الزراعة النسيجية لنبات القرع الجبلي *Cucurbita maxima* وانتخاب وسط ملائم لاستحثاث مزارع الكالس من أعضاء بادراته

اسلام ياسر عبدالله **عبدالله نجم النعيمي**

جامعة الموصل كلية التربية للعلوم الصرفة قسم علوم الحياة

(قدم للنشر في 2021/2/1 قبل للنشر في 2021/3/18)

الخلاصة:

تعرفت الدراسة الحالية على استجابة الاوراق والسيقان والاوراق الفلقية والسيقان تحت الفلقية لنبات القرع الجبلي *Cucurbita maxima* لاستحثاث الكالس على الوسط الغذائي MS الصلب المدعم بتراكيز مختلفة من الاوكسينات (NAA , IAA , 2,4-D) والسايتوكاينينات (Kin, BA) ، وقد أبدت قطع الاوراق والسيقان استجابة عالية في الوسط المنتخب MSI (MS + 1.0 ملغم / لتر BA + 0.5 ملغم /لتر NAA) ، إذ بلغت نسبة استحثاث الكالس فيها 100% ويليها السيقان تحت الفلقية 88% ثم الاوراق الفلقية 77% التي اعطى كالسها اعلى وزن طري على هذا الوسط 5.2 غم ثم السيقان 4.3 غم وعليه اعتمد هذا الوسط في هذه الدراسة لادامته الجيدة لكالس جميع الاجزاء النباتية المستخدمة ، فضلا عن نسبة الاستحثاث العالية ، كما ان الوسط الثاني (MS + 3.0ملغم /لتر Kin + 0.5 ملغم/لتر 2,4-D) حقق نسبة استحثاث عالية كذلك للاجزاء النباتية نفسها لكنه استبعد لانه لم يحافظ على حيوية الكالس عند الادامة لمدة طويلة.

الكلمات المفتاحية: نبات القرع الجبلي، زراعة الانسجة النباتية، منظمات النمو

Histological culture of Cucurbita maxima and selection of suitable media for induction of callus cultures from seedling members

slam Yasser Abdullah **Abdullah Najm Al-Nuaimi**

University of Mosul, College of Education for Pure Sciences, Department of Life Sciences

Abstract

The present study found out the response of leaves, stems , cotyledons and hypocotyls of *Cucurbita maxima* to produce callus on Solid MS medium enriched with different concentrations of auxins such as 2,4-D ,IAA and NAA, and cytokinins such as Kin and BA.

The explant of leaves and stems showed high response in the selected medium MSI MS +1.0 mg/L BA +0.5 mg /L NAA) where callus Production from leaves and stems reached 100% in hypocotyls 88% and cotyledons 77% whose calls had the highest fresh weight in this medium 5.2 gm and stems 4.3 gm therefore, the study adopted this medium for its good sustenance of the calls of explants in addition to the high rate of production . The medium MS + 3.0 mg/L Kin + 0.5 mg/L 2,4-D achieved a high production rate for the same explants . However it was excluded since it did not keep the vitality of calls when maintained for along time.

Key words: *Cucurbita maxima*, plant tissue culture, growth regulator.

المقدمة :

