دوماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۱، شماره ۱، صفحه ۳۰-۱۶ (۱۳۹۴)

تأثیر ویتامین B_1 و هورمون IBA بر ریشه‌زایی و رشد سلول‌های کورتکس ریشه‌های نابجای قلمه‌های رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) در شرایط کشت هیدروپونیک

فاطمه علوی نایینی[۱]، زهرا اسرار[۲] و حسین مظفری[۳*]

۱- کارشناس ارشد، گروه باغبانی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت

۲- دانشیار، بخش زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان و عضو مرکز تحقیقات داروهای گیاهی دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳*- نویسنده مسئول، دانشجوی دکترا، بخش زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، پست الکترونیک: Mozafari.Hossein@gmail.com

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۱ تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۲

چکیده

گیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) از لحاظ زینتی و دارویی دارای ارزش زیادی می‌باشد. مطالعه وضعیت رشد و آناتومیک این گیاه در مرحله ریشه‌زایی قلمه‌ها اهمیت دارد. در این پژوهش، تأثیر جداگانه و همزمان ویتامین B_1 (تیامین) و ایندول‌بوتیریک اسید (IBA) بر رشد طولی، ریشه‌زایی و ساختار آناتومیک ریشه‌های نابجای قلمه‌های رزماری در محیط کشت هیدروپونیک مطالعه گردید. ترکیب تیمارها با استفاده از آزمایش فاکتوریل به‌صورت ۹ ترکیب تیماری حاوی سه سطح از دو ماده IBA و ویتامین B_1 تعیین گردید. تیمارها به مدت دو هفته در شرایط استاندارد نور، دما و رطوبت بر قلمه‌ها اعمال شد. سپس با استفاده از مقطع‌گیری عرضی و رنگ‌آمیزی مضاعف، وضعیت آناتومیک ریشه از لحاظ مقطع عرضی، رشد سلول‌های کورتکس، تراکم ریشه‌های فرعی و تارهای کشنده با استفاده از میکروسکوپ نوری و همچنین رشد طولی قلمه‌ها مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمارهای جداگانه و همزمان B_1 و IBA به خوبی بر رشد طولی، مورفولوژی و آناتومی قلمه‌های رزماری در مرحله ریشه‌زایی تأثیر معنی‌دار داشت. به هر حال نتایج نشان دادند که ویتامین B_1 بیشتر تأثیر بر رشد ریشه داشته است و هورمون اکسین (IBA) با تحریک تقسیم سلولی در دایره محیطیه می‌تواند ریشه‌زایی را در قلمه‌ها تحریک کند. بنابراین کاربرد همزمان این دو ماده، به‌خوبی و به‌طور چشمگیری بر تکثیر و رشد گیاه زینتی و دارویی رزماری تأثیر معنی‌دار داشته و از این دو ماده می‌توان در شرایط تجاری و مزرعه نیز استفاده نمود و حتی می‌توان در مورد سایر گیاهان زینتی که مشکل تکثیر دارند نیز استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.)، سلول‌های کورتکس، ویتامین B_1، ریشه‌زایی، ریشه نابجا، IBA.

مقدمه

تکثیر رزماری (*Rosmarinus officinalis*) از طریق کاشت دانه و قلمه زدن صورت می‌گیرد. این گیاه مقاوم به سرما و خشکی بوده و در بیشتر مناطق دنیا قابل کشت می‌باشد و از نظر زینتی، دارویی و همچنین تهیه اسانس برای مصارف گوناگون در زندگی انسان اهمیت خاصی دارد. بنابراین کشت صحیح و سریع این گیاه اهمیت ویژه‌ای دارد (زرگری، ۱۳۷۲؛ خضری، ۱۳۸۲). از برگ‌ها و عصاره رزماری در درمان بسیاری از بیماریهای انسان نیز استفاده می‌شود (Kuhlmann & Rohl, 2006). شاخه‌های آن در

Archive of SID

www.SID.ir

ابتدا نرم و کرکدار بوده و بعد چوبی و سخت شده، پوست آنها نیز فلس مانند و قهوه‌ای مایل به خاکستری می‌شود (Tounekti *et al.*, 2008). برگ‌های این گیاه دارای اسانس، تانن، فلاونوئیدها، ساپونین و آلکالوئید (رزماریسین) می‌باشند. ماده مؤثره اصلی برگ و سرشاخه‌ها نوعی روغن فرّار می‌باشد. سازمان فارماکوپه گیاهی بریتانیا، میزان این روغن فرّار را ۱٪ حجم در وزن ذکر کرده است، ولی میزان آن بین ۰/۵٪ تا ۲/۵٪ نیز گزارش شده‌است (Kiarostami *et al.*, 2010).

یکی از کاربردهای اکسین در باغبانی، ریشه‌دار کردن قلمه‌ها می‌باشد. طویل شدن سلول‌ها و نرم شدن دیواره سلولی فقط در حضور اکسین رخ می‌دهد (Guo *et al.*, 2009؛ Ali *et al.*, 2008). اکسین در غلظت‌های بالا اثر بازدارندگی بر این مرحله رشد دارد. ریشه‌دهی در ساقه متناسب با میزان اکسین و تجمع آن در انتهای قلمه آن است (Fernquist, 1966). کاربرد مواد تنظیم‌کننده رشد موجب افزایش شاخص‌های ریشه‌زایی مانند سرعت ریشه‌زایی، درصد قلمه‌های ریشه‌دار شده، تعداد و کیفیت ریشه و یکنواخت شدن ریشه‌دهی می‌شود (Halle & Kamil, 1981). مهمترین ترکیب‌های ریشه‌زای اکسینی، ایندول بوتیریک اسید (IBA) و نفتالین‌استیک اسید می‌باشند (Kieffer *et al*, 2010). شکل تجاری این مواد به شکل پودر است و پس از کاربرد این مواد ریشه‌زا، باید قلمه‌ها را در محیط رشد گیاهی قرار داد (خوشخوی و همکاران، ۱۳۸۹؛ Janick, 1972). بجز برخی موارد، کمتر واکنشی در گیاهان وجود دارد که توسط اکسین کنترل نشود. مهمترین این تأثیرها شامل ریشه‌زایی قلمه‌ها (Bao *et al.*, 2004)، تحریک گلدهی، جلوگیری از ریزش برگ و میوه، القای پارتنوکارپی، تنک کردن گیاه و علف‌کش‌ها می‌باشند (فهیمی، ۱۳۷۶؛ خوشخوی و همکاران، ۱۳۸۹). اکسین سنتز شده در گیاه ممکن است اثرات خود را در همان محل تولید اِعمال نماید و یا در گیاه منتقل شده و در محلی دیگر تأثیر بگذارد (Bao *et al.*, 2004). جابجایی اکسین در ریشه‌ها به آرامی از پایین به بالا صورت می‌گیرد و عواملی مانند اکسیژن، گاز کربنیک، گرما، فعالیت‌های متابولیکی و بازدارنده‌های متابولیکی در انتقال اکسین مؤثرند (Knox & Hamilton, 1982). جابجایی اکسین در جهت جانبی و یا از پایین به بالا به‌صورت انتشار هم انجام می‌شود (فهیمی، ۱۳۷۶).

گزارش شده‌است که وجود برگ بر روی قلمه بر تشکیل ریشه نابجا دارای تأثیر مثبت است. اما اگر روابط خاص آبی در گیاه حفظ نشود، قلمه باقی نخواهد ماند (Muller & Sheen, 2008). بنابراین مهم است که فضای اطراف گیاه با مقدار تقاضای تبخیر پایین بر روی گیاهان به‌منظور کاهش ضایعات تعرق ثابت نگه داشته شود. وجود فتوسنتز مناسب و تولید بیشتر کربوهیدرات‌های حاصل، موجب آغاز فرایند ریشه‌زایی می‌گردد (Knox & Hamilton, 1982). بنابراین رطوبت، دما، نور و نوع محیط کشت در ریشه‌زایی قلمه مؤثر است (Muller & Sheen, 2008). در بیشتر گونه‌های گیاهی دمای ۲۷-۲۱ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۱-۱۶ درجه سانتی‌گراد در شب برای ریشه‌زایی مناسب می‌باشد. محیط کشت نیز عاملی مهم در ریشه‌زایی بوده و باید رطوبت و اکسیژن کافی داشته و عاری از عوامل بیماری‌زا باشد (خوشخوی و همکاران، ۱۳۸۹).

تیامین اغلب در سلول به‌صورت فعال کوآنزیمی خود یعنی تیامین پیروفسفات که قبلاً کوکربوکسیلاز نامیده می‌شد، وجود دارد (Burrows *et al.*, 2001). تیامین پیروفسفات در دو نوع از واکنش‌های آنزیمی که در جریان اصلی متابولیسم کربوهیدارت‌ها در آنها گروه‌های آلدئیدی از میان می‌روند و یا جابجا می‌شوند به‌عنوان کوآنزیم بکار می‌رود. این واکنش‌ها عبارتند از: دکربوکسیلاسیون اسیدهای آلفاکتون و تشکیل یا تخریب آلفا-سلول‌ها (α-ketols). در این واکنش‌ها حلقه تیازول تیامین پیروفسفات به‌عنوان حامل موقت گروه آلدئیدی «فعال» نقش دارد (Ahn *et al.*, 2005). ثابت شده‌است که ویتامین B_1 باعث افزایش ریشه‌دهی می‌شود (Singh, 2011). همچنین گزارش شده که تیامین برای رشد ضروریست و نقش مستقیم یا غیرمستقیمی در ایجاد و توسعه ریشه‌های گیاهی دارد (Goyer, 2010؛ Abrahamian & Kantharajah, 2011).

Archive of SID

www.SID.ir

بیان شده‌است که تیامین نقش مهمی در افزایش رشد ریشه در برخی از گیاهان چوبی دارد (Singh, 2011؛ Tunc-Ozdemir *et al.*, 2009). همچنین گزارش شده‌است که ساخت درون‌زای اکسین با کاهش دما در گیاهان کاهش می‌یابد (Ahn *et al.*, 2005؛ Hati *et al.*, 1990). گزارش دیگر هم بیان می‌کند که به‌دلیل افزایش اگزوژن اکسین در فصل بهار، ریشه‌دهی افزایش می‌یابد (Klein *et al.*, 2000). تیامین در توسعه و رشد ریشه اهمیت داشته و فرم‌های مختلفی از ویتامین B برای تحریک تقسیم سلولی شناخته شده‌است (Jablonski & Skoog, 1954؛ Ahn *et al.*, 2005). گزارش شده‌است که تیامین یک فاکتور رشد مهم برای ریشه گیاه است و برهم‌کنش قوی میان تیامین و اکسین برای تحریک ریشه نابجا در *Tetona grandis* وجود دارد (Singh, 2011). بیان شده‌است که قلمه‌های تیمار شده با تیامین پاسخ ریشه‌دهی بهتری دارند (Goyer, 2010). هدف از این پژوهش بررسی کمّی و کیفی تأثیر متقابل تیمارهای هورمون IBA و ویتامین B_1 بر رشد، ریشه‌زایی و وضعیت آناتومی ریشه‌های بوجود آمده بر سطح قلمه‌های رزماری دارویی در شرایط استاندارد نور، دما و رطوبت در شرایط اتاق رشد می‌باشد.

مواد و روشها

قلمه‌های یکسان گیاه دارویی رزماری (*Rosmarinus officinalis*) به طول ۲۳ سانتی‌متر از منطقه‌ای در جنوب شهر کرمان از یک کلونی گیاه رزماری جمع‌آوری شدند و برای کشت هیدروپونیک در محلول هوگلند (Hoagland & Arnon, 1950) به اتاق رشد منتقل گردیدند. قلمه‌های جمع‌آوری شده رزماری در محلول غذایی پایه هوگلند (کد تیماری ۱) با نسبت رقت ۱/۲ کشت گردیدند (جدول ۱). pH محلول هوگلند با استفاده از اسید یا باز غلیظ در حد ۶/۵-۶/۲۵ حفظ گردید که این تنظیم pH در مورد محلولهای هوگلند حاوی تیمارهای مختلف نیز انجام گردید تا اثر تغییرات pH و خطای حاصل از آن بر کل آزمایش حذف گردد (Tan *et al.*, 2000). پس از تهیه محلول غذایی، ظروف پلاستیکی با حجم ۶۰۰ سی‌سی حاوی محلول هوگلند انتخاب گردید. ظروف حاوی محلول پایه و قلمه‌ها در شرایط استاندارد ۱۶ ساعت روشنایی با دمای ۲۵°C و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲۳±۰/۱°C با ۶۰٪ رطوبت و ۱۰ کیلولوکس نور نگهداری شدند. مدت نگهداری نمونه‌ها در محلول پایه هوگلند در اتاق رشد دو هفته بود.

نحوه اِعمال تیمارها بر قلمه‌های رزماری

با استفاده از آزمایش فاکتوریل ترکیب تیمارها مشخص گردید. تیمارها حاوی غلظت‌های مختلف IBA و B_1 بودند (جدول ۱). هر کدام از دو ماده مذکور دارای ۳ سطح بودند که جمعاً ۹ ترکیب تیماری بدست آمد. پس از دو هفته رشد گیاهان در محلول پایه هوگلند (تیمار دارای کد ۱) در شرایط استاندارد، ۹ ترکیب تیماری با ۳ تکرار در ۲۷ نمونه اعمال گردید، به عبارت دیگر هر ترکیب تیماری با کد مربوطه دارای ۳ تکرار بود و به هر ظرف حاوی قلمه‌های گیاه اضافه گردید. نحوه اعمال تیمار بدین گونه بود که در زمان آغاز کاربرد تیمارها محلول هوگلند هر ظرف با یک محلول هوگلند تازه تعویض گردید و بعد به هر ظرف حاوی محلول هوگلند تازه، ترکیب تیماری مربوطه دارای یک غلظت از IBA و یک غلظت ویتامین B1 مطابق با جدول تیماری اضافه گردید. پس از ۲ هفته تیمار گیاه با تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف IBA و B_1 نمونه‌برداری و سنجش نمونه‌ها انجام گردید. پس از پایان زمان کاربرد تیمارها، ریشه‌های هر قلمه به محلول فیکس منتقل شدند و در این شرایط برای برش گیری نگهداری شدند. محلول فیکس مورد استفاده شامل اتیل الکل ۵۰ میلی‌لیتر، گلاسیال استیک اسید ۵ میلی‌لیتر، فرمالدهید (۴۰-۳۷٪) ۱۰ میلی‌لیتر و آب مقطر ۳۵ میلی‌لیتر بود (Lillie, 1965).

Archive of SID

جدول ۱- ترکیب فاکتوریل تیمارهای مورد استفاده در آزمایش
(که حاوی سه سطح غلظت از دو ماده **IBA** و ویتامین **B1** در محلول پایه هوگلند ۱/۲ می‌باشند)

کد تیمار	۱ (شاهد)	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
IBA (µM)	۰	۰	۰	۱۲/۵	۱۲/۵	۱۲/۵	۲۵	۲۵	۲۵
B1 Vitamin (µM)	۰	۴۴۴/۶۷	۱۳۳۴	۰	۴۴۴/۶۷	۱۳۳۴	۰	۴۴۴/۶۷	۱۳۳۴

برش‌گیری

در بررسی‌های میکروسکوپی، تنها نمونه‌هایی قابل بررسی هستند که نور از آنها عبور کند. بنابراین نمونه‌های تثبیت شده باید برش گیری شوند. برش‌ها از طرفی باید به اندازه‌ای نازک باشند که نور از آنها عبور کند و از طرف دیگر ضخامت آن باید در حدی باشد که ویژگی ساختمانی نمونه مورد نظر مشخص باشد. ضخامت مناسب به طور معمول بین ۲ تا ۱۰ میکرون است. برش‌گیری را می‌توان به‌وسیله دست یا میکروتوم انجام داد (امیرجانی، ۱۳۸۶). برای برش‌گیری، نمونه‌های ریشه رزماری از محلول تثبیت خارج و با آب مقطر شستشو شدند. تهیه مقطع عرضی از ریشه گیاه به‌وسیله تیغ و استفاده از قطعات یونولیت انجام شد (امیرجانی، ۱۳۸۶).

عمل رنگ‌آمیزی مضاعف بافت‌های تثبیت شده نیز مانند تهیه این بافت‌ها، از چند مرحله تشکیل می‌شود که عبارتند از: رنگبری با آب ژاول، نرم کردن بافت با اسید استیک، رنگ‌آمیزی با متیلن بلو، رنگ‌آمیزی با قرمز خنثی و سرانجام انتقال برش‌های رنگ‌آمیزی شده روی لام.

قبل از رنگ‌آمیزی باید محتویات سلول را برای شفاف شدن لام‌ها خالی نمود. بدین منظور برش‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ دقیقه در آب ژاول (محلول هیپوکلریت سدیم) قرار داده شدند. سپس برش‌ها را با آب دوبار تقطیر شسته و برای از بین بردن اثر آب ژاول، از اسید استیک رقیق شده (۱٪) استفاده شد. پس از شستشوی مجدد با آب دوبار تقطیر، برش‌ها برای رنگ‌آمیزی مناسب هستند. رنگ‌آمیزی بافت‌های گیاهی به طریق مضاعف انجام گردید.

انجام عکسبرداری

پس از برش‌گیری و انجام رنگ‌آمیزی برش بر روی لام منتقل شده، با میکروسکوپ نوری زایس (zeiss) در بزرگ‌نمایی ۳/۲x، ۱۰x و ۴۰x مشاهده و با یک دوربین دیجیتال مناسب با قدرت ۱۴ مگاپیکسل و قدرت بزرگنمایی و زوم نزدیک، عکسبرداری انجام شد. این کار برای همه تکرارها و تیمارها انجام گردید.

تفسیر تصاویر مربوط به برش عرضی ریشه

پس از عکسبرداری از برش‌های عرضی ریشه رزماری میزان رشد بخش‌های مختلف به‌ویژه لایه پوست (کورتکس) بررسی گردید، برای این امر ضخامت لایه کورتکس، شکل ظاهری سلول‌ها و میزان رشد سلول‌های مذکور مورد توجه قرار گرفت. همچنین ایجاد ریشه‌های جدید فرعی نیز در برش‌ها مورد توجه قرار گرفت.

بررسی رشد طولی

پس از اعمال تیمارها شاخص میانگین رشد طولی ریشه‌های نابجا و ساقه سنجش شدند. برای این امر با خطکش با دقت در حد میلی‌متر رشد طولی ریشه و ساقه اندازه‌گیری شد.

عملیات آماری

داده‌های حاصل از سنجش رشد قلمه‌های تحت تیمار با نرم‌افزار SPSS 18.0 مورد تحلیل و تجزیه آماری قرار گرفتند. نمودارهای مربوط نیز با Excel 2007 رسم گردید. روش آنالیز آماری هم به‌صورت آنالیز واریانس یک‌طرفه و

Archive of SID

www.SID.ir

با استفاده از آزمون دانکن انجام شد. کلیه عملیات آماری در سطح معنی‌دار ۵٪ (α=۰/۰۵) انجام گردید.

نتایج

مطالعات کیفی حاصل از تأثیر تیمارها بر ریشه‌زایی قلمه‌ها

نتایج نشان داد که هر چه سطح تیمارها افزایش یافته‌است، رشد ریشه کاهش یافته‌است، اما ریشه‌زایی در قلمه‌ها تحریک شده‌است. به عبارت دیگر سطوح بالاتر غلظت‌های IBA و B_1 موجب کاهش رشد طبیعی ریشه‌ها شده است. در تیمار ۱ که مربوط به شاهد است و هیچ غلظت خارجی از B_1 و IBA در آن استفاده نشد، رشد ریشه طبیعی بوده و بررسی‌های کیفی آناتومیک حاصل از برش‌گیری عرضی ریشه نشان می‌دهد که سلول‌های کورتکس ریشه به خوبی رشد نموده‌اند، همچنین ریشه‌های فرعی در حال تشکیل شدن هستند. وجود برخی سلول‌های درشت کروی لایه کورتکس (پوست) در تصاویر برش عرضی بیانگر همین مسئله است. تراکم سلول‌های کورتکس در تیمار ۱ (شاهد) کمتر بوده و سلول‌ها اندازه درشت‌تری دارند (شکل ۵). در تیمارهای ۲ و ۳ نیز وضعیت مشابه شاهد است و سلول‌های کورتکس ریشه رشد مناسبی داشته‌اند و با توجه به رشد مناسب ریشه، تارهای کشنده نسبتاً زیادی تولید شده‌است که این مسئله در تیمار ۲ مشاهده می‌شود (شکل ۵). در تیمار ۳ از تعداد تارهای کشنده کاسته شده‌است. اما به هر حال ریشه رشد خود را حفظ نموده و کاهش رشد ریشه چندان محسوس نیست، به‌ویژه اینکه سلول‌های لایه کورتکس تقریباً اندازه اولیه خود را حفظ نموده‌اند ولی در برخی مناطق کورتکس ریشه که نزدیک به دایره محیطیه می‌باشند اندازه سلول‌های کورتکس کاهش یافته و در عوض تعداد آنها افزایش یافته است.

در بین سه تیمار با کدهای ۱، ۲ و ۳ بیشترین تعداد تار کشنده مربوط به تیمار ۲ می‌باشد که در همه لام‌های مشاهده شده تارهای کشنده به تعداد زیاد مشاهده شده‌است که این موضوع به‌دلیل وجود ویتامین B_1 می‌باشد که در سطح متوسطی در حد ۴۴۴/۶۷ میکرومولار استفاده شده‌است.

در تیمار شماره ۴ تعداد تارهای کشنده از سه تیمار قبلی بسیار بیشتر است و حتی به‌صورت ظاهری ریشه‌ها حالت کرک‌مانند دارند. در این تیمار ۱۲/۵ میکرومولار IBA به تنهایی استفاده شده‌است. قطر ریشه کاهش یافته و در این حجم کم تعداد زیادی سلول کورتکس تجمع کرده‌است. به‌طوری که در بسیاری از نقاط کورتکس سلول‌هایی با اندازه کوچک و به‌طور فشرده دیده می‌شوند که در حال رشد هستند. بنابراین به نظر می‌رسد که در تیمار ۴ کاهش رشد طولی ریشه باعث فشردگی تارهای کشنده و ایجاد منظره کرک‌مانند می‌شود. در تیمار ۵ که حاوی ۱۲/۵ میکرومولار IBA و ۴۴۴/۶۷ میکرومولار ویتامین B_1 است کاهش اندازه سلول‌های کورتکس و افزایش تراکم تعداد آنها کاملاً مشهود است. به‌طوری که مرز بین سلول‌ها و کروی بودن آنها چندان قابل تشخیص نیست (شکل ۴). این مسئله به‌ویژه هرچه به سمت مرکز ریشه می‌رویم، بهتر مشخص می‌شود. در مناطق نزدیک به خارج ریشه سلول‌های کورتکس کروی بودن خود را حفظ نموده‌اند، زیرا در این مناطق خارجی‌تر کورتکس، سلول‌ها کمتر تحت فشار بوده و اجازه رشد بیشتری می‌یابند و شکل طبیعی خود را نشان می‌دهند.

در این تیمار ایجاد ریشه‌های فرعی بر روی ریشه‌های نابجای بوجود آمده یک مسئله قابل‌توجه است که در برخی برش‌ها از ریشه‌های گیاهان تحت تیمار کد ۵ این مسئله به خوبی مشاهده می‌شود و به نظر می‌رسد تقسیم سلول‌ها از سمت دایره محیطیه شدیدتر بوده و ریشه فرعی از این منطقه منشأ گرفته است و تراکم سلول‌ها در منطقه ریشه فرعی بسیار زیاد است. وضعیت تارهای کشنده در این تیمار در حد معمولی بوده و ریشه‌ها چندان حالت کرکی ندارند. دهانه آوندهای چوبی اولیه که در برش‌ها با قهوه‌ای تیره مشخص شده‌است تقریباً باز بوده و نشان می‌دهد که آوندهای چوبی اولیه (پروتوزایلم) دارای رشد خوبی بوده‌اند. به عبارت دیگر به‌دلیل اندازه درشت‌تر دهانه آوندهای چوبی، رنگ‌آمیزی این آوندها

Archive of SID

www.SID.ir

با متیلن‌بلو به خوبی انجام شده است. وضعیت آناتومیک تیمار ۶ از لحاظ آوندهای چوبی مشابه شماره ۵ است ولی می‌توان گفت که آوندهای چوبی در این تیمار نسبت به تیمار قبلی دارای رشد بهتر و آرایش منظم‌تر می‌باشند و دهانه آوندها بازتر و جداره آوند نیز ضخیم‌تر است.

وضعیت ستیولوژیک سلول‌های کورتکس ریشه در تیمار ۶ بدین صورت است که سلول‌ها کروی، جداره نازک تا حدی دارای مواد ذخیره‌ای و به‌طور منظم در کنار هم قرار گرفته‌اند. جدار نازک سلول‌ها بدین معنی می‌باشد که دیواره چندان سلولزی نشده‌است اما وضعیت سلولی کورتکس به حد شاهد نمی‌رسد و سلول‌هایی با این ویژگی‌ها دارای گسترش زیادی در کورتکس نمی‌باشند و بیشتر سلول‌ها دارای شرایط رشد کم می‌باشند. در این تیمار ریشه دارای تارهای کشنده بسیار زیاد در منطقه مربوط به ریشه می‌باشد و در بعضی ریشه‌ها منظره کرکی مشاهده می‌شود (شکل ۲) و ریشه‌های فرعی نیز در این تیمار زیاد می‌باشند. در تیمار ۷ که فقط حاوی ۲۵ میکرومولار IBA می‌باشد تعداد تارهای کشنده کاهش یافته‌است. سلول‌های لایه کورتکس در این تیمار دارای اندازه‌های نامنظم می‌باشد که در بین این سلول‌های کورتکس با اندازه‌های متفاوت سلول‌های درشت معدودی نیز قابل مشاهده است. در بعضی لام‌ها تعداد سلول‌های کورتکس درشت با حداکثر اندازه نیز به تعداد زیاد مشاهده شده‌است. آوندهای چوبی نیز تا حدی آرایش خود را حفظ کرده‌اند، به همین دلیل است که در که در شکل ۲ رشد طولی ریشه تاحدی افزایش یافته است، به عبارت دیگر در تیمار با کد ۷ هم رشد ریشه و هم ریشه‌زایی قابل‌توجه است. با توجه به اینکه در تیمار کد ۷ رشد طولی ریشه افزایش یافته‌است، بنابراین ریشه‌زایی کاهش یافته‌است. اما تا حدی ریشه‌زایی نیز وضعیت خود را حفظ نموده‌است و در نهایت در برخی لام‌ها تعداد سلول‌های درشت بسیار افزایش یافته است که در حد شاهد و ۳ تیمار اول می‌باشد.

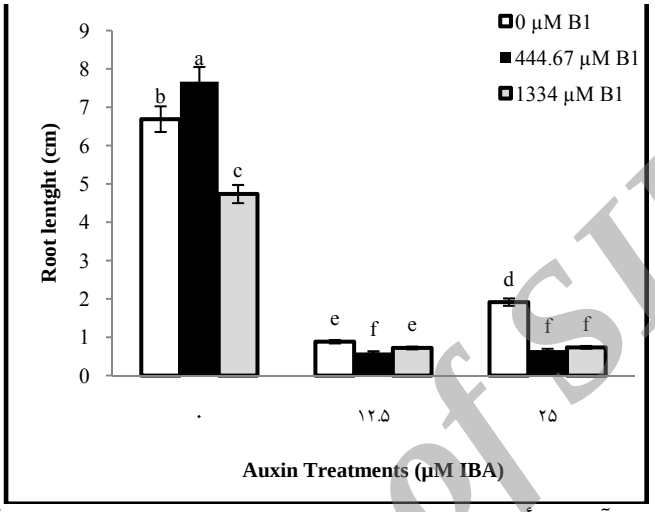
در تیمار ۸ تعداد سلول‌های لایه کورتکس به حد زیادی افزایش یافته‌است. این مسئله نسبت به تیمار ۷ کاملاً مشهود می‌باشد، به عبارت دیگر در تیمار ۸ تقسیم شدید سلول‌ها مشاهده می‌شود و مرز بین مناطق ریشه چندان مشخص نیست و حتی تعداد زیادی از سلول‌های مغز (بخش مرکزی ریشه) به خوبی دیده می‌شود. آوندهای چوبی در حال تشکیل هستند، همچنین ریشه‌های فرعی زیادی نیز در این تیمار در حال شکل‌گیری هستند که در بیشتر برش‌های گرفته شده ریشه‌های فرعی به‌صورت یک برش طولی به همراه تعداد زیادی تار کشنده دیده می‌شوند. تعداد تارهای کشنده نیز در حد قابل‌توجهی می‌باشد اما تعداد این تارها در مقایسه با ریشه‌های کرکی ذکر شده در برخی تیمارهای قبلی کمتر می‌باشد (شکل ۵، کلیه تیمارها).

از لحاظ سیتولوژی سلول‌های کورتکس در این تیمار دارای دیواره نسبتاً نازک به حالت چین‌خورده و در حال رشد می‌باشند. رشد طولی ریشه‌ها در این تیمار در حداقل میزان خود می‌باشد. در تیمار ۹ آوندهای چوبی به خوبی گسترش یافته‌اند و دارای جداره نسبتاً ضخیم می‌باشند و همچنین رنگ‌آمیزی آنها با متیلن‌بلو به خوبی انجام شده است. سلول‌های کورتکس که در حال رشد می‌باشند، جداره آنها چین‌خورده می‌باشد. البته هر چه به سمت خارج ریشه می‌رویم چین‌خوردگی جداره سلول‌های کورتکس کمتر می‌شود. در برش‌های مشاهده شده پراکنش نامنظمی از تارهای کشنده بر روی ریشه دیده می‌شود و تارهای کشنده آرایش معمول خود را ندارند. ریشه‌های فرعی به سرعت در حال تشکیل هستند و با توجه به کاهش سرعت رشد طولی ریشه اصلی این موضوع باعث برهم زدن فرم اصلی ریشه شده‌است. در این تیمار نیز مشابه تیمار ۸ رشد طولی ریشه‌های نابجا در حداقل خود بوده و همچنین تعداد ریشه‌های نابجای بوجود آمده بر روی ساقه در حدود ۱۰ عدد در هر ساقه می‌باشد. در تیمار ۹ میزان ۲۵ میکرومولار IBA و ۱۳۳۴ میکرومولار B_1 استفاده شده‌است که بیشترین غلظت تیمارها می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که در این تیمار غلظت بالای دو ماده آلی استفاده شده موجب کاهش رشد و ریشه‌زایی قلمه‌های رزماری شده‌است. اما به هر حال ریشه‌زایی در این تیمار نیز مشاهده شده‌است. فرم ظاهری

Archive of SID

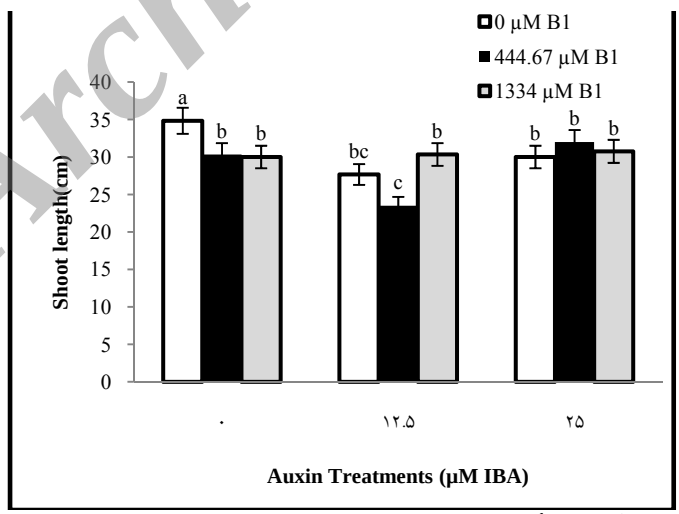
www.SID.ir

ریشه‌های بوجود آمده در این تیمار با سایر تیمارها متفاوت است و به اصطلاح فرم غیرعادی دارد. در لام‌های تهیه شده نیز این فرم ناهنجار مشاهده می‌شود و حتی باعث شده‌است که در بسیاری از لام‌ها این فرم به شکل بیضی درآید و همین فرم ناهنجار باعث شده‌است که تارهای کشنده در این منطقه تجمع یابند و گسترش عادی خود را بر روی ریشه نداشته باشند (شکل ۴، تیمار ۹).



شکل ۱- مقایسه آماری تأثیر تیمارهای IBA و ویتامین B_1 بر پارامتر طول ریشه گیاه رزماری تحت تیمارهای مختلف IBA و تیامین در سطح معنی‌دار ۵٪

حروف لاتین متفاوت روی شکل اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند.



شکل ۲- مقایسه آماری تأثیر تیمارهای IBA و ویتامین B_1 بر پارامتر طول ساقه گیاه رزماری تحت تیمارهای مختلف IBA و تیامین در سطح معنی‌دار ۵٪

حروف لاتین متفاوت روی شکل اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند.

Archive of SID

www.SID.ir

مطالعه کمّی رشد قلمه‌ها

نتایج حاصل از اندازه‌گیری رشد طولی ریشه و ساقه گیاه تحت تیمارهای ویتامینی و هورمونی در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده‌است. رشد طولی ریشه در تیمارهای همزمان دارای هورمون و ویتامین بشدت کاهش یافته است. به‌عنوان مثال میانگین میزان رشد طولی ریشه گیاه شاهد در حد ۶/۵ سانتی‌متر است، اما زمانی که تیمار همزمان دارای ۴۴۴/۶۷ میکرومولار B_1 و ۱۲/۵ میکرومولار IBA است میانگین رشد طولی ریشه به حدود ۰/۵ سانتی‌متر می‌رسد. در مورد سایر تیمارهای همزمان نیز وضعیت مشابه است، اما کاربرد سطح دوم ویتامین B_1 (۴۴۴/۶) موجب افزایش معنی دار رشد طولی ریشه شده‌است. حتی کاربرد ۱۳۳۴ میکرومولار ویتامین B_1 باعث کاهش رشد طولی ریشه گیاه رزماری (تقریباً ۴/۸ سانتی‌متر) شده‌است.

در مورد ساقه نیز رشد طولی آن چندان تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفته، به طوری که برخی تغییرات مشاهده شده به‌صورت کاهشی بوده است. در شکل ۲ مشاهده می‌شود که کاربرد ۲۵ میکرومولار IBA هیچ تأثیر معنی داری بر رشد طولی ساقه نداشته است، اما اگر بخواهیم نسبت به شاهد مقایسه کنیم این تأثیر تیمار ۲۵ میکرومولار IBA به همراه سایر سطوح ویتامین B_1 یک تأثیر کاهشی معنی دار در سطح معنی دار ۵٪ می‌باشد. به طوری کلی در مورد رشد طولی ساقه می‌توان گفت که کاربرد جداگانه IBA موجب کاهش رشد طولی ساقه شده‌است.

این موضوع در مورد کاربرد جداگانه ویتامین B_1 نیز صدق می‌کند، با این تفاوت که دو غلظت ویتامین B_1 از لحاظ تأثیر بر رشد ساقه گیاه رزماری تحت تیمار با هم اختلافی ندارند اما زمانی‌که دو سطح دارای دو غلظت ویتامین B_1 با میزان ۱۲/۵ میکرومولار IBA استفاده می‌شوند، غلظت بیشتر ویتامین B_1 (۱۳۳۴ میکرومولار B_1) دارای تأثیر افزایشی می باشد که این تأثیر تا حدی نسبی است، چون باز هم رشد طولی ساقه نسبت به شاهد (۰ میکرومولار B_1 و ۰ میکرومولار IBA) در سطح معنی دار ۵٪ کمتر می‌باشد. در مورد رشد طولی ریشه نیز تأثیر جداگانه IBA بشدت کاهشی است که تا حدی قبلاً ذکر شده اما باید بیان نمود که تأثیر ۱۲/۵ میکرومولار IBA نسبت به ۲۵ میکرومولار IBA در سطح معنی‌دار ۵ درصد کمتر می‌باشد (جدول ۲). بهترین غلظت ویتامین B_1 برای رشد طولی ریشه همان سطح دوم B_1 یعنی ۴۴۴/۶۷ میکرومولار است، اما سطح سوم ویتامین B_1 رشد طولی ریشه را در شرایط بدون IBA کاهش داده‌است (شکل ۱).

جدول ۲- تجزیه واریانس (ANOVA) داده‌های حاصل از سنجش دو پارامتر رشد گیاه رزماری تحت تیمارهای مختلف ویتامین B1 و IBA در سطح معنی‌دار ۵٪

ANOVA					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F value	Sig.
Shoot Length	Between Groups	۲۲۷/۴۰۷	۸	۱/۹۰۵	۰/۰۱۲۲
	Within Groups	۲۶۸/۵۴۲	۱۸		
	Total	۴۹۵/۹۴۹	۲۶		
Root Length	Between Groups	۱۹۴/۷۹۴	۸	۱۲/۴۴۴	۰/۰۰
	Within Groups	۳۵/۲۲۰	۱۸		
	Total	۲۳۰/۰۱۴	۲۶		

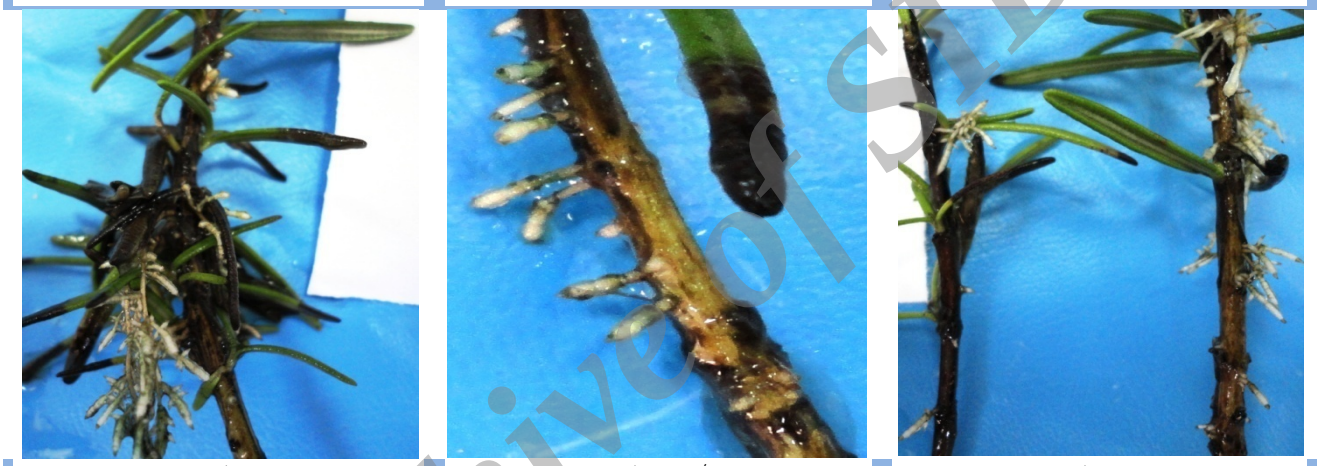
Archive of SID

www.SID.ir

تیمار ۳: ۱۳۳۴ میکرومولار B_1 و ۰ میکرومولار IBA

تیمار ۲: ۴۴۴/۶۷ میکرومولار B_1 و ۰ میکرومولار IBA

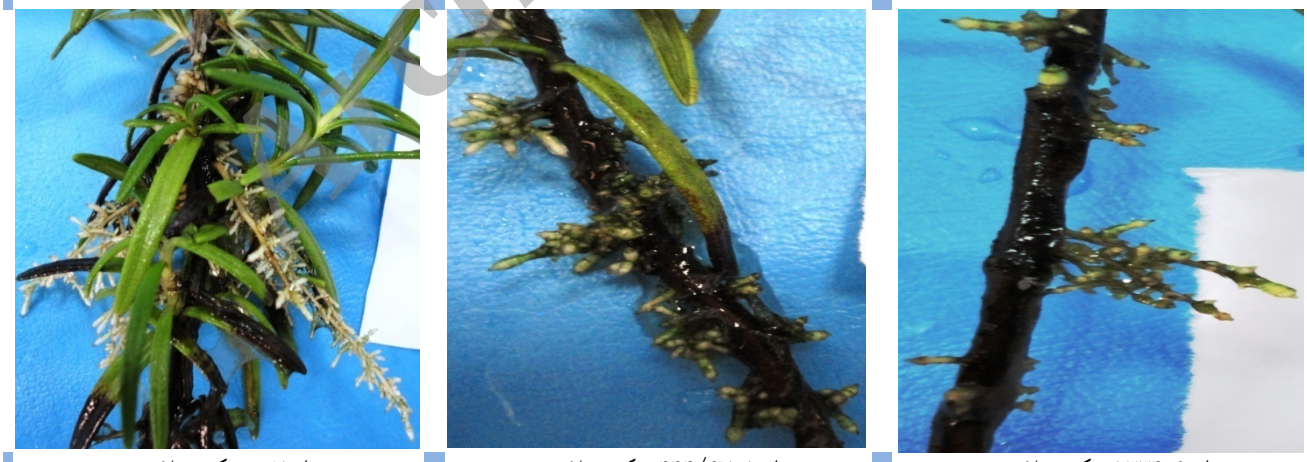
تیمار ۱: ۰ میکرومولار B_1 و ۰ میکرومولار IBA (کنترل)



تیمار ۶: ۱۳۳۴ میکرومولار B_1 و ۱۲/۵ میکرومولار IBA

تیمار ۵: ۴۴۴/۶۷ میکرومولار B_1 و ۱۲/۵میکرومولار IBA

تیمار ۴: ۰ میکرومولار B_1 و ۱۲/۵ میکرومولار IBA



تیمار ۹: ۱۳۳۴ میکرومولار B1 و ۲۵ میکرومولار IBA

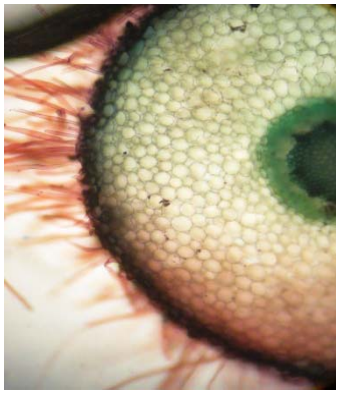
تیمار ۸: ۴۴۴/۶۷ میکرومولار B_1 و ۲۵ میکرومولار IBA

تیمار ۷: ۰ میکرومولار B_1 و ۲۵ میکرومولار IBA

شکل ۳- مقایسه ظاهری تعداد و رشد ریشه‌های بوجود آمده بر روی قلمه‌های رزماری تحت تیمارهای مختلف ویتامین B1 و IBA

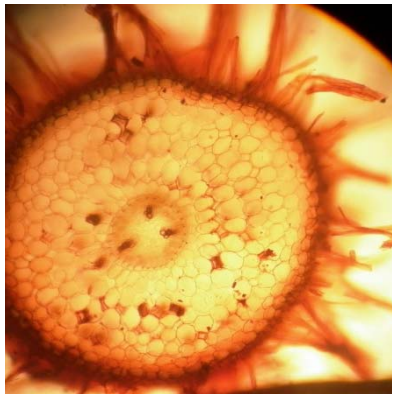
Archive of SID

www.SID.ir

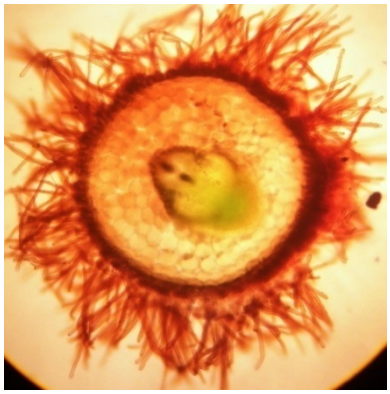


تیمار ۱: ۰ میکرومولار B_1 و ۰ میکرومولار IBA (کنترل)

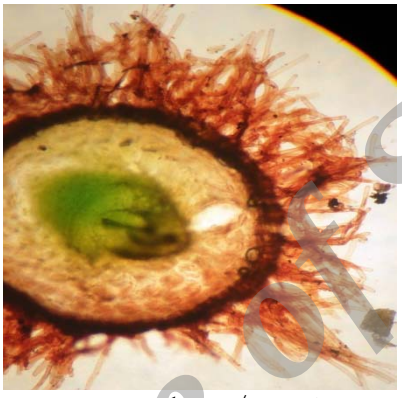
تیمار ۲: ۴۴۴/۶۷ میکرومولار B_1 و ۰ میکرومولار IBA



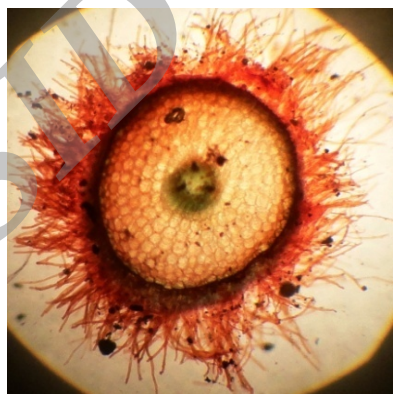
تیمار ۳: ۱۳۳۴ میکرومولار B_1 و ۰ میکرومولار IBA



تیمار ۴: ۰ میکرومولار B_1 و ۱۲/۵ میکرومولار IBA

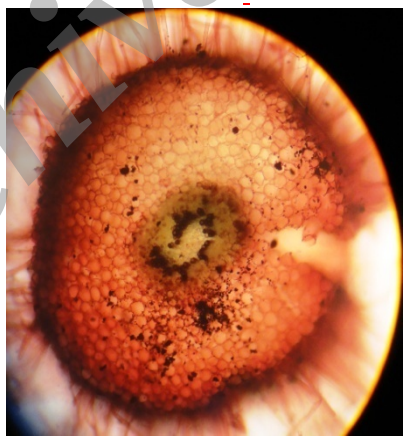


تیمار ۵: ۴۴۴/۶۷ میکرومولار B_1 و ۱۲/۵ میکرومولار IBA

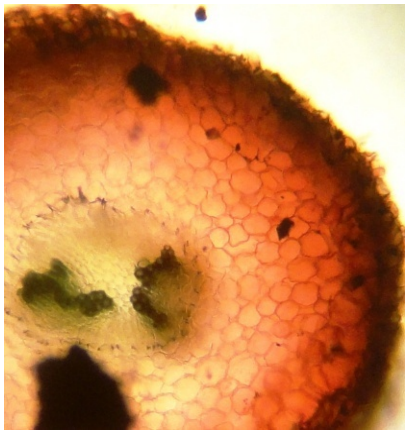


تیمار ۶: ۱۳۳۴ میکرومولار B_1 و ۱۲/۵ میکرومولار IBA

تیمار ۷: ۰ میکرومولار B_1 و ۲۵ میکرومولار IBA



تیمار ۸: ۴۴۴/۶۷ میکرومولار B_1 و ۲۵ میکرومولار IBA



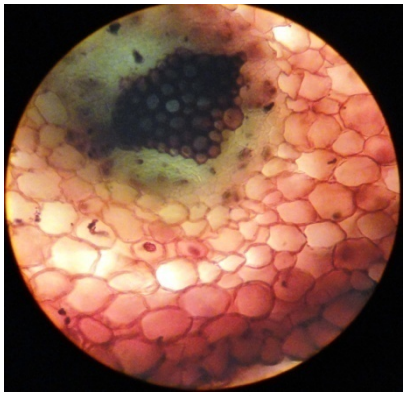
تیمار ۹: ۱۳۳۴ میکرومولار B1 و ۲۵ میکرومولار IBA

شکل ۴- مقایسه ظاهری تعداد و رشد تارهای کشنده بوجود آمده بر روی ریشه رزماری تحت تیمارهای مختلف ویتامین B_1 و IBA

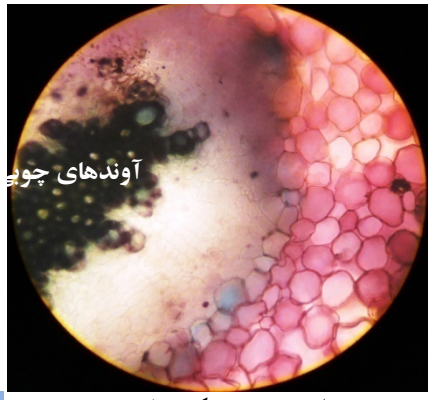
Archive of SID

www.SID.ir

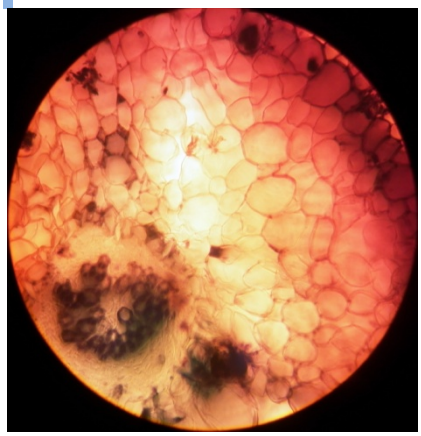
تیمار ۱: ۰ میکرومولار B_1 و ۰ میکرومولار IBA (کنترل)



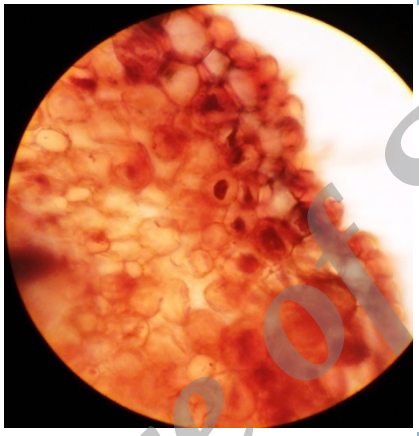
تیمار ۲: ۴۴۴/۶۷ میکرومولار B_1 و ۰ میکرومولار IBA



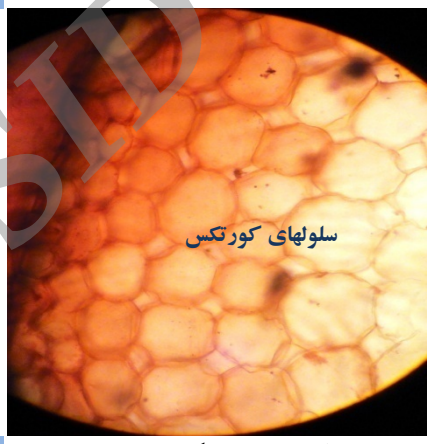
تیمار ۳: ۱۳۳۴ میکرومولار B_1 و ۰ میکرومولار IBA



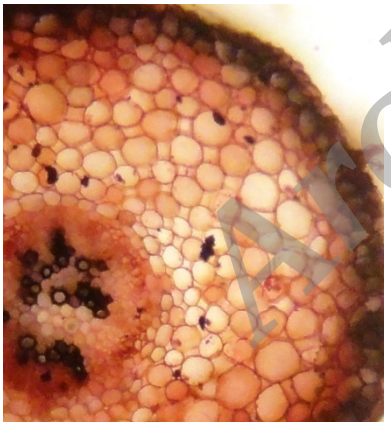
تیمار ۴: ۰ میکرومولار B_1 و ۱۲/۵ میکرومولار IBA



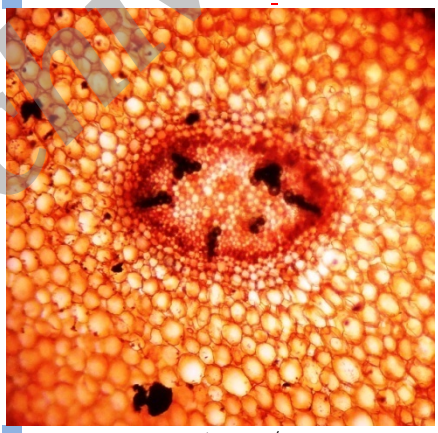
تیمار ۵: ۴۴۴/۶۷ میکرومولار B_1 و ۱۲/۵ میکرومولار IBA



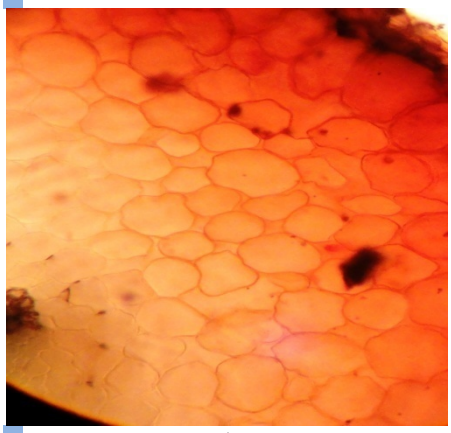
تیمار ۶: ۱۳۳۴ میکرومولار B_1 و ۱۲/۵ میکرومولار IBA



تیمار ۷: ۰ میکرومولار B_1 و ۲۵ میکرومولار IBA



تیمار ۸: ۴۴۴/۶۷ میکرومولار B_1 و ۲۵ میکرومولار IBA



تیمار ۹: ۱۳۳۴ میکرومولار B1 و ۲۵ میکرومولار IBA

شکل ۵- مقایسه تعداد و رشد سلول‌های کورتکس و آوندهای چوبی بوجود آمده در برش عرضی ریشه رزماری تحت تیمارهای مختلف ویتامین B_1 و IBA

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

ثابت شده که ریشه‌دهی قلمه‌ها نیاز به ویتامین B_1 دارد. در این تحقیق، سطوح بالای B_1 و IBA نسبت به سطوح پایین‌تر دارای تأثیر کمتر بر ریشه‌زایی بوده‌است (Syed *et al*., 2002). به نظر می‌رسد که ویتامین B_1 دارای تأثیر مثبتی بر رشد ریشه‌های جدید می‌باشد (Ahn *et al*., 2005). تصاویر برش عرضی ریشه نشان می‌دهد که رشد سلول‌های کورتکس نیز تحت تأثیر ویتامین B_1 افزایش یافته‌است. با افزودن اکسین، تقسیم سلول‌ها نیز افزایش یافته و ریشه‌های نابجا به‌وجود می‌آیند (شکل ۳)، (Abrahamian & Kantharajah, 2011). میزان رشد ریشه‌های فرعی نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت. به‌طوری که در تیمارهای ۵، ۶، ۸ و ۹ رشد ریشه‌های فرعی به‌وضوح دیده می‌شود. در تیمار ۹ که غلظت‌های IBA و B_1 نسبتاً بالا می‌باشد کاهش رشد ریشه اصلی و افزایش رشد ریشه‌های فرعی، موجب بروز شکل غیرطبیعی ریشه‌ها شده است (شکل ۴).

بیان شده که اکسین تعداد ریشه‌های قلمه را افزایش داده و ریشه‌های طبیعی ایجاد می‌کند. در تحقیق انجام شده نیز این موضوع مشاهده گردید، به‌ویژه تیمار ۲۵ میکرومولار IBA، ریشه‌زایی را بشدت افزایش داد (Kieffer *et al*., 2010). اما به هر حال تأثیر B_1 نسبت به IBA برای رشد ریشه بهتر بود، به‌طوری که اثر ویتامین B_1 بر افزایش ریشه‌دهی و رشد بافت ریشه نشان داده شده‌است (Goyer, 2010). به هر حال اکسین برای رشد ریشه و تقسیم سلولی بافت آن نیز مورد نیاز است (Muller & Sheen, 2008). سایر تحقیقات مطابق با این نتیجه نشان داده‌است که تیامین یک فاکتور رشد برای گسترش ریشه‌های گیاه می‌باشد (Goyer, 2010؛ Jablonski & Skoog, 1954). مهمترین مسئله اثر متقابل B_1 و IBA بر ریشه‌زایی قلمه‌های رزماری به‌ویژه در تیمار ۸ است. برهم‌کنش قوی میان تیامین و اکسین در ایجاد ریشه‌های نابجا به اثبات رسیده‌است (Singh, 2011). در این پژوهش نیز اثر متقابل B_1 و IBA بر تعداد ریشه‌ها و رشد قلمه‌ها چشمگیر است. به هر حال ویتامین B_1 به تنهایی چندان باعث افزایش ریشه‌زایی نمی‌شود. هر چند تأثیر جداگانه آن مشاهده شد اما این تأثیر به اندازه تیمارهای همزمان IBA و B_1 نیست (شکل ۴). در این تحقیق تأثیر تیامین بر رشد ریشه بیش از اکسین بود. بیشترین رشد ریشه تحت تیمار ۴۴۴/۶۷ میکرومولار ویتامین B_1 بود، اما تأثیر IBA بر وزن تر ریشه مشاهده نشد. تیمار همزمان ۱۲/۵ میکرومولار IBA و ۱۳۳۴ میکرومولار IBA باعث افزایش رشد ساقه نسبت به شاهد شد، که این افزایش مشابه تأثیر ۲۵ میکرومولار IBA بدون کاربرد ویتامین B_1 بود. تیمار ویتامین B_1 نیز باعث افزایش رشد ساقه شد. علت آن هم این است که تیامین یک فاکتور رشد محسوب می‌شود و به خوبی می‌تواند وزن تر ریشه و حتی ساقه را افزایش دهد (Tunc-Ozedmir *et al*., 2009). با توجه به تحلیل‌های آماری پارامترهای مذکور، مشاهده شد که تأثیر کلی ویتامین B_1 بر رشد ریشه‌ها معنی‌دار است (شکل‌های ۱ و ۲) و تأثیر ۹ تیمار بر رشد و ریشه‌زایی قلمه‌های رزماری چشمگیر بود (جدول ۲). به‌طور کلی با توجه به سنجش‌های رشد، مورفولوژیک و آناتومیک ریشه‌زایی قلمه‌های رزماری، می‌توان گفت که تیمارهای همزمان تیامین و ایندول بوتیریک اسید (IBA) بر رشد و ریشه‌زایی قلمه‌های رزماری تأثیر قابل‌توجهی داشته است (فهیمی، ۱۳۷۶)، اما تأثیر تیمارهای مختلف بر این امر متفاوت بوده‌است. می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که ویتامین B_1 بدون حضور اکسین بیشتر موجب رشد ریشه‌های پدید آمده بر روی قلمه‌ها شده‌است و زمانی‌که این ویتامین با اکسین برای تیمار استفاده شود، تأثیر ویتامین B_1 بر رشد ریشه‌ها کمتر می‌شود، زیرا ویتامین B_1 یک فاکتور رشد است و تأثیر رشدی آن بیش از تأثیر مستقیم آن است و اکسین شرایط معکوس دارد (Kieffer *et al*., 2010). البته این موضوع بیشتر در مورد ریشه صادق است و در مورد ساقه، این مطلب صادق نیست. در زمینه غلظت‌های اکسین و تیامین نیز پیشنهاد می‌گردد که تعداد بیشتری از غلظت‌ها استفاده

Archive of SID

www.SID.ir

گردد تا تأثیر دقیق‌تر آنها مشاهده شود. همچنین پیشنهاد می‌گردد که آزمایش مشابه بر روی گیاه رزماری و گیاهان مشابه در شرایط مزرعه انجام شود.

سپاسگزاری

این تحقیق بخشی از یک طرح پژوهشی مربوط به مرکز تحقیقات داروهای گیاهی و سنتی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان بوده و مراحل تحقیقات گلخانه‌ای و آزمایشگاهی آن در دانشگاه شهید باهنر کرمان (بخش زیست‌شناسی) انجام شده‌است. بدین‌وسیله از سرکار خانم دکتر میترا مهربانی (عضو هیئت علمی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی کرمان و عضو مرکز تحقیقاتی مذکور)، به دلیل همکاریشان در این طرح، کمال تشکر و قدردانی را بعمل می‌آوریم.

منابع مورد استفاده

- امیرجانی، م.ر.، ۱۳۸۶. روشهای آزمایشگاهی در تشریح گیاهی. انتشارات دانشگاه اراک، ۱۹۰ صفحه.
- خضری، ش.، ۱۳۸۲. فرهنگ گیاهان دارویی: خواص میوه ها، گیاهان و سبزیجات. انتشارات سید شهاب، ۶۵۴ صفحه.
- خوشخوی، م.، شیبانی، ب.، روحانی، ا. و تفضلی، ع.، ۱۳۸۹. اصول باغبانی. انتشارات دانشگاه شیراز، ۶۰۴ صفحه.
- زرگری، ع. ۱۳۷۲. گیاهان دارویی (جلد ۴). انتشارات دانشگاه تهران، ۹۲۳ صفحه.
- فهیمی، ح.، ۱۳۷۶. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی. انتشارات دانشگاه تهران، ۱۷۲ صفحه.
- Abrahamian, P. and Kantharajah, A., 2011. Effect of vitamins on *in vitro* organogenesis of plant. American Journal of Plant Sciences, 2(5): 669-674.
- Ahn, P., Kim, S. and Lee, Y.H., 2005. Vitamin B_1 functions as an activator of plant disease resistance. Plant Physiology, 138(3): 1505-1515.
- Ali, M., Malik, A.R. and Raissharma, K., 2008. Vegetative propagation of *Berberis aristata* DC. an emerged Himalayan shrub. Journal of Medicinal Plant Research, 2(12): 374-377.
- Bao, F., Shen, J., Brady, S.R., Muday, G.K., Asami, T. and Yang, Z., 2004. Brassinosteroids iInteract with auxin to promote lateral root development in arabidopsis. Plant Physiology, 134(4): 1624-1631.
- Burrows, R.J, Byrne, K.L. and Meacock, P.A., 2001. Isolation and characterization of Saccharomyces cerevisiae mutants with derepressed thiamine gene expression. Yeast, 16(16): 1497-1508.
- Fernquist, I., 1966. Studies on factors in adventitious root formation. Lantbrukshogskolans Annaler, 32: 109-44.
- Goyer, A., 2010. Thiamine in plants: aspects of its metabolism and functions. Phytochemistry, 71(14-15): 1615-1624.
- Guo, X.F., Fu, X., Zang, D. and Ma, Y., 2009. Effect of auxin treatments, cuttings, collection date and initial characteristics on *Paeonia* "Yang Fei Chu Yu" cutting propagation. Scientia Horticulturae, 119(2): 177-181.
- Halle, F. and Kamil, H., 1981. Vegetative propagation of dipterocarps by stem cuttings and air layering. Malaysia Forester, 44(2&3): 314-318.
- Hati, A.P., Modak, S.B. and Basu, P.K., 1990. Effects of some vitamins on regeneration of adventitious roots of *Adhatoda vasica* nees shoot cutting. Indian Journal of Forestry, 13: 353-356.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Publications, 347: 1-32.
- Jablonski, J.R. and Skoog, F., 1954. Cell enlargement and cell division in excised tobacco pith tissue 1. Physiologia Plantarum, 7: 16-24.
- Janick, J., 1972. Horticultural Science. Freeman and Company, San Francisco, 746p.
- Kiarostami, Kh., Mohseni, R. and Saboora, A., 2010. Biochemical changes of *Rosmarinus officinalis* under salt stress. Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 6(3): 114-122.
- Kieffer, M., Neve, J. and Kepinski, S., 2010. Defining auxin response contexts in plant development. Current Opinion in Plant Biology, 13: 12-20.
- Klein, J.D., Cohen, S. and Hebbe, Y., 2000. Seasonal variation in rooting ability of myrtle (*Myrtus communis* L.). Scientia Horticulturae, 83: 71-76.
- Knox, G.W. and Hamilton, D.F., 1982. Rooting of *Berberis* and *Ligustrum* cutting from stock plant grown at selected light intensities. Scientia Horticulturae, 16: 85-90.
- Kuhlmann, A. and Rohl, C., 2006. Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro cultures of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and their anti-inflammatory effect on lipopolysaccharide-activated microglia. Pharmaceutical Biology, 44(6): 401-410.

Archive of SID

www.SID.ir

- Lillie, R.D., 1965. Histopathologic Technic and Practical Histochemistry. McGrawhill, New York, 715p.
- Müller, B. and Sheen, J., 2008. Cytokinin and auxin interaction in root stem-cell specification during early embryogenesis. Nature, 453(7198): 1094-1097.
- Singh, S., 2011. Clonal plantations of teak for enhanced productivity. Proceedings of International Forestry Conference on Planted Teak Forests-a Globally Emerging Forest Resource, 31st October-5th November, San Jose and Guanacaste, Costa Rica.
- Syed, H., Ahsan-ul-Haq, M. and Shah, T.M., 2002. Vegetative propagation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) through stem cuttings. Asian Journal of Plant Sciences, 1(3): 218-219.
- Tan, X.W., Ikeda, H. and Oda, M., 2000. Effects of nickel concentration in the nutrient solution on the nitrogen assimilation and growth of tomato seedlings in hydroponic culture supplied with urea or nitrate at the sole nitrogen source. Scientia Horticulturae, 84(3-4): 265-273.
- Tounekti, T., Vadel, A.M., Bedoui, A. and Khemira, H., 2008. NaCL stress affects growth and essential oil composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis*). The Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 83(2): 267-273.
- Tunc-Ozdemir, M., Miller, G., Song, L., Kim, J., Sodek, A., Koussevitzky, S., Misra, A.N., Mittler, R. and Shintani, D., 2009. Thiamin confers enhanced tolerance to oxidative stress in Arabidopsis. Plant Physiology, 151(1): 421-32.

Archive of SID

www.SID.ir

The effect of vitamin B_1 and IBA on rooting and cortex cells growth of adventitious root in *Rosmarinus officinalis* L. cuttings under hydroponic media

F. Alavi Naeini[1], Z. Asrar[2] and H. Mozafari[3*]

1- Islamic Azad University, Jiroft Branch, Jiroft, Iran
2- Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman and member of HTMRC, Kerman University of medical sciences, Kerman, Iran
3*- Corresponding author, Ph.D. Student, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
E-mail: Mozafari.Hossein@gmail.com

Received: June 2012 Revised: September 2013 Accepted: September 2013

Abstract

Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) is of great value as an ornamental and medicinal plant. Therefore, studying the growth, morphological and anatomical parameters of rosemary cuttings in rooting stage is of utmost importance. In recent research, the separate and combined effects of Indole 3- Butyric acid (IBA) and vitamin- B_1 (thiamine) on growth, rooting and anatomical structure of adventitious roots in *Rosmarinus officinalis* cuttings were investigated under hydroponic conditions. A factorial experiment was implemented using nine combined treatments including IBA and vitamin B_1 at three levels. The treatments were applied on cuttings for two weeks under standard condition of light, temperature and humidity in hydroponic medium. Then, using cross-section method and double staining, the anatomy of root, in terms of cross-section, cortex cells growth and the density of secondary roots, were studied by a light microscope. Results showed that IBA application with or without B_1 significantly affected the growth, anatomy and morphology of rosemary cuttings in rooting stage. However, our results clearly showed that vitamin B_1 had an essential role on the growth of roots and IBA stimulated cell division in pericycle, causing the stimulation of rooting response of cuttings. According to he obtained results, the combined use of IBA and vitamin B_1 showed significant effect on the propagation of rosemary as an ornamental and medicinal plant; therefore, their application could be recommended in commercial and farm conditions, and even in the case of other ornamental plants having difficulty propagating.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* L.,cortex cells, vitamin B_1, rooting, adventitious roots, IBA.

Archive of SID

www.SID.ir