Effect of cytokine treatment on spring scion stimulation of Taracco scion on Citromelo rootstock

Introduction

Bud dormancy is one of the important issues in planting and cultivation of fruit trees that needs to be addressed in many trees such as orange (*Citrus sinensis*). Bud dormancy involves cessation of horizontal and vertical growth, lack of budbreak, and reduction in plant activity during cold weather. One of the commercial orange cultivars is Tarocco blood orange which compared to older blood cultivars, is larger in size and with lower alternate bearing has higher marketability. The nursery trees of this cultivar are grafted on sour orange, citrange, and vigorous rootstock of citrumelo (a hybrid between trifoliate orange and grapefruit) (Talon et al, 2020). One of the major problems of nurserymen in spring grafting of Tarocco cultivar on vigorous citrumelo rootstock is the failure of about 50 percent of buds to break compared to other cultivars on the same rootstock and other similar rootstocks. This unwanted dormancy leads to a one-year delay in the nursery tree production process and unnecessary occupation of nursery space. Given the commercial importance of blood orange and the adverse effects of bud dormancy on yield and fruit lifetime, solutions are used to control and overcome this problem. One of the effective solutions is the application of cytokinins which can stimulate the growth of graft buds (Yadav and Saini, 2018).

Materials and Methods

This research was conducted in a citrus nursery at the University of Agricultural Sciences and Natural Resources of Sari, in late May 2022. Citrumelo seedlings were grown in 5/3 liter pots containing a loamy-silt soil mix in the nursery location. Tarocco cultivar buds were prepared from a seven-year-old mother orchard and T-budding was performed in June (during rootstock bark slipping). All hormone treatments were applied after graft union and before bending the branch using a soft brush on the graft buds. The applied treatments included hormone treatment (control, 5000 mg/L benzyladenine, 1000 mg/L kinetin, and 50 mg/L thidiazuron) and treatment time (13, 15, and 17 days after grafting). After two months, some traits related to budbreak and growth of the grafted buds were evaluated.

Results and Discussion

The results showed that thidiazuron and benzyladenine treatments had better effects compared to kinetin treatment on spring budbreak and initial growth of Tarocco grafted buds. In a way that 50 mg/L thidiazuron treatment had the highest number of sprouted buds (67.91), largest leaf area (118.04 cm2), highest number of leaves (16.50), especially when applied 13 days after grafting. Also, in leaf size related traits, leaf area indices, graft growth rate as well as chlorophyll and carotenoid content of Tarocco graft leaves were significantly affected by different hormonal treatments and application times, with 50 mg/L thidiazuron being more effective than other treatments. Cytokinins can promote division and expansion of leaf cells and thereby result in increased cell numbers and improvement of different leaf parameters. Also, cytokinins regulate important physiological processes like photosynthesis. Application of these materials provides cell division especially in areas like buds and growth points and also possibly more buds may form on the spring graft by using these treatments during the grafting process which can lead to increased bud break and faster plant growth (Cook and Bahar, 2017). Increasing cytokinin levels can stimulate the photosynthesis process which results in increased food production, leaf growth and ultimately increased leaf area. On the other hand, cytokinins affect plant metabolism and can regulate production and accumulation of different growth factors. This may lead to a better balance in nutrient distribution and metabolic activities which in turn aids leaf area increase (Hodchek et al., 2023). Finally, according to the obtained results, it can be recommended to nurserymen of this cultivar to use 50 mg/L thidiazuron 13 days after grafting as a practical and effective strategy for increasing spring budbreak, growth and development of Tarocco buds grafted on citrumelo.

Conclusion

In general, according to the obtained results, the use of 50 mg/liter of tidiazuron 13 days after grafting can be considered as a practical and effective strategy to increase bud awakening and the growth and development of tarocco spring shoots on citronmelo for producers seedlings of this cultivar are recommended.

Keywords: Benzyl adenine, blood orange, thidiazoron, bud dormancy

تأثیر تیمار سایتوکینین بر برخی صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی پیوندک بهاره تاراکو روی پایه سیترواملو

سید محمود غلامی- مهدی حدادی نژاد*- حسین مرادی- حسین صادقی

گروه علوم باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی ساری

*- m.hadadinejad@sanru.ac.ir

چکیده

رقم تاراکو یکی از محبوب‌ترین ارقام پرتقال خونی به شمار می‌آید که ازدیاد آن از طریق پیوند روی پایه پر رشد سیترواملو صورت می‌گیرد ولی در پیوند بهاره دچار رکود می‌شود. با توجه به نقش سایتوکینین ها در بیدار شدن و رشد و نمو جوانه ها، پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر زمان (۱۳، ۱۵ و ۱۷ روز پس از پیوند) و غلظت ترکیبات سایتوکینینی (۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون) بر رفع رکود و برخی صفات پیوندک بهاره تاراکو روی پایه پر رشد سیترواملو در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. نتایج نشان داد زمان و نوع هورمون اثر معنا داری روی رفع رکود و رشد پیوندک بهاره تاراکو دارند. به طوریکه اعمال تیمار هورمونی تی دیازورون ۱۳ روز پس از پیوندزنی منجر به رفع رکود در بیش از ۹۰درصد پیوندک ها گردید. همچنین مشخص شد که تیمارهای تی‌دیازورون و بنزیل آدنین نتیجه بهتری در مقایسه با تیمار کینتین بر روی بیدار شدن جوانه و رشد اولیه پیوندک بهاره تاراکو داشتند. تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون بیشترین تعداد جوانه شکفته شده (۹۱/۶۷)، سطح برگ (۱۱۸/۰۴ سانتی‌متر مربع) و تعداد برگ (۱۶/۵۰) را به ویژه در زمان اعمال ۱۳ روز پس از پیوندزنی دارا بود. به‌طورکلی، با توجه به نتایج به دست آمده، استفاده از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در ۱۳ روز پس از پیوندزنی را می‌توان به عنوان یک راهکار عملی و مؤثر به منظور افزایش بیدار شدن جوانه و رشد و نمو پیوندک بهاره تاراکو روی سیترواملو برای تولید کنندگان نهال این رقم توصیه نمود.

کلمات کلیدی: بنزیل آدنین، پرتقال خونی، تی‌دیازورون، رکود جوانه

مقدمه

خواب پیوندک یکی از مشکلات مهم در نهالستان های درختان میوه است که پس از انجام و گرفتن پیوند رخ می دهد و در بسیاری از گیاهان نظیر پرتقال (*Citrus sinensis*) نیاز به بررسی دارد. خواب پیوندک شامل توقف رشد افقی و عمودی، عدم تولید جوانه و فعالیت پیوندک پس از گرفتن پیوند است. یکی از ارقام تجاری پرتقال توسرخ تاراکو نام دارد که حاصل جهش شاخه‌ای بوده و اولین بار در کشور ایتالیا شناسایی شده است. تاراکو با داشتن شاخه‌هایی پررشد و پوست ضخیم‌تر از جمله ارقام جدیدی است که نسبت به ارقام خونی قدیمی‌تر، به دلیل درشتی و سال‌آوری کمتر از بازارپسندی بیشتری نیز برخوردار می‌باشد. نهال این رقم روی پایه‌های نارنج، سیترنج و پایه پر رشد سیترواملو (دورگ بین نارنج سه

