وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشکده فنی و مهندسی

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

بهینه سازی ریزازدیادی پایهٔ هیبرید رویشی (*Prunus cerasus* × *Prunus canescens* Gisela 6) در شرایط درون شیشه

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته‌ی بیوتکنولوژی کشاورزی

دانشجو:

موسی زارعی

استاد راهنما:

دکتر قاسمعلی گروسی

تابستان ۱۳۹۱

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه بین‌المللی امام خمینی

IMAM KHOMEINI INTERNATIONAL UNIVERSITY

دانشکده فنی و مهندسی

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی

بهینه سازی ریزازدیادی پایهٔ هیبرید رویشی (*Prunus* Gisela 6 *cerasus* × *Prunus canescens*) در شرایط درون شیشه

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته‌ی بیوتکنولوژی کشاورزی

دانشجو:

موسی زارعی

استاد راهنما:

دکتر قاسمعلی گروسی

اساتید مشاور:

مهندس اسماعیل نظامی

دکتر رامین حسینی

تابستان ۱۳۹۱

بسم الله الرحمن الرحيم

تقدیم به

قربانیان زلزله آذربایجان

به آنان که با خاک و آوار روزهٔ خود را افطار کردند.

سپاسگزاری

«من لم یشکر المخلوق لم یشکرالخالق»

خدای بزرگ را شاکر و سپاسگذارم که به این حقیر فرصت زندگی کردن داد تا در سایهٔ لطف نامنتهایش در مسیر علم و دانش پاک بشری گام بردارم و قطره‌ای باشم در میان رودخانهٔ بزرگی که در شاهراه شکوفایی و پیشرفت راه خویش می‌پوید تا به اقیانوس عظیم تعالی و کمال برسد.

بر خود لازم می‌دانم که از زحمات پدر و مادر عزیزم که تمام عمر و جوانیشان را صرف آسایش و آرامش من نمودند و مویشان سفید گشت تا روی من سفید بماند تشکر کنم و به پاس تمامی فداکاری‌هاشان خاک پایشان را می‌بوسم تا شاید گوشه‌ای از فداکاری‌هایشان را ارج نهاده باشم.

همچنین از زحمات بی‌دریغ استاد بزرگوارم جناب دکتر قاسمعلی گروسی، که با وجود کار و مشغلهٔ زیاد زحمت راهنمایی این حقیر را متقبل شدند و به مانند پدری دلسوز و مهربان این بنده را مورد تکریم قرار دادند و دریچه‌ای از عشق و امید را به رویم گشودند تشکر می‌نمایم. نیز از تمامی اساتید گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) جناب دکتر رحیم حداد و مشاور دوم این پایان نامه جناب دکتر رامین حسینی که شهد شیرین علم و دانش را در کامم ریختند تقدیر و سپاسگذاری می‌نمایم.

از آقای مهندس اسماعیل نظامی که زحمت مشاور اول این پروژه را تقبل نمودند و همینطور از خانم دکتر مریم قناد نیا مسؤل محترم آزمایشگاه کشت بافت دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) که مواد و امکانات لازم را در اختیار بنده قرار دادند تشکر می‌نمایم.

در پایان از تمامی دوستان، هم‌خوابگاهی‌ها و همزبان‌های عزیزم که در مدت تحصیلم در کنارشان بودم و بهترین و شیرین‌ترین لحظات تحصیلم را درکنارشان گذراندم سپاسگذاری می‌نمایم.

«با آرزوی داشتن فردایی بهتر و زیباتر از دیروز برای ایران عزیزم»

