۸/۹ میکرومولار BAP بهترین غلظت برای القای جوانه جانبی در گردو است (پیغام‌زاده و کاظمی تبار، ۱۳۹۰). افزایش غلظت BAP باعث افزایش سرعت رشد گیاهان و در مواردی باعث چند شاخه‌ای شدن می‌گردد، اما در عین حال منجر به کاهش طول گیاهچه‌ها می‌شود (Vahdati et al., 2022). بنابراین، برای تکثیر جوانه‌ها، حضور هورمون BAP در ترکیب محیط کشت برای گردو ضروری است.

به‌ویژه، غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP به عنوان یکی از بهترین غلظت‌ها برای القای جوانه و رشد در نظر گرفته شده است (Payghamzadeh and Kazemitabar, 2010) (شکل ۱).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، بیشترین تعداد گره مربوط به ترکیب هورمون‌های BAP و IBA با غلظت‌های ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA + ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP بود. بین این تیمار و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. پس بیشترین تعداد گره مربوط به تیمار ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP بوده و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نشان ندادند. استفاده از غلظت‌های مختلف BAP می‌تواند تأثیرات متفاوتی بر روی رشد جوانه‌ها و تشکیل کالوس در گیاهان مختلف داشته باشد. به‌ویژه، غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP به‌طور قابل توجهی بر روی تعداد جوانه‌های تولیدشده تأثیر مثبت داشتند (Rezaei et al., 2023) (شکل ۲).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین تعداد شاخه مربوط به ترکیب هورمون‌های BAP و IBA با غلظت‌های ۰/۱ + ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر بود. استفاده از غلظت‌های مختلف BAP می‌تواند تأثیرات متفاوتی بر روی رشد جوانه‌ها و تشکیل کالوس در گیاهان مختلف داشته باشد. به‌ویژه، غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP به‌طور قابل توجهی بر روی تعداد جوانه‌های تولیدشده تأثیر مثبت داشته است (Rezaei et al., 2023).

همچنین، تحقیقی به بررسی تأثیر ترکیب BAP و IBA بر رشد جوانه‌های گردو پرداخته است. نتایج نشان داد که ترکیب مناسب این دو هورمون می‌تواند به بهبود نرخ تکثیر و رشد جوانه‌ها کمک کند (Eshbekova et al., 2024). تأثیر BAP بر روی تکثیر گیاهان گردو بررسی و مشخص شد که غلظت‌های بالاتر BAP می‌تواند به افزایش تعداد جوانه‌ها و رشد آن‌ها منجر شود، اما باید توجه داشت که غلظت‌های بسیار بالا ممکن است اثرات منفی داشته باشد (Taghavi et al., 2021) (شکل ۳).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین تعداد برگ

از غلظت‌های مختلف BAP (۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر) و IBA ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر بودند، در شرایط استریل کشت شدند. نمونه‌ها در اتاقک رشد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

صفتی از جمله ارتفاع گیاهچه، تعداد برگ، تعداد گره و تعداد شاخه مورد ارزیابی قرار گرفت. شاخص ارتفاع گیاهچه با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد، شاخص‌های دیگر از جمله تعداد برگ، تعداد گره و تعداد شاخه نیز ارزیابی شدند. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱، ترسیم جداول با نرم‌افزار Excel و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد استفاده شد.

