



اثر تنظیم کننده های رشد بر ریز ازدیادی به لیمو (*Lippia citriodora* (Ort.) H.B.K.)

متین مقصودی، سحر بهلولی زنجانی، علی رضائی صیاد

پژوهشکده تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شمال.

گیاه به لیمو، *Lippia citriodora* (Ort.) H.B.K درختچه ای پایا از تیره Verbenaceae است. برگ و سرشاخه های گلدار این گیاه به دلیل دارا بودن ترکیباتی متنوع از گروه ترپن ها از دیر باز مورد توجه بوده و در طب سنتی دارای کاربرد های فراوانی است. هدف از این پژوهش یافتن راهی مؤثر برای تکثیر این گیاه دارویی در مقیاس انبوه است. جدا کشت های گره ای به دست آمده از شاخساره های جوان گیاه در محیط MS غنی شده با غلظت های مختلف ۶- بنزیل آدنین (BA) و ایندول استیک اسید (IAA) قرار گرفت. مقایسه میانگین ها نشان داد که بهترین تیمار شاخه زایی، هورمون BA با غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر بود. بهترین ریشه زایی با تیمار هورمونی BA و IAA با غلظت ۱/۵ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر به دست آمد. پس از ۳ هفته مشاهدات نشان دادند که هیچ تغییر مورفولوژیکی در مقایسه با گیاهان پایه مادری مشاهده نشده است. این روش تکثیر می تواند گیاهچه های لازم جهت کشت انبوه و تجاری را فراهم آورده و گیاهانی همسان و عاری از بیماری تولید نماید.

کلمات کلیدی: ریز ازدیادی، به لیمو (*Lippia citriodora*)

مقدمه:

به لیمو با نام علمی *Lippia citriodora* (Ort.) H.B.K گیاهی درختچه ای به ارتفاع ۱/۵ تا ۲ متر و دارای ساقه بلند، زاویه دار و منشعب است. این گیاه بومی آمریکای مرکزی و جنوبی، کارولینای شمالی، کالیفرنیا، اسپانیا، هند، چین و نواحی حاره ای آفریقا می باشد و امروزه در غالب نواحی پرورش می یابد. برگ ها ساده، خشن، کامل، فراهم، مجتمع، به تعداد ۳ تا ۴ تایی، به رنگ سبز روشن است. گل ها کوچک و دارای جامی است که از خارج، سفید و در بخش داخلی، آبی مایل به بنفش است. جام گل ۴ لوب، دارای ۴ پرچم است که دو به دو با هم برابرند. میوه شفت مانند و دارای ۲ دانه است.^۱ جنس *Lippia* متعلق به تیره شاه پسند (Verbenaceae) حدودا شامل ۲۰۰ گونه علفی، درختچه ای و درختی است.^۲ اغلب گونه های جنس *Lippia* در طب سنتی برای درمان بیماری های دستگاه گوارش و تنفسی استفاده می شدند.^۳ قسمت مورد استفاده گیاه به لیمو برگ های آن است. برگ و سرشاخه های گلدار گیاه دارای خواص درمانی بوده و در طب سنتی کاربرد دارد. همچنین از اسانس آن در صنایع غذایی و آرایشی و بهداشتی به صورت گسترده استفاده می شود.^۱

ترکیبات شیمیایی اسانس بسیاری از گونه های *Lippia* به وسیله تکنیک گاز کروماتوگرافی مورد بررسی قرار گرفته است. یافته ها نشان می دهند که ترکیباتی از گروه ترپن ها از جمله Geraniol, Citral-A, Citral-B, Caryophyllene oxide, Limonen, Linalool, 1,8-cineol به فراوانی بیشتری در روغن های فرار گیاه به لیمو یافت می شوند.^۴ این گیاه دارای اثرات ضد درد، ضد التهاب، تب بر، آرام بخش و ضد تشنج است که در پژوهش های دارویی جدید اثبات شده است.^۳ بعلاوه روغن های فرار استخراج شده از گونه های *Lippia* اثرات مهار کننده بر فعالیت باکتری ها از جمله *Escherichia coli*

دارد.^۶ تکثیر این گیاه به وسیله قلمه زدن یا خوابانیدن و یا از طریق پاجوش‌های تولید شده انجام می‌شود. بررسی تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد مطالعاتی در زمینه ریز ازدیادی *L. javanica* توسط Nargis و همکاران در سال ۲۰۱۰،^۶ *L. alba* توسط Gupta و همکاران در سال ۱۹۹۹^۸ و ریشه‌دار کردن قلمه‌های ساقه‌ای *L. multiflora* توسط Ameyaw در سال ۲۰۰۹ انجام شده است.^۹ هدف از این پژوهش، بهینه سازی محیط کشت جهت افزایش راندمان تولید این گیاه دارویی است.

مواد و روش‌ها:

جوانه‌های جانبی از شاخه‌های جوان گیاهان مادری جدا شده و به مدت ۲۰ دقیقه در آب جاری شسته شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در آب اکسیژنه (V/V) ۳۰٪ و به مدت ۱۵ دقیقه با محلول ۱٪ هیپو کلریت سدیم ضدعفونی و با آب مقطر استریل آبکشی شدند. جدا کشت‌های به‌لیمو به طول ۱-۱/۵ سانتی‌متر در محیط کشت پایه MS (Murashige & Skoog, 1969) حاوی سیتوکینین و اکسین در ۵ تکرار و ۵ مشاهده در قالب طرح کاملاً تصادفی کشت شدند. pH محیط کشت ۵/۷ و میزان آگار اضافه شده ۷ گرم در لیتر بود. جدا کشت‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، دوره روشنایی ۱۶ ساعت، نور فلورسنت $80 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-2}$ قرار گرفتند. غلظت‌های مختلفی از تنظیم کننده‌های رشد 6-benzyladenine (BA) به مقدار ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر و Indol-3-acetic acid (IAA) به مقدار ۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر برای القای ریشه و ساقه در جدا کشت‌ها مورد آزمون قرار گرفت. داده برداری، ۲۰ روز پس از کشت انجام شد. تجزیه واریانس با استفاده از نرم افزار SAS بر روی داده‌های نرمال صورت گرفت. برای تفسیر نتایج و رسم جدول‌های مقایسه میانگین، از داده‌های اصلی استفاده شد.

گیاهچه‌های ریشه دار شده به طول تقریبی ۵ سانتی متر به گلدان‌های محتوی پیت و پرلیت (۱:۱) منتقل شدند و جهت سازگاری، با قرار دادن درپوش پلاستیکی به مدت ۵ روز به گلخانه‌ای با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰-۷۰٪ انتقال یافتند.

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس کلیه فاکتورهای اندازه گیری شده نشان می‌دهد اثر ساده غلظت‌های مختلف هورمون‌های استفاده شده در محیط کشت روی طول شاخساره، طول میانگره، طول ریشه و وزن خشک ساقه در سطح ۱٪ و روی تعداد جوانه فعال در سطح ۵٪ معنی دار بوده است. همچنین اثر متقابل غلظت‌های مختلف هورمون‌های BA و IAA روی صفات طول ریشه، تعداد ریشه و تعداد جوانه فعال به ترتیب در سطوح ۱٪، ۱٪ و ۵٪ معنی دار بوده است. نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات ساده هورمون‌ها روی صفات طول شاخساره و طول میانگره با آزمون توکی نشان داد غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بیشترین تاثیر را بر طول شاخساره (به ترتیب ۱/۶۷ و ۱/۵۳) و طول میانگره (به ترتیب ۱/۰۹ و ۱/۰۵) داشته است. بیشترین میانگین طول شاخساره (۱/۸۷) و میانگره (۱/۲۱) در غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IAA مشاهده شد. بررسی اثرات متقابل هورمون‌ها روی صفات طول ریشه، تعداد ریشه و تعداد جوانه جانبی فعال با آزمون توکی حاکی از این است که غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA در ترکیب با غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IAA، بیشترین تعداد ریشه (۱/۹۲) و بلندترین ریشه‌ها (۱/۰۴) را تولید کرده‌اند. بیشترین تعداد جوانه جانبی فعال (۲/۱۶) در غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر IAA ثبت شد. بنابراین محیط حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA برای تولید شاخساره و محیط حاوی ترکیب هورمون‌های BA (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و IAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) برای ریشه زایی توصیه می‌شود. ۹۵٪ گیاهان حاصل در محیط حاوی پیت و پرلیت (۱:۱) با شرایط برون شیشه‌ای سازگار شدند.

منابع:

- ۱- زرگری، علی. گیاهان دارویی، جلد ۵، ص.ص. ۷۱۴-۷۱۱، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۳۸.
- 2- Terblanche, F.C., Kornelius, G., 1996. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) – A literature review. *Journal of Essential oil research*. 8, 471-485.
- 3- Pascual, H.E., Slowing, K., Carretero, E., Sanchez Mata, D. and Villar A., 2001. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. *Journal of ethnopharmacology*. 76, 201-214.
- 4- De Vincenzi, M., Maialetti, F. and Dessi, M.R., 1995. Monographs on botanical flavouring substances used in foods. Part IV. *Fitoterapia*. 66, 203-210.
- 5- Lemons, T.L.G., Matos, F.J.A., Alen car, J.W., Craveiro, A.A., Clark, A.M. and Mc Chesney, J.D., 1990. Antimicrobial activity of essential oils of Brazilian plants. *Phytotherapy research*. 4, 82-84.
- 6- Nargis Ara, F.M., Safiul Azam, Shejuty Shareen Lithy and Mohammed Rahmatullah, 2010. A study of plant growth hormones on in vitro clonal propagation of fever Tea (*Lippia javanica*): a medicinal shrub. *American – Eurasian journal of sustainable agriculture*. 4(3), 274-279.
- 7- Shiv K. Gupta, S.P.S. Khanuja and Sushil Kumar, 2001. In vitro micropropagation of *Lippia alba*. *Current science*. 80(2), 206-210.
- 8- Julani, H. R. (Jr), Koroch, A.R., Julani, H.R. and Trippi, V.S., 1999. Plant cell tissue org. cult., 59, 175-179.
- 9- Ameyaw, Y., 2009. A growth regulator for the propagation of *Lippia multiflora* Moldenke, a herbal for the management of mild hypertension in Ghana. *Journal of medicinal plants research*. 3(9), 681-685.

The effect of plant growth regulators on micropropagation of *Lippia citriodora* (Ort.)

H.B.K

Matin Maghsoudi¹, Sahar Bohlooli Zanjani², Ali Ramezani Sayad³
1,2,3. Agricultural Biotechnology Research Institute, North of Iran..

Abstract

Lemon verbena (*Lippia citriodora* [Ort.] H.B.K) is a permanent shrub belonging to Verbenaceae family. Leaves and shoot tips of this plant contain various compounds of terpenes which are widely used in traditional medicine. The objective of this research is to find an effective method for multiplication of the plant in large scale. Nodal explants obtained from young shoots were established in MS medium fortified with different concentrations of BA and IAA. The best treatments for shooting and rooting were BA (0.5 mg/l) and BA (1.5 mg/l) + IAA (0.5 mg/l), respectively. After 3 weeks, observations showed that no morphological variation was occurred in comparison with mother plant. This method of propagation can produce similar and free of disease plants required for large scale culture.