چکیده

پایه رویشی گزیلا ۶ یکی از پایه‌های معمول و مفید اکثر گونه‌های هسته‌دار جنس پرونوس بویژه گیلاس می‌باشد. این پایهٔ رویشی یکی از پایه‌های نیمه پاکوتاه گیلاس است که برای انواع مختلف خاک‌ها بخصوص خاک‌های سنگین به خوبی سازگار می‌باشد. در حال حاضر نیاز کشور از طریق واردات تأمین می‌شود و تاکنون دستورالعمل بومی برای ریزازدیادی آن تهیه نشده است. تحقیق حاضر به منظور بررسی عکس العمل پایهٔ یاد شده به تعدادی از عوامل غذایی، هورمونی و محیطی مؤثر در ریزازدیادی، باززایی و ریشه‌زایی انجام شد. از جوانهٔ انتهایی و جانبی به عنوان ریزنمونه استفاده شد. آزمایش‌های ریزازدیادی شامل بررسی تأثیر ۶ محیط کشت، ۵ نوع منبع کربن و همچنین ۳ نوع طیف نوری در ترکیب با غلظت‌های مختلف BAP و IBA بود. آزمایش‌های باززایی در دو مرحله انجام شد؛ مرحلهٔ اول شامل انجام یک آزمایش مقدماتی جهت انتخاب محیط کشت مناسب، همراه با انتخاب بهترین نوع سیتوکنین (از بین هورمون‌های BAP و TDZ در غلظت ثابت ۲ میلی گرم در لیتر) در ترکیب با اکسین مناسب از بین هورمون‌های IBA، NAA (در غلظت‌های ۰، ۰/۳، ۰/۵ و ۰/۷ میلی گرم در لیتر) و 2,4-D (با غلظت ۰/۲ میلی گرم در لیتر) بود. در مرحلهٔ دوم آزمایش غلظت مناسب BAP و نیز نوع و غلظت مناسب اکسین مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به نتایج به دست آمده در این قسمت MS به عنوان محیط کشت مناسب انتخاب شد. از بین کربوهیدرات‌های مورد آزمایش بیشترین تعداد و طول نوساقه به ترتیب در غلظت ۳۰ گرم در لیتر شکر معمولی و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز به دست آمد. همچنین استفاده از نور سفید به همراه ۱ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی گرم در لیتر IBA بیشترین تعداد نوساقه را تولید کرد در حالیکه بیشترین طول نوساقه تحت تأثیر نور قرمز به همراه ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی گرم در لیتر IBA به دست آمد. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که BAP در غلظت ۳ میلی گرم در لیتر مناسب‌ترین تیمار سیتوکنینی برای باززایی بوده ولی استفاده از اکسین‌های IBA و 2,4-D تأثیری روی باززایی ندارد. تحریک ریشه‌زایی به دو روش مورد مطالعه قرار گرفت؛ در روش اول نوساقه‌ها در محیط جامد 1/2MS حاوی غلظت‌های مختلف IBA و NAA کشت گردیدند که در نهایت NAA در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر عملکرد بهتری داشت. در روش دوم قاعدهٔ ریزنمونه‌ها در محلول‌هایی مستقل از ۱ گرم در لیتر (۱۰۰۰ ppm) دو هومون IBA و NAA در زمان‌های مختلف (۳ ثانیه، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه) قرار داده شد و سپس به محیط 1/2MS بدون هورمون منتقل شدند. بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین درصد ریشه‌زایی از قرار دادن پایهٔ ریزنمونه‌ها (غوطه‌ور سازی) در محلول ۱ گرم در لیتر IBA به مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه به دست آمد.

کلید واژه‌ها: Gisela 6، ریزازدیادی، کیفیت نور، باززایی، پالس ریشه‌زایی.

عنوان **صفحه**

۱- مقدمه ۱
۱-۱- سرآغاز ۲
۱-۲- تکثیر به وسیلهٔ بذر ۳
۱-۳- تکثیر رویشی ۳
۱-۳-۱- علل استفاده از تکثیر غیر جنسی (رویشی) ۴
۱-۳-۲- انواع روش های تکثیر غیر جنسی ۵
۱-۳-۲-۱- قلمه ۵
۱-۳-۲-۲- خوابانیدن شاخه ۵
۱-۳-۲-۳- جداسازی ۶
۱-۳-۲-۴- تقسیم ۶
۱-۳-۲-۵- ساقهٔ رونده ۶
۱-۳-۲-۶- ریزافزایی ۷
۱-۳-۲-۷- مزایای کشت بافت گیاهی ۸
الف: تکثیر سریع کلون‌ها ۸
ب: یکنواختی ژنتیکی ۸
ج: شرایط غیر آلوده ۹
د: گیاهان مادری درون شیشه‌ای ۹
ح: محیط کنترل شده ۹
۱-۴- معرفی گیلاس ۹
۱-۴-۱- گیاهشناسی ۱۰
۱-۴-۲- طبقه بندی ارقام گیلاس ۱۱
۱-۵- پایه های گیلاس ۱۱
۱-۵-۱- تاریخچهٔ پایه‌های گیلاس ۱۱
۱-۵-۲- نقش پایه در مدیریت خاک ۱۲

