

DOI:10.22144/ctu.jvn.2023.071

TÁI SINH CHỒI CÂY DƯA LƯỚI (*Cucumis melo* L.) *in vitro* TỪ TỬ DIỆP

Cao Thị Như¹, Lê Minh Lý^{2*}, Nguyễn Văn Ấy² và Võ Thị Bích Thủy²

¹Lớp Cao học Khoa học Cây trồng, Khóa 27, Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

²Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ

*Người chịu trách nhiệm về bài viết: Lê Minh Lý (email: minhly@ctu.edu.vn)

Thông tin chung:

Ngày nhận bài: 01/11/2022

Ngày nhận bài sửa: 25/12/2022

Ngày duyệt đăng: 28/12/2022

Title:

In vitro Shoot Regeneration of *Cucumis melo* L. from Cotyledons

Từ khóa:

Cucumis melo L., dưa lưới, nhân chồi, tái sinh chồi, tạo rễ, tử diệp

Keywords:

Cotyledon, *Cucumis melo* L., shoot regeneration, shoot proliferation, root induction

ABSTRACT

This study was carried out to determine the optimum concentrations of plant growth regulators (BA, kinetin, IBA and NAA) which are suitable for shoot regeneration from cotyledons, multiplication and rooting of cantaloupe *in vitro*. The experiments were taken place in Laboratory of Plant Tissue Culture, College of Agriculture, Can Tho University. It consisted of three experiments using completely randomized design with two factors including shoot regeneration from cotyledons sections, shoot proliferation, and rooting of cantaloupe *in vitro*. The results showed that the cotyledons at proximal (seedlings 3 days after sowing) on Murashige and Skoog medium supplemented with BA 0.5 mg/L obtained a high rate of shoot regeneration 97.5% after 3 weeks; Murashige and Skoog medium supplemented with Kinetin 1.0 mg/L and BA 0.5 mg/L was effective for the rapid proliferation of shoots *in vitro* with 3.4 shoots and IBA 0.5 mg/L was favorable for root induction (78.1% and 3.8 roots) of cantaloupe shoots which were regenerated *in vitro* from cotyledons.

TÓM TẮT

Nghiên cứu được thực hiện nhằm tìm ra nồng độ các chất điều hòa sinh trưởng (BA, Kinetin, IBA và NAA) thích hợp cho quá trình tái sinh chồi, nhân chồi và tạo rễ *in vitro* của chồi dưa lưới tái sinh từ tử diệp. Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng nuôi cấy mô của trường Nông nghiệp, trường Đại học Cần Thơ. Nghiên cứu gồm 3 thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 2 nhân tố gồm tái sinh chồi trực tiếp từ tử diệp, nhân chồi và tạo rễ *in vitro* cây dưa lưới. Kết quả cho thấy tử diệp ở vùng gần phôi (3 ngày sau khi gieo) nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung BA 0,5 mg/L cho tỷ lệ tái sinh chồi là 97,5% sau 3 tuần nuôi cấy; môi trường MS + Kinetin 1,0 mg/L + BA 0,5 mg/L cho hiệu quả nhân chồi dưa lưới tốt nhất với 3,4 chồi; môi trường MS bổ sung IBA 0,5 mg/L thích hợp tạo rễ *in vitro* cây dưa lưới tái sinh từ tử diệp (78,1% và 3,8 rễ) sau 3 tuần.

1. GIỚI THIỆU

Dưa lưới (*Cucumis melo* L.) là một trong những loài quan trọng của họ bầu bí (*Cucurbitaceae*) (Gill et al., 2011). Dưa lưới có thời gian sinh trưởng ngắn,

trồng được nhiều vụ trong năm với năng suất dao động từ 20 đến 30 tấn/ha (Khoa học công nghệ (CESTI), 2019). Hiện nay, dưa lưới rất được ưa chuộng, có giá trị kinh tế cao và nhiều chất dinh

dưỡng tốt cho sức khỏe (Keng & Hoong, 2006; Lin et al., 2011). Nhiều nghiên cứu khác nhau đã cho thấy dưa lưới là một trái cây ngon, cung cấp nhiều dinh dưỡng và có chức năng y học (Milind & Kulwant, 2011; Vishwakarma et al., 2017). Trái dưa lưới có chứa hàm lượng lớn các chất dinh dưỡng như vitamin C, vitamin E, β -carotene, acid folic, kali và các vi lượng thiết yếu khác (Craig, 2006) giúp cải thiện sức khỏe, giảm nguy cơ bệnh ung thư và một số bệnh mãn tính khác (Ong et al., 2019).