برگ و گریپ‌فروت) عرضه می‌شود(Albrigo et al., 2019؛ Talon et al., 2020). از مشکلات عمده نهال‌کاران در کوپیوند بهاره رقم تاراکو روی پایه پر رشد سیترومِلو، عدم بیداری (راکد ماندن) حدود ۵۰ درصد از پیوندک‌ها نسبت به دیگر ارقام روی همین پایه و دیگر پایه‌های مشابه می‌باشد. این رکود ناخواسته منجر به تأخیر یک‌ساله در روند تولید نهال و اشغال بیجای فضای نهالستان می‌گردد. تا جایی‌که رشد زیاد پایه منجر به پوشاندن پیوندک می‌گردد. با توجه به اهمیت تجاری پرتقال خونی و آثار منفی خواب پیوند بر روی عملکرد و عمر میوه، راهکارهایی برای کنترل و رفع این مشکل مورد استفاده قرار می گیرد. یکی از راهکارهای موثر کاربرد تنظیم کننده رشد می باشد. اخیراً برخی از نهالکاران با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد نسبت به تیمار پیوندک در خردادماه و تیرماه اقدام می‌کنند (Tanavardi et al., 2013). سیتوکنین‌ها به عنوان گروهی از هورمون‌ها با تأثیر مثبت بر رشد و توسعه گیاهان شناخته شده‌اند. بررسی‌ها نشان داده است که سایتوکینین‌هایی نظیر کنتین گروه مهمی از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی می‌باشند که می‌توانند بر روی تحریک رشد جوانه پیوندک در نارنگی موثر باشند(Sosnowski et al., 2023؛ Yadav & Saini, 2018). بر حسب زمان یا محل بکارگیری هورمون، ممکن است شکل‌گیری یا از بین رفتن یک لایه سلولی تسریع یا ممانعت شود. غلظت زیاد هورمون در برخی از بافت‌ها، منجر به انحراف مسیر طبیعی رشد اندام می‌گردد و گاهی می‌تواند منجر به کاهش شدید یا افزایش شدید رشد تا حد مرگ بوته‌های حساس شود (Martin, 2020؛Hollobone, 2020).

به نظر می‌رسد غلظت بهینه سایتوکینین در زمان مناسب بتواند از طریق افزایش تقسیم سلولی و تسریع برقراری ارتباط آوندی پایه و پیوندک و یا با خنثی کردن بازدارنده‌های رشد، موجب فعال شدن محرک‌های رشد گردیده و ضمن رفع رکود جوانه در پیوندک بهاره، منجر به افزایش بهره‌وری نهالستان شود. این ترکیبات به طور معمول در شاخص‌های رشد، جوانه‌زنی، تقسیم سلولی و تنظیم فعالیت جوانه‌ها نقش دارند. تحقیقات قبلی نشان داده است که سیتوکنین‌ها می‌توانند تأثیر قابل‌توجهی بر رفع خواب پیوند در بسیاری از گیاهان داشته باشند. در مطالعه ای انجام شده توسط تان و همکاران(Tan et al., 2019)، اثرات رشدی سیتوکنین ها بر خواب پیوندک در درختان سیب ارزیابی شد. نتایج نشان داد که کاربرد سیتوکنین‌ها منجر به رشد مستقیم جوانه پیوندک، افزایش جوانه‌زنی و بهبود عملکرد شده است. به طور مشابه، در یک تحقیق دیگر انجام شده توسط نیدز و بومن (Niedz & Bowman, 2023) نقش سیتوکنین‌ها در بهبود کارآیی پیوند مرکبات بررسی شد. نتایج نشان داد که سیتوکنین‌ها با ایجاد اختلال در سرکوب اکسینی که توسط جوانه انتهایی اعمال می‌شود، در بهبود شکستن خواب برگ‌های جانبی موثرند. این نتایج نشان می‌دهد که سیتوکنین‌ها می‌توانند به عنوان یک روش مؤثر در رفع خواب پیوند در گیاهان مثل پرتقال خونی نیز مورد استفاده قرار گیرند. تانوردی و همکاران (Tanavardi et al., 2013) به منظور بررسی کاربرد غلظت‌های مختلف کینتین و اثر خم‌کردن پایه از بالای محل پیوندک بر تحریک رشد جوانه پیوندک و صفات رویشی در ازدیاد رقم نارنگی میاگاوا با پایه سیترومِلو، آزمایشی در شرایط گلخانه‌ای انجام دادند. تیمار کینتین با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر قبل از عملیات خم‌کردن و با غلظت ۱۵۰۰ میلی گرم در لیتر بعد از عملیات خم‌کردن تأثیر بیشتری در فاکتور رشد جوانه پیوندک داشت. کینتین با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین ارتفاع پیوندک را در دو زمان خم‌کردن به همراه داشت. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثرات غلظت سیتوکینین و زمان تیمار بر شکستن رکود جوانه در پیوندک های پرتقال خونی پیوند شده روی پایه سیترومِلو می باشد .

مواد و روش ها

این پژوهش در یک نهالستان مرکبات خصوصی واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، از زمستان ۱۳۹۹ تا تابستان ۱۴۰۱ انجام شد(شکل ۱). در سال اول پایه سیترومیلو بصورت دانهالی در محل نهالستان در گلدان های ۳/۵ لیتری در بستر لومی سیلتی پرورش یافت. پیوندک رقم تاراکو از باغ مادری هفت ساله تهیه و عملیات پیوند جوانه به روش T معکوس در خرداد ماه سال ۱۴۰۱ (زمان پوست دهی پایه) انجام شد. تیمارهای اعمال شده شامل تیمار هورمونی (شاهد، ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون) و زمان اعمال تیمار (۱۳، ۱۵ و ۱۷ روز پس از پیوند) بود. پس از رشد پیوندک در صورت بیدار شدن چندین جوانه و جست نسبت به حذف جوانه‌های ضعیف‌تر (ناقص و کوچک) اقدام شد. پس از رشد کافی پیوندک ها برخی صفات مرتبط با بیدار شدن جوانه و رشد پیوندک‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

شکل ۱- نهالستان محل اجرای آزمایش.

اندازه‌گیری صفات

صفات مورفولوژیکی(تعداد جوانه های شکفته، تعداد گره، تعداد برگ و سطح برگ)، صفات زیستی(وزن تر و خشک شاخساره، شاخص سطح برگ، سطح ویژه، ضخامت و تراکم برگ) و صفات فیزیولوژیکی(کلروفیل a، کلرفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) پیوندک پس از دو ماه، با بیدار شدن جوانه و رشد پیوندک‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

سطح برگ

پس از ثبت تصویر از برگ، اندازه گیری سطح برگ با استفاده از نرم افزار گرافیکی انجام شد. برای این کار ابتدا برگ های مورد نظر را از گیاه جدا نموده، آنها را به آزمایشگاه منتقل کرده و با استفاده از اسکنر اسکن نموده و به صورت تصویر ذخیره گردید. سپس با استفاده از نرم افزار گرافیکی فتوشاپ(PS cs5 extended ver12 64x 1990-2010) ابتدا آن را کالیبره کرده و سپس اندازه گیری ها بر اساس پیکسل انجام گرفت و در نهایت به سانتی متر مربع تبدیل شد.

سطح ویژه برگ

از تقسیم سطح برگ (سانتی متر مربع) بر وزن خشک برگ (گرم) بدست آمد

سطح ویژه برگ = (LA1/LW1+ LA2/LW2)/2

که در این رابطه LA سطح برگ، LW وزن خشک برگ می‌باشند.

ضخامت برگ

از تقسیم وزن تر برگ (گرم) بر سطح برگ (سانتی متر مربع) بدست آمد.

(سطح برگ)/(وزن تر برگ) = ضخامت برگ

تراکم برگ

تراکم برگ نمونه‌ها از تقسیم وزن خشک برگ (میلی گرم) بر وزن تر برگ (گرم) بدست می‌آید (کندوراس و همکاران، ۲۰۰۷).