۱-۵-۳- نقش پایه در کنترل آفات و بیماری‌ها ۱۲
۱-۵-۴- سازگاری پیوند ۱۳
۱-۵-۵- معرفی پایهٔ گیزلا یا مجموعهٔ گیزن (Gisela or (Gissen Series ۱۳
۱-۵-۶- معرفی پایهٔ گیزلا ۶ (Gisela 6) ۱۴
۲- بررسی منابع ۱۶
۲-۱- کشت بافت Gisela 6 ..... ۱۷
۲-۲- عوامل مؤثر در کشت بافت گیاهی ۱۷
۲-۲-۱- عوامل گیاهی ۱۸
۲-۲-۱-۱- ژنوتیپ ۱۸
۲-۲-۱-۲- سن گیاه و بافت ۱۹
۲-۲-۱-۳- وضعیت فیزیولوژیکی ۱۹
۲-۲-۱-۴- تأثیر سال‌های مختلف ۲۰
۲-۲-۱-۵- شرایط رشد ۲۰
۲-۲-۱-۶- عوامل فیزیکی ۲۰
- نور ۲۱
- درجه حرارت ۲۲
- ۲-۲-۱-۶-۳- رطوبت ۲۳
- ۲-۲-۱-۶-۴- اکسیژن ۲۳
- ۲-۲-۱-۶-۵- عوامل مربوط به محیط کشت ۲۳

الف- مواد معدنی غذایی ۲۴

ب- هورمون‌ها ۲۴

- سیتوکینین‌ها ۲۵
- اکسین‌ها ۲۵

۲-۳- عوامل مؤثر در کشت بافت Gisela 6 ..... ۲۶
۲-۳-۱ نوساقه‌زایی ۲۶

الف) نمک‌های معدنی ۲۶
ب) سیتوکنین‌ها ۳۰
ج) اکسین‌ها ۳۴
د) منابع کربن ۲۵
ه) نور ۳۶
۲-۳-۲- ریشه‌زایی ۳۸
الف)اکسین ۳۸
ب)نور ۴۱
۲-۳-۳- باززایی ۴۳
الف) سیتوکنین‌ها ۴۴
ب) اکسین‌ها ۴۷
۲-۴- اهداف این پژوهش ۴۷
۳- مواد و روش‌ها ۵۱
۳-۱- ضد عفونی و استقرار ریزنمونه در شرایط درون شیشه ۵۲
۳-۲- مطالعهٔ واکنش نوساقه‌ها به محیط‌های کشت مختلف ۵۲
۳-۳- بررسی تأثیر منابع کربن مختلف روی نوساقه‌زایی ۵۳
۳-۴- بررسی تأثیر نور و تنظیم کننده‌های رشدی در نوساقه‌زایی ۵۳
۳-۵- ریشه‌زایی ۵۴
۳-۵-۱- مطالعهٔ تأثیر IBA و NAA روی ریشه‌زایی ۵۴
۳-۵-۲- مطالعهٔ تأثیر پالس هورمونی روی ریشه‌زایی ۵۴
۳-۶- باززایی غیرمستقیم نوساقه از برگ ۵۵
۳-۶-۱- آزمایش اول ۵۵
۳-۶-۲- آزمایش دوم ۵۵
۳-۷- تجزیه و تحلیل‌های آماری ۵۶
۴- نتایج ۵۷

۴-۱- منبع گیاهی، ضدعفونی و استقرار ریزنمونه در شرایط درون شیشه ۵۸
۴-۲- بررسی تأثیر محیط‌های کشت مختلف روی نوساقه‌زایی ۵۸
۴-۲-۱- تعداد نوساقهٔ کل ۵۸
۴-۲-۲- تعداد نوساقهٔ سالم ۵۹
۴-۲-۳- طول کل نوساقه‌ها ۵۹
۴-۲-۴- طول نوساقه‌های سالم ۶۰
۴-۲-۵- وزن تر کل نوساقه‌ها ۶۰
۴-۲-۶- وزن تر نوساقه‌های سالم ۶۱
۴-۳- بررسی تأثیر منابع مختلف کربن روی نوساقه‌زایی ۶۳
۴-۳-۱- تعداد نوساقه‌ها ۶۳
۴-۳-۲- طول نوساقه‌ها ۶۳
۴-۴- بررسی اثر نور و تیمارهای هورمونی روی نوساقه‌زایی ۶۶
۴-۴-۱- تعداد نوساقه ۶۶
۴-۴-۲- طول نوساقه ۶۷
۴-۵- ریشه‌زایی ۷۲
۴-۵-۱- بررسی تأثیر IBA روی ریشه‌زایی ۷۲
الف: درصد ریشه‌زایی ۷۲
ب: تعداد ریشه‌ها ۷۳
ج: طول ریشه‌ها ۷۳
۴-۵-۲- بررسی تأثیر NAA روی ریشه‌زایی ۷۴
الف: درصد ریشه‌زایی ۷۴
ب: تعداد ریشه‌ها ۷۴
ج: طول ریشه‌ها ۷۵
۴-۵-۳- بررسی تأثیر پالس هورمونی IBA روی ریشه‌زایی ۷۷
الف: درصد ریشه‌زایی ۷۷