Nhân giống bằng nuôi cấy mô đang được xem là một công cụ đắc lực trong nhân giống cây trồng, là phương pháp giúp nhân nhanh số lượng, tạo cây sạch bệnh và thời gian sản xuất được rút ngắn (Kiên, 2002). Trong đó, công đoạn tái sinh cây *in vitro* là bước rất quan trọng để thực hiện thành công các kỹ thuật của công nghệ sinh học trong chương trình cải thiện giống (Pati et al., 2005). Tái sinh chồi từ tử diệp là một trong những phương pháp cho hiệu quả tạo chồi cao trong môi trường cấy *in vitro*. Tái sinh chồi từ tử diệp cũng tuân theo nguyên tắc chung của nuôi cấy mô là dựa trên khả năng phân hóa và phân phân hóa của tế bào thực vật (Duệ, 2005). Đến nay, các nghiên cứu về nhân giống *in vitro* trên họ bầu bí dưa ở Việt Nam chủ yếu được thực hiện trên dưa hấu và khổ qua nhưng các nghiên cứu nhân giống dưa lưới *in vitro* chưa được công bố nhiều. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm góp phần trong việc chủ động cung cấp nguồn cây giống chất lượng cao vào thực tiễn sản xuất và làm tiền đề cho những nghiên cứu về chọn tạo giống dưa lưới sau này.

2. PHƯƠNG TIỆN VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Phương tiện

Thí nghiệm được thực hiện tại Phòng nuôi cấy mô (nhiệt độ 25°C, cường độ ánh sáng 2000 lux, chu kỳ quang 16 giờ/ngày) của Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ từ tháng 7/2021 đến tháng 9/2022. Thí nghiệm được thực hiện trên giống dưa lưới F1 ML238 của công ty Number One.

Hóa chất: NaOCl, muối khoáng đa - vi lượng (Trung Quốc), vitamin, chất điều hòa sinh trưởng thực vật BA (6-Benzyl adenine), kinetin, NAA (α -naphthalene acetic acid), IBA (Indole-3-butyric acid) (Merck).

2.2. Phương pháp

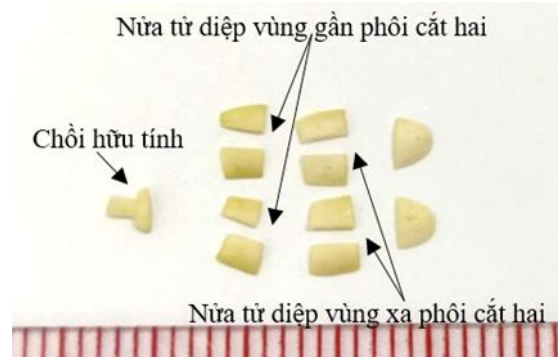
Chuẩn bị môi trường: Môi trường nền được sử dụng là môi trường MS (Murashige & Skoog, 1962) bổ sung sucrose (30 g/L), agar (7,0 g/L), nước dừa tươi (100 ml/L), thiamin (1,0 mg/L), pyridoxin (1,0 mg/L) và nicotinic acid (1,0 mg/L). Tùy từng thí

nghiệm mà chất điều hòa sinh trưởng được bổ sung ở nồng độ khác nhau. pH của môi trường được điều chỉnh về 5,7-5,8. Thí nghiệm 1, môi trường được chuẩn bị trong các bình tam giác 250 mL (khoảng 150 mL/bình) và được rót vào đĩa petri sau khi thanh trùng (20 mL/đĩa). Thí nghiệm 2 và 3, môi trường được rót 40 mL/keo đầy nắp có lỗ (đường kính lỗ 1 cm) được lót giấy bên trong và ngoài nắp. Tất cả môi trường nuôi cấy được hấp thanh trùng ở nhiệt độ 121°C, áp suất 1 atm trong 20 phút.

Vô trùng mẫu cây: hạt dưa lưới được ngâm 20 phút trong nước ấm (nhiệt độ khoảng 50°C), tiếp theo hạt được rửa bằng cồn 70° trong 1 phút và rửa lại bằng nước cất đã khử trùng 3 lần. Các hạt này được ngâm trong dung dịch NaClO 5% trong 10 phút, sau đó rửa lại bằng nước cất khử trùng 3 lần. Sau khi khử trùng hạt, vỏ hạt được tách và khử lại bằng dung dịch NaClO 5% trong 5 phút, tiếp theo rửa sạch bằng nước cất vô trùng 3-4 lần. Hạt sau khi khử trùng được cấy vào môi trường MS bổ sung BA 0,2 mg/L (mỗi keo chứa 5 hạt) và được đặt trong điều kiện tối.

Thí nghiệm 1: Hiệu quả của BA và NAA lên sự tái sinh chồi dưa lưới từ tử diệp

Vật liệu thí nghiệm: Hạt dưa lưới ở độ tuổi 3 ngày sau khi gieo được cắt bỏ trục hạ diệp chỉ để lại khoảng 2 mm phía gần phôi, sau đó cắt riêng chồi hữu tính và cắt bỏ phần rìa của tử diệp. Phần còn lại của tử diệp được cắt làm hai phần bằng nhau gồm vùng gần (gần phôi) và vùng xa (xa phôi). Tiếp tục cắt đôi các nửa tử diệp vùng gần và vùng xa (Hình 1).



Hình 1. