" نهال و بذر"
جلد ۲٤ ، شماره ۳، سال ۱۳۸۷

بازازیی زیره پارسی (*Bunium persicum* Boiss.) با استفاده از ریزنمونه جنین برش خورده

Regeneration of Plantlets from Fragmented Embryo Explant of Parsi Zira (*Bunium persicum* Boiss.)

محمود ولی‌زاده[۱] ، عباس صفرنژاد[۲]، قربانعلی نعمت‌زاده[۳]، سیدکمال کاظمی تبار[۳]، و حسن حمیدی[۲]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، مجتمع آموزش عالی کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه مازندران، ساری
۲- به ترتیب استادیار و کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد
۳- به ترتیب دانشیار و استادیار، مجتمع آموزش عالی کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه مازندران، ساری

تاریخ دریافت: ۱۳۸۵/۱۰/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۸٦/۹/۲۹

چکیده

ولی‌زاده، م.، صفرنژاد، ع.، نعمت‌زاده، ق.، کاظمی‌تبار، س.ک.، و حمیدی، ح. ۱۳۸۷. بازازیی زیره پارسی (*Bunium persicum* Boiss.) با استفاده از ریزنمونه جنین برش خورده. **نهال و بذر ۲٤**: ۳۹۷-۳۸۹.

زیره پارسی (*Bunium persicum* Boiss.) که به آن زیره سیاه یا زیره کوهی نیز گفته می‌شود، یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی است و ارزش اقتصادی بالایی دارد. به طور کلی اطلاعات محدودی در ارتباط با کشت درون شیشه‌ای زیره پارسی وجود دارد. در این تحقیق برای اولین بار از ریزنمونه جنین برش خورده برای بازازیی زیره پارسی استفاده شد. در این روش به دلیل جوان بودن ریزنمونه و عکس‌العمل مناسب به محیط کشت، کالوس‌دهی و بازازیی به میزان نسبتاً بالایی فقط در یک نوع محیط کشت و بدون نیاز به هیچگونه واکشتی انجام شد که منجر به کوتاه شدن زمان کشت بافت و کم شدن آلودگی و نیاز به مواد مصرفی شد. همچنین، محیط کشت MS حاوی غلظت‌های مختلف هورمون‌های NAA (نفتالن استیک اسید) و 2,4-D به تنهایی یا همراه با Kin (کینتین) مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳۰ تیمار مختلف و ده تکرار در هر تیمار انجام شد. در تعدادی از تیمارهای فاقد کینیتین نیز بازازیی انجام شد که نشان داد، برای بازازیی زیره پارسی وجود هورمون سیتوکینین الزامی نیست. بهترین تیمار از نظر میانگین تعداد ساقه بازازیی شده، تیمار با ترکیب هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی گرم در لیترKin بود. بهترین تیمار از نظر القاء جنین سوماتیکی تیمار با ترکیب هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ میلی گرم در لیترKin بود.

واژه‌های کلیدی: زیره پارسی یا زیره سیاه (*Bunium persicum* Boiss.)، جنین برش خورده، کشت بافت، بازازیی.

نویسنده مسئول: mahmoodkalate@yahoo.com

مقدمه

زیره پارسی که به آن زیره سیاه یا زیره کوهی نیز گفته می‌شود، یکی از گیاهان تیره کرفس (Apiaceae) و بومی منطقه محدودی از غرب آسیا است که در ایران در نواحی شمالی استان خراسان، کرمان، شرق زاگرس تا بندرعباس و جنوب البرز به طور خودرو وجود دارد. این گیاه از گیاهان دارویی مهم بوده و به طور گسترده در صنایع دارویی و آرایشی به کار می‌رود و ارزش ادویه‌ای نیز دارد (Khosravi, 1993).

مدیریت بیوتکنولوژی گیاه در سطوح مولکولی و سلولی روش کارآمد جدیدی برای اصلاح فراورده‌های ثانویه زیره در صنعت داروسازی و غلبه بر مشکلات بیماری‌ها بوده و یک سیستم کارآمد ریزازدیادی با فراوانی بالای باززایی جهت استفاده در دست ورزی‌های ژنتیکی مورد نیاز است. اساسی‌ترین هدف کشت بافت کوتاه کردن طول دوره اصلاحی و تولید تعداد زیادی از گیاهان عاری از بیماری است که کالوس‌دهی و باززایی همزمان به این مسئله کمک می‌کند. به طور کلی اطلاعات محدودی در ارتباط با کشت درون شیشه‌ای زیره پارسی وجود دارد.

