مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijrfpbgr.2020.342212.1362

جلد ۲۸، شماره ۱، صفحه ۹۰-۷۹ (۱۳۹۹) شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0891.1398.28.81.55.1.1576.41

# بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریزازدیادی گیاه دارویی سنا (*Cassia angustifolia* Vahl.)

**فرحناز عزیزی[۱]، لیلا سمیعی[۲] و محمد مقدم[۳]***

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲. استادیار، گروه گیاهان زینتی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳. نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

* پست الکترونیک: moghaddam75@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۵

## چکیده

سنا (*Cassia angustifolia* Vahl.)، گیاه دارویی مهم از خانواده Ceasalpiniaceae است که در درمان برخی از بیماری‌ها ازجمله عفونت‌های پوستی، درمان یبوست و کرم روده کاربرد دارد. هدف از این پژوهش بهینه‌سازی ریزازدیادی این گیاه می‌باشد. به این منظور ابتدا بذرهای سنا ضدعفونی و در محیط کشت MS کشت شدند و از قطعات ساقه دارای گره به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. تیمارهای مورد بررسی برای بهینه‌سازی محیط کشت پرآوری شامل غلظت‌های مختلف سیتوکینین‌های BA و Kin (۱،۰، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با NAA (۰ و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) بود. پس از به‌دست آوردن بهترین نوع و غلظت سیتوکینین برای پرآوری (سیتوکینین BA)، این تنظیم‌کننده رشد در ترکیب با اکسین‌های مختلف برای بهینه‌سازی پرآوری ریزنمونه‌ها آزمایش شد. در این آزمون BA در سه سطح (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با NAA، IAA و IBA هریک در دو غلظت (۰ و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) بررسی شدند. سپس شاخساره‌های پرآوری شده (حداقل دارای ۳ سانتی‌متر طول) برای القای ریشه‌زایی تحت تأثیر دو نوع اکسین NAA و IBA در غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ میلی‌گرم در لیتر) قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بیشترین تعداد شاخه‌زایی (۲/۹۳ شاخساره در هر ریزنمونه) و تعداد برگ (۲۱/۶ برگ در هر شاخساره) در تیمار ۱ میلی‌گرم BA همراه با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA حاصل شد. تیمار BA در سطح ۱ میلی‌گرم در لیتر به‌همراه NAA با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر در نهایت به‌عنوان بهترین تیمار در پرآوری ریزنمونه‌ها بود. بیشترین درصد ریشه‌زایی در تیمار ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد که تفاوت معنی‌داری با تیمار ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA نداشت. همچنین کاربرد IBA با میزان ۰/۹ میلی‌گرم در لیتر سبب بیشترین تعداد و طول ریشه گردید، به‌طوری‌که به‌ترتیب سبب افزایش ۱۷۲/۲۲ و ۷۳/۴۱ درصد صفات مذکور نسبت به شاهد گردید. نتایج این پژوهش می‌تواند در ریزازدیادی و تکثیر وسیع این گیاه استفاده شود.

**واژه‌های کلیدی:** سنا (*Cassia angustifolia* Vahl)، سیتوکینین، تنظیم‌کننده رشد، پرآوری، کشت بافت

## مقدمه

در سال‌های اخیر، تکنیک کشت بافت به‌طور گسترده‌ای برای تکثیر گونه‌های مهم گیاهان دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد و به‌عنوان منبع مهمی برای تولید ترکیبات مؤثره دارویی به‌کار می‌رود (Parveen and Shahzad, 2011). گیاه سنا یا سنای هندی با نام انگلیسی Senna و نام علمی

*Cassia angustifolia* Vahl. همواره به‌عنوان یک گیاه دارویی مهم و ارزشمند شناخته شده است (Trease and Evans, 1983). این گیاه متعلق به خانواده گل ارغوان (Caesalpinaceae) است (Khezri, 2002). بسیاری از گونه‌های این جنس دارویی، زینتی و منبع با ارزشی از تانن هستند که از نظر اقتصادی اهمیت بسیار بالایی دارند (Trease and Evans, 1983). گیاه سنا به‌علت خاصیت مسهل و ملینی که دارد در پزشکی کاربرد زیادی دارد (Upadhyay *et al*., 2011). همچنین به‌عنوان تب‌بر، جلوگیری از بزرگ شدن طحال، درمان دیاستری آمیبی، درمان کم خونی، حصبه، وبا و چندین بیماری دیگر مورد استفاده قرار گرفته است (Parveen and Shahzad, 2011).

ریزازدیادی یا تکثیر در شرایط *in vitro* ابزاری جایگزین برای حفاظت و تکثیر سریع گونه‌های گیاهی است که تکثیر آنها با روش‌های مرسوم دشوار است (Baskaran and Jayabalan, 2005). با توجه به اینکه میزان جوانه‌زنی بذر سنا تحت شرایط معمول زراعی پایین بوده و دلیل آن نوعی خفتگی مکانیکی مربوط به پوسته بذر است، تکثیر از طریق بذر غیرقابل اطمینان است (Kapur and Atal, 1977; Parveen and Shahzad, 2011). بنابراین تکنیک کشت بافت روش مناسبی برای تکثیر این گیاه ارزشمند می‌باشد. روش بهینه تکثیر با کشت بافت در بسیاری از گیاهان دارویی مهم ازجمله *Celastrus paniculatus* (Martin *et al*., 2006)، *Pterocarpus marsupium Rox* (Husain *et al*., 2008) و *Veronica anagallis-aquatica* (Shahzad *et al*., 2011) مورد ارزیابی قرار گرفته و موفقیت‌آمیز بوده است. تحقیقات اندکی در مورد باززایی گیاه سنا در شرایط درون‌شیشه‌ای با استفاده از قسمت‌های مختلف گیاه ازجمله برگ‌های لپه‌ای (Agrawal and Sardar, 2003)، گره (Siddique and Anis, 2007)، لپه و برگ‌های باززایی شده از کالوس (Agrawal and Sardar, 2006; Agrawal and Sardar, 2007) وجود دارد. در بررسی دیگری ریزازدیادی گیاه دارویی سنا با استفاده از ریزنمونه ریشه انجام شد، در این آزمایش از تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف ازجمله BA[۱]، Kin[۲] و TDZ[۳] به‌صورت جداگانه یا ترکیبی با اکسین NAA[۴] در محیط کشت MS[۵] برای باززایی استفاده شد و بیشترین باززایی از ریزنمونه ریشه (۹۰٪) در محیط حاوی ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر NAA حاصل شد (Parveen and Shahzad, 2011). استفاده از ریزنمونه‌های مختلف تأثیر زیادی در ریزازدیادی یک گونه گیاهی دارد، در این آزمایش از قطعات ساقه دارای گره به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. در آزمایشی بر روی گیاه دارویی کاکوتی کوهی[۶] از ریزنمونه جوانه جانبی در محیط کشت MS حاوی BAP در پنج سطح به‌همراه NAA با غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر برای پرآوری استفاده شد. نتایج نشان داد BAP با میزان ۲–۲/۵ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بهترین تیمار برای پرآوری بود (Momeni *et al*., 2019). هدف این پژوهش بهینه‌سازی باززایی گیاه سنا در محیط درون‌شیشه‌ای است تا شرایط برای ریزازدیادی گیاه در مقیاس وسیع فراهم شود.

## مواد و روش‌ها

این تحقیق در پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد برای بررسی تأثیر برخی از تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریزازدیادی گیاه دارویی سنا در محیط کشت پایه MS انجام شد.

### الف) کشت بذرها و تولید گیاهچه سترون

بذرهای گیاه دارویی سنا را برای رفع خفتگی بذر با چاقو خراش داده و به‌مدت ۱۲ ساعت در آب ولرم نگه‌داری شد. سپس به‌مدت نیم ساعت در زیر آب روان قرار گرفته و پس از شستشوی سطحی، بذرها در زیر هود به‌مدت ۳۰ ثانیه در

۱ Benzil adenin
۲ Kinetin
۳ Thidiazuron
۴ Naphthaleneacetic acid
۵ Murashige and Skoog
۶ *Ziziphora clinopodioides* L.

الکل اتیلیک ۷۰ درصد ضدعفونی شده و پس از شستشو با آب مقطر سترون به‌مدت ۲۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد قرار گرفتند. آنگاه بذرها سه بار با آب مقطر سترون با فواصل زمانی ۵ دقیقه آبکشی شدند. بذرهای ضدعفونی شده در محیط کشت MS (۵۰ درصد) با اسیدیته ۵/۷ حاوی ۸ گرم در لیتر آگار و ۱۵ گرم در لیتر ساکارز و بدون تنظیم‌کننده رشد کشت شدند. بذرهای کشت شده به‌مدت چهار هفته در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. از گیاهچه‌های حاصل از این بذرها برای ادامه آزمایش‌ها استفاده شد.

**ب) تیمار سیتوکینین**

فاکتورهای مورد بررسی برای بهینه‌سازی محیط کشت پرآوری شامل غلظت‌های مختلف سیتوکینین‌های BA و Kin (۰، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با NAA (۰ و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) در محیط کشت MS بودند. از تیمار محیط کشت بدون تنظیم‌کننده رشد نیز به‌عنوان تیمار شاهد استفاده شد. تعداد ۱۴ تیمار ترکیبی تنظیم‌کننده رشد در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار که هر تکرار شامل ۵ ریزنمونه بود اجرا گردید. از ریزنمونه قطعات ساقه دارای گره به طول یک سانتی‌متر برای پرآوری استفاده شد. ریزنمونه‌ها به اتاق رشد با دمای ۱± ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی منتقل و نگه‌داری شدند. پس از گذشت یک ماه از کاشت ریزنمونه‌ها، یک دوره واکشت در محیط‌های مشابه انجام شد. در پایان آزمایش پس از گذشت دو ماه، میانگین تعداد شاخساره پرآوری شده، طول شاخساره و تعداد برگ اندازه‌گیری شد.

**ج) تیمارهای اکسین و سیتوکینین BA**

در ادامه آزمایش ذکرشده و برای بهینه‌سازی پرآوری با توجه به نتایج حاصل از آزمایش اول از غلظت‌های مختلف BA (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با سه نوع اکسین مختلف NAA، IAA[۷] و IBA[۸] هریک در دو سطح (۰ و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد. با توجه به اینکه تنظیم‌کننده رشد IAA به دمای بالا حساس است و در دمای اتوکلاو تجزیه می‌شود، این اکسین در زیر هود و با استفاده از فیلتر ۰/۲ میکرومتر سترون و به محیط کشت اضافه گردید. در این آزمایش نیز ریزنمونه قطعات ساقه دارای گره به طول یک سانتی‌متر تهیه شده و در محیط کشت MS حاوی سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد در زیر هود کشت گردید. پس از گذشت چهار هفته، واکشت ریزنمونه‌ها در محیط‌های کشت مشابه انجام شد. این آزمایش نیز در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در هر تکرار پنج ریزنمونه انجام گردید. در پایان آزمایش پس از گذشت دو ماه میانگین تعداد شاخساره پرآوری شده، طول شاخساره و تعداد برگ اندازه‌گیری شد.

**د) ریشه‌زایی شاخساره‌های باززایی شده**

در این مرحله برای حذف کردن آثار بازدارنده سیتوکنین بر ریشه‌دهی و یکنواخت کردن نسبی محتوای هورمونی، شاخه‌های تشکیل‌شده در مرحله پرآوری به قطعاتی حاوی دو یا سه گره برش داده شد و به‌مدت چهار هفته در محیط کشت MS بدون تنظیم‌کننده رشد کشت شدند. گیاهچه‌های مذکور برای بررسی ریشه‌زایی به محیط کشت MS با تیمارهای NAA و IBA در غلظت‌های ۰ (شاهد)، ۰/۳، ۰/۶ و ۰/۹ میلی‌گرم در لیتر منتقل گردیدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار چهار ریزنمونه انجام شد و پس از گذشت چهار هفته، صفات درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه و طول ریشه ریزنمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

**ه) سازگاری گیاهچه‌های ریشه‌دار شده گیاه سنا**

در این مرحله گیاهچه‌هایی که بخوبی تولید ریشه کرده بودند

۷ Indole Acetic Acid

۸ Indole Butyric Acid

انتخاب شده و پس از شستشو در داخل لیوان‌های پلاستیکی حاوی پیت‌ماس: پرلیت سترون (به نسبت ۱:۱) کشت شدند. لیوان‌های کشت شده به اتاق کشت با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت نور منتقل شدند و آبیاری گیاهان با محیط کشت MS ۱/۲ هر چهار روز یکبار و در مجموع پنج بار انجام شد. به‌منظور حفظ رطوبت، روی لیوان‌ها توسط پلاستیک پوشانده شده و بعد از گذشت یک هفته سوراخ‌های کوچکی در سطح پلاستیک‌ها ایجاد شد. پس از گذشت ۱۰ روز سطح پلاستیک‌ها کاملاً برداشته شد. سپس گیاهچه‌ها داخل گلدان‌هایی که حاوی ۵۰ درصد خاک و ۵۰ درصد کوکوپیت بودند کشت شد و به محیط بیرون از آزمایشگاه یعنی گلخانه منتقل شدند و بعد از گذشت یک ماه درصد بقای گیاهچه‌ها ثبت شد.