(وزن تر برگ)/(وزن خشک برگ) = تراکم برگ

نرخ رشد مطلق (AGR)

نرخ رشد مطلق بیشتر در مورد یک گیاه و یا یک اندام مشخص از یک گیاه مانند رشد برگ و یا وزن برگ بکار می‌رود و به صورت سانتی‌متر در روز بیان می‌شود.

$$AGR = (h2 - h1) / (t2 - t1)$$

که در آن، h1 و h2 به ترتیب ارتفاع بوته در t1 و t2 برابر است

کلروفیل و کاروتنوئید

جهت اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ابتدا نیم گرم از وزن برگ تازه را در ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده و پس از سانترفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه مایع روشناور جدا گردیده و اندازه‌گیری طیف نور جذبی محلول با دستگاه اسپکتوفتومتر مدل PC۱۸۰۰ UV در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۴۶، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر انجام شد. در نهایت با استفاده از روابط زیر مقدار کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها محاسبه شد(Arnon, 1949):

میلی‌گرم کلروفیل a در هر گرم برگ تر = [12.7 × A663) – (2.69× A645)] ×V/W×1000

میلی‌گرم کلروفیل b در هر گرم برگ تر =[22.9 × A645) – (4.69× A663)] ×V/W×1000

میلی‌گرم کلروفیل کل در هر گرم برگ تر = [20.2 × A646) + (8.02× A663)] ×V/W×1000

میلی‌گرم کارتنوئید در هر گرم برگ تر = [1000 × A470) - (1.8× Chla)-(85.02×Chlb)] ×V/W×1000

آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با دو فاکتور شامل تیمار هورمونی و زمان اعمال تیمار با چهار تکرار و هر تکرار شامل دو گلدان به اجرا در آمد.آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

پیوندهایی که از تیمارهای هورمونی استفاده نشده بودند، دچار رکود شده و جوانه نزدند و ازآنجا که جوانه بیدار شده‌ای نداشتند (راکد ماندند)، به همین دلیل برای کاهش میزان خطای تجزیه، تیمار شاهد (عدم اعمال تیمار هورمونی) مورد تجزیه قرار نگرفت.

صفات مورفولوژیکی

نتایج بررسی صفات مورفولوژیکی نشان داد که اثر متقابل تیمار هورمونی و زمان پیوند بر همه ی پارامترها در سطح یک درصد معنی دار شده است(جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس ویژگی های مورفولوژیکی

Table 1 - Analysis of variance for morphological characteristics

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	mean square							
		شکفتن جوانه bud opening	تعداد گره node Number	تعداد برگ leaf number	سطح برگ leaf area	سطح ویژه برگ specific leaf area	ضخامت برگ Leaf thickness	تراکم برگ Leaf density	رشد مطلق AGR
تیمار هورمونی Hormone Treatment(H)	2	9130**	8.18**	114.2**	1534**	66733**	0.00025**	2720**	0.563**
زمان پیوند Grafting time	2	3130**	34.7**	61.7**	4504**	4856**	0.00014**	11100**	0.247**
اثر متقابل (H × T)	4	937**	21.9**	52.5**	2536**	29139**	0.00015**	3251**	0.182**
خطا Error	27	7	1.5	1.8	25	823	0.000001	277	0.001
ضریب تغییرات C.V		4.20	10.18	10.27	5.61	9.63	3.06	5.87	9.28

**: معنی داری در سطح یک درصد

**: significant at 1% at probability levels.

نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد در بین تیمارهای مورد بررسی بیشترین تعداد جوانه‌های شکفته شده (۹۱/۶۷درصد) پیوندک بهاره تاراکو در تیمار ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در هر سه زمان اعمال تیمار مشاهده شد که البته با تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). از طرف دیگر کمترین تعداد جوانه‌های شکفته شده (۱۳/۶۳درصد) در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۵ روز پس از پیوندزنی مشاهده شد. نتایج نشان داد با کاهش فاصله زمانی بین پیوند و تیمار هورمونی در تی دیازورن درصد شکوفایی پیوندک از ۳۳ درصد (روز ۱۷) به ۶۶ درصد (روز ۱۵) افزایش و در نهایت به ۹۱ درصد (روز ۱۳) رسید.

بررسی مقایسه میانگین ها حاکی از آن بود که کمترین تعداد گره (۵/۷۵) در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی مشاهده شد و سایر تیمار ها اختلاف اندکی با یکدیگر نشان دادند (جدول ۲).

بنزیل ادنین و کینتین، سیتوکینین های نوع آدنین با ساختار شیمیایی مشابه هستند، اما در BA، یک گروه بنزیل را می توان به جای گروه فورفوریل یافت. بنزیل آدنین و کینتین دارای تنها یک حلقه آروماتیک (بنزن یا پیریدین) هستند که به حلقه آدنین متصل می‌شود. اما تی‌دیازورون دارای دو حلقه آروماتیک (بنزن و پیپرازین) است که با پل آمینی به هم متصل می‌شوند(Bozsó & Barna, 2021). سه ترکیب بنزیل آدنین، کینتین و تی‌دیازورون همگی جزو سیتوکینین‌ها محسوب می‌شوند که دارای تفاوت‌های ساختاری مهمی هستند و این تفاوت‌ها خود باعث تداخل‌هایی در فرآیندهای رشد و نمو می‌گردند. بنزیل آدنین ساده‌ترین ساختار را دارد و تحریک‌کننده اصلی رشد طولی ساقه و ریشه است(Mangena, 2022). کینتین علاوه بر رشد طولی، بر تقسیم سلولی و افزایش اندازه اندام‌های گیاهی نیز تاثیر می‌گذارد (Nielsen et al., 1993) . تی‌دیازورون به عنوان قوی‌ترین و پیچیده‌ترین ساختار سبب تحریک همزمان رشد طولی و قطری می‌شود و بر تقسیم سلولی بیشتری اثر می‌گذارد. با افزایش پیچیدگی ساختار شیمیایی، تاثیر بر فرآیندهای گیاهی نیز افزایش می‌یابد(Kim and Sivanessan, 2016). سیتوکینین با تنظیم فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی و عمل به عنوان یک

پاک کننده موثر رادیکال های آزاد، نقش اساسی در رشد کالوس ایفا می کند. چوبی شدن و اتصال آوندی مناسب در پیوندک های تحت تیمار با سیتوکنین ممکن است دلیل موفقیت در گیرایی پیوند و رشد خوب پیوندک باشد که ممکن است منجر به افزایش طول ساقه، سطح برگ در پیوندک شود (Jogaiah & Porika, 2023).

تأخیر در انجام تیمارهای سایتوکینینی ممکن است منجر به کاهش تعداد جوانه‌های شکفته شد در پیوندک بهاره تاراکو روی سیترواملو شود. مشخص شده است که اثر تیمارهای سایتوکینینی به طور موقتی است و به مرور زمان کاهش می‌یابد. اگر تیمارها به موقع انجام نشوند و یا با تأخیر انجام شوند، این اثر کمتر خواهد بود و احتمالاً تعداد جوانه‌های شکفته شده کاهش خواهد یافت. همچنین، با تأخیر در انجام این تیمارها، تعداد جوانه‌های شکفته شده کمتر می‌شود چرا که این تأخیر می‌تواند فرصت کمتری برای رشد و جوانه‌زنی به وجود آورد (Morris ؛ Bidabadi et al., 2018؛ Tan et al., 2019 et al., 1990). اثر مثبت سایتوکینین‌ها بر تعداد گره قبلاً نیز توسط پیوندی و همکاران(Peyvandi et al., 2015) در گیاه اسطوخودوس و سالک معراجی و همکاران(Salek Mearaji et al., 2021) در ارقام گیاه کینوا گزارش شده است که با نتایج بررسی حاضر مطابقت دارد. سایتوکینین‌ها در تنظیم رشد و توسعه گیاهان نقش مهمی دارند و می‌توانند تعداد گره‌های پیوندک جوانه مرکبات پیوند شده روی پایه سیترواملو را تحت تأثیر قرار دهند. سایتوکینین‌ها می‌توانند با تنظیم تقسیم سلولی تأثیر مستقیمی بر تعداد گره‌های پیوندک جوانه داشته باشد. با افزایش سایتوکینین‌ها، تشکیل شاخه در گیاهان تحریک می‌شود(Lorteau et al., 2001؛Shoja & Shishavani, 2021) که منجر به افزایش تعداد گره‌های پیوندک جوانه مرکبات شود.

در مجموع اعمال تیمار در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی باعث ایجاد گیاهانی با بیشترین تعداد برگ گردید (جدول ۳). این روند نشان دهنده آن است که تیمار در زمان‌های ابتدائی پیوندزنی می‌تواند بیشترین تأثیر را بر تعداد برگ گیاهان رشد کرده داشته باشد. تیمار ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی باعث تولید گیاهانی با بیشترین تعداد برگ (۱۶/۷۵) شد که البته با برخی از تیمارها به ویژه با تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۳). نتایج بررسی حاضر در مورد افزایش تعداد برگ با تیمارهای مختلف سایتوکینینی با سالک معراجی و همکاران (Salek Mearaji et al., 2021) در گیاه کینوا و صبورا و شکری (Saboora & Shokri, 2014) در گیاه دارویی برازمبل مطابقت دارد. تعداد برگ‌های پیوندک جوانه مرکبات پیوند شده روی پایه سیترواملو ممکن است تحت تأثیر سایتوکینین‌ها قرار بگیرد، که می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد. سایتوکینین‌ها می‌توانند تقسیم سلولی را در جوانه‌ها و برگ‌های جانبی تنظیم کنند. با افزایش سطح سایتوکینین، تقسیم سلولی در جوانه‌های جانبی تحریک می‌شود که منجر به افزایش تعداد برگ‌های پیوندک جوانه می‌شود(Chamani et al., 2013؛ Maxwell & Kieber, 2005). با افزایش سایتوکینین، جذب و توزیع مواد غذایی به برگ‌ها و جوانه‌ها افزایش می‌یابد که ممکن است منجر به افزایش تعداد برگ‌های پیوندک جوانه مرکبات شود(Skalák et al., 2019؛ Wu et al., 2021؛ Sosnowski et al., 2023). بیشترین سطح برگ پیوندک بهاره تاراکو در ۱۳ روز پس از پیوندزنی مشاهده شد (جدول ۲). این روند نشان دهنده آن است که اعمال تیمارهای سایتوکینینی در اوایل زمان پیوندزنی، نتیجه بهتری در مورد افزایش سطح برگ پیوندک بهاره تاراکو روی سیترواملو دارد. در بین تیمارها اعمال شده تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی بیشترین سطح برگ (۱۱۸/۰۴ سانتی‌متر مربع) را به خود اختصاص داده بود، البته از لحاظ آماری با تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی (۱۱۳/۷۱ سانتی‌متر مربع) و تیمار ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی (۱۰۹/۰۱ سانتی‌متر مربع) اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). این در حالی بود که تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی کمترین سطح برگ (۱۱۸/۰۴ سانتی‌متر مربع) را نشان داد (جدول ۳). تیمار سایتوکینین می‌تواند به تشکیل

بافت‌های جدید کمک کند. این بافت‌ها می‌توانند شامل سلول‌های جدید با ساختار و ویژگی‌های مختلف باشند و باعث افزایش سطح برگ‌ها شوند. همچنین، تیمار سایتوکینین ممکن است به تمایز و تفکیک سلول‌ها در مناطق مختلف برگ کمک کند. این تفکیک‌بندی جدید سلول‌ها ممکن است منجر به افزایش سطح برگ‌ها شود(Wu؛Giron et al., 2007 Hudeček et al., 2023؛et al., 2021). نتایج بررسی حاضر با یافته‌های سالک معراجی و همکاران (Salek Mearaji et al., 2021) و گونزالز و همکاران (Gonzalez et al., 2012) در مورد اثرات مثبت انواع مختلف تیمارهای سایتوکینینی بر ویژگی‌ها و شاخص‌های مختلف سطح برگ مطابقت دارد. تیمارهای هورمونی سایتوکینینی می‌توانند اثرات متعددی بر رشد و توسعه گیاهان داشته باشند. یکی از این تأثیرات، افزایش سطح ویژه برگ‌ها می‌باشد. دلیل اصلی این افزایش به تأثیرات سایتوکینین در رشد و توسعه بافت‌های گیاهی و تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مرتبط با رشد گیاهان برمی‌گردد. تیمارهای هورمونی کینتینی می‌توانند به طور مستقیم و غیرمستقیم نرخ رشد مطلق گیاهان را افزایش دهند. کینتین‌ها تقسیم سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و باعث افزایش تعداد سلول‌ها می‌شوند. این تغییرات در تقسیم سلولی ممکن است به نرخ رشد مطلق گیاهان کمک کنند. کینتین‌ها می‌توانند رشد ساقه‌ها و برگ‌ها را تنظیم کنند. کینتین‌ها ممکن است در تنظیم توازن هورمونی گیاهان نقش داشته باشند. تعاملات بین سایتوکینین‌ها و دیگر هورمون‌ها مانند اکسین‌ها می‌تواند به تنظیم رشد و توسعه گیاهان کمک کند. کینتین‌ها ممکن است توزیع مواد مغذی در گیاه را بهبود دهند و تأمین منابع غذایی به اندازه کافی برای رشد بهتر گیاهان کمک کنند(Thomas, ؛Ghanem et al., 2011 2016).

مقایسات میانگین نشان داد که در هر یک از زمان‌های اعمال تیمارهای هورمونی، تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین بیشترین ضخامت برگ را دارا بود (جدول ۲). تأثیر سیتوکینین بر رشد و توسعه گیاهان به خصوص در مرحله توسعه برگ‌ها مورد توجه قرار گرفته است. سیتوکینین‌ها به عنوان هورمون‌های گیاهی مهمی شناخته می‌شوند که در تنظیم رشد و توسعه گیاهان نقش مهمی دارند (Sosnowski et al., 2023). تغییرات ابعاد و اندازه برگ توسط انواع مختلف هورمون‌های سایتوکینینی قبلاً هم توسط دی بندتو و همکاران (Di Benedetto et al., 2015) در گیاه پتوس و محمود و همکاران(Mehmood et al., 2021) در گیاه کنجد گزارش شده است که همراستا با نتایج بررسی حاضر می‌باشد. سایتوکینین‌ها می‌توانند تنظیم کننده‌های رشد ضخامتی باشند. با افزایش سایتوکینین، رشد ضخامتی برگ‌ها تحریک می شود و ضخامت برگ‌ها افزایش می‌یابد. در مرحله توسعه برگ‌ها، سیتوکینین‌ها تأثیر قابل توجهی بر رشد سلولی دارند. زمانی که سطح سیتوکینین‌ها در گیاه افزایش می‌یابد، این هورمون‌ها باعث افزایش انبساط سلولی می‌شوند، این انبساط سلولی منجر به افزایش اندازه برگ‌ها و افزایش ضخامت آن‌ها می‌گردد (Wu et al., 2021).کینتین یک نوع سایتوکینین است و در فرآیندهای رشد و توسعه گیاهان نقش دارد. این هورمون می‌تواند با تحریک تقسیم‌سلولی در مناطق مختلف برگ، تعداد سلول‌ها افزایش می‌یابد و این می‌تواند به طور مستقیم منجر به افزایش ضخامت برگ شود. کینتین می‌تواند ترکیباتی را فعال کند که به افزایش حجم سلول‌ها کمک می‌کنند. این باعث می‌شود که سلول‌ها بزرگتر شوند و ضخامت برگ افزایش یابد. کینتین می‌تواند ترتیب و نحوه رشد سلول‌ها را تنظیم کند. با تغییر الگوهای رشد، ممکن است سلول‌ها به شکل‌ها و ساختارهای مختلفی رشد کنند که منجر به افزایش ضخامت برگ می‌شود(Gonzalez؛Holst et al., 2011 Tabeta et al., 2023؛et al., 2012).