واخلو (Wakhlu *et al.*, 1990) از کشت مریکارپ‌های زیره پارسی در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و۴ میلی‌گرم در لیتر Kin ، کالوس به دست آورد و پس از انتقال کالوس‌ها به محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم درلیتر2,4-D توده‌های سلولی فشرده کوچک و سفید رنگی ایجاد شد. این توده‌های سلولی پس از انتقال به محیط کشت مشابه به جنین‌های کروی متعددی متمایز شدند و سپس به محیط کشت پایه و یا حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر کینیتین منتقل شده و جنین‌های بالغ و ریشه‌دار ایجاد شدند. شریفی (Sharifi, 1995) از ریزنمونه محور زیرلپه و برگ لپه‌ای در کشت بافت زیره پارسی استفاده کرد. کالوس حاصل از محور زیرلپه زیره پارسی در محیط B5 حاوی ۲ میلی‌گرم در لیترNAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر Kinرشد سریع‌تری داشت. تشکیل جوانه و ساقه در ریزنمونه محور زیرلپه، در ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی‌گرم در لیترKin و تشکیل جنین‌های سوماتیکی در محیط MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر2,4-D بیشتر بود. زیارت نیا (Ziaratnia, 2000) برای ایجاد کالوس‌های جنین‌زا از غلظتهای مختلف هورمون‌های 2,4-D و NAA به طور جداگانه در ترکیب با Kin استفاده کرد. در تحقیق وی بهترین کالوس مربوط به تیمارهای با غلظت بالای اکسین و سیتوکینین بود. در این تحقیق برای رشد جنین‌های غیرجنسی ایجاد شده از محیط کشت پایه MS در غلظت‌های مختلف کینتین استفاده شد که بهترین عکس‌العمل مشاهده شده مربوط به تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین بود. از جنین برش خورده در کشت بافت زیره سبز نیز استفاده

شده است که در زمان کوتاه و بدون هیچ گونه واکشتی، باززایی حاصل شد (Ebrahimie *et al.*, 2003). بهترین محیط کشت، B5 با ترکیب هورمونی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IAA (ایندول استیک اسید) و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP (بنزیل آمینوپورین) یا ترکیب هورمونی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر BAP بود.

همان طور که ذکر شد در روش‌های قبلی در ارتباط با باززایی زیره پارسی، معمولاً از ریزنمونه محور زیرلپه و لپه استفاده شده است که به دلیل مسن بودن بافت نسبت به جنین، عکس‌العمل خوبی نسبت به محیط کشت نشان نداده و باعث طولانی شدن مدت کشت بافت، آلودگی بالا، نیاز به محیط‌های مختلف کالوس‌دهی و باززایی و مصرف بالای مواد می‌شود که از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نیست. هدف از این آزمایش استفاده از جنین برش خورده در کشت بافت زیره پارسی و ارائه محیط کشت مناسب جهت القاء کالوس و باززایی بود.

مواد و روش‌ها

بذر زیره پارسی جمع‌آوری شده از منطقه کلات واقع در استان خراسان رضوی مورد استفاده قرار گرفت. بذر بر روی کاغذ صافی استریل مرطوب در داخل تشتک پتری قرار گرفتند و به مدت بیست روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی نگهداری شدند. برای رشد جنین و امکان خروج آن از داخل بذر، این دوره سرمادهی ضروری است. پس از این مدت بذرها به وسیله محلول هیپوکلریت سدیم ۱/۵٪ به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی سطحی و سه بار در آب مقطر استریل شستشو داده شدند. نوک بذر با اسکالپل شماره ۱۰ استریل برش داده شد و با فشار بر روی وسط بذر، جنین به راحتی خارج شد. در این آزمایش، با توجه به مطالعات قبلی (شریفی، ۱۹۹۵؛ Ebrahimie *et al.*, 2003) و پاسخ بهتر ریزنمونه محور زیرلپه نسبت به سایر ریزنمونه‌ها، فقط قسمت محور زیرلپه جنین برش داده شد و مورد استفاده قرار گرفت. ریزنمونه‌ها بر روی محیط کشت MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار و همچنین هورمون‌های تنظیم کننده رشد با غلظت‌های مختلف NAA (۰/۱، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و 2,4-D (۰/۱، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) به تنهایی یا همراه با Kin (۰، ۰/۵، ۱ و۲ و ۴ میلی گرم در لیتر) کشت شدند. هر کدام از هورمون‌های اکسین به صورت جفتی با هورمون سیتوکینین مورد استفاده قرار گرفت. هورمون‌های NAA و 2,4-D هر کدام با سه غلظت همراه با پنج غلظت هورمون سیتوکینین در مجموع سی تیمار را تشکیل دادند. محیط کشت‌ها در اتاقک رشد با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت روشنایی ۲۵۰۰ لوکس به مدت ۱۶ ساعت در روز نگهداری شدند. در این تحقیق هیچ‌گونه واکشتی دیده نشد. در واقع القاء کالوس و باززایی و

