# بررسی کشت در شیشه (*invitro*) گیاه هندوانه ابوجهل
# *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad

*سورمه قره‌ماتروسیان، مه‌لقا قربانلی

گروه زیست شناسی، دانشگاه آ زاد اسلامی واحد گرگان

**چکیده**

در این پژوهش تعیین بهترین محیط کشت برای اندامزایی ساقه‌ای و انتخاب مناسبترین جدا کشت از دانه رست‌های هندوانه ابو جهل مورد بررسی قرار گرفته است. برای به دست آوردن دانه رست‌های استریل بازدارندگی پوسته ای دانه در اسید سولفوریک غلیظ به مدت ۲۰ دقیقه بر طرف شد. بعد از شستشو با آب مقطر استریل دانه‌ها به محیط کشت استریل منتقل شدند. ۲۰ روز بعد، از دانه رست‌ها قطعات کوچک (لپه، جوانه انتهایی، محور زیر لپه و ریشه) تهیه و به محیط کشت پایه MS با تیمارهای هورمونی مختلف منتقل شدند. تمامی جدا کشت‌ها تولید کالوس کردند و فقط جوانه انتهایی با تیمار IAA و کینتین برابر با ۱ میلی‌گرم در رلیترتولید کالوس کرده سپس به جوانه و شاخه تمایز یافت. برای تعیین مناسب‌ترین محیط کشت ؛ دو محیط کشت در نظر گرفته شد. محیط کشت پایه MS با تیمار IAA و کینتین برابر با ۱ میلی گرم و محیط کشت پایه MS، ویتامین ۲ برابر محیط پایه MS و تیمار بنزیل آمینو پورین ۲ میلی‌گرم در لیتر به همراه نفتالن استیک اسید ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر. جوانه انتهایی از محیط کشت استریل جدا شد و در این دو محیط کشت قرار گرفت. طرح بر پایه بلوک کاملاً تصادفی انجام شد. جمع آوری داده‌ها درچهار مرحله انجام شد. قابلیت تولید کالوس در محیط کشت با تیمار بنزیل آمینو پورین به همراه نفتالن استیک اسید نسبت به محیط کشت IAA و کینتین بیشتر بود. در محیط کشت با تیمار IAA و کینتین با مقادیر برابر شاخه زایی و افزایش طول شاخه‌ها معنی دار بود. در محیط کشت با تیمار بنزیل آمینو پورین به همراه نفتالن استیک اسید سبب تمایز کالوس به شاخه شد ولی شاخه‌زایی و افزایش طول شاخه‌ها معنی‌دار نبود.

**واژه‌های کلیدی**: اندامزایی، بنزیل آمینوپورین، IAA، کینتین، نفتالن استیک اسید، هندوانه ابوجهل

*e.mail: Gharehmatrossian@yahoo.com

**مقدمه**

تیره Cucurbitaceae به همراه گونه‌های تجاری کشت شده در نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری از تیره‌های، گیاهان اقتصادی با اهمیت به شمار می رود (Krug et al. 2005). گونه‌هایی مانند هندوانه، خربزه، خیار و کدو به صورت پهناور در ایران کشت می شود در میان گونه‌های *Citrullus*، هندوانه ابوجهل *C.colocynthis* اهمیت دارویی دارد که رویش آن به صورت خودرو است. این گیاه بومی مناطق خشک شمال آفریقا، جنوب شرقی آسیا، از جمله ایران است (Duke.,1983; Yaniv et al. 1999; Diwan et al., 2000; Unnoun, 2005).

از نظر خصوصیات مورفولوژیکی گیاهی است، یک ساله، علفی با ساقه‌هاو برگ‌های تک پایه، میوه کدویی، کروی به اندازه پرتقال کوچک، سبز و زرد منقوش در هنگام رسیدن زرد رنگ می شود به شدت تلخ، با جفت بندی کناری، دانه‌های زیاد (Duke., 1983; schlising., 1993; Yaniv et al., 1999; Unnoun., 2005).

این گیاه در باغ‌های انگلیس از سال۱۵۵۱ کشت می‌شده است از گیاهان دارویی قدیمی است (Culbreth .1927).

این گیاه دارای منبع پروتئین فراوان (Culbreth, 1927; Duke, 1983; Sawaya., 1986) و دارای اسیدهای چرب ضروری پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولنیک فراوان، همچنین دارای رزین، فیتو استرول گلیکوزید، پکتین‌ها و آلبومینوئیدهاست. ترکیبات تلخ آن شامل کلوسنتین و کلوسنتتین است. ریشه دارای الاترین، هنتریاکونتان و ساپونین می‌باشد (Duke,1983; Grieve, 2005).

از خواص دارویی این گیاه در طب سنتی برای درمان یرقان، اختلالات مجاری ادراری و دستگاه تناسلی، روماتیسم، بیماری‌های صفراوی، تب، قطع قاعدگی، آب آوردن شکم، گزش مار، نیش عقرب، درد روده ای، صرع، تقویت رشد مو و سیاه کردن موهای سفید مورد استفاده قرار می‌گرفت (Duke,1983; Unnoun, 2000).

برخی از پژوهشگران به دلیل داشتن اسیدهای چرب ضروری بالا و همینطور به دلیل داشتن خواص دارویی و تحمل شرایط آب و هوایی خشک، پیشنهاد کشت این گیاه را می‌دهند (Yaniv et al., 1999). به گفته یکی از پژوهشگران زراعت این گونه یکی از ٤ گونه کمیاب گیاهان دارویی است که می تواند بزودی بر پایه تجارتی کشت شود (Unnoun, 2000). در ایران در مناطقی که کشت و کار انجام می‌شود، این گیاه در حال انقراض است ولی در مناطقی که دست نخورده باقی مانده به مقیاس وسیع می توان این گیاه را مشاهده کرد.

در چند سال اخیر که توجه جهانی از سمت داروهای سنتزی به سمت داروهای گیاهی معطوف شده است، بر روی خواص دارویی این گیاه پژوهش‌هایی انجام شده از جمله سمیت کبدی، که بر روی موش‌های بالغ انجام یافته، نشان داد که عصاره *C.colocynthis* اثرات سمیت کبدی رادر غلظت‌های بالا ۱۰۰ µ g/ml ایجاد می‌کند (Diwan et al. 2000) همچنین عصاره دانه این گیاه اثر درمان دیابت دارد و در کمترین میزان می تواند فعالیت آنتی دیابتی داشته باشد (Nmila et al., 2000). پژوهشگران ساپونین را از میوه این گیاه استخراج کرده و اثر آنتی دیابت را بر روی موش‌ها و خرگوش‌ها مشاهده کرده‌اند (Diwan et al., 2000). عصاره اتانلی ۵۰٪ این گیاه اثر Antiandrogenic طبیعی دارد و بدین وسیله ناباروری قابل برگشت را در موش‌های نر آلبینو کاهش می‌دهد (Chaturvedi et al., 2003). در آلمان مطالعا ت کلینیکی عصاره میوه این گیاه را انجام داده اند و نتایج به دست آمده نشان داد که می توان از عصاره این گیاه بر روی انسان استفاده کرد (Lorenz et al., 2005).

اما هیچ گزارشی در مورد کشت invitro برای انتخاب محیط کشت *C.colocynthis* انجام نشده است. اگر چه ممکن

است. پیشرفت‌هایی هم در زمینه‌های مختلف کشت رویان، تکثیر رویان‌زایی و غیره انجام شده باشد ولی در مورد گونه‌های دیگر *Cucurbita* بررسی‌هایی انجام شده و گزارشاتی موجود است. به عنوان مثال در مورد هندوانه *Citrullus lanatus* کشت *invitro* نشان داد که مورفوژنز می‌تواند از جدا کشت هایی که از نواحی نزدیک به مرکز لپه‌های سه روزه در دانه رست‌های جوانه زده *invitro* در محیط کشتی که شامل BAP و شیر نارگیل بود انجام یابد (Krug et al.,2005). و همینطور در مورد ریز ازدیادی ارقام هیبرید *Cucurbita* نشان داد که جد ا کشت از نوک ساقه ۵ روزه دانه رست انتخاب می شود و در محیط MS که دارای BAP, NAA است ساقه زایی انجام شده و سپس برای ریشه زایی به محیط MS که دارای IBA است منتقل می شود پس از تشکیل ریشه، گیاهک به خاک منتقل می شود ( Sarowar et al. 2003) کشت کالوس لپه‌ها و جدا کشت‌های برگ خربزه بر روی چند محیط کشت با غلظت هورمون‌های متفاوت برای بررسی پاسخ مورفوژنیک و رشد آن نتایجی را به دست داد که نشان می‌دهد:

۱. جدا کشت‌های برگ، ظرفیت تشکیل جوانه آنها کم است.
۲. ظرفیت اندام‌زایی بر روی لپه‌ها، در سنین مختلف متفاوت است
۳. سن جدا کشت، اثر معنی‌داری برای القاء جوانه دارد (Souza et al., 2006).

بنابراین مشاهده می شود که تحقیقات فعال در سطح کشت سلول، بافت و اندام *Cucurbita* فقط بر پایه گونه‌های خوراکی بوده است . بنابر این لزوم کشت *invitro* برای انتخاب محیط کشت مناسب در مورد گیاه هندوانه ابوجهل ضروری به نظر می‌رسد.

## مواد و روش‌ها

دانه‌های هندوانه ابوجهل از اهواز جمع آوری شد، سپس در اسید سولفوریک غلیظ به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت سپس توسط آب مقطر استریل شستشو شد. دانه‌ها در تاریکی و در دمای ۳۲-۳۰ درجه سانتی گراد جهت جوانه‌زنی نگهداری شد. بعد از ۹ روز تعدادی دانه جوانه زد نمونه‌ها به نور منتقل شد ۲۰ روز بعد دانه رست‌ها به صورت ریشه، محور زیر لپه، لپه و جوانه انتهایی جدا شد و تمامی جدا کشت‌ها در محیط کشت‌های مختلف قرار گرفتند. محیط کشت‌ها به صورت زیر بودند:

| نام محیط کشت | A | C | E | F |
|---|---|---|---|---|
| محلول پایه | MS* | MS | MS | MS |
| ساکارز (mg/l) | 15 | 15 | 15 | 15 |
| IAA (mg/l) | --- | --- | 1.0 | --- |
| NAA (mg/l) | --- | --- | --- | 0.4 |
| BAP (mg/l) | 2.5 | --- | --- | --- |
| KIN (mg/l) | --- | 6.0 | 1.0 | 0.4 |

*. Murashigue and Skoog (1962)

تمامی محیط‌های کشت تولید کالوس کردند و فقط جوانه انتهایی که در محیط کشت E بود توانست علاوه بر تولید کالوس تولید جوانه کند و در مرحله بعد به ساقه تمایز یابد. البته جوانه انتهایی در محیط کشت C تولید کالوس کرد وسپس تولید جوانه اما ساقه‌زایی انجام نپذیرفت. به محیط کشت E اجازه رشد داده شد و ساقه‌زایی انجام گرفت. برای اطمینان از مناسب بودن محیط کشت E جهت ساقه‌زایی، محیط دیگری هم به نام محیط کشت L برای مقایسه انتخاب شد، محیط کشت جدید غنی از ویتامین (۲ برابر MS) و دارای (BAP 1.0 mg/l) و (NAA 0.1 mg/l) بود. جوانه‌های انتهایی از محیط کشت استریل جدا شد و در محیط‌های E و L قرار گرفت. جدایی جوانه انتهایی و قرارگیری در محیط کشت‌ها تحت شرایط استریل انجام شد. نمونه‌ها هر هفته مورد مطالعه قرار گرفت. ظرف‌های محتوی کشت در اتاق رشد، فتوپریود ۱۲ ساعته با دمای ۲۸-۳۰°C نگهداری شد.

طرح در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی انجام گرفت. برای هر محیط ۱۲ تکرار درنظر گرفته شد که دو تکرار آن به دلیل آلودگی حذف شد. در هفته اول مشاهدات تولید کالوس در محیط کشت E و محیط کشت L بررسی شد.

برای مطالعه آماری از آزمون Chi-Square استفاده شد، ولی به دلیل اینکه ۵۰٪ خانه‌ها کمتر از ۵ بود بنابراین، آزمون دقیق فیشر یک طرفه بکار رفت.

در هفته دوم، سوم و پنجم (یعنی ١٤ -٢١ -٣٥ روز بعد از کاشت) شمارش شاخسار و اندازه‌گیری طول آنها انجام شد. در این مرحله برای هر محیط ۸ تکرار در نظر گرفته شد. برای مقایسه میانگین طول و شمارش شاخساره دو محیط کشت از آزمون T استفاده شد. برای اینکه معلوم شود در روزهای متفاوت بین داده‌ها درهر محیط کشت آیا اختلاف معنی‌داری وجود دارد یا نه ؟ از تجزیه واریانس و آزمون دانکن استفاده شد. در کلیه موارد استفاده از آزمون‌های آماری، نرم‌افزار SPSS بکار رفت.

## نتایج

نتایج از بررسی کالوس نشان داد که با ۹۱,۵٪ اطمینان می توانیم فرض یکطرفه دوم را در مقابل فرض اول به پذیریم. یعنی با ۹۱,۵٪ اطمینان می توانیم بگویم که محیط کشت L قدرت کالوس زایی آن بیشتر از محیط کشت E است.

جدول ۱: درصد کالوس در محیط‌های کشت

**media * Callus Crosstabulation**

| | | | Callus | | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Callus+ | Callus- | |
| media | E | Count | 2 | 8 | 10 |
| | | % within media | 20.0% | 80.0% | 100.0% |
| | L | Count | 6 | 4 | 10 |
| | | % within media | 60.0% | 40.0% | 100.0% |
| Total | | Count | 8 | 12 | 20 |
| | | % within media | 40.0% | 60.0% | 100.0% |

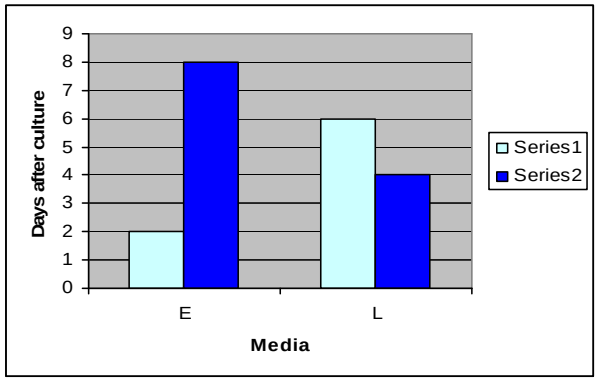
جدول ۲: آزمون Chi-Square

**Chi-Square Tests**

| | Value | df | Asymp. Sig. (2-sided) | Exact Sig. (2-sided) | Exact Sig. (1-sided) |
|---|---|---|---|---|---|
| Pearson Chi-Square | 3.333[b] | 1 | .068 | | |
| Continuity Correction[a] | 1.875 | 1 | .171 | | |
| Likelihood Ratio | 3.452 | 1 | .063 | | |
| Fisher's Exact Test | | | | .170 | .085 |
| Linear-by-Linear Association | 3.167 | 1 | .075 | | |
| N of Valid Cases | 20 | | | | |

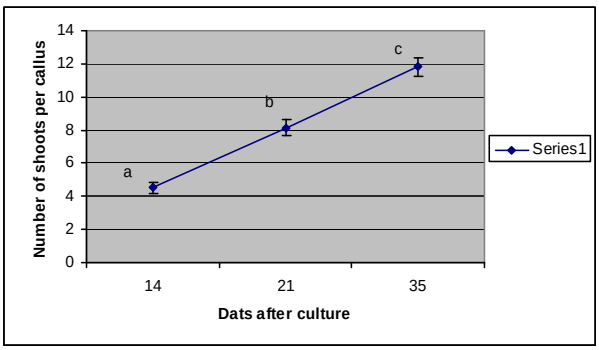
a. Computed only for a 2x2 table

b. 2 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4. 00.



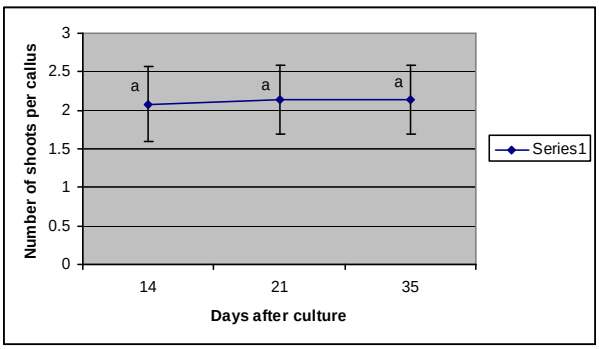

نمودار ۱: فراوانی کالوس در دو محیط
(Series 1= Callus+ , Series 2= Callus-)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس و آزمون دانکن در طی شمارش سه مرحله نشان داد که تعداد شاخساره در محیط کشت E در روزهای ۱۴-۲۱-۳۵ معنی‌دار بوده و در سه گروه مختلف قرار می‌گیرند



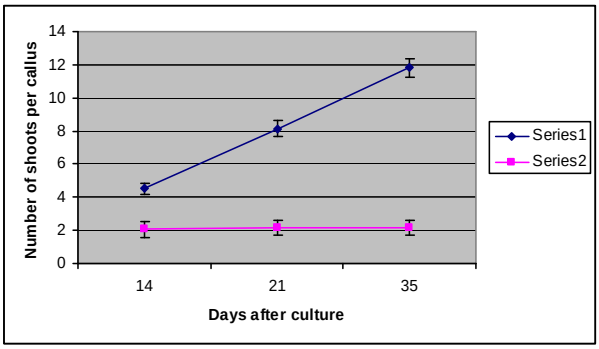

نمودار ۲: میانگین تعداد شاخساره در محیط کشت E در سه مرحله شمارش

نتایج حاصل از تجزیه واریانس و آزمون دانکن در طی شمارش سه مرحله نشان داد که تعداد شاخساره در محیط کشت L در روزهای ۱۴-۲۱-۳۵ معنی‌دار نبوده و در یک گروه قرار می‌گیرند.



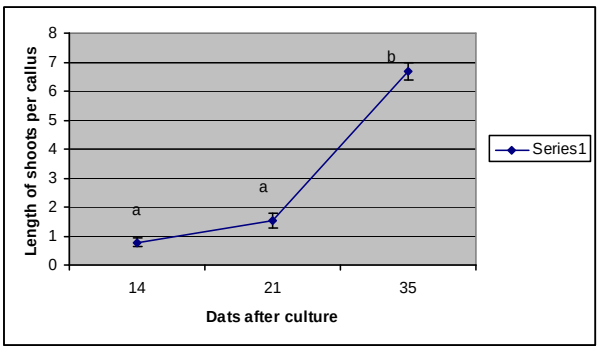

نمودار ۳: میانگین تعداد شاخساره در محیط کشت L در سه مرحله شمارش

نتایج حاصل از، مقایسه میانگین تعداد شاخساره و آزمون T در دو محیط کشت نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تعداد شاخساره مشاهده می‌شود.




نمودار ٤: میانگین تعداد شاخساره در محیط کشت E و L در سه مرحله شمارش
(Series 1 = E , Series 2 = L )

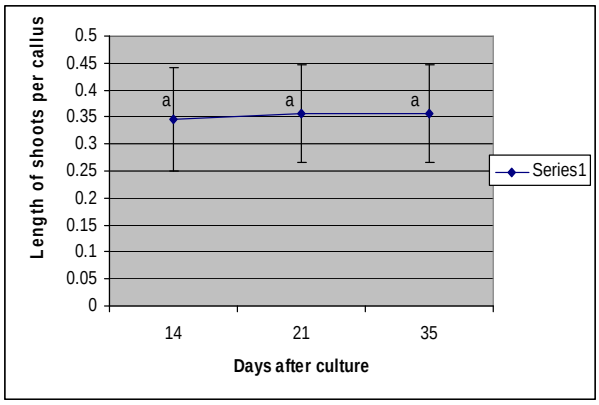
نتایج حاصل از تجزیه واریانس و آزمون دانکن در طی اندازه‌گیری سه مرحله نشان داد که طول شاخساره در محیط کشت E در روزهای ۱۴-۲۱-۳۵ معنی دار بوده و در دو گروه مختلف قرار می گیرند.یعنی طول شاخساره در دو مرحله شمارش تفاوت آماری ندارد، ولی ۳۵ روز بعد از کشت، رشد معنی‌داری پیدا می‌کند.



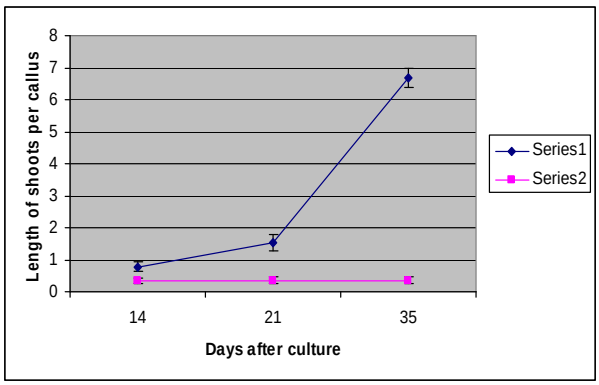

نمودار ۵: میانگین طول شاخساره در محیط کشت E در سه مرحله شمارش

نتایج حاصل از تجزیه واریانس و آزمون دانکن در طی شمارش سه مرحله نشان داد که طول شاخساره در محیط کشت L در روزهای ۱۴-۲۱-۳۵ معنی دارنبوده و در یک گروه قرار می‌گیرند.

نتایج حاصل ازمقایسه میانگین، طول شاخساره و آزمون T، در دو محیط کشت نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین طول شاخساره مشاهده می‌شود.




نمودار ٦: میانگین طول شاخساره در محیط کشت L در سه مرحله شمارش




نمودار ۷: میانگین طول شاخساره در محیط کشت E و L در سه مرحله شمارش (Series 1 = E-------- Series 2= L)

## بحث

بخش‌های مختلف دانه‌رست هندوانه ابوجهل به صورت جدا کشت در محیط کشت‌های مختلف قرار گرفتند تمامی محیط کشت‌ها تولیدکالوس کردند که می‌توان این طور نتیجه گرفت تمامی هورمون‌ها کالوس را در قسمت پایه‌ای جدا کشت القاء می‌کنند و با مطالعات Sarowar و همکاران (۲۰۰۳) که در مورد هیبریدهای *Cucurbita* گزارش کرده بودند، مطابقت دارد. از بخش‌های مختلف دانه‌رست فقط جوانه انتهایی در محیط کشت E با تیمار IAA=1mg/l و KIN=1mg/l توانست تکوین یافته، ساقه‌زایی کند. نوع جدا کشت برای القاء مورفوژنز با اهمیت می‌باشد که با مطالعات Krug و همکاران (۲۰۰۵) در مورد هندوانه و Souza و همکاران (۲۰۰٦) در مورد خربزه همخوانی دارد. بنابراین جوانه انتهایی برای جدا کشت انتخاب شد که با گزارش‌های Wehner و همکاران (۱۹۹۰) در تکثیر *invitro* جوانه انتهایی، در چند گونه *Cucurbita*، موفقیت‌آمیز بوده است، مطابقت دارد.

مقایسه محیط القاء برای تکوین جوانه‌های تصادفی مهم است تا به توان محیط کشت مناسب برای ریزازدیادی را فراهم کرد که با مطالعات Krug و همکاران (۲۰۰۵) در مورد هندوانه در یک راستا است. طبق گزارش‌های Krug و همکاران (۲۰۰۵) حضور سیتوکینین برای القاء ساقه و تمایز از جدا کشت‌های لپه‌های هندوانه، حیاتی می‌باشد.و Srivastava و همکاران (۱۹۸۹) و Compton و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند که BAP برای اندام‌زایی *Cucurbita* بسیار موثر می‌باشد که شامل تمایز جوانه‌ها وساقه‌های غیر منتظر می‌باشد در نتیجه محیط کشت دیگری انتخاب شد برای مقایسه با محیط کشت E، این محیط کشت دارای اکسین و سیتوکینین از نوع دیگری می باشد. محیط جدید با نام محیط کشت L با تیمار NAA=0.1mg/l و BAP=2mg/l انتخاب شد. جوانه‌های انتهایی در محیط کشت‌ها قرار گرفتند. ظرفیت تولید کالوس در محیط کشت L نسبت به محیط کشت E بیشتر بود. ١٤ روز بعد از کشت ساقه‌زایی انجام پذیرفت و اختلاف معنی‌داری در تعداد و طول شاخه‌ها در بین دو محیط کشت مشاهده شد.

تعداد و طول شاخه‌ها نسبت به روز در محیط کشت E اثر معنی‌دار داشته و میانگین داده‌ها در روزهای متفاوت شمارش در یک گروه قرار نمی‌گیرند. محیط کشت E، محیط خوبی برای ساقه زایی است. که با تحقیقات Souza و همکاران (۲۰۰٦) در مورد پاسخ اندامزایی جدا کشت‌ها در رقم Shipper و Melond (خربزه) وقتی IAA و KIN به محیط کشت اضافه می شود، تعداد شاخه‌ها در کالوس افزایش می یابد، هم خوانی دارد. ولی با مطالعات Lee و همکاران (۱۹۸۵) که برای کشت اغلب گونه‌های گیاهی که از کینتین

بالا و اکسین پایین استفاده می‌شود و همینطور با تحقیقات Souza و همکاران (۲۰۰۶) در مورد رقم Amarillo oro (خربزه) که بهترین ترکیب موثر برای پاسخ به اندامزایی IAA=1.5 mg/l و KIN = 6 mg/l است، هم خوانی ندارد.

تعداد و طول شاخه‌ها در محیط کشت L نسبت به روز اثر معنی‌دار نداشته، تعداد و طول شاخه‌ها در محیط کشت L در سه مرحله شمارش در یک گروه قرار می گیرند. این نتیجه با پژوهش‌های Sarowar و همکاران (۲۰۰۳) که بر روی هیبریدی از Cucurbita انجام شده، زمانی که هورمون BA به محیط کشت اضافه می شود رشد عالی است و به محض اینکه NAA هم به آن اضافه می شود از تعداد ساقه و بلندی آن کاسته می شود.و همین طور با مطالعات Krug و همکاران (۲۰۰۵) که با استفاده از ترکیب BAP و NAA در محیط القاء سبب کاهش جدی در فراوانی جدا کشت‌ها با جوانه انتهایی می‌شود، هم‌خوانی دارد. Comptin و Gray (۱۹۹۳) و Srivastava (۱۹۸۹)، NAA و IAA را وقتی به محیط القاء اضافه می‌شود یک مهار کننده اندام زایی ساقه معرفی کردند. همچنین Comptin و Gray (۱۹۹۳) گزارش کردند که محیط کشت‌ها ی هندوانه که این تنظیم کننده‌های رشد را دارند تعداد کمتری جدا کشت همراه با جوانه‌های انتهایی خواهند داشت. از طرفی Dong و Jia (۱۹۹۱) گزارش کردند که برای اصلاح در تکوین جوانه به ساقه در لپه‌های هندوانه ترکیب سیتوکینین و اکسین در محیط القاء ضروری است. طبق تحقیقات Souza و همکاران (۲۰۰۶) حضور IAA=1.5mg/l و BAP=1mg/l برای تکوین جوانه و ساقه‌زایی در *Cucumis melo* بسیار مطلوب است. البته می‌توان گفت که تاثیر نوع هورمون‌ها بسته به رقم، متفاوت است. در مورد هندوانه ابوجهل می‌توان گفت: IAA و KIN باغلظت برابر ۱ میلی‌گرم در لیتر سبب تحریک شاخه‌زایی شده است. در اینجا IAA یک مهار کننده اندام‌زایی ساقه نمی‌باشد بلکه به همراه KIN محرک شاخه زایی شده است که با پژوهش‌های Dong و Jia (۱۹۹۱) هم خوانی دارد. ولی تیمار NAA = 0.1 mg/l و BAP = 2 mg/l سبب کاهش شاخه زایی شده است در اینجا چون BAP یک سیتوکینین است و سیتوکینین‌ها برای القاء ساقه و تمایز از جدا کشت‌های لپه‌های هندوانه، حیاتی می‌باشند، بنابراین کاهش شاخه‌زایی را می‌توان به NAA نسبت داد.که با مطالعات Krug و همکاران (۲۰۰۵) هم‌خوانی دارد.

در مقایسه محیط کشت E نسبت به محیط کشت L که کالوس کمتری تولید کرده است، ولی تعداد زیادی جوانه‌های ساقه‌ای در جدا کشت شکل گرفتند. می‌توان گفت: «این جوانه‌ها مستقیماً از برگشت تمایز و تمایز مجدد اپیدرم جدا کشت و لایه‌های زیر اپیدرمی می‌باشند» که با مطالعات Krug و همکاران (۲۰۰۵) که بر روی *Cucurbita* انجام شده مطابقت دارد. روش‌های *invitro* مزیتی دارند که نه تنها سبب تکثیر رویشی می شوند، بلکه می‌توان کلون‌هایی را انتخاب کرد که در یک دوره زمانی کوتاه تکثیر یابند. کشت جوانه انتهایی سبب تکثیر مجدد می‌شود و این مزیت را بر کالوس دارد که معمولاً تغییر پذیری ژنتیکی را در نتایج کلون‌ها کمتر می‌کند. بنابراین گیاهانی که از کالوس تکثیر مجدد می‌یابند. نسبت به گیاهانی که از جوانه جانبی یا جوانه انتهایی تولید می‌شود تمایل کمتری به یک شکل شدن نشان می‌دهند.