در مجموع بیشترین تراکم برگ در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی و در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون مشاهده شد که البته از لحاظ آماری با برخی از تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۴). این روند نشان دهنده آن است

که اعمال تیمارهای سایتوکینینی در زمان‌های ابتدائی پیوندزنی می‌تواند بیشترین تأثیر را بر تراکم برگ پیوندک‌های رشد کرده داشته باشد. سیتوکنین‌ها گروهی از هورمون‌های گیاهی هستند که در ریشه‌ها تولید می‌شوند و به صورت آکروپتال به سمت بالا حرکت کرده و رشد شاخه‌ها را تحریک می‌کنند. این هورمون‌ها همچنین می‌توانند فعالیت سینک برگ‌های قدیمی را حفظ کنند و با کاهش تجزیه پروتئین، فعالیت نیتروژنی و افزایش غلظت پروتئین در برگ‌های قدیمی، پیری برگ‌ها را تاخیر بدهند، که این تاخیر موجب حفظ برگ های پیر، در کنار برگ های جوان می شود(Glanz-Idan et al., 2022). تی‌دیازورون می‌تواند به تشکیل بافت‌های جدید کمک کند. با افزایش تشکیل بافت‌ها، سلول‌ها بافت‌های جدیدی را ایجاد می‌کنند که نهایتاً منجر به افزایش تراکم برگ‌ها می‌شود. همچنین، تیمار تی‌دیازورون ممکن است به تغییر الگوهای رشد سلول‌ها منجر شود. این تغییرات می‌تواند به افزایش تراکم برگ‌ها منجر شود(Gonzalez et al., 2012؛Tabeta et al., 2023). در پژوهشی، تأثیر سیتوکنین بر تراکم برگی درختان ماندارین پس از پیوند مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از پایه هایی که سیتوکنین بیشتری تولید می‌کنند، منجر به افزایش تراکم برگی درختان شده است. این تغییرات در تراکم برگی به دلیل تغییرات در ترکیبات متابولیتیک برگ‌ها بود. برخی از ترکیبات متابولیتیک مانند اسیدهای آلی، فلاوونوئیدها، آمینو اسیدها و مشتقات آنها، الکالوئیدها و نوکلئوتیدها و مشتقات آنها در برگ‌هایی که با پایه‌هایی که سیتوکنین بیشتری تولید می‌کنند پیوند خورده‌اند، تغییر کرده بودند. این تغییرات در ترکیبات متابولیتیک می‌تواند به تغییرات در تراکم برگی منجر شود(Hayat et al., 2022).

نتایج نشان داد در هر یک از زمان‌ها اعمال تیمارهای هورمونی، پیوندک‌های تیمار شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین بیشترین AGR را به خود اختصاص داده بودند (جدول ۲). سیتوکنین‌ها تأثیر مثبتی بر تقسیم سلولی دارند که در نتیجه به افزایش نرخ رشد گیاه منجر می‌شود. این هورمون‌ها توانایی تحریک جوانه‌های جانبی را داشته که باعث افزایش تعداد شاخه‌ها و سایر شاخص‌های رشدی می‌شود (Sosnowski et al., 2023). همچنین می‌توانند فرآیند جوانه‌زنی را تحریک کنند و تأثیر مثبتی بر رشد و عملکرد گیاهان داشته باشند(Wu et al., 2021). تیمارهای هورمونی کینتینی می‌توانند به طور مستقیم و غیرمستقیم نرخ رشد مطلق گیاهان را افزایش دهند. کینتین‌ها تقسیم سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و باعث افزایش تعداد سلول‌ها می‌شوند. این تغییرات در تقسیم سلولی ممکن است به نرخ رشد مطلق گیاهان کمک کنند. کینتین‌ها ممکن است در تنظیم توازن هورمونی گیاهان نقش داشته باشند. تعاملات بین سایتوکینین‌ها و دیگر هورمون‌ها مانند اوکسین‌ها می‌تواند به تنظیم رشد و توسعه گیاهان کمک کند. کینتین‌ها ممکن است توزیع مواد مغذی در گیاه را بهبود دهند و تأمین منابع غذایی به اندازه کافی برای رشد بهتر گیاهان کمک کنند(Thomas, 2016؛Ghanem et al., 2011).

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی

Table 2- Comparison of means morphological traits

زمان تیمار	انواع تیمار	جوانه شکفته	تعداد گره	تعداد برگ	سطح برگ	سطح ویژه برگ	ضخامت برگ	تراکم برگ	رشد مطلق
treatment time	types of treatment	bud opening	node Number	leaf number	leaf area	specific leaf area	Leaf thickness	Leaf density	AGR
		n	n	n	cm^2	$cm^2.gr\ DM^{-1}$	gr DM. cm^{-2}	mg DM. gFM^{-1}	$gr.cm^{-2}$
13	**بنزیل آدنین BA**	91.67a	14.00a	15.25abc	105.82b	347b	0.0108f	278bc	0.267e

	کینتین kinetin	51.00c	13.25a	13.75cde	113.71ab	341b	0.0112f	292b	0.384d
	تی‌دیازورون TDZ	91.67a	15.00a	16.50ab	118.04a	255d	0.0125e	329a	0.249e
15	بنزیل آدنین BA	91.67a	15.00a	16.75a	88.18c	489a	0.0088g	249c	0.271e
	کینتین kinetin	45.83d	8.75b	12.25de	85.65c	176e	0.0312a	210d	0.651b
	تی‌دیازورون TDZ	66.41b	10.50b	11.25e	64.43d	242d	0.0145c	285b	0.526c
17	بنزیل آدنین BA	91.67a	14.00a	15.00abc	109.01ab	314bc	0.0110f	309ab	0.404d
	کینتین kinetin	13.63f	5.75c	3.00f	35.96e	239d	0.0155b	311ab	1.079a
	تی‌دیازورون TDZ	33.33e	13.00a	14.00bcd	90.62c	272cd	0.0135d	285b	0.266e

صفات فیتو شیمیایی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمار هورمونی و زمان تیمار بر صفات فیتوشیمیایی در سطح یک درصد معنی دار شده است(جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه و تحلیل واریانس ویژگی های رشدی و فیتوشیمیایی

Table 3 - Analysis of variance for Growth and phytochemical characteristics

		mean square			
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل کل Total chl	کاروتنوئید Carotenoid
تیمار هورمونی Hormone(H)	2	0.0161**	0.2129**	0.0940**	0.1071**
زمان پیوند Grafting time(T)	2	0.0384**	0.0357**	0.0064ns	0.0027ns
اثر متقابل (H × T)	4	0.1864**	0.0352**	0.2846**	0.1677**
خطا Error	27	0.0029	0.0005	0.0021	0.0116
ضریب تغییرات C.V		4.45	6.16	2.90	8.13

ns، **: به ترتیب عدم معنی داری، معنی داری در یک درصد

ns, **: are non-significant and significant at 1% at probability levels, respective

بررسی نتایج جدول مقایسه میانگین ها نشان داد که تقریباً در تمامی زمان‌های اعمال تیمارهای هورمونی، پیوندک‌های تیمار شده با ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین بیشترین سطح ویژه برگ را دارا بودند (جدول ۴).