تولید ریشه در یک نوع محیط کشت انجام شد. هشت هفته پس از انتقال، تعداد ریزنمونه‌های تولیدکننده کالوس و باززایی و تعداد ساقه‌های باززایی شده در هر ریزنمونه در محیط کشت‌های مختلف ثبت شد. فراوانی القاء کالوس و باززایی، از تقسیم تعداد ریزنمونه‌های تولید کننده کالوس و باززایی به تعداد کل ریزنمونه‌ها محاسبه شد.

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سی تیمار هورمونی مختلف و ده تکرار در هر تیمار انجام شد. تجزیه آماری طرح با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اولین کالوس‌ها ده روز پس از انتقال ریزنمونه‌ها به محیط کشت، مشاهده شدند و پس از یک ماه باززایی رخ داد. به طور کلی مقدار کالوس در تیمارهای با ترکیب هورمونی اکسین و سیتوکینین نسبت به تیمارهای فاقد سیتوکینین بیشتر بود. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، باززایی در تیمارهای دارای هورمون اکسین NAA نسبت به تیمارهای دارای هورمون اکسین 2,4-D به میزان بیشتری رخ داد. بیشترین ساقه باززایی شده مربوط به تیمار با ترکیب هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر Kin بود (جدول ۱).

ریشه‌زایی عمدتاً در تیمارهای دارای هورمون اکسین NAA رخ داده و در تیمارهای دارای هورمون 2,4-D ریشه‌زایی یا رخ نداد و یا میزان آن بسیار ناچیز بود. با افزایش غلظت این هورمون در اغلب موارد ریشه‌زایی افزایش داشت. بیشترین میزان ریشه‌زایی نیز در تیمار با ترکیب هورمونی ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر Kin مشاهده شد (جدول ۱). در تعدادی از تیمارها از جمله تیمار با ترکیب هورمونی ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin تنها ریشه‌زایی رخ داد و باززایی ساقه در آن‌ها مشاهده نشد. بهترین تیمار از نظر القاء جنین سوماتیکی تیمار با ترکیب هورمونی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin بود (جدول ۱). نتایج نشان داد که اثر تیمارها بر روی فراوانی القاء ساقه در سطح احتمال ۰/۰۱ و در بقیه موارد یعنی میانگین تعداد ریشه و ساقه و فراوانی القاء کالوس، ریشه و جنین سوماتیکی در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار بود (جدول ۲). جنین‌های سوماتیکی پس از انتقال به محیط کشت فاقد هورمون، رشد و تولید ساقه کردند (شکل ۱). در تعدادی از تیمارها، کالوس‌دهی، باززایی و ریشه‌دهی به طور توام رخ داد که این امر به میزان قابل توجهی از طول زمان کشت بافت کاست. باید توجه داشت که نتایج فوق هشت هفته پس از انتقال ریزنمونه‌ها به محیط‌های کشت به دست آمد و می‌توان با قطعه قطعه

جدول ۱- فراوانی باززایی ساقه، ریشه، جنین سوماتیکی و میانکین تعداد ساقه و ریشه زیره پارسی در تیمارهای مختلف هورمونی

Table 1.The frequency of somatic embryo, root induction, shoot regeneration and mean number of root and shoot of Parsi zira in different treatments of plant growth regulators (PGRs)