يقصد بزراعة الانسجة النباتية عزل خلية او نسيج او عضو نباتي تحت ظروف خالية من المسببات المرضية وتعقيمه وزراعته في اوساط غذائية اصطناعية معقمة ومن ثم تطور الجزء المزروع تحت ظروف محددة ، من حيث الحرارة والضوء، (Aina et al , 2012)، تنتمي العائلة القرعية الى شعبة النباتات البذرية Spermatophyta صنف مغطاة البذور Angiospermae قسم ذوات الفلقتين Dicotyledons رتبة القرعيات Cucurbitales (الكاتب، 2000)، تضم العائلة 800 نوع في 100 جنس ، ومن نباتاتها الرقي *Citrullus lanatus* والخيار *cucumis sativus* والبطيخ *Cucumis melo* وقرع الكوسا *Cucurbita pepo* والجبلي (العسلي) *Cucurbita maxima* (محمد ،2014 و العرقاوي ، 2009)، وقد أجريت عدة دراسات في مجال الزراعة النسيجية لنباتات هذه العائلة إذ نجح استخدام مزارع المتوك في الزهرة لقرع الكوسا *C.pepo* في وسط MS الصلب المزود بتراكيز عالية من السكروز 120 ، 150 غم/لتر واربعة تراكيز من 2,4-D 5.0 ، 7.5 ، 10.0، 12.5 ملغم/لتر على التوالي(Kurtar et al, 1999) كما اجرى عدد من الباحثين دراسة لمعرفة تأثير منظمات النمو على تكوين الاجنة الجسمية Somatic embryogenesis في المزارع النسيجية لاوراق نبات قرع الكوسا *C. pepo* والبطيخ *Cucumis melo* إذ استخدمت تراكيز مختلفة في 2,4-D و Kin او تداخلاتهما ، وقد تم الحصول على الاجنة الجسمية التي تطورت الى مرحلة الطور الطوربيدي وصولا الى النبات الكامل (Kintzios et al, 2002) وفي دراسة قامت بها الحمداني عام (2006) تمكنت فيها من استحثاث الكالس من الفلق ، السيقان والاوراق لنبات الخيار Cucumber كما اجريت دراسات على نبات البطيخ لغرض تكوين مزارع كالس الاوراق الفلقية وتمايزه لتكوين النباتات (Everson et al, 2006) ومن الاجنة والاوراق الفلقية والسيقان تحت الفلقية (Bordastal, 2006).

مواد العمل وطرائقه:

زراعة البذور المعقمة وانتاج البادرات السليمة:

بدأت عملية انتاج البادرات السليمة بتعقيم البذور سطحيا باستخدام محلول القاصر التجاري (هايبوكلورايت الصوديوم) NaOCl والماء المقطر على النحو التالي:

المادة المعقمة معقم: ماء حجم: حجم	مدة التعقيم (دقيقة)
2 :1	5
2 :1	10
1 :1	5
1 :1	10

وبعد الانتهاء من التعقيم غسلت البذور جيدا بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات وبمعدل 3 دقائق لكل مرة لاجل التخلص من اثار المادة الكيميائية (المعقم) ثم نقلت البذور باستخدام ملقط معقم الى طبق بتري معقم يحتوي ورق ترشيح معقم لغرض تجفيفها والتخلص من الماء العالق بها.

وقد زرعت بذور القرع الجبلي المعقمة على وسط MSO الصلب الخالي من منظمات النمو في قناني حجم 100ملم تحوي 20 مل من الوسط وبمعدل (1- 2 بذرة / قنينة) في جو معقم ثم حفظت القناني في ظروف مظلمة لمدة 4- 5 ايام الاولى في غرفة النمو بدرجة حرارة 25 ± 2 مْ ، بعد الشروع بالانبات نقلت العينات الى الظروف الاعتيادية لغرفة النمو 16 ساعة ضوء /8 ساعات ظلام وبدرجات الحرارة نفسها وبشدة اضاءة 2000 لوكس.

استحثاث مزارع الكالس:

اخذت الاجزاء النباتية Explants من البادرات السليمة النامية في الوسط الغذائي MS الصلب بعمر 15 يوما وكانت بمعدل 1سم طول لكل من السيقان والسيقان تحت الفلقية والجذور و 0.5 سم للاوراق والاوراق الفلقية ، زرعت هذه الاجزاء في قناني زجاجية ودوارق حاوية على وسط MS المدعم بتراكيز وانواع متداخلة ومختلفة من منظمات النمو وعلى النحو الآتي:

منظمات النمو (ملغم/ لتر) *					
2,4-D + Kin		IAA + Kin		NAA + BA	
0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
0.5	1.0	0.5	0.5	0.1	0.5
0.5	2.0	0.5	1.0	0.1	1.0
0.5	3.0	0.5	1.5	0.5	1.0
1.0	1.0	0.5	2.0	0.5	1.5
1.0	2.0				
1.0	3.0				

* وسط MS الخالي من منظمات النمو يعد (معاملة المقارنة) في هذه الدراسة .

ادامة مزارع الكالس وتقدير الوزن الطري:

تمت ادامة مزارع الكالس كل (3-4) اسابيع اذ نقلت قطع الكالس بحدود 1 غم/قطعة /جزء نباتي / معاملة الى اوساط جديدة بعد ازالة القطع البنية اللون التي هي في الاغلب خلايا ميتة وقدر الوزن الطري لكالس الاجزاء النباتية بعمر 30 يوما بحساب الفرق بين وزن القنينة عند زرع 1 غم/ قطعة كالس / جزء نباتي / معاملة وبعد مرور 30 يوما من بدء زراعته على وسط الادامة (عمر الكالس60 يوما).

النتائج والمناقشة:

كفاءة التعقيم السطحي للبذور وانتاج البادرات السليمة:

اظهرت نتائج اختبارات التعقيم السطحي لبذور القرع بمحلول هايبوكلورايت الصوديوم NaOCL القاصر التجاري الجدول (1) ان المعاملة بنسبة 1 حجم معقم: 1 حجم ماء مقطر ولمدة 10 دقائق اعطت افضل نسبة تعقيم وانتاج بادرات سليمة بلغت نسبتها 100% وقد تباينت

كفاءة التعقيم اعتمادا على التراكيز المستخدمة من المحلول المعقم والمدة الزمنية للمعاملة، اعتمدت هذه البادرات بعمر 15 يوما كمصدر للحصول على الاجزاء النباتية، ويعد تعقيم الجزء النباتي المستخدم واختيار نوع تركيز ملائم من المعقمات اساسا يعتمد عليه في زراعة الانسجة النباتية (Rivero, 2014) و(Alonso and Stepanova, 2014) .

الجدول (1):

كفاءة التعقيم السطحي لبذور القرع الجبلي *C.maxima* في محلول هايبوكلورايت الصوديوم.

المادة المعقمة معقم: ماء حجم: حجم	مدة التعقيم (دقيقة)	كفاءة التعقيم %
2:1	5	96
2:1	10	80
1:1	5	98
1:1	10	100

استحداث مزارع الكالس:

اظهرت نتائج الجدول (2) استجابة جيدة لاستحثاث الكالس في جميع الاجزاء النباتية المستخدمة في هذه الدراسة ماعدا الجذور لم تستحث نهائيا. وقد لوحظ ان استخدام وسط MS الحاوي على منظمات النمو BA و NAA اعطى اعلى نسبة استحثاث في الاوراق 81% وبدأ الاستحثاث خلال مدة 9 أيام يليها قطع السيقان تحت الفلقية 78% خلال مدة اقصر 5 أيام ثم قطع الاوراق الفقلية 75% وبمدة 6 أيام. بينما اظهرت قطع السيقان اقل استجابة 60% وخلال مدة 8 أيام، وعند استخدام منظمات النمو IAA, Kin لوحظت استجابة اقل 12–56% وبمدة زمنية أطول 7–12 يوما مقارنة بالاوساط الحاوية على NAA, BA ، كما اظهرت النتائج ان قطع الاوراق الفلقية لم تستحث الكالس واظهرت النتائج كذلك ان وسط MS الحاوي على

2,4-D, Kin شجع قطع السيقان تحت الفلقية لاعطاء اعلى نسبة لاستحثاث الكالس في هذه الدراسة بلغت 87% وخلال اقصر مدة زمنية من حيث بدأ الاستحثاث 5 أيام واكتمال تكوين الكالس في اقل مدة زمنية كانت 25 يوما، يلي ذلك قطع السيقان 63% وخلال 7 أيام اما الاوراق فكانت نسبة استحثاثها 50% خلال المدة نفسها بينما سجلت الاوراق الفلقية اقل نسبة استحثاث 35%.

جدول (2):

استحثاث الكالس من الاجزاء النباتية لنبات القرع الجبلي *C. maxima* في وسط MS الصلب الحاوي على تداخلات منظمات النمو المختلفة

الاجزاء النباتية	NAA+BA			IAA + Kin			2,4-D + Kin		
	نسبة الاستحثاث %	بدء الاستحثاث (يوم)	اكتمال الكالس (يوم)	نسبة الاستحثاث %	بدء الاستحثاث (يوم)	اكتمال الكالس (يوم)	نسبة الاستحثاث %	بدء الاستحثاث (يوم)	اكتمال الكالس (يوم)
الاوراق	81	9	31	12	12	37	50	7	35
السيقان	60	8	32	56	9	39	63	7	29
الاوراق الفلقية	75	6	37	0.0	0.0	0.0	35	7	29
السيقان تحت الفلقية	78	5	32	50	7	30	87	5	25
الجذور	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