بررسی رنگدانه های فتوسنتزی نشان داد که پیوندک‌های تیمار شده با ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی با ۱/۵۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر کلروفیل a و با ۱/۹۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر کلروفیل کل، بیشترین میزان را در بین سایر تیمارها دارا بودند (جدول ۴). این در حالی است که بیشترین میزان کلروفیل b در پیوندک‌های تیمار شده با ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در ۱۵ روز پس از پیوندزنی مشاهده گردید (جدول ۴). بیشترین میزان کاروتنوئید به ترتیب در تیمارهای ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی (۱/۶۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۵ روز پس از پیوندزنی (۱/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی (۱/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به دست آمد (جدول ۴). سیتوکینین یکی از مهمترین هورمون‌های رشد گیاهی است که نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌ها دارد. این هورمون با اتصال به گیرنده‌های پروتئینی خاصی به نامهای AHK در سلول‌های گیاهی، فرآیندهای گوناگونی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که از جمله آنها می‌توان به تحریک بیان ژن‌های مرتبط با رشد و نمو اشاره کرد. سیتوکینین باعث فعال‌سازی عوامل رونویسی می‌شود که خود موجب بیان ژن‌ها می‌گردند. بنابراین، سیتوکینین با تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با رشد، نقش مهمی در تکامل و گسترش گیاه دارد(Brenner *et al.*, 2012). سیتوکینین با اتصال به گیرنده‌های خاصی به نام AHK در سلول‌های گیاهی فعال می‌شود. این اتصال باعث فعال شدن سلسله مراتب انتقال سیگنال داخل سلولی می گردد. در این سلسله مراتب، عامل رونویسی ARR1 که تحت تأثیر سیتوکینین است، فعال می‌شود. سپس ARR1 با اتصال به توالی‌های خاص در محل پروموتر ژن‌های هدف، باعث بیان آنها می‌گردد. ژن‌های هدف عمدتا شامل عوامل رشدی مانند ژن‌هایی مرتبط با ساخت گیاه، تقسیم سلولی و افزایش اندازه سلول می‌باشند که باعث تکامل و رشد گیاه می‌شوند. بنابراین سیتوکینین از طریق سلسله مراتب انتقال سیگنال داخل سلولی تنظیم کننده بیان ژن‌های مرتبط با رشد است(Osugi & Sakakibara, 2015).

اثرات مثبت تیمارهای مختلف سایتوکینینی بر میزان کلروفیل قبلاً نیز توسط کلاته جاری و همکاران(Kalate Jari et al., 2008) گزارش شده است. سایتوکینین‌ها می‌توانند تأثیر مهمی بر روی میزان کلروفیل در برگ‌های پیوندک جوانه مرکبات پیوند شده روی پایه سیترواملو داشته باشند. نشان داده شده است که سایتوکینین‌ها می‌توانند تنظیم کننده‌های فعالیت آنزیم‌های زایموپلاست باشند. آنزیم‌های زایموپلاست در فرایند تولید کلروفیل در برگ‌ها نقش دارند. با افزایش سایتوکینین، فعالیت این آنزیم‌ها تحریک می‌شود که می‌تواند منجر به افزایش میزان کلروفیل در برگ‌ها شود. سایتوکینین‌ها می‌توانند روند تولید کلروفیل در برگ‌ها را تنظیم کنند. با افزایش سایتوکینین، ممکن است برگ‌ها به طور مؤثرتر از نور استفاده کنند و میزان کلروفیل در آن‌ها افزایش یابد. تأثیر سایتوکینین‌ها بر میزان کلروفیل به عوامل دیگر نیز وابسته است، از جمله نوع سایتوکینین، غلظت آن، زمان و نحوه کاربرد، شرایط رشد گیاهان و نوع گیاه متغیر باشد(Glanz-Idan et al., 2022؛Dobránszki & Mendler-Drienyovszki, 2014؛Zubo et al., 2008).

نتایج بررسی حاضر در مورد اثر تیمارهای سایتوکینینی بر میزان کاروتنوئید برگ با یافته‌های جمشیدی و همکاران(Jamshidi et al., 2018) و صادقی و همکاران(Sadeghi et al., 2022) همخوانی دارد. تیمارهای هورمونی سایتوکینینی می‌توانند باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها در برگ‌ها و سایر اجزاء گیاهان شوند. سایتوکینین‌ها می‌توانند فعالیت آنزیم‌های مختلف در مسیرهای بیوشیمیایی تنظیم کنند. برای تولید کاروتنوئیدها، انزیم‌های مختلف مشارکت دارند. با تنظیم بهتر فتوسنتز، تولید انرژی و مواد غذایی افزایش می‌یابد که ممکن است به افزایش تولید کاروتنوئیدها کمک کند. کاروتنوئیدها به عنوان رنگیزه‌های جذب نور عمل می‌کنند. سایتوکینین‌ها ممکن است به تنظیم جذب نور و توزیع آن در گیاه کمک کنند و در نتیجه به افزایش تولید کاروتنوئیدها منجر شوند(Zavaleta-Mancera et al., 2007؛Gujjar et al., 2020).

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات رشدی و فیتوشیمیایی

Table 4- Comparison of means growth and phytochemical traits

زمان تیمار	انواع تیمار	کلروفیلa	کلروفیلb	کلروفیل کل	کاروتنوئید
treatment time	types of treatment	Chl a mg.g FW^{-1}	Chl b mg.g FW^{-1}	Total chl mg.g FW^{-1}	Carotenoid mg.g FW^{-1}
13	بنزیل آدنین BA	1.02e	0.489b	1.51d	1.08e
	کینتین kinetin	1.13d	0.247f	1.37e	1.31bcd
	تی‌دیازورون TDZ	1.58a	0.414c	1.99a	1.60a
15	بنزیل آدنین BA	1.05de	0.702a	1.75b	1.21cde
	کینتین kinetin	1.26b	0.357d	1.62c	1.46ab
	تی‌دیازورون TDZ	1.12de	0.296e	1.41e	1.32bcd
17	بنزیل آدنین BA	1.33b	0.444bc	1.78b	1.44ab
	کینتین kinetin	1.24bc	0.286ef	1.52cd	1.12de
	تی‌دیازورون TDZ	1.14cd	0.301e	1.44de	1.36bc

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی ها نشان داد که تیمارهای تی‌دیازورون و بنزیل آدنین نتیجه بهتری در مقایسه با تیمار کینتین بر روی بیدار شدن جوانه و رشد اولیه پیوندک بهاره تاراکو داشتند. تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون بیشترین تعداد جوانه‌های شکفته شده (۹۱/۶۷)، سطح برگ (۱۱۸/۰۴ سانتی‌متر مربع)، تعداد برگ (۱۶/۵۰)، وزن تر (۱۲/۸۲ گرم) و وزن خشک شاخساره (۳/۹۰ گرم) را به ویژه در زمان اعمال ۱۳ روز پس از پیوندزنی دارا بود. در بررسی ویژه‌گی‌های مرتبط با اندازه برگ، شاخص‌های سطح برگ، میزان رشد پیوندک و نیز میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئید برگ پیوندک تاراکو نیز به طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای مختلف هورمونی و همچنین زمان‌های اعمال تیمار قرار داشتند، که تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون مؤثرتر از سایر تیمارها بود. در نهایت، با توجه به نتایج به دست آمده، استفاده از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در ۱۳ روز پس از پیوندزنی را می‌توان به عنوان یک راهکار عملی و مؤثر به منظور افزایش بیدار شدن جوانه و رشد و نمو پیوندک بهاره تاراکو روی سیترومله برای تولید کنندگان نهال این رقم توصیه نمود.

منابع

Albrigo, L.G., Stelinski, L.L. and Timmer, L.W. 2019. Citrus, 2nd Edition. CABI, 314 pages.

Arnon, D.T. 1949. Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology, 24: 1-15. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1

Bozsó, Z., & Barna, B. 2021. Diverse Effect of Two Cytokinins, Kinetin and Benzyladenine, on Plant Development, Biotic Stress Tolerance, and Gene Expression. Life, 11(12): 1404. https://doi.org/10.3390/life11121404

Brenner, W. G., Ramireddy, E., Heyl, A., & Schmülling, T. (2012). Gene regulation by cytokinin in Arabidopsis. Frontiers in plant science, 3: 8. ۲Ffpls.۲۰۱۲,۰۰۰۰۸%https://doi.org/۱۰,۳۳۸۹

Chamani, E., Ghasemnejad, M., and Geraylo, S. 2013. An introduction to the physiology of flowering plants. Mohaghegh Ardabili University press, 26pp. (In Persian).

Di Benedetto, A., Galmarini, C. and Tognetti, J. 2015. Effects of combined or single exogenous auxin and/or cytokinin applications on growth and leaf area development in Epipremnum aureum. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 90(6): 643-654. ۱۴۶۲۰۳۱۶,۲۰۱۵,۱۱۶۶۸۷۲۷/https://doi.org/۱۰,۱۰۸۰

Dobránszki, J. and Mendler-Drienyovszki, N. 2014. Cytokinin-induced changes in the chlorophyll content and fluorescence of in vitro apple leaves. Journal of Plant Physiology, 171(16): 1472-1478. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.06.015

Ebrahimzade, A., Shekari, F., Shekari, F., and Esmaeilpour, B. 2003. Translation: Plant Growth Regulators in Agriculture and Horticulture Their Role and Commercial Uses, Zanjan University Press. 250 pages. (In Persian).

Fathi, Gh.A., Jalilvand, P., and Esmaeilpour, B. 2014. Plant growth regulators: principles and applications. Translation, 2nd edition. Jihad Daneshgahi Publications (Mashhad Ferdowsi University). 280pp. (In Persian).

Ghanem, M.E., Albacete, A., Smigocki, A.C., Frébort, I., Pospísilová, H., Martínez-Andújar, C., Acosta, M., Sánchez-Bravo, J., Lutts, S., Dodd, I.C. and Pérez-Alfocea, F. 2011. Root-synthesized cytokinins improve shoot growth and fruit yield in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. Journal of Experimental Botany, 62(1): 125-140. https://doi.org/10.1093/jxb/erq266

Giron, D., Kaiser, W., Imbault, N. and Casas, J. 2007. Cytokinin-mediated leaf manipulation by a leafminer caterpillar. Biology Letters, 3(3): 340-343. https://doi.org/10.1098%2Frsbl.2007.0051

Glanz-Idan, N., Lach, M., Tarkowski, P., Vrobel, O. and Wolf, S. 2022. Delayed leaf senescence by upregulation of cytokinin biosynthesis specifically in tomato roots. Frontiers in Plant Science, 13: 922106.fpls.2022.922106/https://doi.org/10.3389

Gonzalez, N., Vanhaeren, H. and Inze, D. 2012. Leaf size control: complex coordination of cell division and expansion. Trends in Plant Sciences, 17: 332-340. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.02.003

Gujjar, R.S., Banyen, P., Chuekong, W., Worakan, P., Roytrakul, S. and Supaibulwatana, K. 2020. A synthetic cytokinin improves photosynthesis in rice under drought stress by modulating the abundance of proteins related to stomatal conductance, chlorophyll contents, and rubisco activity. Plants, 9(9): 1106.plants9091106/https://doi.org/10.3390

Hayat, F., Li, J., Liu, W., Li, C., Song, W., Iqbal, S., ... & Liu, J. 2022. Influence of citrus rootstocks on scion growth, hormone levels, and metabolites profile of 'Shatangju'mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). Horticulturae, 8(7): 608. horticulturae8070608/https://doi.org/10.3390

Hollobone, J. 2020. Propagation Techniques for Flowers, Vegetables, and Trees: Growing Plants from Seeds, Cuttings, Grafts, Division, and Bulbs. Company, Incorporated, 192 pages.

Holst, K., Schmulling, T. and Werner, T. 2011. Enhanced cytokinin degradation in leaf primordia of transgenic Arabidopsis plants reduces leaf size and shoot organ primordia formation. Journal of Plant Physiology, 168: 1328-1334. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.03.003

Hudeček, M., Nožková, V., Plíhalová, L. and Plíhal, O. 2023. Plant hormone cytokinin at the crossroads of stress priming and control of photosynthesis. Frontiers in Plant Science, 13: 1103088. 2Ffpls.2022.1103088%https://doi.org/10.3389

Jameson, P. 2017. Cytokinins. Encyclopedia of Applied Plant Sciences (Second Edition), 391-402. 7-6.00102-394807-12-0-B978/https://doi.org/10.1016

Jamshidi, A., Ebrahi mi, M.A., Rajabian, T., Bakhshi khaniki, Gh.R., and Mozaffari, Sh. **2018.** Study the effects of auxins and cytokinins on growth, pigments and protein contents of Chlorella sorokiniana. Journal of Plant Research, 31(2):303-315. (In Persian).

Kalate jari, S., khalighi, A., Moradi, F., and Fattahi moghaddam, M.R. 2009. The Effects of Cytokinins, Sucrose and 8-Hydroxyquinoline Sulfate on the Longevity and Postharvest Quality of Cut Rose Flowers var. Red Gant. Iranian Journal of Horticultural Science (IJHS), 39(1): 125-135. (In Persian).

Kim, D. H., & Sivanessan, I. 2016. Influence of benzyladenine and thidiazuron on shoot regeneration from leaf and shoot tip explants of Sedum sarmentosum Bunge. Brazilian Archives of Biology and Technology, 59: 16150717.2016150717-4324-1678/https://doi.org/10.1590

Landis, W. G., and Wiegers, J. K. 2007. Ten years of the relative risk model and regional scale ecological risk assessment. Human and Ecological Risk Assessment, 13(1): 25-38. https://doi.org/10.1080/10807030601107536

Le Bris, M. 2017. Hormones in Growth and Development. Reference Module in Life Sciences. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.05058-5

Lee, Y., Lee, D.E., Lee, H.S., Kim, K.S., Lee, W.S., Kim, S.H. and Kim, M.W. 2011. Influence of auxins, cytokinins, and nitrogen on production of rutin from callus and adventitious roots of the white mulberry tree (*Morus alba* L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 105: 9-19. https://doi.org/10.1007/s11240-010-9832-3

Lorteau, M.A., Ferguson, B.J. and Guinel, F.C. 2001. Effects of cytokinin on ethylene production and nodulation in pea (*Pisum sativum*) cv. Sparkle. Physiologia Plantarum, 112(3): 421-428. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1120316.x

Mangena, P. 2022. Evolving role of synthetic cytokinin 6-benzyl adenine for drought stress tolerance in soybean (*Glycine max* L. Merr.). Frontiers in Sustainable Food Systems, 6: 992581. fsufs.٢٠٢٢,٩٩٢٥٨١/https://doi.org/١٠,٣٣٨٩

Martin, F.J. 2020. Plant Propagation Book: The Process of Creating New Plants. Independently Published, 84 pages.