**تجزیه وتحلیل آماری داده‌ها**

تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab 17 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون Bonferroni در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

## نتایج

**تعیین تیمار بهینه سیتوکینین در پرآوری درون شیشه‌ای**

بررسی نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد، تأثیر دو نوع سیتوکینین BA و Kin همراه با NAA بر صفات مرتبط با پرآوری در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد صفات مرتبط با پرآوری، تحت تأثیر نوع و غلظت سیتوکینین قرار گرفته، به‌طوری‌که BA در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر سبب بهبود تعداد شاخساره و برگ گردید و بیشترین تعداد شاخساره با میزان ۲/۹۳ عدد شاخساره در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با کاربرد NAA تشکیل شده و افزایش غلظت BA سبب کاهش میزان این صفت گردید. همچنین کاربرد Kin در همه سطوح تفاوت معنی-داری در افزایش تعداد شاخساره با شاهد نداشت. بیشترین تعداد برگ با میزان ۲۱/۶ و ۱۸/۴۶ عدد برگ به‌ترتیب در تیمار با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با کاربرد و عدم کاربرد NAA حاصل شد که دارای اختلاف معنی‌داری با شاهد و سایر تیمارها بود. طول شاخساره در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر Kin بدون کاربرد NAA نسبت به شاهد افزایش ۱۱۳/۵۵ درصدی نشان داد، به-طوری‌که از مقدار ۲/۷۳ سانتی‌متر در تیمار شاهد به ۵/۸۳ سانتی‌متر افزایش یافت. با توجه به اهمیت تعداد شاخساره و برگ در پرآوری و شاخه‌زایی ریزنمونه، در این مرحله از آزمایش سیتوکینین BA برای انجام گام بعدی استفاده شد (جدول ۲).

**تعیین بهترین تیمار اکسین در پرآوری درون شیشه‌ای**

پس از تعیین بهترین نوع سیتوکینین (BA) در آزمون قبلی برای پرآوری گیاه سنا، در ادامه غلظت‌های بهینه تنظیم‌کننده رشد مذکور با غلظت‌های مختلف اکسین‌های (NAA, IAA, IBA) ترکیب گردید تا مناسبترین ترکیب هورمونی سیتوکینین و اکسین برای پرآوری گیاه دارویی سنا به‌دست آید. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد اثر ترکیبات مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر تعداد شاخه پرآوری شده، طول شاخساره و تعداد برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). با توجه به تأثیر مثبت BA در مرحله اول آزمایش، در این مرحله نوع و غلظت اکسین در صفات شاخه‌زایی ریزنمونه مؤثر واقع شد و تنظیم‌کننده رشد گیاهی NAA در صفت تعداد شاخساره و برگ نسبت به شاهد سبب بهبود صفات مذکور گردید؛ به‌طوری‌که بیشترین تعداد شاخه پرآوری شده با میانگین ۲/۹۳ عدد در هر ریزنمونه از تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با NAA حاصل شد که با تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با IAA تفاوت معنی‌دار نداشت و سبب افزایش ۱۱۲/۳۱ درصدی این صفت نسبت به تیمار شاهد گردید. همچنین تعداد برگ (۲۱/۶ عدد) در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با کاربرد ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA دارای اختلاف معنی‌داری با شاهد بوده و سبب افزایش تعداد برگ به

میزان ۱۴۷/۷ درصد نسبت به شاهد شد (جدول ۴).

**جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر سیتوکینین BA و Kin همراه با NAA بر صفات مرتبط با پرآوری ریزنمونه سنا**

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | |
|---|---|---|---|---|
| | | تعداد شاخساره | طول شاخساره | تعداد برگ |
| تنظیم‌کننده رشد | ۱۳ | ۰/۸۵۰** | ۵/۰۶۴** | ۴۴/۲۱۹** |
| خطا | ۲۸ | ۰/۰۴۲ | ۰/۳۷۱ | ۱/۷۰۶ |
| ضریب تغییرات | | ۱۳/۰۲ | ۱۴/۶ | ۱۰/۸ |

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

**جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای سنا**

| نام سیتوکینین | غلظت سیتوکینین ($mg\ l^{-1}$) | غلظت NAA ($mg\ l^{-1}$) | تعداد شاخساره | طول شاخساره (cm) | تعداد برگ |
|---|---|---|---|---|---|
| BA | ۰ | ۰ | ۱/۲۰±۰/۱۳e | ۲/۷۳±۰/۲۶cd | ۹/۳۳±۰/۶۶ bc |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۳۳±۰/۱۳de | ۴/۵۰±۰/۵۰abc | ۱۱/۶۶±۰/۸۸ bc |
| | ۱ | ۰ | ۱/۹۸±۰/۱۰bcd | ۳/۶۶±۰/۶۶bcd | ۱۸/۴۶±۰/۴۶a |
| | | ۰/۲۵ | ۲/۹۳±۰/۰۶a | ۵/۱۶±۰/۳۳ab | ۲۱/۶۰±۰/۳۰a |
| | ۲ | ۰ | ۱/۴۱±۰/۰۸cde | ۴/۵۰±۰/۰abc | ۱۳/۲۲±۰/۷۲b |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۶۹±۰/۰۹bcde | ۲/۴۳±۰/۲۹d | ۱۰/۴۱±۰/۴۱bc |
| | ۴ | ۰ | ۱/۹۹±۰/۱۹bc | ۱/۹۶±۰/۱۶d | ۸/۵۰±۰/۷۶ c |
| | | ۰/۲۵ | ۲/۲۱±۰/۲۱b | ۲/۲۶±۰/۳۷d | ۸/۰۳±۱/۰۳ c |
| Kin | ۱ | ۰ | ۱/۲۷±۰/۱۴e | ۵/۸۳±۰/۱۶a | ۱۲/۱۶±۱/۰۸abc |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۱۶±۰/۹۵e | ۴/۴۰±۰/۳۰abc | ۱۰/۱۸±۰/۹۹bc |
| | ۲ | ۰ | ۱/۰۵±۰/۰۵e | ۵/۳۶±۰/۲۳ab | ۱۰/۳۳±۰/۳۳bc |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۱۱±۰/۱۱e | ۵/۰۰±۰/۵۷ab | ۱۰/۷۶±۰/۷۶bc |
| | ۴ | ۰ | ۱/۴۴±۰/۰۵cde | ۵/۳۳±۰/۱۶ab | ۱۰/۳۰±۰/۳۰bc |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۲۶±۰/۰۱e | ۴/۹۶±۰/۲۶ab | ۱۳/۳۷±۰/۶۷b |