### نتایج و بحث

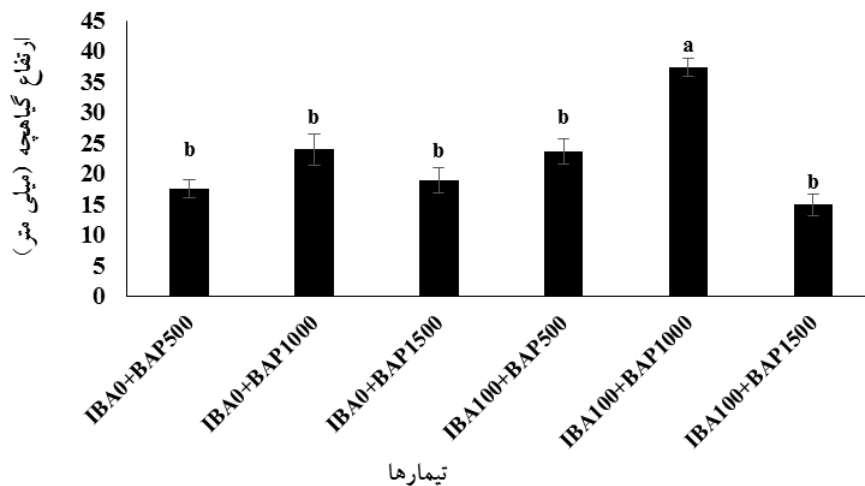
طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر غلظت‌های مورد آزمون IBA در سطح احتمال یک درصد بر همه شاخص‌های مورد آزمون (ارتفاع گیاهچه، تعداد گره، تعداد برگ و تعداد شاخه) اثر معنی‌دار داشت. تیمار BAP بر شاخص ارتفاع گیاهچه اثر معنی‌دار داشت. همچنین، اثر غلظت‌های مختلف BAP بر شاخص تعداد برگ و تعداد شاخه در سطح پنج درصد معنی‌دار بود و از طرفی، این تیمار بر تعداد گره تأثیر معنی‌داری را نشان نداد. اثر متقابل IBA و BAP بر ارتفاع گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و بر تعداد گره و تعداد برگ فاقد اثر معنی‌دار بود و بر صفت تعداد شاخه اثر معنی‌دار داشت (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیشترین ارتفاع گیاهچه (۳/۷ سانتی‌متر) مربوط به ترکیب هورمون‌های IBA و BAP به ترتیب با غلظت‌های ۰/۱ + ۱ میلی‌گرم بر لیتر بود. بین این تیمار و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. پس بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به تیمار ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP بوده و سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نشان ندادند. یک مطالعه نشان داد که غلظت‌های مختلف BAP از جمله ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر تأثیرات متفاوتی بر روی جوانه‌زنی و رشد گیاهان گردو دارد.

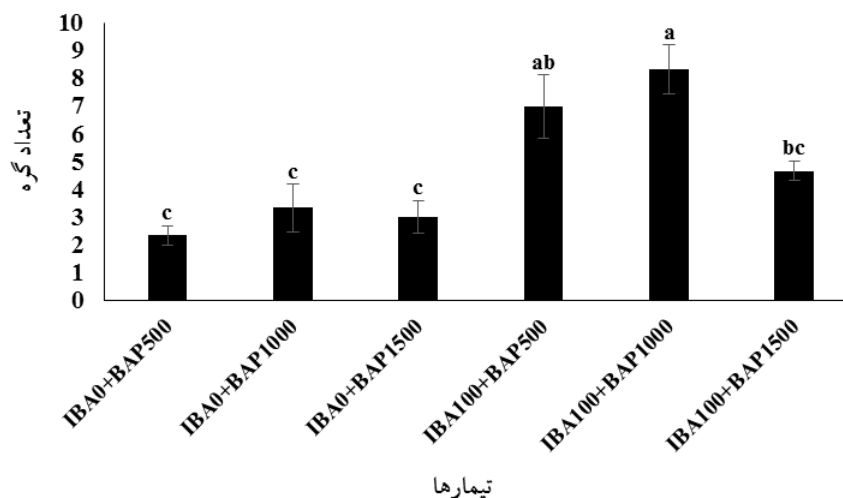
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف BAP در ترکیب با IBA (۰/۱ میلی گرم بر لیتر) بر پرآوری گردو چندلر

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		ارتفاع گیاه	تعداد گره	تعداد برگ
این‌دول بوتریک اسید (IBA)	۱	۱۱۷/۵۵**	۶۴/۲۲**	۱۹۶۳/۵۵**
بنزید آمینو پورین (BAP)	۲	۳۰۰/۲۲**	۶/۰۵ <sup>ns</sup>	۲۴۷/۷۲*
IBA×BAP	۲	۱۱۳/۵۵**	۵/۰۵ <sup>ns</sup>	۱۵۲/۳۸ <sup>ns</sup>
خطای آزمایشی	۱۲	۱۱/۰۰	۱/۷۲	۴۵/۸۳
ضریب تغییرات (درصد)		۱۴/۵۶	۲۷/۴۶	۲۸/۳۴
		۴۳/۸۸		

