تکثیر سریع گیاه دارویی به‌لیمو از طریق کشت درون شیشه‌ای (*Lippia citriodora* L.)

آتنا اولادزاد[1]، اردشیر قادری[2]، حسنعلی نقدی‌بادی[3]، امیررضا زارع کاریزی[1]*

۱- کارشناس ارشد، گروه بیوتکنولوژی گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
۲- عضو هیأت علمی، گروه بیوتکنولوژی گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
۳- دانشیار، گروه پژوهشی کشت و توسعه گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج
*آدرس مکاتبه: کرج، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، صندوق‌پستی: ۳۶۹ - ۳۱۳۷۵
تلفن: ۱۹-۳٤۷٦٤۰۱۰ (۰۲٦)، نمابر: ۳٤۷٦٤۰۲۱ (۰۲٦)،
پست الکترونیک: amirrzare@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۰/٤/٤ **تاریخ تصویب:** ۹۱/۳/۹

چکیده

مقدمه: جنس ***Lippia*** دارای بیش از ۲۰۰ گونه است که در این بین گونه ***Lippia citriodora*** L. دارای ارزش بالای دارویی می‌باشد و تکثیر سریع و گسترده آن به روش‌های نوین جهت گسترش سطح زیرکشت از ارزش بالایی برخوردار است.

هدف: تحقیق حاضر به منظور ارائه یک روش سریع و کارآمد برای تکثیر این گونه دارویی برای اولین بار در یک حجم بزرگ با استفاده از قطعات گره‌ای در شرایط کشت درون شیشه‌ای انجام شده است.

روش بررسی: قطعات گره‌ای حاوی ۱ تا ۲ جوانه جانبی به منظور ریزازدیادی نوساقه‌ها در محیط کشت **MS** حاوی غلظت‌های مختلف هورمون‌های **NAA**، **IBA** و **BAP** کشت شدند. ریشه‌زایی در محیط‌های کشت حاوی هورمون‌های **IBA**، **NAA** و ذغال فعال بررسی و سازگاری در گلدان‌های پلاستیکی کوچک حاوی مخلوط پرلیت، ورمی کولیت و خاک زراعی انجام شد.

نتایج: بیشترین تعداد شاخه‌ها در تیمار هورمونی حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر **BAP** در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون **IBA** و بیشترین فراوانی ریشه در تیمار هورمونی حاوی **IBA** در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر در ترکیب با ۲ گرم در لیتر ذغال فعال به دست آمد.

نتیجه‌گیری: با توجه به امکان تکثیر سریع و آسان گیاه به‌لیمو در محیط‌های حاوی هورمون‌های **BAP** و **IBA** به ترتیب در غلظت‌های ۳ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر می‌توان روش کشت درون شیشه‌ای را به عنوان روشی سریع و ارزان جایگزین روش‌های رایج تکثیر گیاه دارویی به لیمو نمود.

گل واژگان: به‌لیمو، کشت درون شیشه‌ای، **BAP**، **IBA**، **NAA**

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.14.2]

مقدمه

به لیمو با نام علمی *Lippia citriodora* L. درختچه‌ای است خزان‌پذیر از خانواده‌ی شاهپسند (Verbenaceae) است که ارتفاع آن به ۳ تا ۵ متر می‌رسد [۱]. برگ‌های این گیاه به صورت کشیده و به رنگ سبز کمرنگ به صورت دسته‌های سه تایی بر روی ساقه قرار می‌گیرند. جنس *Lippia* دارای بیش از ۲۰۰ گونه است که در این بین، گونه *L. citriodora* دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشد. به‌لیمو گیاهی بومی کشورهای آمریکای جنوبی (شیلی و پرو) است که به طور وسیع در باغ‌های کشورهای اروپایی کشت می‌شود [۲]. امروزه این گیاه در شمال کشورمان کشت و کار می‌شود و گونه‌های بومی‌ای نیز از جنس *Lippia* در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری کشورمان وجود دارد [۳]. برگ‌ها و اندام رویشی این گیاه دارای خاصیت تب‌بر، مسکن، ضدنفخ و کمک‌کننده به هضم غذا می‌باشد. چای به‌لیمو فوق‌العاده آرام‌بخش و تسکین‌دهنده اعصاب است [۴،۵،۶].

تکثیر به‌لیمو به وسیله قلمه‌زدن شاخه‌ها و یا خوابانیدن آنها در زمینه‌ای قابل نفوذ و مرطوب در فصل بهار صورت می‌گیرد [۷]. البته با استفاده از این روش، تعداد محدودی گیاه با توجه به حجم خزانه در دسترس و همچنین تعداد پایه‌های مادری اولیه تولید می‌شود. از آنجایی که در کشور پتانسیل زیادی برای تولید گیاهچه‌های به‌لیمو وجود دارد، با تکثیر سریع و گسترش سطح زیر کشت آن می‌توان تحولی اقتصادی در صنعت این گیاه دارویی ایجاد نمود. زیرا این محصول یکی از محصولات نوین در عرصه کشاورزی ایران است که مصرف آن به میزان فزاینده‌ای در جامعه در حال گسترش است. یکی از راه‌کارهای تولید تجاری و همچنین افزایش عملکرد اندام دارویی گیاه به‌لیمو، افزایش سطح زیر کشت آن می‌باشد که مستلزم تکثیر سریع و اقتصادی به‌لیمو است. به عبارت دیگر، روش‌هایی موردنیاز است تا بتوان در مدت زمان کوتاه، تعداد زیادی گیاهچه تولید نمود. ازدیاد به‌لیمو از طریق بذر به دلیل وجود پدیده دگرگشنی و تفرق ژنتیکی صفات در نتاج، مورد توجه نمی‌باشد [۸]. از این رو تکثیر گیاه به‌لیمو با استفاده از کشت بافت راه حل کارآمد و مفید برای غلبه بر مشکلات تکثیر آن می‌باشد. با استفاده از کشت درون شیشه‌ای می‌توان نسبت به تولید انبوه و عاری از آلودگی گیاه به لیمو اقدام نمود. همچنین اولین گام در اصلاح ژنتیکی با استفاده از روش‌های ملکولی، تولید متابولیت‌های ثانویه در بیوراکتورها و افزایش میزان ماده مؤثره به وسیله تکنیک‌های بیوتکنولوژیکی بهینه‌سازی کشت بافت این گیاه می‌باشد. با توجه به اهمیت گیاه به‌لیمو در صنایع مختلف بهینه‌سازی کشت بافت آن به عنوان گام نخست در بهبود و افزایش تولید متابولیت ثانویه این گیاه حائز اهمیت می‌باشد.

علی‌رغم اهمیت این جنس و به خصوص گونه با ارزش *L. citriodora*، مطالعات بیوتکنولوژیک (کشت بافت، کشت سوسپانسیون و انتقال ژن) اندکی روی آنها انجام شده و در منابع علمی معتبر گزارش‌های کمی در این رابطه موجود است. گوپتا و همکاران (۲۰۰۱) اثر تنظیم‌کننده‌های رشد را بر ریزازدیادی گونه *Lippia alba* بررسی نمودند و بیشترین تعداد نوساقه‌ها را در محیط حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به دست آوردند [۹]. همچنین در تحقیقی بر روی گونه *Lippia junelliana*، اثر BAP در غلظت ۴/۴ میکرومولار به تنهایی و یا در ترکیب با ۰/۰۴ میکرومولار IBA بر ریزازدیادی این گیاه بررسی شد [۱۰]. در مطالعه‌ای دیگر اثر هورمون‌های BAP و NAA بر تکثیر و ریشه‌زایی گیاه دارویی و در حال انقراض *Lippia filifolia* بررسی شد. نتایج نشان داد که محیط کشت حاوی ۴/۵ میکرومولار BAP به همراه

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.14.2]

٥٤ نانو مولار NAA بیشترین درصد نوشاخه‌ها را القاء نموده است [١١]. مطالعه حاضر برای اولین بار یک روش سریع، ساده و کارامد برای تکثیر گونه با ارزش *L. citriodora* در یک حجم بزرگ با استفاده از قطعات گره‌ای (Nodal Segments) در شرایط کشت درون شیشه‌ای را ارائه می‌دهد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

سرشاخه‌های گیاه دارویی به لیمو به طول ١٥ – ١٠ سانتی‌متر در اوایل اردیبهشت از پایه‌های مادری ٢ ساله واقع در گلخانه‌های تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی تهیه شد. پس از انتقال سرشاخه‌ها به آزمایشگاه ابتدا برگ‌ها جدا شدند و سپس شاخه‌ها به قطعات گره‌ای که حاوی ٢ – ١ جوانه جانبی بودند بریده شدند. به منظور سترون‌سازی، ابتدا ریزنمونه‌ها به مدت ٣٠ دقیقه در زیر آب جاری به همراه مایع ظرفشویی شستشو شدند. سپس در زیر لامینار ایرفلو ابتدا به مدت ٣٠ ثانیه با الکل ٧٠ درصد و سپس با محلول هیپوکلرید سدیم ١ درصد حاوی ٣ – ٢ قطره توین ٢٠ به مدت ٢٥ دقیقه استریل شدند. در نهایت ریزنمونه‌ها به وسیله آب مقطر استریل سه بار شستشو داده شدند.

محیط تکثیر و شرایط کشت

قطعات گره‌ای حاوی ٢ – ١ جوانه جانبی به منظور تکثیر نوساقه‌ها (Shoot) در محیط کشت MS (Murashige and Skoog) حاوی ٠، ٠/٥، ١، ٢، ٣ و ٤ میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP به تنهایی و یا در ترکیب با ٠، ٠/١ و ٠/٥ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA یا ٠ و ١ گرم در لیتر ذغال فعال کشت شدند. به تمامی محیط‌های کشت ٧ گرم در لیتر آگار و ٣٠ گرم در لیتر شکر افزوده شد. pH محیط‌ها در ٥/٨ تنظیم شد و محیط‌ها در دمای ١٢١ درجه سانتی‌گراد در فشار ١/٢ بار به مدت ٢٠ دقیقه اتوکلاو شدند. سپس ظروف کشت به اتاقک رشد در دمای ٢٣ درجه سانتی‌گراد با فتوپریود ١٦ ساعت نور و ٨ ساعت تاریکی منتقل شدند. واکشت در فواصل زمانی هر ٤ هفته انجام و ٢١ روز پس از واکشت دوم، درصد نوشاخه‌های ایجاد شده، تعداد و طول نوساقه‌ها بررسی شدند.

ریشه‌زایی و سازگاری

نوساقه‌های به دست آمده از مرحله تکثیر که دارای طول ١٠ – ٨ سانتی‌متر بودند به منظور ریشه‌زایی به محیط‌های کشت حاوی هورمون‌های IBA و NAA در غلظت‌های ٠، ٠/١، ٠/٥ و ١ میلی‌گرم در لیتر هر یک به تنهایی و یا در ترکیب با ٢ گرم در لیتر ذغال فعال منتقل شدند. دما و شرایط محیط‌های کشت کاملاً شبیه به مرحله تکثیر بود. چهار هفته بعد از کشت درصد ریشه‌زایی نوساقه‌ها و تعداد ریشه‌های تولید شده در هر ریزنمونه بررسی شد. به منظور سازگاری گیاهچه‌ها ابتدا گیاهان از آگار خارج شده و پس از شستشوی کامل در زیر آب ولرم در گلدان‌های کوچکی که با ترکیبی از پرلیت، ورمی کولیت و خاک زراعی با نسبت ١:١:١ پر شده بود وارد شدند. گلدان‌ها با آب معمولی مه پاشی می‌شدند. سپس برای حفظ حداکثر رطوبت، روی گلدان‌ها را با سرپوش پلاستیکی پوشانده و گیاهان به ژرمیناتور در دمای ٢١ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. جهت انجام سازگاری تدریجی و به منظور تهویه بهتر هر چند ساعت یک بار گیاهچه‌ها مورد مه‌پاشی قرار می‌گرفتند. پس از دو هفته، چند منفذ کوچک روی سرپوش‌ها ایجاد و در هفته چهارم سرپوش‌ها به طور کامل برداشته شد و گیاهان سازگار شده به گلخانه منتقل شدند.

آنالیز داده‌ها و محاسبات آماری

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد و در هر تکرار

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.14.2]

۱۰ ریز نمونه قرار داشت. به منظور آنالیز آماری داده‌ها از نرم‌افزار MSTAT-C Version 2.10 و از آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

طی دو تا سه هفته پس از کشت، در همه تیمارها به جز محیط کشت پایه MS، نوشاخه‌ها بر روی ریزنمونه‌ها تشکیل و مشاهده شد. با این حال نتایج نشان داد که در تعداد شاخه و همچنین طول شاخه‌ها، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف وجود دارد (جدول شماره ۱). افزایش غلظت BAP به طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد نوساقه‌ها شد، به طوری که بیشترین تعداد شاخه‌ها در تیمار هورمونی حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به دست آمد (شکل شماره ۱- الف). در تمامی محیط‌های حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، در انتهای بریده شده ریزنمونه‌ها، کالوس نیز مشاهده شد.

در بسیاری از تیمارهای هورمونی ٤ هفته پس از کشت، گیاهان شروع به زرد شدن و ریزش برگ می‌کردند. بنابراین به تمامی تیمارها ۱ میلی‌گرم در لیتر ذغال فعال افزوده شد. در مقایسه با محیط‌های فاقد ذغال فعال، افزودن ذغال فعال به محیط‌های کشت باعث کاهش تعداد شاخه‌ها شد اما طول شاخه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت. لازم به ذکراست که بیشترین طول گیاهچه در تیمار هورمونی حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به دست آمده است (جدول شماره ۱). همچنین، در محیط‌های حاوی ذغال فعال به خصوص در تیمارهای هورمونی ۱ - ۰ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۰/۵ میلی‌گرم IBA ریشه‌زایی مشاهد شد.

به منظور ریشه‌زایی نوساقه‌های با طول ۱۲ - ۱۰ سانتی‌متر، به محیط‌های حاوی اکسین‌های IBA و NAA به تنهایی و یا در ترکیب با ذغال فعال انتقال داده شدند. اولین نشانه‌های تشکیل ریشه ۲ هفته پس از کشت در تیمار هورمونی حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. با این حال با گذشت ٤ هفته از کشت در تمامی تیمارهای هورمونی ریشه تشکیل شد. افزایش غلظت IBA افزایش معنی‌دار در ریشه‌زایی را به همراه داشت. بر خلاف آن افزایش غلظت NAA باعث کاهش ریشه‌زایی شد. به نظر می‌رسد که در این تیمارها تشکیل کالوس در انتهای بریده شده نوساقه باعث کاهش ریشه‌زایی شده است. افزودن ذغال فعال به محیط‌های حاوی NAA و IBA به طور معنی‌داری باعث افزایش ریشه‌زایی شد (جدول شماره ۲). چنان که مشاهده می‌شود بیشترین فراوانی ریشه‌زایی (۱۰۰ درصد) و طول ریشه (٦/۱ سانتی‌متر) در تیمار هورمون حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA در ترکیب با ۲ میلی‌گرم در لیتر ذغال فعال به دست آمد (شکل شماره ۲- الف).

گیاهانی که ریشه و ساقه‌های آنها به خوبی گسترش یافته بود به منظور سازگاری از آگار خارج شده و به گلدان‌های پلاستیکی کوچک حاوی پرلیت، ورمی کولیت و خاک زراعی انتقال یافتند. تعدادی از این گیاهان بر اثر خشک شدن سریع و پوسیدگی از بین رفتند. با این حال گیاهان با نرخ زنده مانی حدود ۸۵ درصد به شرایط محیطی سازگار شدند (شکل شماره ۲- ب).

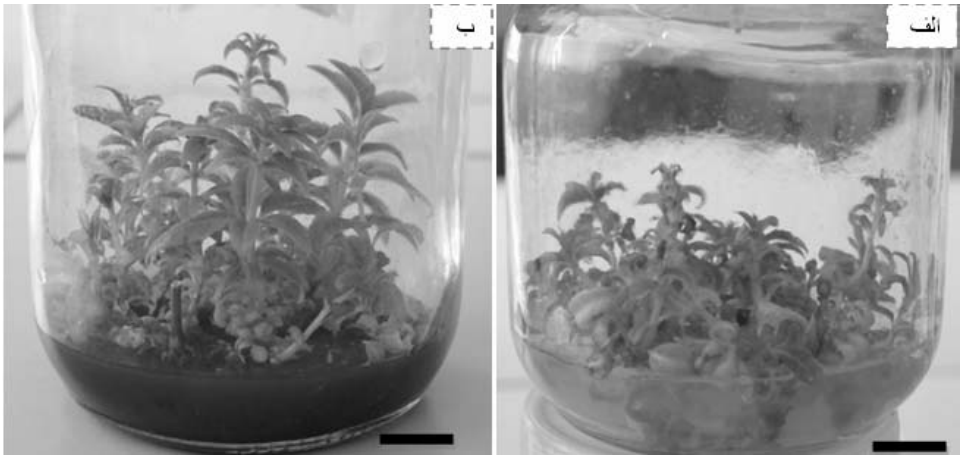
[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.14.2]

جدول شماره ۱- اثر غلظت‌های مختلف BAP به تنهایی و یا در ترکیب با IBA و ذغال فعال بر تعداد و طول نوساقه‌ها در گیاه دارویی بهلیمو ۲۱ روز پس از واکشت دوم

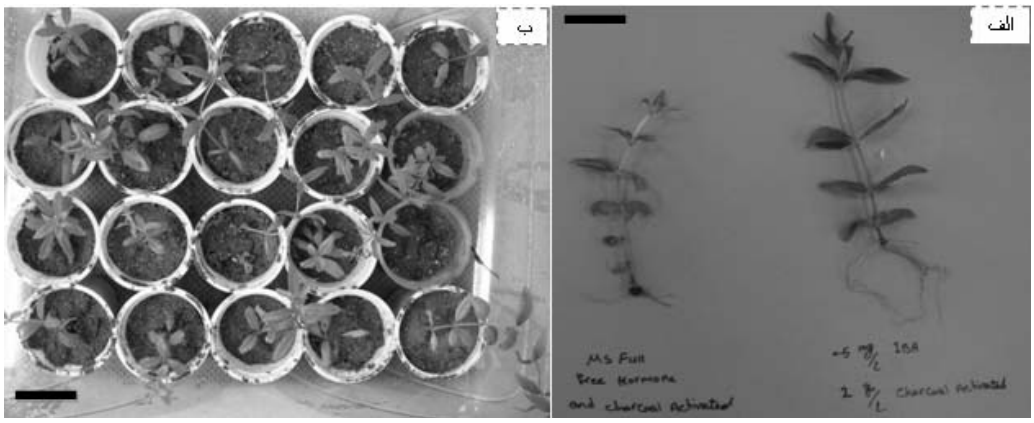
شماره	تنظیم کننده‌های رشد (mgl^{-1})		ذغال فعال (grl^{-1})	تعداد نوساقه‌ها	طول نوساقه‌ها (cm)	شماره	تنظیم کننده‌های رشد (mgl^{-1})		ذغال فعال (grl^{-1})	تعداد نوساقه‌ها	طول نوساقه‌ها (cm)
	BAP	IBA					BAP	IBA			
۱	۰	۰	۰	۰/۰±۰/۰۰^{l}	۰ ± ۰/۰۰^{q}	۱۹	۰	۰	۱	۰/۰ ± ۰/۰۰^{l}	۰/۰ ± ۰/۰۰^{q}
۲	۰	۰/۱	۰	۱/۰±۰/۰۰^{k}	۱/۱ ± ۰/۲۶^{op}	۲۰	۰	۰/۱	۱	۱/۰ ± ۰/۲۵^{k}	٤/۰ ± ۰/۲۰^{g}
۳	۰	۰/۵	۰	۱/۰±۰/۸۷^{k}	۲/۲ ± ۰/۲۰^{jk}	۲۱	۰	۰/۵	۱	۱/۰ ± ۰/۰۰^{k}	۳/۲ ± ۰/٤٤^{h}
٤	۰/۵	۰	۰	۱/۲ ± ۰/۳۰^{jk}	۳/۹ ± ۰/۳۰^{g}	۲۲	۰/۵	۰	۱	۱/٤±۰/۱۰^{ij}	٤/۵±۰/۵۰^{f}
۵	۰/۵	۰/۱	۰	۱/٦± ۰/۱۰^{ij}	٤/۱ ± ۰/۱۰^{g}	۲۳	۰/۵	۰/۱	۱	۱/۷ ± ۰/۱۰^{hi}	٤/۱ ± ۰/۱۰^{g}
٦	۰/۵	۰/۵	۰	۱/۵ ± ۰/۲۰^{ij}	٤/٦ ± ۰/۱۰^{f}	۲٤	۰/۵	۰/۵	۱	۲/۰ ± ۰/۱۵^{h}	٤/٦ ± ۰/۱۰^{f}
۷	۱	۰	۰	۲/ ۱ ±۰/۲۰^{h}	۲/۰ ± ۰/۲۵^{kl}	۲۵	۱	۰	۱	۲/۱ ± ۰/۱۰^{h}	٦/۱ ± ۰/۱۰^{d}
۸	۱	۰/۱	۰	۲/۵ ±۰/۲۲^{g}	۲/٤ ± ۰/۲٦^{ij}	۲٦	۱	۰/۱	۱	۲/۹ ± ۰/۱۰^{f}	۷/۰ ± ۰/۲۰^{b}
۹	۱	۰/۵	۰	۳/۰ ±۰/۲۰^{f}	۲/٦ ± ۰/۲٦^{i}	۲۷	۱	۰/۵	۱	۲/۸ ± ۰/۱۰^{fg}	۸/٤±۰/۳۰^{a}
۱۰	۲	۰	۰	٤/۰ ± ۰/۰۰^{de}	۱/۳ ± ۰/۲٦^{no}	۲۸	۲	۰	۱	۳/۰±۰/۵۰^{f}	٦/۲±۰/۳۰^{d}
۱۱	۲	۰/۱	۰	٤/۳ ± ۰/٤۰^{d}	۱/۸ ± ۰/۲۰^{lm}	۲۹	۲	۰/۱	۱	۳/۱±۰/۲۲^{f}	٦/٦±۰/۱۰^{c}
۱۲	۲	۰/۵	۰	٤/۷ ± ۰/۱۰^{c}	۱/٦ ± ۰/۱۰^{mn}	۳۰	۲	۰/۵	۱	۳/٦±۰/۱۰^{e}	۷/۱±۰/۲۰^{b}
۱۳	۳	۰	۰	۵/۰ ± ۰/۰۰^{bc}	۱/۵ ± ۰/۳۳^{mn}	۳۱	۳	۰	۱	٤/۰±۰/٤۰^{de}	۵/۲±۰/۱۰^{e}
۱٤	۳	۰/۱	۰	۵/٦ ± ۰/۱۰^{a}	۱/۹ ±۰/۱۰$^{k-m}$	۳۲	۳	۰/۱	۱	٤/۱±۰/۱۰^{d}	۵/۹ ±۰/۱۰^{d}
۱۵	۳	۰/۵	۰	۵/۲ ± ۰/۱۰^{b}	۱/۰ ± ۰/۰۰^{op}	۳۳	۳	۰/۵	۱	٤/۸±۰/۱۵^{c}	۵/٤±۰/۲۰^{e}
۱٦	٤	۰	۰	۳/۲ ± ۰/۱۰^{f}	۰/۸ ± ۰/۲^{p}	۳٤	٤	۰	۱	۳/۱±۰/۱۰^{f}	۲/۱±۰/۱۰$^{j-l}$
۱۷	٤	۰/۱	۰	۳/٦ ± ۰/۱۰^{e}	۱/۱ ± ۰/۰۰^{op}	۳۵	٤	۰/۱	۱	٤/۰±۰/۱۰^{de}	۳/۰±۰/۱۰^{h}
۱۸	٤	۰/۵	۰	٤/۰ ± ۰/۲۰^{de}	۱/۳ ± ۰/۱۷^{no}	۳٦	٤	۰/۵	۱	۳/۲±۰/۱۰^{f}	۳/۸±۰/۱۰^{g}

حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.



شکل شماره ۱- ریزازدیادی گیاه به لیمو. ۱- الف- نوساقه‌های ایجاد شده در تیمار هورمونی حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA یک ماه پس از کشت. ۱- ب- نوساقه‌های کشت شده در محیط‌های دارای ذغال فعال (مقیاس = ۱ سانتی‌متر)

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.14.2]



شکل شماره ۲- ریشه‌زایی و سازگاری گیاه به لیمو. ۲- الف- مقایسه ریشه‌زایی در تیمار هورمونی حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۲ میلی‌گرم در لیتر ذغال فعال با تیمار محیط کشت پایه MS بدون ذغال فعال، چهار هفته پس از کشت. ۲- ب- گیاهچه‌های سازگار شده به لیمو در شرایط برون شیشه‌ای (مقیاس = ۲ سانتی‌متر).

جدول شماره ۲- اثرات غلظت‌های مختلف IBA و NAA به تنهایی و یا در ترکیب با ذغال فعال بر درصد ریشه‌زایی و طول ریشه‌ها چهار هفته بعد از کشت.

تنظیم کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر)		ذغال فعال (گرم در لیتر)	درصد ریشه‌زایی	طول ریشه (سانتی‌متر)
IBA	NAA			
۰	۰		۵۰/۰^{i}	۲/٤^{h}
۰/۱	۰		٦٤/۰^{gh}	۳/۹^{d}
۰/۵	۰		۷۱/۰^{f}	۵/۰^{b}
۱	۰		۸۹/٦^{b}	٤/۰^{d}
۰	۰/۱		٦۱/۳^{h}	۲/۷^{g}
۰	۰/۵		۷۰/۰^{f}	۳/۱^{f}
۰	۱		۵۲/۰^{i}	۳/۹^{d}
۰	۰	۲	٦۱/۰^{h}	۳/۰^{f}
۰/۱	۰	۲	۷۲/۰^{ef}	٤/٦^{c}
۰/۵	۰	۲	۱۰۰/۰^{a}	٦/۱^{a}
۱	۰	۲	۸۵/٦^{c}	٤/۹^{b}
۰	۰/۱	۲	٦۵/۰^{g}	۳/٦^{e}
۰	۰/۵	۲	۸۲/۳^{d}	٤/۰^{d}
۰	۱	۲	۷۵/۰^{e}	٤/۱^{d}

حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.14.2]

بحث

در این تحقیق، اثر غلظت‌های مختلف هورمون‌های BAP و IBA بر ریزازدیادی درون شیشه‌ای گیاه به‌لیمو بررسی گردیده است. تعداد نوساقه‌ها با افزایش غلظت BAP افزایش یافت (جدول شماره ۱). افزایش تعداد نوساقه‌ها با افزایش غلظت BAP در مطالعات صورت گرفته بر روی گیاه *Lippia Alba* نیز مشاهده شده است [۹]. صرف‌نظر از غلظت BAP، افزایش غلظت IBA در بسیاری از تیمارهای هورمونی باعث افزایش طول شاخه‌ها شد (جدول شماره ۱). اثر القایی BAP و IBA بر روی تکثیر جوانه‌های جانبی در بسیاری از گیاهان دارویی همچون *Ceropegia candelabrum* [۱۲]، *Aloe chinensis* [۱۳]، *Curcuma zedoaria* [۱٤] و *Curcuma longa* [۱۵] نیز گزارش شده است. تشکیل کالوس در بافت‌های در حال تکثیر محیط‌های حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، در انتهای بریده شده ریزنمونه‌ها می‌تواند به دلیل تجمع اکسین‌ها در سلول‌های در حال تکثیر باشد، خصوصاً هنگامی که در ترکیب با سیتوکنین‌ها باشند [۱٦]. افزودن ذغال فعال به محیط‌های کشت به‌لیمو علاوه بر افزایش طول نوساقه‌ها باعث کاهش ریزش برگ و جلوگیری از زرد شدن برگ‌ها شد. در تائید نتایج به دست آمده، افزودن ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ذغال فعال در کشت درون شیشه‌ای گونه‌ای از سوزنی برگان (*Pinus heldreichii*) باعث افزایش طول نوساقه‌ها شده است [۱۷]. در سال‌های اخیر ذغال فعال به طورگسترده‌ای در کشت بافت مورد استفاده قرار گرفته است. این ماده اغلب در کشت بافت جهت بهبود رشد و نمو سلول‌ها استفاده می‌شود. ذغال فعال به طور عمده منجر به جذب ترکیبات بازدارنده رشد موجود در محیط کشت و کاهش اثرات ترکیبات سمی می‌شود [۱۸]. در مطالعه حاضر، نوساقه‌های کشت شده در محیط‌های دارای ذغال فعال حتی پس از ٤۰ روز از کشت، کاملاً سالم و سبز بودند (شکل شماره ۱- ب). در حالی‌که نوساقه‌های کشت شده در محیط بدون ذغال فعال پس از ۲۰ روز شروع به زرد شدن و ریزش برگ کردند. از لحاظ مورفولوژیکی نیز گیاهان کشت شده در محیط دارای ذغال فعال دارای ظاهری کاملاً طبیعی بودند در حالی‌که در محیط‌های فاقد ذغال فعال برگ‌های نوساقه‌ها کوچک و ظاهری شیشه‌ای پیدا کرده بودند (شکل شماره ۱- الف).

افزودن ذغال فعال به محیط‌های حاوی اکسین‌های NAA و IBA باعث افزایش ریشه‌زایی شد (جدول شماره ۲). به طوری‌که میانگین ریشه‌زایی در محیط‌های حاوی ذغال فعال با IBA در سطوح پایین‌تر (۰/۵ - ۰ میلی‌گرم در لیتر) افزایش معنی‌داری نسبت محیط‌های حاوی حتی سطوح بالاتر IBA اما بدون ذغال فعال داشت. مشابه با این نتایج، در گیاهان توت سفید [۱۹]، ماکادمیا [۲۰] و گیاه دارویی *Swertia chirayita* [۲۱] نیز افزودن ذغال فعال به تنهایی و یا در ترکیب با اکسین‌ها باعث افزایش معنی‌دار ریشه‌زایی نسبت به محیط‌های حاوی اکسین‌ها به تنهایی شده است.

نتیجه‌گیری

با توجه به بررسی‌های انجام شده بهترین تیمار جهت شاخه‌زایی تیمار هورمونی حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA می‌باشد. بهترین تیمار جهت ریشه‌زایی تیمار هورمونی حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA در ترکیب با ۲ گرم در لیتر ذغال فعال می‌باشد. همچنین جهت افزایش رشد طولی گیاهچه‌ها در مرحله شاخه‌زایی می‌توان از تیمار هورمونی حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA همراه با ۱ گرم در لیتر ذغال فعال استفاده نمود.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-12]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.14.2]

افزایش کاربرد گیاه دارویی به‌لیمو طی سال‌های اخیر در صنایع داروسازی، آرایشی و بهداشتی، نیاز به افزایش سطح زیر کشت آن را ضروری می‌نماید. لذا می‌توان از این روش به عنوان راهکاری سریع جهت تکثیر این گیاه ارزشمند در کنار روش‌های سنتی استفاده نمود. در این بررسی اثر تعدادی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در غلظت‌های مشخص مورد بررسی قرار گرفت. به نظر می‌رسد استفاده از عناصر غذایی و تنظیم‌کننده‌ها گیاهی خصوصاً سیتوکنین‌ها در غلظت‌های مختلف، ایجاد شرایط دمایی و نوری متفاوت می‌تواند باعث افزایش در شاخه‌زایی این گیاه در مطالعات پیش رو شود. همچنین بررسی و ایجاد تنوع سوماکلونال در گیاهان حاصل از کشت بافت جهت گزینش گیاهان با عملکرد بالای ماده مؤثره در آینده‌ای نزدیک حائز اهمیت می‌باشد.

منابع

1. Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names. Farhange moaser press. Tehran. 1996, p: 325.

2. Zargari A. Medicinal Plants. Tehran University Press. Iran. 1996, pp: 711 - 3.

3. Amin Gh. Traditional Medical Plants of Iran. Ministry of Health and Medical Education Press. 1991, 1: pp: 64 - 5.

4. Argyropoulou CC, Daferera D, Tarantilis PA. Chemical composition of the essential oil from leaves of *Lippia citriodora* H.B.K. (Verbenaceae) at two developmental stages. *Plant Geno. Evol*. 2007; 35: 831 - 7.

5. Valentão P, Fernandes E, Carvalho F, Andrade PB, Seabra RM, de Lourdes Basto M. Studies on the antioxidant activity of *Lippia citriodora* infusion: scavenging effect on superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Biol Pharm Bull*. 2002; 25 (10): 1324 - 7.

6. Spector Platt E. Lemon Herbs: How to grow and use 18 great plants, Stackpole Books. USA. 2002, p: 35.

7. Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke Ch. PDR for Herbal Medicines. 3rd ed., Thompson PDR, Montvale: NJ, 2004, p: 504.

8. Omid beigi, R. Approaches in Production and Processing of Medicinal Plants. Tarrahan-e- Nashr publishing Co. Iran. 1997, 2: pp: 270.

9. Gupta S.K, Khanuja S, Kumar S. In vitro micropropagation of *Lippia alba*. *Curr. Sci*. 2001; 81: 206 – 10.

10. Juliani Jr, Koroch AR, Juliani R, Trippi VS. Micropropagation of *Lippia junelliana* (Mold.) Tronc. *Plant Cell Tiss. Organ Cult*. 1999; 59: 175 – 9.

11. Peixoto P, Salimena F, Santos M, Garcia L, Pierre P, Viccini L, Otoni W. In vitro propagation of endangered *Lippia filfolia* Mart and Schauer Ex Schauer. In vitro cell dev-pl, 2006; 42 (6): 558 - 61.

12. Beena MR, Martin KP, Kirti PB, Hariharan M. Rapid in vitro propagation of medicinally important *Ceropegia candelabrum* L. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2000; 72: 285 – 8.

13. Liao Z, Chen M, Tan F, Sun X, Tang K. Micropropagation of endangered *aloe Chinese. Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2004; 76 (1): 83 – 6.

14. Loc NH, Duc DT, Kwon TH, Yang MS. Micropropagation of zedoary (*Curcuma zedoaria* Roscoe) – a valuable medicinal plant. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2005; 81: 119 – 22.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.14.2]

15. Prathanturarug S, Soonthornchareonnon N, Chuakul W, Phaidee Y, Saralamp P. Rapid micropropagation of *Curcuma longa* using bud explants pre-cultured in thidiazuron-supplemented liquid medium. *Plant Cell Tiss. Organ Cult*. 2005; 80: 347 – 51.

16. Marks TR, Simpson SE. Factors affecting shoot development in apically dominant Acer cultivars in vitro. *J. Hort. Sci.* 1994; 69: 543 – 51.

17. Sul IW, Korban SS. Direct shoot organogenesis from needles of three genotypes of *Sequoia sempervirens*. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 2005; 80: 353 – 8.

18. Denis Thomas T. The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotech. Advances*. 2008; 26: 618 – 31.

19. Agarwal S, Kanwar K. Comparison of genetic transformation in *Morus alba* L. via different regeneration systems. *Plant Cell Rep*. 2007; 26: 177 – 85.

20. Mulwa RMS, Bhalla PL. In vitro plant regeneration from immature cotyledon explants of macadamia (*Macadamia tetraphylla* L. Johnson). *Plant Cell Rep*. 2006; 25: 1281 – 6.

21. Joshi P, Dhawan V. Assessment of genetic fidelity of micropropagated *Swertia chirayita* plantlets by ISSR marker assay. *Biol. Plant.* 2007; 51: 22 – 6.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-12]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2012.11.42.14.2]