* معدل ثلاث قطع / جزء نباتي / معاملة وبثلاثة مكررات

في حين اظهرت نتائج الجدول (3) ان افضل المعاملات لاستحثاث كالس الاوراق كانت في وسط MS الحاوي على NAA,BA بتركيز 1.0، 0.5 ملغم/ لتر على التوالي او MS الحاوي على 2,4-D, Kin بتركيز 3.0، 0.5 ملغم / لتر على التوالي وخلال مدة 13 يوما و 9 أيام كذلك اظهرت قطع السيقان افضل استجابة 100% في التراكيز 1.0 ملغم / لتر من BA 0.5 ملغم / لتر من NAA خلال مدة 9 ايام في غالبية تراكيز 2,4-D, Kin وبنسبة 100%، امام الاوراق الفلقية فكانت افضل نسبة لاستحثاث الكالس في اعلى التراكيز للسايتو كاينينات Kin, BA المدعمة بالاوكسينات NAA او 2,4-D في وسط MS وخلال مدة 10 ، 6 أيام على التوالي. في حين لوحظ ان افضل استحثاث لكالس السيقان تحت الفلقية 100% كان في اوساط MS المدعمة بمنظمات النمو Kin بالتراكيز 1.0 او 2.0 او 3.0 ملغم / لتر بوجود 0.5 ملغم / لتر 2,4-D فضلا عن MS+1.0 ملغم / لتر BA +0.1 ملغم / لتر NAA خلال مدة 5 أيام كام لوحظت الاستجابة نفسها 100% في وسط MS الحاوي على 2.0 ملغم/ لتر kin و 0.5 ملغم / لتر IAA ولكن مدة اطول مقارنة بما تقدم لهذ الجزء النباتي (الشكل 1).

اظهرت النتائج ان افضل استجابة كانت في قطع السيقان تحت الفلقية ثم السيقان واقلها في الاوراق الفلقية وسجلت كذلك اقصر المدد الزمنية في السيقان والسيقان تحت الفلقية على التوالي اما نتائج انواع وتراكيز منظمات النمو المستخدمة فقد لوحظ ان افضل المعاملات كانت وسط MS + kin 3.0 ملغم / لتر + 2,4-D 0.5 ملغم / لتر الذي حفز جميع الاجزاء النباتية المستجابة وبنسبة 100% للاوراق والسيقان والسيقان تحت الفلقية باستثناء الاوراق الفلقية كانت 71% وخلال مدة تراوحت بين 7-9 أيام يليه وسط MS+BA 1.0 ملغم / لتر + NAA 0.5 ملغم / لتر الذي حفز جميع قطع الاجزاء النباتية وبنسبة عالية ولكن بمدد زمنية اطول من الوسط السابق وربما يعود السبب في ذلك الى دور الهرمونات النباتية الداخلية ومنظمات النمو المضافة ومستوى التوافق بينهما اذ يؤثر ذلك كثير على استجابة القطع النباتة لاستحداث الكالس (Acquaah,2004 و Ismail,2017) ولم يشجع استخدام IAA, kin معا كثيرا عملية استحثاث الكالس.

ان الاستجابة العالية التي ابدتها نباتات القرع الجبلي في هذه الدراسة تعزى الى ان استحدثاث مزارع الكالس يتوقف على انواع ومستويات منظمات النمو المضافة الى اوساط الاستحثاث (Yah et al ,2013 and Yah et al 2010) وخاصة السايتوكاينينات والاوكسينات بوصفها مؤثرات كيمياوية تنظم من نشاط النباتات وتحدث تكاملا بين انواع النشاط الفسيولوجي ومنها (kin, BA) اللذان يعدان اكثر السايتوكاينينات شيوعا واستخداما في الدراسات الخاصة بالتأثيرات الفسيولوجية)، كما اظهرت النتائج التباين الواضح في نتائج بقية المعاملات مع اختلاف انواع وتراكيز منظمات النمو المستخدمة في هذه الدراسة ولم يشجع أي من

المعاملات قطع الجذور على استحثاث الكالس كما لم يظهر وسط MSO الخالي من منظمات النمو أي تحفز لنشوء الكالس وتكونه (Jeromea and Vivekanandan ,2015 and Lashin and Diaa,2014).

الجدول (3) :

استحثاث الكالس من اجزاء نبات القرع الجبلي *C. maxima* في وسط MS الصلب الحاوي على انواع وتراكيز متداخلة مختلفة من منظمات النمو.

السيقان تحت الفلقية			الاوراق الفلقية			السيقان			الاوراق			الوسط الغذائي MS ملغم/لتر	
اكتمال الكالس	بدء الاستحثاث	نسبة الاستحثاث	اكتمال الكالس	بدء الاستحثاث	نسبة الاستحثاث	اكتمال الكالس	بدء الاستحثاث	نسبة الاستحثاث	اكتمال الكالس	بدء الاستحثاث	نسبة الاستحثاث	NAA	BA
(يوم)		%	(يوم)		%	(يوم)		%	(يوم)		%		
0.0		0.0	0.0		0.0	0.0		0.0	0.0		0.0	0.0	0.0
40	6	75	40	10	50	23	6	83	43	9	50	0.1	0.5
34	5	100	0.0		0.0	38	5	86	27	11	62	0.1	1.0
28	9	88	32	11	77	26	9	100	32	13	100	0.5	1.0
37	7	60	38	10	100	37	10	36	0.0		0.0	0.5	1.5
												IAA	Kin
27	7	67	0.0		0.0	37	12	62	0.0		0.0	0.5	0.5
0.0		0.0	0.0		0.0	37	7	71	39	12	40	0.5	1.0
28	4	33	0.0		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		0.0	0.5	1.5
25	10	100	0.0		0.0	41	8	75	0.0		0.0	0.5	2.0
												2,4-D	Kin
30	4	100	0.0		0.0	35	6	100	0.0		0.0	0.5	1.0
24	4	100	0.0		0.0	27	11	100	36	6	60	0.5	2.0
23	7	100	25	7	71	27	7	100	28	9	100	0.5	3.0
21	6	83	29	10	17	0.0		0.0	28	8	60	1.0	1.0
26	6	100	27	7	33	26	3	33	29	8	60	1.0	2.0
46	5	17	34	6	100	26	7	100	46	7	50	1.0	3.0

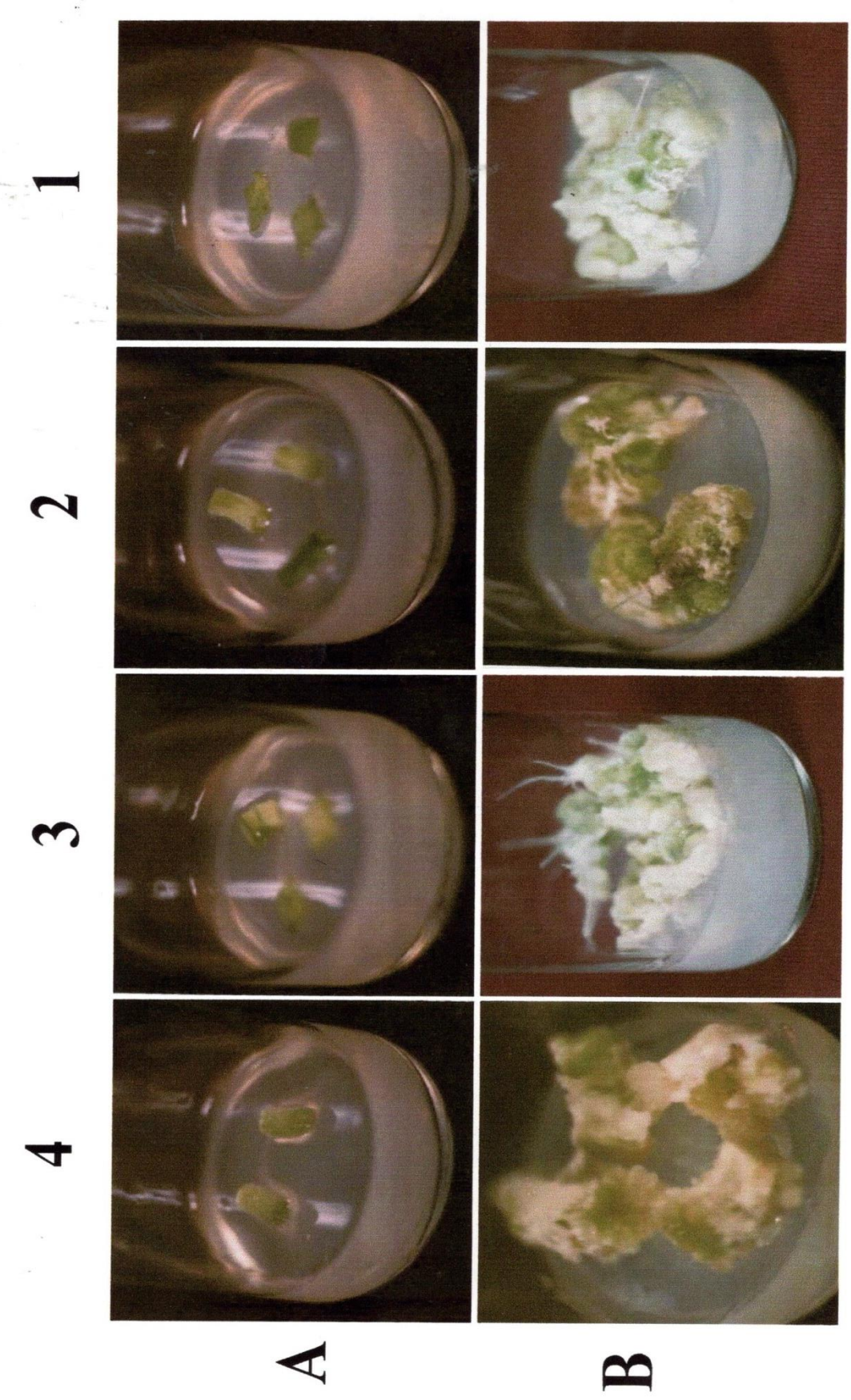
الشكل (1): استحثاث الكالس من الاجزاء النباتية المختلفة لنباتات القرع الجبلي *C.maxima* في وسط MS.