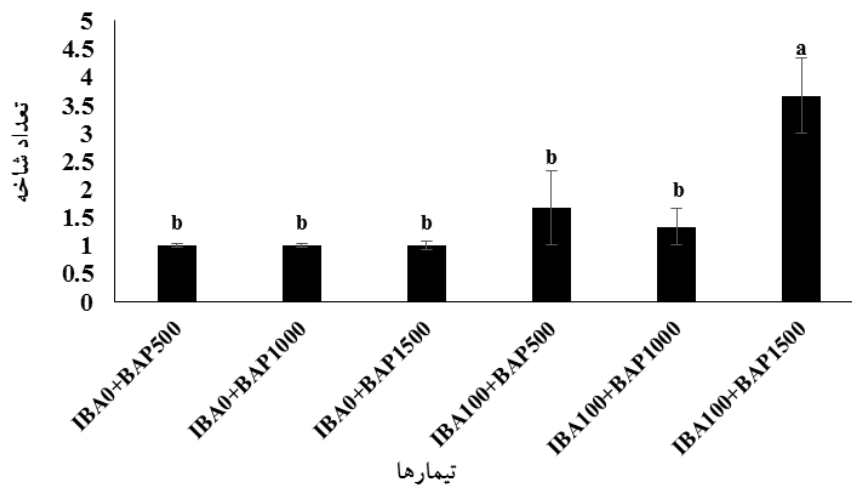
ns فاقد اختلاف معنی‌دار، \*\* اختلاف بسیار معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و \* اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد (آزمون دانکن)



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف BAP در ترکیب با IBA (۰/۱ میلی گرم بر لیتر) بر ارتفاع گیاهچه (میلی متر) گردو چندلر در شرایط درون شیشه‌ای



شکل ۲- اثر غلظت‌های مختلف هورمون‌های BAP در ترکیب با IBA (۰/۱ میلی گرم بر لیتر) بر تعداد گره گردو چندلر در شرایط درون شیشه‌ای



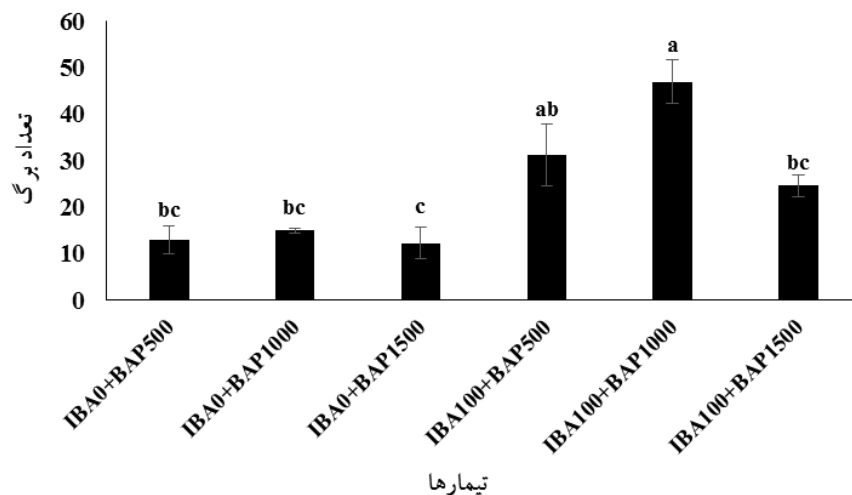
شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف BAP در ترکیب با IBA (۰/۱ میلی گرم بر لیتر) بر تعداد شاخه گردو چندلر در شرایط درون شیشه‌ای

گیاهی می‌تواند تأثیرات قابل توجهی بر روی رشد و تکثیر این گیاه داشته باشد. یک مطالعه نشان داد که غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP می‌تواند به بهبود درصد جوانه‌زنی و رشد جوانه‌ها کمک کند. این غلظت به عنوان یکی از بهترین غلظت‌ها برای القای جوانه در کشت بافت گردو شناخته شده است. یک مطالعه نشان داد که استفاده از ۱ میلی گرم بر لیتر BAP به همراه ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر IBA منجر به بالاترین درصد جوانه‌زنی و تکثیر در جنین‌های نارس گردو می‌شود. این ترکیب به طور قابل توجهی بر رشد جوانه‌ها و ریشه‌ها تأثیر مثبت دارد (Payghamzadeh and Kazemitabar, 2010).