ب: تعداد ریشه ۷۸
ج: طول ریشه ۷۸
۴-۵-۴- تأثیر پالس هورمونی NAA روی ریشه‌زایی ۷۹
الف: درصد ریشه‌زایی ۷۹
ب: تعداد ریشه ۷۹
ج: طول ریشه ۸۰
۴-۶- باززایی غیرمستقیم نوساقه از برگ ۸۲
۴-۶-۱- آزمایش اول ۸۲
الف: درصد باززایی ۸۳
ب: تعداد نوساقه ۸۳
۴-۶-۲- آزمایش دوم ۸۸
الف: درصد باززایی ۸۸
ب: تعداد نوساقه ۸۹
۵- بحث ۹۵
۵-۱- تأثیر محیط‌های مختلف روی نوساقه زایی ۹۶
۵-۲- بررسی تأثیر منابع کربن روی پرآوری ۹۸
۵-۳- بررسی تأثیر نور و تنظیم کننده‌های رشد روی پرآوری ۹۹
۵-۴- بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف IBA و NAA روی
ریشه‌زایی ۱۰۱
۵-۵- تأثیر پالس هورمونی IBA و NAA روی ریشه‌زایی ۱۰۲
۵-۶- بررسی باززایی نوساقه از برگ ۱۰۴
۵-۷- نتیجه گیری کلی ۱۰۸
۵-۸- پیشنهادها ۱۰۹
منابع ۱۱۰

فصل اول

مقدمه

۱-۱- سرآغاز

ازدیاد نباتات عبارت از افزایش در تعداد گیاهان به کمک روش های جنسی[1] و یا غیر جنسی[2] (رویشی). در ازدیاد نباتات باید توجه داشت که خصوصیات ژنتیکی گیاهان در طی تکثیر حفظ شود بعلاوه برای ازدیاد هرگونه گیاهی بایستی ساده ترین، ارزان ترین و سریع ترین روش را انتخاب کرد و لو اینکه گونهٔ مورد نظر به روش های دیگری نیز قابل تکثیر باشد.

بطور کلی در تکثیر جنسی نباتات تقسیم میوز (تقسیم کاهشی کروموزوم ها) و در تکثیر غیرجنسی آنها تقسیم میتوز (تقسیم مستقیم سلولی) دخالت دارد. بدین معنا که بذر از رشد سلول حاصل از تلاقی گامت نر و ماده به وجود می آید. مشخص است که به دلیل تلاقی های فراوان و خصوصیات متفاوت دانه های گرده، بویژه در دگرگرده افشانی، گیاهان حاصل از بذر خصوصیات ژنتیکی متفاوتی با یکدیگر و با والدینشان دارند. در تکثیر غیر جنسی، از سلول، بافت یا اندام گیاه مادری می توان گیاهی جدید تولید کرد در این نوع تکثیر تنها تقسیم میتوز دخالت دارد از اینرو گیاهان حاصل از تکثیر غیر جنسی خصوصیات مشابه یکدیگر و مشابه با والد مادر دارند. به عنوان مثال اگر بذرهای حاصل از تلاقی (دو رگ گیری) دو رقم گل سرخ با خصوصیات ژنتیکی متفاوت را کشت کنیم، نباتاتی با شکل ظاهری و رنگ گل متفاوت بدست می آیند. در حالی که اگر فرضاً گل سرخی با گل های قرمز و خار دار و سایر صفات به شکی از روش های تکثیر غیر جنسی مانند قلمه زدن تکثیر شود، برخلاف روش استفاده از بذر کلیهٔ خصوصیات ژنتیکی والد مادری به قلمه ها انتقال یافته و تمامی آنها دارای همان خصوصیات والد مادری می‌شوند. در کلیهٔ مراحل تکثیر غیر جنسی هر جا که نیاز به تقسیم سلولی باشد این تقسیم از نوع میتوز خواهد بود (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

ازدیاد درختان میوه مثل سایر گیاهان به طور کلی از دو طریق عمده انجام می شود.
۱) ازدیاد جنسی با کاشتن بذر یا هسته و به دست آوردن نهال از آنها.
۲) ازدیاد رویشی که از طریق رویانیدن قسمتی از اندام درخت میسر است (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

1- Sexual
2- Asexual (Vegetative)

۱-۲- تکثیر به وسیلهٔ بذر

بذر از نظر گیاهشناسی (در نهاندانگان) تخمک رسیده ای را گویند که داخل تخمدان یا میوه قرار دارد. بذر در واقع گیاهی است زنده که در حال انتظار به سر می برد. اجزای ضروری در ساختمان بذر عبارت است از یک تخمک رسیده، که شامل یک جنین و پوشش های آن است، با وجود این بذر گونه های مختلف گیاهان از لحاظ شکل، اندازه، جنین، قوهٔ نامیه و وجود بافت های ذخیره ای با یکدیگر متفاوتند (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

۱-۳- تکثیر رویشی

تکثیر غیر جنسی عبارت است از تولید یک گیاه جدید از یک سلول، بافت و یا اندام یک گیاه اولیه. تولید و نگهداری گیاهان جدید از گیاهان مادری و قدیمی یک مهارت بسیلر ارزشمند بوده و علاوه بر آن تکثیر غیر جنسی پایه های مادری و قدیمی به منظور تولید گیاهان جدید، روشی خوب و ارزان است.

قبلاً بیان شد که تقسیم سلولی میتوز نقش اساسی در تکثر غیر جنسی نباتات دارد لذا تمام گیاهان حاصل از این نوع تکثیر، ساختمان ژنتیکی مشابه دارند. مجموعهٔ گیاهانی که به این روش از یک گیاه اولیه حاصل می شوند همگروه[۳] نامیده می شود. پس همگروه جمعیتی است که در آن تمامی نباتات خصوصیات ژنتیکی مشابه و یکنواخت با یکدیگر دارند (مرادی نژاد، ۱۳۷۹)

بذر غیر جنسی[۴]: این پدیده هنگامی ایجاد می شود که فرایند تولید مثل جنسی که به صورت طبیعی منتهی به تشکیل جنین می شود با یک فرایند تولید مثل غیر جنسی جایگزین شود. در این حالت سلول کیسهٔ جنینی یا بافت خورش[۵] مرحلهٔ تقسیم میوز را نمی گذراند، بلکه زایگوتی را تشکیل می دهد که از نظر ژنتیکی به گیاه مادری شباهت دارد. برخی از نباتات ممکن است مخلوطی از جنین های جنسی و رویشی تولید کنند و برخی دیگر جنینهای کاملاً غیر جنسی یا آپومکتیک[۶] تولید می کنند.

[3] Clone
[4] Apomixis
[5] Nucellus
[6] Nucellus

در مرکبات مخلوطی از جنین های جنسی و غیر جنسی ممکن است در یک میوه مشاهده شود. تولید جنین های متعدد غیر جنسی را که در بافت خورش و در اثر پدیده ای به نام جنین های خورشی[۷] انجام می گیرد چند جنینی[۸] نامند. پدیده ای که در آن دو یا چند جنین داخل یک بذر وجود دارد. در باغبانی از بذرهای آپومیکت به عنوان پایه های همگروهی عاری از عوامل بیماری-زای ویروسی در برخی از گیاهان مانند سیب استفاده می‌شد، زیرا در ابتدا تصور می شد که در این گیاه ویروس از گیاه مادری آلوده به نهال بذری خود منتقل نمی شود اما پس از سالها این موضوع در مورد سیب به طور کامل و رضایت بخش مشاهده نشد به نحوی که کارایی پایه های آپومیکت تاکنون به پایه های همگروهی پاکوتاه یا نیمه پاکوتاه در سیب نرسیده است (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

۱-۳-۱- علل استفاده از تکثیر غیر جنسی (رویشی):

۱) تکثیر میوه‌های بی دانه: یعنی تکثیر گیاهانی که بذر ندارند و ازدیاد آن‌ها با روش غیر جنسی صورت می‌گیرد مانند موز، پرتقال ها و انگور های بی‌دانه
۲) حفظ و نگهداری همگروه های مرغوب، تنها با ازدیاد غیر جنسی آن‌ها ممکن است. (بخصوص در نباتات زینتی و درختان میوه که هنروزیگوسی شدیدی دارند).
۳) کوتاه کردن دورهٔ نونهالی و تسریع در رسیدن به مرحلهٔ بلوغ
۴) امکان ترکیب همگروه ها توسط عمل پیوند که از روش های تکثیر غیر جنسی است.
۵) یکنواختی همگروه ها نسبت به تکثیر با بذر بسیار سود مند است.
۶) گیاهان حاصل از ازدیاد غیر جنسی در مقایسه با گیاهان بذری معمولاً از نظر اندازه کوچکتر بوده و عملیات برداشت آن ها آسان‌تر است (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

گاهی ممکن است در حین تکثیر غیر جنسی در اثر وجود عوامل مختلفی نظیر مواد شیمیایی، اشعه های مختلف و مانند آن، نباتاتی با خصوصیات ژنتیکی جدید و مغایر با گیاهان مادری حاصل شوند. این تغییرات ژنتیکی را جهش گویند. اگر جهش در برخی از سلول های یک بافت گیاهی رخ دهد ممکن است آن بافت را فرا گرفته و در نتیجه سبب ایجاد بافت جدیدی با صفات متفاوت، در مجاورت بافت طبیعی گیاه شود به این حالت که در برخی گونه های گیاهی بیش از یک نوع بافت

[7] Nucellar Emberyony
[8] Polyemberyony

ژنتیکی وجود دارد، بافت ناهمسان یا شیمر[9] گویند به عبارت ساده تر شیمر ها گیاهانی هستند که از دو یا چند بافت با خصوصیات ژنتیکی مختلف تشکیل شده اند (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

۱-۳-۲- انواع روش های تکثیر غیر جنسی:

در روش های تکثیر غیر جنسی معمولاً از اندام های اصلی گیاه نظیر ریشه، ساقه و برگ و یا از برخی اندام های ذخیره ای و تغییر شکل یافتهٔ آن همچون پیاز و غده برای تکثیر استفاده می شود.

۱-۳-۲-۱- قلمه

قلمه به قسمتی از ساقه ، ریشه یا برگ گیاه گویند که پس از جداسازی از گیاه مادری، در شرایط مناسب قرار داده می شود تا تولید شاخه و ریشه کرده و گیاهی جدید از آن حاصل شود. مسلم است که گیاهان حاصل از این عمل، صفات مشابه با گیاه مادری خواهند داشت. ازدیاد به وسیلهٔ قلمه مهمترین و متداولترین روش تکثیر غیر جنسی گیاهان محسوب می شود زیرا بسیاری از درختان و درختچه های خزان دار و همیشه سبز (زینتی و میوه ها) توسط قلمه ازدیاد می شوند (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

تهیهٔ قلمه به چهار شکل است، قلمهٔ ساقه، قلمهٔ ریشه، قلمهٔ برگ و قلمهٔ جوانهٔ برگ.

۱-۳-۲-۲- خوابانیدن شاخه[10]

خوابانیدن شاخه برای گیاهان کمیاب، گران و سخت ریشه زا تکثیر مناسبی محسوب می شود. روش عمل به این صورت است که شاخه ای را در حالی که به گیاه مادری متصل است انتخاب کرده و معمولاً آن را در زیر خاک قرار می دهند تا پس از گذشت حداقل یک یا دو فصل ریشه دار شده که پس از جداسازی از گیاه مادری، گیاه جدید و مستقلی ایجاد خواهد شد. مشکل عمده در این روش اولاً پیدا کردن شاخه مناسب برای خوابانیدن است و ثانیاً تعداد گیاهان ایجاد شده در مقایسه با روش های دیگری مانند قلمه زدن بسیار کمتر است. همچنین از این روش برای پر کردن فواصل خالی درختان در وری ردیف استفاده می شود. خوابانیدن شاخه به چند شکل انجام

[9] Chimeras
[10] Layering

می شود که خوابانیدن ساده، کپه ای و هوایی از متداولترین آن ها به شمار می آیند و معمولاً اگر شاخه ای را نتوان خم کرد باید از خوابانیدن کپه ای یا هوایی استفاده کرد (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

۱-۳-۲-۳- جداسازی[11]