در هر ستون اعداد دارای حداقل یک حرف مشابه بر اساس آزمون Bonferoni تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

طول شاخساره در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA دارای بیشترین مقدار (۵/۱۶ سانتی‌متر) بود، درحالی‌که اختلاف معنی‌داری با شاهد و برخی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نداشت. بنابراین باتوجه به نتایج به‌دست‌آمده تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA به‌همراه ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌عنوان تیمار با بازدهی مطلوب برای پرآوری ریزنمونه سنا می‌باشد (جدول ۴).

**جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مختلف پرآوری درون‌شیشه‌ای گیاه دارویی سنا تحت تأثیر ترکیبات مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد**

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | |
|---|---|---|---|---|
| | | تعداد شاخه پرآوری شده | طول شاخساره | تعداد برگ |
| تنظیم‌کننده رشد | ۱۷ | ۰/۶۱۳** | ۲/۵۵** | ۶۹/۷۰۱** |
| خطا | ۳۶ | ۰/۰۴۳ | ۰/۳۴ | ۲/۸۵۰ |
| ضریب تغییرات | | ۱۲ | ۱۶ | ۱۲ |

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

**جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای سنا**

| غلظت سیتوکنین BA (mg $L^{-1}$) | نام اکسین | غلظت اکسین | تعداد شاخه پرآوری شده | طول شاخساره (cm) | تعداد برگ |
|---|---|---|---|---|---|
| ۰/۵ | NAA | ۰ | ۱/۳۸ ± ۰/۱۴de | ۳/۶۶ ± ۰/۶۶ab | ۸/۷۲ ± ۰/۶۳d |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۳۳ ± ۰/۰۰de | ۲/۹۳ ± ۰/۲۹c | ۸/۵۵ ± ۰/۵۲d |
| ۱ | | ۰ | ۱/۹۸ ± ۰/۱۰bcd | ۳/۲۲ ± ۰/۲۲bc | ۱۸/۴۶ ± ۰/۴۶ab |
| | | ۰/۲۵ | ۲/۹۳ ± ۰/۰۶ a | ۵/۱۶ ± ۰/۳۳a | ۲۱/۶۰ ± ۰/۳۰a |
| ۲ | | ۰ | ۱/۷۱ ± ۰/۱۱cde | ۴/۰۰ ± ۰/۰abc | ۱۴/۶۶ ± ۲/۱۷bc |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۴۱ ± ۰/۰۸de | ۲/۴۳ ± ۰/۲۹c | ۱۰/۴۱ ± ۰/۴۱cd |
| ۰/۵ | IAA | ۰ | ۱/۳۸ ± ۰/۱۴de | ۳/۶۶ ± ۰/۳۳ab | ۸/۷۲ ± ۰/۶۳d |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۶۶ ± ۰/۱۶bc | ۵/۰۰ ± ۰/۰۰ab | ۱۸ ± ۰/۰۰ab |
| ۱ | | ۰ | ۱/۹۸ ± ۰/۱۰bcd | ۳/۲۲ ± ۰/۲۲bc | ۱۸/۴۶ ± ۰/۴۶ab |
| | | ۰/۲۵ | ۲/۵۰ ± ۰/۰۰ab | ۵/۰۰ ± ۰/۰۰ab | ۲۰/۰۰ ± ۰/۰۰ab |
| ۲ | | ۰ | ۱/۷۱ ± ۰/۱۱cde | ۴/۰۰ ± ۰/۰۰abc | ۱۴/۶۶ ± ۲/۱۷bc |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۶۶ ± ۰/۱۶cde | ۵/۰۰ ± ۰/۰۰ab | ۱۱/۰۰ ± ۰/۰۰cd |
| ۰/۵ | IBA | ۰ | ۱/۳۸ ± ۰/۱۴de | ۳/۶۶ ± ۰/۳۳ab | ۸/۷۲ ± ۰/۶۳d |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۴۰ ± ۰/۰۶de | ۲/۵۰ ± ۰/۲۸c | ۷/۸۶ ± ۰/۴۳d |
| ۱ | | ۰ | ۱/۹۸ ± ۰/۱۰bcd | ۳/۲۲ ± ۰/۲۲bc | ۱۸/۴۶ ± ۰/۴۶ab |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۴۴ ± ۰/۰۶de | ۲/۵۰ ± ۰/۲۰c | ۸/۸۷ ± ۰/۴۴d |
| ۲ | | ۰ | ۱/۷۱ ± ۰/۱۱cde | ۴/۰۰ ± ۰/۸۶abc | ۱۴/۶۶ ± ۲/۱۷bc |
| | | ۰/۲۵ | ۱/۳۰ ± ۰/۱۰e | ۲/۵۰ ± ۰/۵۰c | ۸/۰۰ ± ۰/۰۰d |

در هر ستون اعداد دارای حداقل یک حرف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون (Bonferoni) با یکدیگر ندارند.

**ریشه‌زایی شاخساره‌های باززایی شده**

مطابق با نتایج به‌دست‌آمده، کاربرد ترکیبات مختلف تأثیر معنی‌داری بر صفات درصد ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه در سطح احتمال ۱ درصد داشت (جدول ۵). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد، بیشترین درصد ریشه‌زایی با میزان ۱۰۰ و ۹۱ درصد به‌ترتیب در تیمارهای IBA و NAA با غلظت ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد که تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند. همچنین تعداد و طول ریشه با میزان ۱۲/۲۵ عدد و ۱۲ سانتی‌متر در تیمار ۰/۹ IBA حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب سبب افزایش ۱۷۲/۲۲ و ۷۳/۴۱ درصد آنها گردید (جدول ۶). همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش غلظت هر دو اکسین منجر به افزایش تعداد ریشه شد و از سویی منجر به تولید ریشه‌های ضخیم‌تر گردید.

**جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس صفات مربوط به ریشه‌زایی ریزنمونه سنا تحت تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشدی مختلف**

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | |
|---|---|---|---|---|
| | | درصد ریشه‌زایی | تعداد ریشه | طول ریشه |
| تنظیم‌کننده رشد | ۶ | ۳۲۷/۳۸** | ۲۰/۴۸** | ۲۴/۵۱** |
| خطا | ۱۴ | ۲۹/۷۶ | ۰/۴۰ | ۰/۵۳ |
| ضریب تغییرات | | ۶ | ۹/۷ | ۱۱ |

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

**جدول ۶- تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی IBA و NAA بر شاخص‌های ریشه‌زایی گیاه سنا**

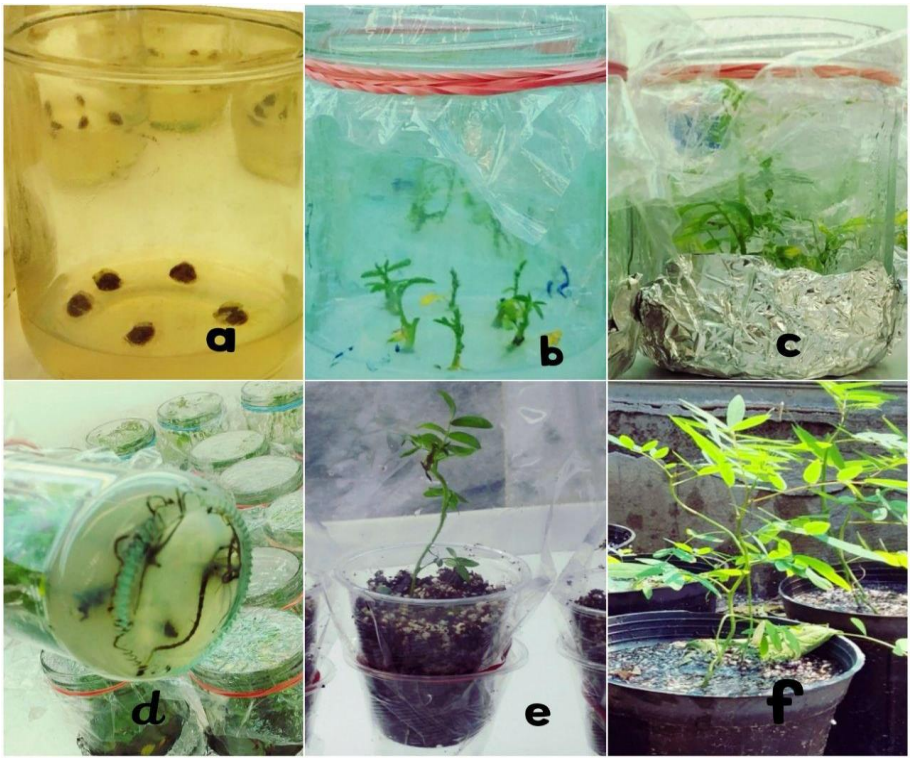
| نام اکسین | غلظت اکسین ($mg\ L^{-1}$) | درصد ریشه‌زایی | تعداد ریشه | طول ریشه (سانتی‌متر) |
|---|---|---|---|---|
| شاهد | ۰ | ۷۵ ± ۱/۶۷ b | ۴/۵۰ ± ۰/۲۸ d | ۶/۹۲ ± ۰/۲۹ b |
| IBA | ۰/۳ | ۱۰۰ ± ۳/۳۳ a | ۵/۷۰ ± ۰/۱۴ bcd | ۵/۷۲ ± ۰/۳۵bc |
| | ۰/۶ | ۷۵ ± ۱/۶۷ b | ۶/۵۰ ± ۰/۲۸bc | ۵/۸۳ ± ۰/۳۳bc |
| | ۰/۹ | ۷۵ ± ۱/۶۷ b | ۱۲/۲۵ ± ۰/۴۳a | ۱۲/۰۰ ± ۰/۲۸ a |
| NAA | ۰/۳ | ۹۱ ± ۸/۳۳ a | ۳/۹۱ ± ۰/۳۳cd | ۳/۶۲ ± ۰/۲۱c |
| | ۰/۶ | ۷۵ ± ۱/۶۷ b | ۵/۶۶ ± ۰/۴۴bcd | ۳/۸۳ ± ۰/۱۶c |
| | ۰/۹ | ۷۵ ± ۱/۶۷ b | ۷/۰۰ ± ۰/۵۰b | ۴/۶۶ ± ۰/۸۸c |

در هر ستون اعداد دارای حداقل یک حرف مشابه تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون Bonferoni با یکدیگر ندارند.

**سازگاری گیاه**

در این مرحله گیاهچه‌هایی که دارای ریشه‌های قوی و سالم بودند انتخاب و به مرحله سازگاری انتقال داده شدند (شکل ۱). برگ‌های گیاهان پس از انتقال، کمی پژمرده شدند که دلیل این امر ناشی از شوک انتقال و در بعضی موارد تولید اتیلن می‌باشد. اما پس از یک روز این پژمردگی

برطرف گردید. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به مدت چهار هفته در داخل محیط آزمایشگاه نگه‌داری شدند و بعد به داخل خاک گلدان که حاوی ۵۰ درصد خاک و ۵۰ درصد پرلیت بود انتقال داده شدند. در مجموع ۹۰ درصد از گیاهان تولیدشده از کشت بافت، در محیط بیرون با موفقیت سازگار گردیدند، بنابراین تکثیر گیاه دارویی سنا از طریق کشت بافت موفقیت‌آمیز بود.




**شکل ۱– مراحل اندام‌زایی مستقیم در سنا: a (کشت بذرها برای دستیابی به گیاهچه استریل)، b و c (مراحل باززایی و پرآوری سنا)، d (ریشه‌زایی شاخساره‌های باززایی شده)، e و f (سازگاری گیاهان ریشه‌دار شده)**

## بحث

### بهینه‌سازی محیط کشت پرآوری شاخساره

این آزمایش بیانگر بهبود شاخه‌زایی ریزنمونه‌ها در محیط کشت حاوی سیتوکینین BA بود. با توجه به نقش BA در شکستن غالبیت انتهایی و تحریک رشد شاخه‌های جدید و اثر آن در بازدارندگی تشکیل ریشه، در بسیاری از پژوهش‌ها به‌عنوان تنظیم‌کننده رشد مؤثر در پرآوری شناخته می‌شود (Narimani *et al*., 2017; Pati *et al*., 2000; Steephen *et al*., 2010; Mahmoodzadeh *et al*., 2010). در پرآوری گونه *Pterocarpus marsupium* که متعلق به تیره Fabacaeae می‌باشد Anis و همکاران (2005) نشان دادند که تنظیم‌کننده رشد BA نسبت به Kin باعث تولید شاخساره بیشتری شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در تحقیقات دیگر BA به‌منزله مؤثرترین تنظیم‌کننده رشد در پرآوری و افزایش شاخه‌زایی در دو گونه مرزه (Afzalifar, 2012) و ریزنمونه‌های سرخس بوستونی (Shafie *et al*., 2008) معرفی گردید که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. در تحقیقی که در گیاه دارویی گزانگبین (*Astragalus adscendens* Boiss and Haussk) انجام شد، مشخص شد که استفاده از سیتوکینین‌های متفاوت

و غلظت‌های استفاده شده از هریک و همچنین کاربرد NAA در میزان شاخساره تولیدشده، شمار برگ و طول شاخساره‌ها مؤثر بود که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد (Steephen *et al*., 2010). سیتوکینن در غلظت مناسب به‌همراه اکسین می‌تواند رشد و تقسیم سلولی را تحریک کند، درحالی‌که غلظت بالای سیتوکینین بر چیرگی انتهایی غلبه کرده و باعث کاهش رشد شاخساره و افزایش تعداد آن می‌شود؛ همچنین افزایش غلظت اکسین از کاهش رشد طولی شاخساره ممانعت می‌کند، در نتیجه رشد طولی شاخساره‌ها تحریک می‌شود (Farsi and Zolala, 2011). بنابراین کاربرد و دستیابی به بهترین غلظت تنظیم‌کنندها در باززایی ریزنمونه‌ها بسیار اهمیت دارد، در این تحقیق افزایش غلظت BA تأثیری سوء بر میزان شاخه‌زایی دارد. به‌طوری‌که در پرآوری ریزنمونه گیاه آب بشقابی (*Centella asiatica* L) افزایش غلظت BA سبب کاهش شاخه‌زایی گردید و بهترین تیمار برای پرآوری ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA به‌همراه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بود (Ghadiri Sardrood *et al*., 2019). طبق نتایج تحقیق ما در گیاه سنا کاربرد اکسین همراه با BA منجر به افزایش تعداد شاخساره گردید که این نتیجه با دستاورد Aniss و همکاران (۲۰۰۵) که بر اهمیت وجود اکسین در پرآوری درون‌شیشه‌ای گیاه صندل قرمز تأکید کردند، مطابقت داشت. Guo و همکاران (۲۰۰۵) بیان کردند که حضور اکسین در کنار سیتوکینین باعث باززایی بهتر و افزایش شاخه‌زایی بر روی ریزنمونه‌های برگ لپه‌ای می‌شود که مطابق با نتایج این تحقیق می‌باشد. همچنین Narimani و همکاران (۲۰۱۷) در پژوهشی بر روی ریزازدیادی پونه‌سای بی‌کرک (*Nepeta nuda* L.) از سیتوکینن بنزیل‌آدنین به‌عنوان عاملی مؤثر در پرآوری و شاخه‌زایی ریزنمونه نام بردند و تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و NAA را از مؤثرترین ترکیبات تنظیم‌کننده رشد برای ریزازدیادی این گیاه گزارش کردند. در این پژوهش در برخی تیمارها افزایش تعداد شاخساره، با کاهش طول آن همراه بود. Sultanpour و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که در غلظت‌های پایین سیتوکینین‌ها (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) رشد شاخساره‌ها کم می‌شود، این در حالی است که Vidoz (۲۰۰۶) اعلام کرد که با افزایش غلظت سیتوکینین باززایی افزایش یافته اما طول شاخساره‌ها کم می‌شود. در باززایی درون‌شیشه‌ای گیاه زنجبیل، افزایش غلظت BA منجر به افزایش تعداد شاخساره‌ها شد؛ اما از سوی دیگر باعث کاهش طول شاخساره‌ها گردید (Zhang *et al*., 2010). در این تحقیق کاربرد سیتوکینین Kin تأثیر مطلوبی در افزایش طول شاخه نشان داد که با نتایج بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد سیتوکینینی بر ریزازدیادی گل آهار ظریف همسو بوده و مشخص شد که Kin با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر تأثیر مثبتی بر جوانه‌زنی و افزایش ارتفاع گیاه داشت. Shafie و همکاران (2008) نشان دادند که با کاربرد Kin، ارتفاع گیاه افزایش می‌یابد و این تنظیم‌کننده رشد توانسته در افزایش ارتفاع گیاه مؤثر واقع شود که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

**ریشه‌زایی شاخساره‌های باززایی شده**

در این پژوهش تنظیم‌کننده IBA در ریشه‌زایی شاخساره‌ها دارای عملکرد مطلوب بود. با توجه به اینکه تنظیم‌کننده رشد معمولاً عامل تحریک ریشه‌زایی و جلوگیری از ایجاد شاخه‌های جانبی می‌شود به‌عنوان یکی از متداول‌ترین اکسین‌ها در کشت بافت گیاهی و ریشه‌زایی شناخته شده است. Narimani و همکاران (۲۰۱۷) در گیاه پونه‌سای بی‌کرک استفاده محیط کشت MS با ۱/۲ غلظت نمک به‌همراه IBA با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر را به‌عنوان بهترین تیمار برای بهبود درصد و طول ریشه‌زایی گزارش کردند. Ghadiri Sardrood و همکاران (2019) در بررسی ریزازدیادی گیاه دارویی آب بشقابی (*Centella asiatica* L) از دو اکسین NAA و IBA برای ریشه‌زایی استفاده کردند و بهترین نتیجه را با تیمار حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA گرفتند. در این آزمایش افزایش غلظت IBA به‌طور قابل ملاحظه‌ای سبب افزایش تعداد و طول ریشه گردید که با گزارش Naidu و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت

دارد. آنان بهترین تیمار را در بهبود ریشه‌زایی آب بشقابی، غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA گزارش کردند. Dhandapani و همکاران (۲۰۰۸) نیز از غلظت ۰/۴۴ میلی‌گرم در لیتر IBA بهترین نتیجه ریشه‌زایی را در گیاه پروانش به‌دست آوردند و بیان کردند که این تنظیم‌کننده رشد نسبت به اکسین‌های دیگر تأثیر به‌مراتب بهتری در ریشه‌زایی دارد. در پژوهشی دیگر Akccedil و همکاران (۲۰۱۳) بر روی گونه *Origanum sipyleum* L. از دو اکسین NAA و IBA برای آزمون ریشه‌زایی استفاده کردند. نتایج آنان نشان داد که ۹۶ درصد از شاخه‌ها پس از قرارگیری در محیط کشت با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA پس از سه هفته ریشه‌دار شدند و تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA نتیجه بهتری نسبت به NAA نشان داد (Akccedil *et al*., 2013). تنظیم‌کننده رشد گیاهی اکسین به‌ویژه IBA در برخی گیاهان خانواده چتریان مانند *Vanasushava pedata* توسط Karuppusamy و همکاران (۲۰۰۶)، *Anethum graveolens* توسط Sharma و همکاران (۲۰۰۴) سبب بهبود ریشه‌زایی شده که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در آزمایش دیگری Junaid و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که از بین سه نوع اکسین (IBA, NAA و IAA) در غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر، IBA با غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان بهترین تیمار در ریشه‌زایی گیاه پروانش (*Catharanthus roseus*) عمل کرد و طول ریشه را افزایش داد که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت.

در نهایت با توجه به نتایج این پژوهش، در ریزازدیادی سنا تیمار BA با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر به‌همراه NAA با غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان بهترین تیمار در پرآوری ریزنمونه‌ها شناخته شدند و برای القای ریشه (تعداد و طول ریشه) در ریزنمونه سنا تیمار IBA با غلظت ۰/۹ میلی‌گرم در لیتر از مناسب‌ترین تنظیم‌کننده‌های رشد می‌باشد. همچنین نتایج سازگاری نمونه‌ها نشان داد که ۹۰ درصد گیاهچه‌های کشت بافتی در مدت ۴ هفته در این مرحله سازگار شدند.

## منابع مورد استفاده

- Afzalifar, M., 2012. Evaluation of different propagation and androgenesis in *Satureja khuzistanica* and *S. rechingeri* (Doctoral dissertation, Medicinal Plants and Drug Research Institute. Shahid Beheshti University, Iran. (In Persian).
- Agrawal, V. and Sardar, P.R., 2003. In vitro organogenesis and histo-morphological investigations in senna (*Cassia angustifolia*)-a medicinally valuable shrub. Physiology and Molecular Biology of Plants, 9: 131-140.
- Agrawal, V. and Sardar, P.R., 2006. In vitro propagation of *Cassia angustifolia* through leaflet and cotyledon derived calli. Biologia Plantarum, 50(1): 118-122.
- Agrawal, V. and Sardar, P.R., 2007. In vitro regeneration through somatic embryogenesis and organogenesis using cotyledons of *Cassia angustifolia* Vahl. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 43(6): 585-592.
- AKCcedil, E., OLUK, A. and Ihsan, Y.A.Ş.A., 2013. Comparison of the antimicrobial activity and essential oil content of wild and micropropagated *Origanum sipyleum* L.: A medicinal herb native to Turkey. Journal of Medicinal Plants Research, 7(6): 230-233.
- Anis, M., Husain, M.K. and Shahzad, A., 2005. In vitro plantlet regeneration of *Pterocarpus marsupium* Roxb., an endangered leguminous tree. Current Science, 88(6): 861-863.
- Baskaran, P. and Jayabalan, N., 2005. An efficient micropropagation system for *Eclipta, alba* A valuable medicinal herb. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 41(4): 532-539.
- Dhandapani, M., Kim, D.H. and Hong, S.B., 2008. Efficient plant regeneration via somatic embryogenesis and organogenesis from the explants of *Catharanthus roseus*. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 44(1): 18-25.
- Farsi, M. and Zolala, J., 2011. Introduction to plant biotechnology (5th Edition). Ferdowsi University of Mashhad Publication. Mashad, Iran. (In Persian).
- Ghadiri Sardrood, S., Saadatmand, S., Assareh, M. and Nejadsattari, T., 2019. Micropropagation of medicinal herb- *Centella asiatica* (L.). Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 32(1): 198-212. (In Persian).
- Guo, D.P., Zhu, Z.J., Hu, X.X. and Zheng, S.J., 2005. Effect of cytokinins on shoot regeneration from cotyledon and leaf segment of stem mustard (*Brassica juncea* var. tsatsai). Plant Cell, Tissue and

Moghadam, J., 2008. The effects of different nutrient media on shoot proliferation of Boston fern (*Nephrolepis Exaltata* Schott Cv. 'Bostoniensis'). Horticulture Science Technology, 9: 139-144. (In Persian).
- Shahzad, A., Parveen, S. and Fatema, M., 2011. Development of a regeneration system via nodal segment culture in *Veronica anagallis-aquatica* L.– an amphibious medicinal plant. Journal of Plant Interactions, 6(1): 61-68.
- Sharma, R.K., Wakhlu, A.K. and Boleria, M., 2004. Micropropagation of *Anethum graveolens* L through axillary shoot proliferation. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 13(2): 157-159.
- Siddique, I. and Anis, M., 2007. In vitro shoot multiplication and plantlet regeneration from nodal explants of *Cassia angustifolia* (Vahl.): a medicinal plant. Acta Physiologiae Plantarum, 29(3): 233-238.
- Steephen, M., Nagarajan, S., Ganesh, D., 2010. Phloroglucinol and silver nitrate enhances axillary shoot proliferation in nodal explants of *Vitex negundo* L. â an aromatic medicinal plant. Iranian Journal of Biology, 8(2): 82-89 (In Persian).
- Sultanpour, M., Mahna, N. and Farsadakhtar, N., 2018. Effect of different concentrations of growth regulators on callus formation and regeneration of *Hypericum perforatum*. Agricural Biotechnology, 4(10): 75-92 (In Persian).
- Trease, G.E. and Evans, W.C., 1983. Textbook of Pharmacognosy. Balliere. Tindall, London, pp.57-59.
- Upadhyay, A., Nayak, P.S. and Khan, N.A., 2011. Sennoside contents in Senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) as influenced by date of leaf picking, packaging material and storage period. Journal of Stored Products and Postharvest Research, 2(5): 97-103.
- Zhang, K.M., Yu, H.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Yu, J.Q. and Xia, X.J., 2010. Photoprotective roles of anthocyanins in *Begonia semperflorens*. Plant Science, 179(3): 202-208.
- Mahmoodzadeh, H., Abasi, F. and Rohani, Sh., 2010. The effect of different concentrations of cytokinins on micropropagation of *Zinnia elegans* Thumbelina. Journal of Animal Physiology and Development (Quality Journal of Biology Sciences), 2: 61-65.
- Vidoz, M.L., 2006. Tissue Culture of *Trifolium polymorphum*, *T. carolinianum*, *Adesmia latifolia*, *A. bicolor* and *Lotononis bainesii* (Doctoral dissertation, University of Florida).

Organ Culture, 83(1): 123-127.
- Husain, M.K., Anis, M. and Shahzad, A., 2008. In vitro propagation of a multipurpose leguminous tree (*Pterocarpus marsupium* Roxb.) using nodal explants. Acta Physiologiae Plantarum, 30(3): 353-359.
- Junaid, A., Mujib, A., Bhat, M.A., Sharma, M.P. and Šamaj, J., 2007. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Catharanthus roseus*. Biologia Plantarum, 51(4): 641-646.
- Kapur, B.M. and Atal, C.K., 1977. Cultivation and utilization of senna in India. Cultivation & Utilization of Medicinal and Aromatic Plants. Pp.191-202.
- Karuppusamy, S., Kiranmai, C., Aruna, V. and Pullaiah, T., 2006. Micro-propagation of *Vanasushava pedata*-An endangered medicinal plant of South India. Plant Tissue Culture and Biotechnology, 16(2): 85-94.
- Khezri, S.H., 2002. A dictionary of medicinal plants. Rostamkhani Press. Tehran. Iran. 320 p.
- Martin, G., Geetha, S.P., Raja, S.S., Raghu, A.V., Balachandran, I. and Ravindran, P.N., 2006. An efficient micropropagation system for *Celastrus paniculatus* Willd.: a vulnerable medicinal plant. Journal of Forest Research, 11(6): 461-465.
- Momeni, A., Zaker Tavallaie, F., Shokoohifar, F. and Kheirkhah, M., 2019. Optimization of regeneration in mountain Ziziphora (*Ziziphora clinopodioides* Lam). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 27(1): 143-151. (In Persian).
- Naidu, T.B., Rao, S.N., Mani, N.S., Mohan, J. and Pola, S., 2010. Conservation of an endangered medicinal plant *Centella asiatica* through plant tissue culture. Drug Invention Today, 2(1): 17-21
- Narimani, R., Moghaddam, M. and Mojarab, S., 2017. Micropropagation evaluation of the endangered medicinal plant (*Nepeta nuda* L.). Journal of Cell and Tissue, 7(4): 387-397 (In Persian).
- Parveen, S. and Shahzad, A., 2011. A micropropagation protocol for *Cassia angustifolia* Vahl. from root explants. Acta Physiologiae Plantarum, 33(3): 789-796.
- Pati, P.K., Sharma, M. and Ahuja, P.S., 2000, May. Micropropagation, protoplast culture and its implications in the improvement of scented rose. In III International Symposium on Rose Research and Cultivation 547, pp. 147-158.
- Shafie Haji Abad, M., Hamid Oghli, Y. and Fatahi

# Assessment of the effect of plant growth regulators on micropropagation of Senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) medicinal plant

**F. Azizi[1], L. Samiei[2] and M. Moghaddam[3]***

1- M.Sc graduated., Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. Iran.
2- Assist. Prof., Department of Ornamental plants, Institute of plant Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
3*- Corresponding author, Assoc. Prof., Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I.R. Iran. E-mail: moghaddam75@yahoo.com

Received: 03.03.2020 Accepted: 15.07.2020

**Abstract**

Senna (*Cassia angustifolia* Vahl.), known as an important medicinal plant, belongs to the Caesalpiniaceae family used in the treatment of some diseases such as skin infections, constipation, and intestinal worms. The aim of this study was to optimize the micropropagation of this plant. For this purpose, senna seeds were first disinfected and cultured in MS medium and the nodular stem parts were used as explants. The treatments were used to optimize the propagation medium supplemented with different concentrations of cytokinins, BA and Kin (0, 1, 2, and 4 $mgL^{-1}$) in combination with NAA (0 and 0.25 $mgL^{-1}$). After finding the best type and concentration of cytokinin for propagation (cytokinin BA), this growth regulator was tested in combination with various auxins to optimize the proliferation of the explants. In this experiment, BA was evaluated at three concentrations (0.5, 1, and 2 $mgL^{-1}$), in combination with NAA, IAA, and IBA at two concentrations (0 and 0.25 $mgL^{-1}$). The propagated shoots (at least 3 cm long) were then exposed to two types of auxin NAA and IBA at different concentrations (0, 0.3, 0.6, and 0.9 $mgL^{-1}$) to induce rooting. The results indicated that 1 $mgL^{-1}$ BA treatment in combination with 0.25 $mgL^{-1}$ NAA induced the maximum shoot proliferation (2.93 shoots per explant) and leaf number (21.6 leaves per shoot). Finally, NAA with 0.25 mg / l BA treatment at the concentration of 1 $mgL^{-1}$ in combination with 0.25 $mgL^{-1}$ NAA, was selected as the best treatment for the propagation of the explants. Maximum rooting induction obtained in 0.3 $mgL^{-1}$ IBA treatment which was not significantly different from 0.3 $mgL^{-1}$ NAA. Moreover, application of IBA at the concentration of 0.9 $mgL^{-1}$ caused the higher mean values of root number and root length, so that it increased by 172.22 and 73.41% of the mentioned traits compared to the control, respectively. The results of this study can be used in micropropagation and extensive proliferation of this plant.

**Keywords:** Senna (*Cassia angustifolia* Vahl.), Cytokinin, Growth regulator, Propagation, Tissue culture