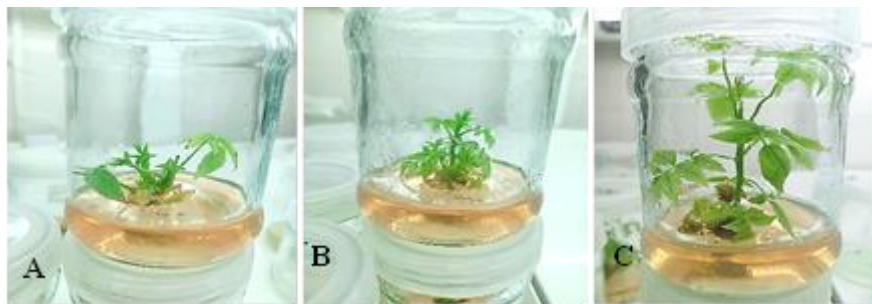
در تحقیقی دیگر، غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر BAP به عنوان یکی از بهترین غلظت‌ها برای القای جوانه و رشد در کشت بافت گردو شناسایی شد. این غلظت باعث افزایش تعداد جوانه‌ها و بهبود کیفیت گیاهان تولیدشده در شرایط کشت بافت گردو گردید (Toosi and Dilmagani, 2010). همچنین، در مقایسه با غلظت‌های پایین‌تر BAP، غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر به طور قابل توجهی تأثیر بیشتری بر روی رشد و تکثیر گیاهان داشت. این نشان‌دهنده اهمیت غلظت مناسب BAP در بهبود عملکرد کشت بافت گردو است (Vahdati et al., 2017). محیط کشت DKW حاوی BA (یک میلی گرم بر لیتر) و IBA (۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر) برای القای شاخه‌دهی به قطعات گرده‌دار گردو بهترین نتیجه را نشان داد (Saeedi et al., 2023).

مربوط به ترکیب هورمون‌های IBA و BAP به ترتیب با غلظت‌های ۰/۱ + ۱ میلی گرم بر لیتر بود. ترکیب ۰/۱ + ۰/۵ میلی گرم بر لیتر در مرتبه بعد قرار گرفت. کمترین تعداد برگ مربوط به غلظت‌های ۰/۱ + ۱/۵ میلی گرم بر لیتر بود (شکل ۴). با افزایش غلظت هورمون BAP، ارتفاع ساقه و تعداد ساقه گیاهچه گردو افزایش می‌یابد (شکل ۵) و هنگامی که غلظت BAP (۲ میلی گرم بر لیتر) بود میانگین طول ساقه ۴/۵ سانتی متر به دست آمد. برخی محققان بیشترین ارتفاع گیاهچه گردو را به ترتیب ۴/۴ و ۳/۸ سانتی متر گزارش نمودند. نتایج پژوهش حاضر، هم‌راستا با نتایج Eshbekova و همکاران (۲۰۲۴)، Yeshiwas و همکاران (۲۰۱۵) و Kepenek و Kolagasi (۲۰۱۶) است.

در رابطه با شاخه‌زایی، پیغام‌زاده و همکاران (۱۳۹۰) دو غلظت BAP به میزان ۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر را به کار گرفتند و مناسب‌ترین محیط کشت برای پرآوری گردو را DKW و بهترین غلظت BAP را ۱ میلی گرم بر لیتر گزارش کردند. در مقایسه با غلظت‌های پایین‌تر BAP، غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر به طور قابل توجهی تأثیر بیشتری بر روی رشد و تکثیر گیاهان داشت. این نشان‌دهنده اهمیت غلظت مناسب BAP در بهبود عملکرد کشت بافت گردو است (Vahdati et al., 2017). استفاده از غلظت ۵۰۰ میکرو لیتر (معادل ۰/۵ میلی گرم بر لیتر) BAP در کشت بافت گردو به عنوان یک تنظیم‌کننده رشد



شکل ۴- اثر غلظت‌های مختلف BAP در ترکیب با IBA (۰/۱ میلی گرم بر لیتر) بر تعداد برگ گردو چندلر در شرایط درون شیشه‌ای



شکل ۵- اثر غلظت‌های مختلف BAP در ترکیب با IBA (۰/۱ میلی گرم بر لیتر) بر پرآوری گیاه گردو چندلر در شرایط درون شیشه‌ای.

A: فاقد IBA + ۰/۵ میلی گرم بر لیتر BAP. B: ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IBA + ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP) و C: ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IBA + ۱ میلی گرم بر لیتر BAP)

دست آمد (Eshbekova et al., 2024).

در برخی از مطالعات، ترکیب BAP با سایر هورمون‌ها مانند اسید ایندول-۳-استیک (IAA) می‌تواند به بهبود نرخ جوانه‌زنی و رشد کمک کند. این ترکیب‌ها می‌توانند اثرات هم‌افزایی داشته باشند که به بهبود رشد گیاهان کمک می‌کند (Nuraini et al., 2022). در این پژوهش، صفاتی از جمله ارتفاع ساقه، تعداد گره، تعداد برگ و تعداد شاخه ارزیابی شد، در بیشتر صفات ترکیب غلظت‌های ۱ میلی گرم بر لیتر BAP با ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IBA عملکرد بهتری را نشان داد.

#### نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که غلظت ۱ میلی گرم بر لیتر

در پژوهشی دیگر، از هر ریزنمونه گردو چندلر در محیط کشت DKW غنی‌شده با BAP (یک میلی گرم بر لیتر) و IBA (۰/۱ میلی گرم بر لیتر)، یک تا پنج شاخه به‌دست آمد و میانگین تعداد شاخه‌ها ۲/۳۸ و طول متوسط شاخه‌ها ۳/۱۵ سانتی‌متر گزارش شد (Kayumov, 2019).

هورمون BAP نقش اساسی در باززایی اندام هوایی جدید در شرایط آزمایشگاهی در گونه‌های مختلف گیاهی دارد که در پژوهش حاضر چنین نتایجی مشاهده شد. گزارشی در مورد اثر BAP بر طول ساقه، تعداد ساقه انجام گرفت، نتایج نشان داد که خصوصیات صفات رویشی گیاهچه گردو با افزایش غلظت هورمون، افزایش می‌یابند. همچنین، هنگامی که غلظت BAP (دو میلی گرم بر لیتر) بود میانگین تعداد ساقه‌ها ۲/۸ و ۳/۵ به

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از دانشگاه تربیت مدرس و دانشگاه جیرفت به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی از پژوهش حاضر تشکر و قدردانی می‌کند.

BAP + ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA برای شاخه‌زایی ریزنمونه‌های گردو چندلر مناسب‌تر از سایر غلظت‌های مورد آزمون این دو تنظیم‌کننده رشد بود. با افزایش غلظت BAP تعداد و طول شاخه‌های گردو چندلر افزایش یافت. تیمار مذکور منجر به تولید بیشترین تعداد شاخه (۳/۵ شاخه در ریزنمونه) و همچنین بیشترین طول شاخه (۴ سانتی‌متر) شد.