## References


**Chaturvedi.M., Mali.P.C., Ansari.A.S (2003)** Induction of reversible antifertility with crude ethanol extract of *Citrullus colocynthis* Schard fruit in male rats. International Journal of experimental and clinical pharmacology; Vol. 68:38-48

**Culbreth. D.M. R., Ph.G., M.D (1927)** *Colocynthis, Colocynthe*, U.S.P. A manual of material medica and pharmacology.

**Compton. M.E., Gray.D.J (1993)** Shoot organogenesis and plant regeneration from cotyledons of diploid, triploid, and tetraploid watermelon. Journal of the American Society for Horticultural Science, V.118, P.151-157.

**Diwan. F.H., Abdel-Hassan. I.A.,Mohammed. S.T (2000)** Effect of saponin on mortality and histopathological changes in mic. Vol. 6, P.345-351.

**Dong, J.Z.: JIA, S.R (1991).** High efficiency plant regeneration from cotyledons of watermelon (*Citrullus vulgaris* Shrad.). Plant Cell Reports, v.9, p.559-562,

**Duke.J.A (1983)** *Citrullus colocyntis* (L.) Schrad. Hand book of Energy crops.

**Grieve. M (2005)** Apple (Bitter). htt//www. Botanical.com.

**Krug. M.G.Z., Stipp. L.C.L., Rodriguez. A.P.M., Mendes. B.M.J (2005)** Invitro organogenesis in watermelon cotyledons. Pesq.agropec.Brasilia., Vol.40,n.9,P.861-865.

**Lee. C.W., Thomas. J.C. (1985)** Tissue culture propagation of buffalo gourd. Hortscience 20:218-219**.**

**Lorenz, P.R., Lippmann, F.L., Durrling. K., Solf. M., Geissler, J. (2005)** Pharmaco-toxicological and clinical studies with colocyth pulp extracts (Extr. Colocynthidis fructus)., Arzneimittel-Forschung. 55(11): 621-63

**Nmila. R., Gross. R., Rchid. H., Roye. M., Manteghetti. M., Petit. P., Tijane. M., Ribes. G., Sauvaire. Y (2000).** Insulinotropic effect of *Citrullus colocyntis* fruit extracts.Planta med., Jun.,66(5):418-23.

**Sarowar. S., Oh. H. Y., Hyung. N.I., Min.B.W., Harn. C.H., Yang. S.K.,Ok. S.H., Shin. J.S (2003)** *Invitro* micropropagation of a *cucurbita* interspecific hybrid cultivar-a root stock plant cell,tissue,organ culture 75:179-182.

**Sawaya. W.N., Daghir. N.J., Khalil, J.K (1986)** *Citrullus colocyntis* seeds as a potential source of protein for food and feed.J.Aric.Foodchem.34.285-288.

**Schlising. R.L (1993)** *Cucurbitaceae* gourd family. Treatment from the Jepson manual.university of California press.

**Souza. F.V.D., Garcia-Sogo. B., Souza. A.S., San-Juan. A.P., Moreno.V. (2006)** Morphogenetic Response of cotyledon and leaf explants of melon (*Cucumis melo* L.) cv.Amarillo Oro. Brazilian archives of biology and technology. Vol.49. n. 1:PP.21-27.

**Srivastava.D.R.,Andrianov.V.M.,Piruzian.E.S(1989)** Tissue culture and plant regeneration of watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad.cv. Melitoplski).Plant cell reports.V. 8,P. 300-302.

**Unnoun (2000)** Cultivating support of medical plant stakehoiders. Traffic bulletin Vol. 18No.2

**Unnoun (2005)** *Citrullus colocynthis* (L.)Schrad. The western Australian flora. htt://flora base. calm. wa. gov.au/

**Wehner. T.C., R.M.Cade and Locy. R.D. (1990)** Cell,tissue,and organ culture techniques for genetic improvement of *Cucurbits*. Biol. Util.Cucurbitaceae.Cornell Univ. Press, Ithaca, NY, P. 367-381.

**Yaniv. Z., Shabelsky. E and Schafferman. D (1999)** Colocynth: Potential arid land oilseed from an ancient Cucurbit.P.257-261.