برخی گیاهان اندام های ویژه و تغییر شکل یافته ای دارند که از آن برای ذخیرهٔ مواد غذایی، حفظ بقای گیاه و تولید مثل خود استفاده می کنند. پیاز[12] (سوخ) و پیاز توپر[13] اندام های دارای ساقهٔ گوشتی و تغییر شکل یافته ای هستند که هر سال به طور طبیعی پیازچه هایی در کنتر پیاز اصلی تولید می کنند که با جداسازی آن‌ها از پیاز اصلی، تکثیر به روش جداسازی انجام می شود. پیاز معمولی به صورت ورقه ورقه است در حالی که پیاز توپر یک تکه ای بوده و ورقه ای نیست (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

۱-۳-۲-۴- تقسیم[14]

بعضی از گیاهان اندام های گوشتی و ذخیره ای دارند که حاصل تغییر شکل ساقه یا ریشه می باشند. در عمل تقسیم، با بریدن و قطع کردن مناسب و به موقعد این اندام ها می توان هر سال به تکثیر این گیاهان اقدام کرد، مهمترین آن‌ها عبارتند از غده[15]، ریزوم[16]، ریشهٔ گوشتی[17]، طوقه[18] و تنه‌جوش[19] (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

۱-۳-۲-۵- ساقهٔ رونده[20]

ساقهٔ رونده، ساقهٔ هوایی بلند و ویژه ای است که از محل طوقهٔ برخی گیاهان منشأ گرفته و رشد می کند. در بعی از ارقام توت فرنگی و یا گیاه زینتی برگ گندمی (سجافی) یک روش برای تکثیر

[11] Separation
[12] Bulb
[13] Corm
[14] Division
[15] Tuber
[16] Rhizome
[17] Tuberous
[18] Crown
[19] Offshoot
[20] Runner

استفاده از ساقهٔ رونده است. معمولاً اگر شرایط خوب باشد ساقه های رونده پس از تماس با خاک مرطوب ریشه داده که با تکه تکه کردن آنها گیاهان جدیدی بدست می آید (مرادی نژاد، ۱۳۷۹).

۱-۳-۲-۶- ریزافزایی[۲۱]

ریزافزایی عبارت است از تولید گیاه یا گیاهانی کامل، در محیط مصنوعی عاری از عوامل بیماری‌زا، از یک قسمت بسیار ریز گیاه، مانند: یاخته، دانهٔ گرده، بذر، برگ، دمبرگ، ساقه، نوک ساقه، نوک ریشه، پینه[۲۲] (تودهٔ یاخته‌ای تمایز نیافته) و غیره که فناوری کشت بافت[۲۳] نیز نامیده می‌شود (خوشخوی، ۱۳۸۳).

امروزه از کشت بافت برای افزایش رویشی سریع گیاهان استفاده می‌شود. روش‌های ریزافزایی به هر صورت، از کشت مریستم گرفته تا کشت تعلیقی یاخته‌ها، بدین ترتیب انجام می‌گیرد که ابتدا اندامی از گیاه را که می‌خواهند از آن نمونه بگیرند (مانند نوک ساقه، برگ و غیره) تعیین کرده، قطعهٔ بسیار ریزی از آن را که ریزنمونه[۲۴] خوانده می‌شود جدا کرده و پس از گندزدایی سطحی با مواد گندزدایی مانند هیپوکلریت سدیم، چند بار با آب مقطر می‌شویند و سپس نمونه را روی محیط کشتی که از پیش آماده شده در ظروف کاشت قرار می‌دهند. محیط کشت ممکن است مایع باشد یا با آگار نیمه جامد شده باشد. پژهشگران این رشته فرمول‌های غذایی ویژه‌ای را به منظورهای مختلف پیشنهاد کرده‌اند که به طور معمول از آنها به طور کامل یا با اندکی تغییر استفاده می‌کنند. نمونه‌های گیاهی که در ظرف‌های کاشت قرار دارند باید پس از مدتی (که طول آن بستگی به نوع گیاه و سایر عوامل دارد)، برای تولید ریشه یا ساقه، به محیط کشت تازه یا محیط کشت دیگری منتقل شوند. برای انتقال به خاک نیز باید گیاهانی را که در ظرف‌های کاشت ریشه‌دار شده‌اند، به تدریج با محیط خاک و گلخانه سازگار نمود (خوشخوی، ۱۳۸۳).

[21] Micropropagation
[22] Callus
[23] Tissue Culture Technique
[24] Explant