## منابع

- ابراهیمی شاقلی، فائزه، یداللهی، عباس، سادات حسینی، محمد، و رحیمی، محبوبه (۱۴۰۲). تأثیر اتانول و هیپوکلریت سدیم بر از بین بردن آلودگی سطحی ریزنمونه‌های درخت گردو (*Juglans regia* L.) در شرایط درون شیشه‌ای. دومین همایش ملی گیاهان دارویی، کارآفرینی و تجاری‌سازی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران. <https://civilica.com/doc/2007049>
- پیغام‌زاده، کمال، کاظمی تبار، سیدکمال، و امیری، امیرمحتشم (۱۳۹۰). اثر دو نوع محیط‌کشت، اسید جیبرلیک و چند فاکتور فیزیکی بر جوانه‌زنی جنین‌های گردوی ایرانی (*Juglans regia* L.). *علوم باغبانی*، ۲۵(۱). <https://doi.org/10.22067/jhorts4.v1390i1.9748>
- خوشخوی، مرتضی (۱۳۷۶). گیاه‌افزایی (ازدیاد نباتات) مابانی و روش‌ها. جلد ۲. بازنگری پنجم. انتشارات دانشگاه شیراز.
- سیدطباطبایی، بدرالدین ابراهیم، و امیدی، منصور (۱۳۹۰). کشت بافت و سلول گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران.
- شیرالی، کوثر، پورمحمدی، پیام، و عالمی سعید، خلیل (۱۴۰۱). بررسی تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر روی کالوس‌زایی و اندام‌زایی گردو (*Juglans regia* L.) رقم چندلر. *تولید و ژنتیک گیاهی*، ۳(۲)، ۳۰۵-۳۱۶. <https://sid.ir/paper/986117/fa> SID.
- کافی، محمد، زند، اسکندر، کامکار، بهنام، شریفی، حمیدرضا، و گلدانی، مرتضی (۱۳۷۹). فیزیولوژی گیاهی. جلد ۲. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- لسانی، حسین، و مجتهدی، مسعود (۱۳۸۱). مابانی فیزیولوژی گیاهی. چاپ ششم، انتشارات دانشگاه تهران.
- Ahmed, Z. S., Salim, A. M., Al-Dur, E. T. H., Al-Chalabi, A. T. M., Sanam, M. A., Dargiri, S. A., & Meftahizade, H. (2024). Optimizing micropropagation and microcorm induction in saffron (*Crocus sativus* L.) using PGRs (NAA and BAP) and elicitor salicylic acid. *BMC Plant Biology*, 25. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06900-4>
- Anderson, K. J., Teuber, S. S., Gobeille, A., Cremin, P., Waterhouse, A. L., & Steinberg, F. M. (2001). Walnut polyphenolics inhibit in vitro human plasma and LDL oxidation. *Journal of Nutrition*, 131, 2837-2842. <https://doi.org/10.1093/jn/131.11.2837>
- Carelli, B. P., & Echeverrigaray, S. (2002). An improved system for the in vitro propagation of rose cultivars. *Scientia Horticulturae*, 92, 69-74. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(01\)00280-1](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(01)00280-1)
- Cheniany, M., Ebrahimzadeh, H., Vahdati, K., Preece, J. E., Masoudi-Nejad, A., & Mirmasoumi, M. (2012). Content of different groups of phenolic compounds in microshoots of *Juglans regia* cultivars and studies on antioxidant activity. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(2), 443-450. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-1087-7>
- Driver, J., & Kuniyuki, A. H. (1984). In vitro propagation of Paradox walnut rootstock. *HortScience*, 19(4), 507-509. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.19.4.507>
- Eshbekova, G., Haydarov, I., Kadirov, B., & Ismailov, Z. (2024). Influence of different factors on in vitro multiplication and rooting of three local *Juglans regia* L. genotypes in Uzbekistan. *Plant Science Today*. <https://doi.org/10.14719/pst.2915>
- Gruselle, R., Badia, N., & Boxus, P. (1987). Walnut micropropagation: First results. *Acta Horticulturae*, 212, 511-516. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1987.212.78>
- Hacket, W. P., Leslie, C., & Mc Granahan, G. (2009). Acclimatization of in vitro derived plantlets of walnut rootstock clones. *Acta Horticulturae*, 812, 427-430. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.812.60>
- Hassani, D., Sarikhani, S., Dastjerdi, R., Mahmoudi, R., Soleimani, A., & Vahdati, K. (2020). Situation and recent trends on cultivation and breeding of Persian walnut in Iran. *Scientific Horticulture*, 270, 109369.