Mehmood, M., Pérez-Llorca, M., Casadesús, A., Farrakh, S. and Munné-Bosch, S. 2021. Leaf size modulation by cytokinins in sesame plants. Plant Physiology and Biochemistry, 167: 763-770. j.plaphy.٢٠٢١,٠٩,٠١٣/https://doi.org/١٠,١٠١٦

Mohammadnia, R., and Sepahvand, M. 2019. Measurement of LAI leaf area index using graphic software. 6th national Conference of Medical Herbs Conventional Medicine and Organic Agriculture, Hamedan, Iran. (In Persian).

Morris, J.W., Doumas, P., Morris, R.O. and Zaerr, J.B. 1990. Cytokinins in Vegetative and Reproductive Buds of Pseudotsuga menziesii. Plant Physiology, 93(1): 67-71. https://doi.org/10.1104/pp.93.1.67

Niedz, R. P., and Bowman, K. D. 2023. Improving citrus bud grafting efficiency. Scientific Reports, 13(1), 17807. x-٤٤٨٣٢-٠٢٣-s٤١٥٩٨/https://doi.org/١٠,١٠٣٨

Nielsen, J. M., Brandt, K., & Hansen, J. 1993. Long-term effects of thidiazuron are intermediate between benzyladenine, kinetin or isopentenyladenine in Miscanthus sinensis. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 35: 173-179.BF٠٠٠٣٢٩٦٧/https://doi.org/١٠,١٠٠٧

Osugi, A., & Sakakibara, H. 2015. Q&A: How do plants respond to cytokinins and what is their importance?. BMC biology, 13(1): 1-10.٥-٠٢١٤-٠١٥-s١٢٩١٥/https://doi.org/١٠,١١٨٦

Peyvandi, M., Kazemi, L., Majd, A. 2016. Effect of different cytokinins on micropropagation of Lavandula vera. Journal of Plant Research, 28(2): 257-263. (In Persian). https://doi.org/28204

Saboora, A., and Shokri, M. 2014. Effect of plant growth regulators on in vitro germination and micropropagation of Brazmbl (*Perovskia abrotanoides*), a medicinal plant. Iranian Journal of Plant Biology, 5(18): 95-114. (In Persian).

Sadeghi, F., Sohrabi, Y., and Sio-Se Mardeh, A. 2022. Effect of Plant Growth Regulators on Soluble Carbohydrates, Photosynthetic Pigments and Chlorophyll Fluorescence of Sirvan and Homa Wheat Cultivars in Rainfed and Irrigation Conditions. Journal of Crop Production and Processing, 12(3): 81-100. (In Persian). http://dx.doi.org/10.47176/jcpp.12.3.36862

Salek Mearaji, H., Tavakoli , A., and Sepahvand, N.A. 2021. Evaluating the Effect of Cytokinin Foliar Application on Morphological Traits and Yield of Quinoa (Chenopodium quinoa

Willd.) under Optimal Irrigation and Drought Stress Conditions. Journal of Crop Ecophysiology, 14(56): 479-478. (In Persian) https://doi.org/10.30495/jcep.2021.679976
Shirani Bidabadi, S., Afazel, M. and Sabbatini, P. 2018. Iranian grapevine rootstocks and hormonal effects on graft union, growth and antioxidant responses of Asgari seedless grape. Horticultural Plant Journal, 4(1): 16-23. https://doi.org/10.1016/j.hpj.2017.11.002
Shoja, H.M. and Shishavan, H.K. 2021. Effects of different hormonal treatments on growth parameters and secondary metabolite production in organ culture of *Hyssopus officinalis* L. BioTechnologia, 102(1): 33-41. https://doi.org/10.5114%2Fbta.2021.103760
Skalák, J., Vercruyssen, L., Claeys, H., Hradilová, J., Černý, M., Novák, O., Plačková, L., Saiz-Fernández, I., Skaláková, P., Coppens, F., Dhondt, S., Koukalová, Š., Zouhar, J., Inzé, D. and Brzobohatý, B. 2019. Multifaceted activity of cytokinin in leaf development shapes its size and structure in Arabidopsis. Plant Journal, 97(5): 805-824. https://doi.org/10.1111/tpj.14285
Sosnowski, J., Malinowska, E., Jankowski, K., Król, J. and Redzik, P. 2019. An estimation of the effects of synthetic auxin and cytokinin and the time of their application on some morphological and physiological characteristics of Medicago x varia T. Martyn. Saudi Journal of Biological Sciences, 26(1): 66-73. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.023
Sosnowski, J., Truba, M., & Vasileva, V. 2023. The impact of auxin and cytokinin on the growth and development of selected crops. Agriculture, 13(3): 724. agriculture١٣٠٣٠٧٢٤/https://doi.org/١٠,٣٣٩٠
Tabeta, H., Gunji, S., Kawade, K. and Ferjani, A. 2023. Leaf-size control beyond transcription factors: Compensatory mechanisms. Frontiers in Plant Science, 13: 1024945. fpls.٢٠٢٢,١٠٢٤٩٤٥/https://doi.org/١٠,٣٣٨٩
Talon, M., Caruso, M., Gmitter, J.F.G. 2020. The Genus Citrus. Woodhead Publishing, Elsevier Inc. All rights reserved. 538 pages.
Tan, M., Li, G., Chen, X., Xing, L., Ma, J., Zhang, D., Ge, H., Han, M., Sha, G. and An, N., 2019. Role of cytokinin, strigolactone, and auxin export on outgrowth of axillary buds in apple. *Frontiers in Plant Science*, *10*: 616. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00616
Tan, M., Li, G., Chen, X., Xing, L., Ma, J., Zhang, D., Ge, H., Han, M., Sha, G. and An, N. 2019. Role of cytokinin, strigolactone, and auxin export on outgrowth of axillary buds in apple. Frontiers in Plant Science, 10. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00616
Tanavardi, S., Tafazoli, E.A., Panahi, B., and Samiei, Kh. 2013. Investigating the effect of using different concentrations of kinetin and bending the stem on stimulating the bud growth of Miyagawa mandarin scion. 6th National Conference on Watershed Management and Soil and Water Resources Management, Kerman, Iran. (In Persian).
Wu, W., Du, K., Kang, X. and Wei, H. 2021. The diverse roles of cytokinins in regulating leaf development. Horticulture Research, 8(1): 1-13. https://doi.org/10.1038/s41438-021-00558-3
Yadav, R. K. and Saini, P.K. 2018. Plant hormones: Their nature occurrence and functions: A chapter. European Journal of Biotechnology and Bioscience, 6(6): 13-17.
Zavaleta-Mancera, H.A., López-Delgado, H., Loza-Tavera, H., Mora-Herrera, M., Trevilla-García, C., Vargas-Suárez, M. and Ougham H. 2007. Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark-senescence. Journal of Plant Physiology, 164(12): 1572-1582. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.02.003
Zubo, Y.O., Yamburenko, M.V., Selivankina, S.Y., Shakirova, F.M., Avalbaev, A.M., Kudryakova, N.V., Zubkova, N.K., Liere, K., Kulaeva, O.N., Kusnetsov, V.V. and Börner, T. 2008. Cytokinin Stimulates Chloroplast Transcription in Detached Barley Leaves. Plant Physiology, 148(2): 1082-1093. https://doi.org/pp.١٠٨,١٢٢٢٧٥/١٠,١١٠٤