A. الاجزاء النباتية المختلفة بعمر 15 يوما.

1. الاوراق
2. السيقان
3. الاوراق الفلقية
4. السيقان تحت الفلقية

B. كالس الاجزاء النباتية المختلفة بعمر 60 يوما:

1. كالس الاوراق (ابيض مخضر نصف متماسك)
2. كالس السيقان (أخضر متماسك)
3. كالس الاوراق الفلقية (ابيض مخضر نصف متماسك).
4. كالس السيقان تحت الفلقية (اخضر مصفر متماسك)


1
2
3
4
A
B

ادامة مزارع الكالس وتقدير وزنه الطري

في ضوء نتائج الجدولين (2 ، 3) واعتمادا على حيوية الكالس ومظهره الخارجي واستمرار نموه بشكل جيد حددت أفضل معاملة لاستحثاث الكالس ولجميع الاجزاء النباتية هي وسط MS الحاوي على BA 1.0 ملغم / لتر و NAA 0.5 ملغم / لتر ورمز له MSI الذي اعتمد في ادامة الكالس وحساب وزنه الطري بوصفه افضل وسط اعطى كالس جيد من حيث نموه وقوامه وشكله مقارنة بالوسط الجيد الثاني Kin 3.0 ملغم / لتر +2,4-D 0.5 ملغم / لتر الذي لوحظ عليه ضعف الكالس عند الادامة لمدة طويلة وتغير في اللون قليلا وعليه استبعد.

اشارت نتائج الجدول (4) الى ان كالس الاوراق الفلقية كان الافضل في وزنه الطري مقارنة بانواع كالس الاجزاء النباتية المستخدمة اذ بلغت الزيادة في وزنه الطري 4.2 غم، يليه كالس السيقان 3.3 غم، ولوحظ ان اقل زيادة في الوزن الطري كانت في كالس السيقان تحت الفلقية 0.6 غم وقد يعزى هذا التباين في زيادة الوزن الى اختلاف مستويات المواد الاساسية داخل الخلية كالبروتينات والاحماض او الى تأثير مكونات الوسط الغذائي من حيث تراكيز المواد والظروف المستخدمة في زراعته (Muhammad et al ,2011 and Hamed,2016).

الجدول (4):

حساب الوزن الطري لكالس اجزاء نبات القرع الجبلي *C. maxima* النامي في وسط MSI المنتخب بعمر 60 يوما.

مصدر الكالس	معدل الوزن الطري (غم) *
الاوراق	2.3
السيقان	4.3
الاوراق الفلقية	5.2
السيقان تحت الفلقية	1.6

- معدل 1.0 غم كالس / قطعة / جزء نباتي وبثلاث مكررات

أولا: المصادر العربية:

الحمداني، انسام احمد سعدون أحمد (2006). انتخاب نباتات خيار *Cucumis sativus L.* مقاومة التعفن وموت البادرات المتسبب عن الفطر *Phizoctonia solani* بتقنية الزراعة النسيجية . رسالة ماجستير . كلية التربية . جامعة الموصل.

العرقاوي،نبيل (2009). موسوعة النباتات الطبية المصورة .اتحاد الناشرين السوريين . الطبعة الأولى.

الكاتب، يوسف منصور (2000). تصنيف النباتات البذرية . دار الكتب للطباعة والنشر . الموصل.

محمد ساجد عودة (2014) . مقدمة ونبذة تاريخية عن النباتات الطبية والعطرية . رئيس وحدة النباتات الطبية والعطرية . قسم البستنة وهندسة الحدائق . العراق.بغداد.

ثانيا: المصادر الاجنبية:

Acquaah, G.(2004). Understanding Biotechnology Pearson Education. Inc. USA.

Aina.O,Quesenbrry.K,Gallo.M.(2012).In vitro induction to tetraploids in *Arachis paraguariensis* .Plant Cell Tissue and Organ Culture(PCTOC).111(2):231-238.

Alonso.J and Stepanova.A.(2014).Arabidopsis transformation with large bacterial artificial chromosomes.Methods Mol.Bio1062,271-283.

Bordastal, M.; Moreno, V. and Roig L. A. (2006). Orgonogenic and embryogenic Potential of several commercial lines (*Cucumis melo L.* Universidad Politecnica. Valencia . Spain.

Everson, J.; Citadin , I and Antonio, J. (2006). Effect of different Culture medium in the in Vitro regeneration of melon *(Cucumis melo L.)*

Hamed ,M.(2016). Plant growth regulators induced urease activity in *cucurbita pepo* L.cotyledons . National Library of Medicine .National Center for Biotechnology Information.

Ismail. B. (2017) . Tissue Culture of *Cucumis melo* Agricultural Research and Technology Journal 6(2):555-682.

Jerome.J aan Vivekamandan .L.(2015).Optimization of conditions for callus induction and indirect organogenesis of *Cucumis anguria* L. Asian Journal of Plant Science and Research,5(11):53-61.

Kintzios, S.; Sereti, E.; Bluchos, P.; Drossopoulos, J.B. kitsaki:, C.K. and Liopa- Tsakalidis, A. (2002). Growth regulator pretreatment improves Somatic empryogenesis from leaves of Squash

(Cucurbita pepo L.) and Melon *(Cucumis melo L.)* Plant Cell Reports. 21(1): 1-8.

Kurtar, E.S.; Uzun, S. andEsenEsendal, E. (1999).Haploid Plant Propagation by Anther of Squash *(Cucurbita pepo L.)* Ondokuzmayis Universitesi. Ziraat. Fakultesi. Dergisi . 14(2): 33-45.

Lashin.I and Diaa.M .(2014).Effect of plant growth regulators on callus induction and plant regeneration of cucumber (*cucumis sativus* L). Nature and Science 12(11):68-74.

Muhammad.E,Rezwana.D,Islam.M,Sikdar.B(2011).In vitro regeneration of Pumpkin (*cucurbita maxima)* through shoot apical meristem .Journal of Bio –Science18.

Rivero.L.(2014).Handing Arabidopsis Plants:growth preservation of seeds,transformation and genetic crosses.Methods Mol Biol.1062,3-25.

Yah.G,Irie.A,Yatty.J,Yves.B,Jean.P(2013).Medium effects on micropropagation and genetic stability of Citrullus lanatus oleaginous type.Agricultural Sciences.

Yah.G,Zoro.I,Dje.Y,Toussaint.A and Baudoin.P.(2010).Determination of a Suitable Protocol for Indigenous Oil seed cucurbits plant Regeneration.TROPICULTURA,28(4):217-225.