- <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109369> Get rights and content
- Hassankhah, A., Vahdati, K., Lotfi, M., Mirmasoumi, M., Preece, J., & Assareh, M. H. (2014). Effects of ventilation and sucrose concentration on the growth and plantlet anatomy of micripropagated *Persian ealnut* plants. *International Journal Horticultural Science and Technology*, 2, 111-120. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2014.52781>
- Kayumov, A. A. (2019). The improvement of micropropagation techniques of chandler walnut. Academy of Science of Uzbekistan, 62<sup>nd</sup> International Conference for Students of Physics and Natural Sciences at: Vilnius. Uzbekistan.
- Kepenek, K., & Kolagasi, Z. (2016). Micropropagation of walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Physica Polonica*, 130(1), 150-156. <https://doi.org/10.12693/APhysPolA.130.150>
- Lloyd, G., & Mccown, B. H. (1980). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. <https://www.semanticscholar.org/paper/f1cdf01bb696173218418f216784a36dad40a22f>
- Makara, A. M., Rubaihayo, P. R., & Magambo, M. J. S. (2010). Carry-over effect of Thidiazuron on banana in vitro proliferation at different culture cycles and light incubation conditions. *African Journal of Biotechnology*, 9, 3079-3085.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco. *Tissue Cultures Physiole Plant*, 15, 473. <https://doi.org/10.1111/j.13993054.1962.tb08052.x>
- Nuraini, A., Aprilia, E., Murgayanti, M., & Wulandari, A. P. (2022). Pengaruh konsentrasi Benzylaminopurine terhadap pertumbuhan eksplan tunas aksilar rami klon lokal Wonosobo secara in vitro. *Kultivasi*. <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v21i2.36540>
- Payghamzadeh, K., & Kazemitabar, S. K. (2010). The effects of BAP, IBA and genotypes on in vigermination immature walnut embryos. *International Journal of Plant Production*, 4, 309-322. <https://doi.org/10.22069/IJPP.2012.714>
- Payghamzadeh, K., & Kazemitabar, S. K. (2011). In vitro propagation of walnut -A review. *African Journal of Biotechnology*, 10(3), 290-311. <https://doi.org/10.5897/AJB10.324>
- Rezaei, H., Mirzaie-asl, A., Abdollahi, M. R., & Tohidfar, M. (2023). Enhancing petunia tissue culture efficiency with machine learning A pathway to improved callogenesis. *Plos One*, 18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293754>
- Ros, E., & Mataix, J. (2006). Fatty acid composition of nuts-implications for cardiovascular health. *British Journal of Nutrition*, 96(S2), S29-S35. <https://doi.org/10.1017/bjn20061861>
- Saeedi, S. A., Vahdati, K., Sarikhani, S., Daylami, S. D., Davarzani, M., Gruda, N. S., & Aliniaiefard, S. (2023). Growth, photosynthetic function, and stomatal characteristics of Persian walnut explants in vitro under different light spectra. *Frontiers in Plant Science*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1292045>
- Saltveit, M. E. (2000). Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biology and Technology*, 21, 61-69. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(00\)00165-4](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00165-4)
- Tabachnik, L., & Kester, D. (1977). Shoot culture for almond and almond-peach hybrid clones in vitro. *Hort Science*. <https://doi.org/10.21273/hortsci.12.6.545>
- Taghavi, T., Rahemi, A., Rafie, R., & Kering, M. K. (2021). Optimizing turmeric tissue culture, testing different media and a plant growth regulator matrix. *Hort Technology*. <https://doi.org/10.21273/horttech04890-21>
- Tang, R., Liu, J., Liu, J., Ou, Z., & Chen, P. (2017). Walnut in China: Research advances in grafting propagation techniques. *Journal of Agriculture*, 7, 60-65. <https://doi.org/10.11923/j.issn.2095-4050.cjas17050004>
- Thorpe, T. A., & Kumar, P. P. (1993). Micropropagation of Woody Plants. Kluwer Academic, Netherlands. [https://doi.org/10.1007/1-4020-3213-7\\_13](https://doi.org/10.1007/1-4020-3213-7_13)
- Toosi, S., & Dilmagani, K. (2010). Proliferation of *Juglans regia* L. by in vitro embryo culture. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 1, 1-7. <https://www.semanticscholar.org/paper/27c4a44e33807eb4947b81526f256da9b07fe074>
- Vahdati, K., & Hassankhah, A. (2014). Developing a photomixotrophic system for micropropagation of Persian walnut. *Acta Horticulturae*, 181-187. <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2014.1050.23>
- Vahdati, K., & Aalifar, M. (2016). Development and extension of walnut propagation in Iran. *Acta Horticulturae*, 1139, 467-474. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1139.80>
- Vahdati, K., Maleki Asayesh, Z., Aliniaiefard, S., & Leslie, C. (2017). Improvement of ex vitro desiccation through elevation of CO<sub>2</sub> concentration in the atmosphere of culture vessels during in vitro growth. *Hortscience*, 52, 1006-1012. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI11922-17>
- Vahdati, K., Razaee, R., & Mirmasoomi, M. (2009). Micropropagation of some dwarf and early mature walnut genotypes. *Biotech*, 8(1), 171-175. <http://dx.doi.org/10.3923/biotech.2009.171.175>
- Vahdati, K., Sadeghi-Majd, R., Sestras, A. F., Licea-Moreno, R. J., Peixe, A., & Sestras, R. E. (2022). Clonal propagation of walnuts (*Juglans* spp.): A review on evolution from traditional techniques to application of biotechnology. *Plants*, 11, 30-40. <https://doi.org/10.3390/plants11223040>
- Yegizbayeva, T. K., Garcia-Garcia, S., Yausheva, T. V., Kairova, M., Apushev, A. K., Oleichenko, S. N., & Licea-Moreno, R. J. (2021). Unraveling factors affecting micropropagation of four Persian walnut varieties. *Agronomy*, 11(7), 14-17. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071417>
- Yeshiwas, T., Alemayehu, M., & Alemayehu, G. (2015). Effects of indole butyric acid (IBA) and stem cuttings on growth of stenting-propagated rose in Bahir Dar, Ethiopia. *World Journal of Agricultural Sciences*. 11(4), 191-197.