تیمارهای هورمونی PGRs mgl^{-1}	میانگین تعداد ساقه Mean number of shoots	فراوانی باززایی ساقه Shoot regeneration frequency	میانگین تعداد ریشه Mean number of roots	فراوانی القاء ریشه Root induction frequency	فراوانی جنین سوماتیکی Somatic embryogenesis frequency
0.1 NAA	0.56 abc	0.11 c	0.56 b	0.11 b	0.22 ab
0.1NAA+0.5KIN	1.00 abc	0.25 abc	0.25 b	0.13 b	0.65 a
0.1 NAA+1KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.00 b
0.1 NAA+2KIN	1.40 a	0.40 ab	0.00 b	0.00 b	0.20 ab
0.1 NAA+4KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.11 ab
1NAA	0.43 bc	0.14 bc	0.00 b	0.00 b	0.29 ab
1NAA+0.5KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.33ab
1NAA+1KIN	0.11 c	0.11 c	1.11 b	0.11 b	0.44ab
1NAA+2KIN	0.14 c	0.14 bc	0.00 b	0.00 b	0.00 b
1NAA+4KIN	0.67 abc	0.22 abc	0.44 b	0.11 b	0.44 ab
2NAA	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.44 ab
2NAA+0.5KIN	0.00 c	0.00 c	0.56 b	0.11 b	0.33 ab
2NAA+1KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.00 b
2NAA+2KIN	1.22 ab	0.44 a	3.33 a	0.33 a	0.22 ab
2NAA+4KIN	0.33 bc	0.11 c	0.22 b	0.11 b	0.11 ab
0.1 2,4-D	0.20 c	0.20 abc	0.00 b	0.00 b	0.40 ab
0.1 2,4-D+0.5KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.40 ab
0.1 2,4-D+1KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.11 ab
0.1 2,4-D+2KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.11 ab
0.1 2,4-D+4KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.11 ab
1 2,4-D	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.43 ab
1 2,4-D+0.5KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.44 ab
1 2,4-D+1KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.22 ab
1 2,4-D+2KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.56 ab
1 2,4-D+4KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.33 ab
2 2,4-D	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.56 ab
2 2,4-D+0.5KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.44 ab
2 2,4-D +1KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.5 ab
2 2,4-D +2KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.33 ab
2 2,4-D +4KIN	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 b	0.11 ab

حروف متفاوت در داخل ستون‌ها اختلاف معنی دار را در سطح احتمال ۰/۰۵ نشان می دهد (آزمون چند دامنه‌ای دانکن).

Different letters within the columns indicate significant differences (DMRT, $P \leq 0.05$).

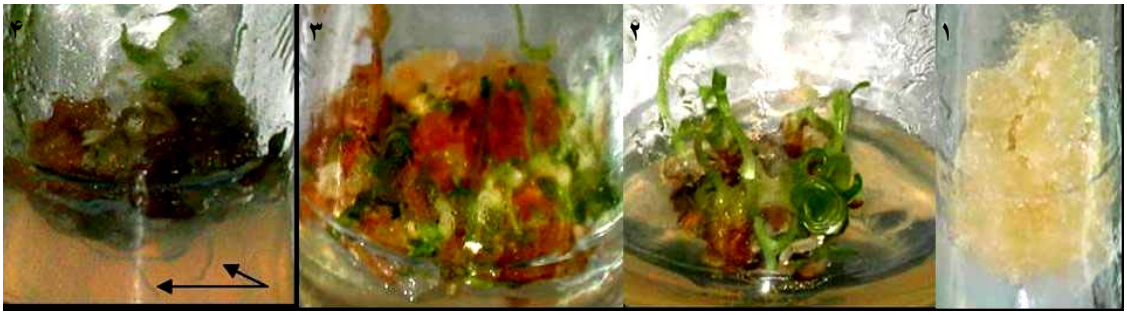
جدول ۲- تجزیه واریانس مشاهدات مربوط به فراوانی باززایی ساقه، جنین غیرجنسی، القاء کالوس و ریشه و میانگین تعداد ساقه و ریشه

Table 2. The analysis of variance of observations for shoot regeneration, somatic embryogenesis, root, callus induction frequency and root, and shoot mean number

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df.	Mean of squares میانگین مربعات					
		فراوانی القاء کالوس Callus induction frequency	میانگین تعداد ساقه Mean number of shoots	فراوانی باززایی ساقه Shoot regeneration frequency	میانگین تعداد ریشه Mean number of roots	فراوانی القاء ریشه Root induction frequency	فراوانی جنین سوماتیکی Somatic embryogenesis frequency
تیمار Treatment	29	0.32*	1.1 *	0.11**	3.65*	0.05*	0.27*
خطای آزمایشی Error	218	0.20	0.7	0.05	2.35	0.03	0.20

*و**: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

* and ** : Significant difference at 5% and 1% probability levels, respectively.



شکل ۱- القاء کالوس، جنین غیرجنسی، ریشه و اندام‌زایی در ریزنمونه جنین برش خورده، ۱- کالوس حاصل از ریزنمونه جنین برش خورده پس از دو هفته، ۲- اندام‌زایی در ریزنمونه جنین برش خورده پس از چهار هفته، ۳- رشد جنین‌های سوماتیکی پس از انتقال به محیط فاقد هورمون، ۴- القاء همزمان کالوس، باززایی و ریشه (فلشها)

Fig. 1. Callus and root induction, somatic embryogenesis and organogenesis on fragmented embryo explant. (Right to left): Callus induction on fragmented embryo explant after 2 weeks; Organogenesis on fragmented embryo explant after 4 weeks; Growth of somatic embryos after transfer to medium without PGRs; Simultaneous callus and root induction and regeneration (arrows)

کـردن کـالوس بـاززایی شـده و واکـشت آن و صرف زمان بیشتر، تعداد بـاززایی را بـه ازای هـر ریزنمونه، به مقدار قابـل تـوجهی افـزایش داد. بـه طـور کلـی بهتـرین تیمـار بـرای القـاء کـالوس و بـاززایی و ریـشه‌زایـی بـه طـور تـوأم، ترکیـب هورمونی۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی‌گـرم در لیترKin بود (جدول ۱).

تـشکیل جنـین سـوماتیکی در مرحلـه القـاء کـالوس در تعـدادی از گیاهـان تیـره کـرفس(Apiaceae) از جملـه رازیانـه و هـویج، معمـول اسـت (Hunault *et al.*, 1989). مکمـل 2,4-D و NAA به تنهایی یا همـراه بـا Kin بـرای تـداوم القـاء کـالوس مـورد نیـاز اسـت و کـاهش آن‌هـا باعـث القـاء فراینـد انـدام‌زایـی و تولیـد جنین‌های نابجا در زیـره پارسـی مـی‌شـود. وقـوع باززایی در تعدادی از تیمارهای فاقد کینتین نشان داد، بـرای بـاززایی زیـره پارسـی الزامـی نیـست، در صـورتی کـه در مـورد زیـره سـبز وجـود سـیتوکینین بـرای بـاززایی ضـروری اسـت (Ebrahimie *et al.*, 2003). مطالعـات قبلـی نیـز نـشان داده کـه انتقـال کـالوس بـه محـیط کـشت حـاوی ۱ میلـی‌گـرم در لیتـر2,4-D (Wakhlu *et al.*, 1990) و یا ۰/۵ میلـی‌گـرم در لیتر2,4-D (Bonyanpour, 1995) منجر به تولید جنین‌های سوماتیکی می‌شود. به هر حال ترکیـب هورمون‌های اکسین و سیتوکینین در مـورد سـایر گیاهـان نیـز مـشاهده شـده و در هـر دو مـورد انـدام‌زایـی و جنـین‌زایـی نقـش دارد (Guohua,1998). در بعضی از گونه‌های گیاهی دیگر جنین‌های سوماتیکی القاء شـده احتمـالاً بـه میزان کمی سیتوکینین یا سایر مکمل‌هـای تنظـیم کننده رشد برای جوانه‌زنی و رشد گیاه نیاز دارند (Kumar *et al.*, 1988). ایـن روش نـسبت بـه روش‌های قبلی که تـاکنون گـزارش شـده دارای مزیت‌هایی از جمله افزایش تعداد گیاهان باززایی شده، کـالوس‌دهـی و بـاززایی همزمـان و کوتـاه شدن طول دوره کـشت بافـت، آلـودگی پـایین و عدم نیاز به واکـشت‌هـای مکـرر و کـاهش مـواد مصرفی اسـت. بـا توجـه بـه اسـتفاده از ریزنمونـه جوان جنین برش خورده و عکـس‌العمـل مناسـب آن به محیط کشت، تعداد گیاهچـه‌هـای بـاززایی شـده نـسبت بـه روش‌هـای قبلـی کـه از ریزنمونه‌های نسبتاً مسن محور زیرلپه وکوتیلـدون اسـتفاده شـده بـود (شـریفی، ۱۹۹۵؛ Tawfik and Noga, 2002) بیـشتر اسـت. از جنین برش‌خورده در گیاهـان دیگـر نیـز اسـتفاده شده اسـت (Yong *et al.*, 1999). در ایـن روش مـی‌تـوان پـس از گذشـت سـی روز از انتقـال ریزنمونه، بدون هیچ‌گونه واکشتی به گیـاه کامـل و ریـشه دار دسـت یافـت کـه بـا احتـساب دوره سرمایی، طول کل دوره ۵۰ تـا ۶۰ روز اسـت. در صورتی که به خواهیم از محور زیرلپـه بـه عنـوان ریزنمونه استفاده کنیم، با احتساب دوره سـرمایی ۹۰ روزه بـرای جوانـه‌زنـی بـذر، طـول کـل دوره برابر ۲۱۰ روز خواهد بود که در طول ایـن مـدت چندین بار واکشت می‌بایست انجام شـود. نتـایج

فوق اهمیت نوع ریزنمونه انتخابی را روشن می‌کند. کشت جنین به عنوان یک روش ریزازدیادی در زیتون و زنبق نیز مورد استفاده قرار گرفته است (Canas *et al.*, 1992). با استفاده از روش کشت بافت و انتقال ژن‌های مقاومت به بیماری‌ها و آفات، می‌توان تعداد زیادی از گیاهان عاری از عوامل بیماریزا را در مدت کوتاهی تولید کرد. همچنین از این روش در تولید اسانس‌ها و مواد اولیه صنعت داروسازی می‌توان بهره برد.

References

Bonyanpour, A. 1995. Investigation of sexual propagation of *Bunium persicum* and *Cuminum cyminum* and cumin callus induction.MSc. Thesis, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Iran.

Canas, LA., Aliva, J., Vicente, M., and Benbadis, A. 1992. Micropropagation of olive. Biotechnology in Agriculture and Forestry 18: 493-505.

Ebrahimie, E., Habashi, A. A., Ghareyazie, B., Ghannadha, M., and Mohammadi, M. 2003. A rapid and efficient method for regeneration of plantlets from embryo explants of cumin . Plant Cell, Tissue and Organ Culture 75: 19-25.

Guohua, M. 1998. Effects of cytokinins and auxins on cassava shoot organogenesis and somatic embryogenesis from somatic embryo explant. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 54: 1-7.

Hunault, G., Desmarest, P., and Manoir, J. D. 1989. *Foeniculum vulgare* Miller: cell culture, regeneration and the production of anethole pp. 185-212. In: Bajaj, Y.P.S. (ed.) Biotechnology in Agriculture and Forestry 7:Medicinal and Aromatic Plants II. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

Khosravi, M. 1993. *Bunium persicum*, Botany, Ecology and Investigation the Possibility of Crop Production. Faculty of Agriculture, Ferdowsi University. Mashhad, Iran (in Farsi).

Kumar, S. A., Gamborg, O. L., and Nabors, M. W. 1988. Plant regeneration from long-term cell suspension cultures of tepary bean (*Phaseolus acutifolius*). Plant Cell Reproduction 7: 322–325.

Sharifi, M. 1995. Comparitive investigation of essences of *Bunium persicum* and *Cuminum cyminum* seed and explant fragments. MSc. Thesis, Faculty of Agriculture, Tehran University, Iran.

Tawfik, A., and Noga, A. 2002. Cumin regeneration from seedling derived embryogenic callus in response to amended Kinetin. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 69: 35-40.

Wakhlu, A. K., Nagari, S., and K. Barna, S. 1990. Somatic embryogensis and plant regeneration from callus cultures of *Bunium persicum* Bioss. Plant Cell Reproduction 9: 137-138.

Yong, W. K., Yang, Y., and Joon, C, K. 1999. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryos of Japanese larch (*Larix leptolepis*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 55: 95-101.

Ziaratnia, S. M. 2000. Somatic embryogenesis in *Bunium persicum*. Industrial and Scientific Researches Organization of Iran, Khorasan Centre.