<https://doi.org/10.5829/idosi.wjas.2015.11.4.1855>

## Studying the effect of different concentrations of benzyl amino purine (BAP) in combination with indole butyric acid (IBA) on Chandler walnut (*Juglans regia*) multiplication under in vitro conditions

Faezeh Ebrahimi Shagholi<sup>1</sup>, Abbas Yadollahi<sup>1\*</sup>, Mohammad Sadat-Hosseini<sup>2</sup>, Mahboubeh Rahimi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Horticultural Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Horticultural Sciences, Jiroft University, Jiroft, Iran

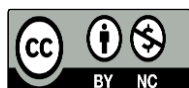
### Abstract

The 'Chandler' walnut cultivar (*Juglans regia* L.) is known for its high yield and superior tolerance to spring frost compared to other evaluated cultivars and genotypes. Through tissue culture techniques, it is possible to propagate uniform and mature plants in a short period and within a limited space. The objective of the current study was to investigate the effect of various concentrations of the plant growth regulator, including benzylaminopurine (BAP) in combination with indole-3-butyric acid (IBA), on the in vitro shoot proliferation of the Chandler cultivar. Nodal segments were cultured on DKW medium supplemented with BAP and IBA. The experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with three replications. Treatments included three concentrations of BAP: 0.5, 1, and 1.5 milligrams per liter (equivalent to 500, 1000, and 1500  $\mu$ L) combined with a constant concentration of IBA of 0.1 milligrams per liter (equivalent to 100  $\mu$ L). After four weeks, plantlet height, number of leaves, number of nodes, and number of shoots were assessed. The results indicated that the treatment containing 1 milligram per liter of BAP and 0.1 milligrams per liter of IBA yielded the best performance across several parameters, including plantlet height, leaf number, and node number. Increasing BAP concentration led to an increase in both the number and length of shoots in the Chandler cultivar. This specific treatment resulted in the highest number of shoots (3.5 shoots per explant) and the highest plantlets (4 cm).

**Keywords:** Growth regulators, In vitro cultivation, Walnut

Received: Jun. 04, 2025; Revised: Oct. 03, 2025; Accepted: Dec. 08, 2025; Published Online: June. 02, 2026

\*Corresponding Author: yadollah@modares.ac.ir



Copyright © 2025 Iranian Society of Plant Physiology, Published by Isfahan University of Technology press. This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited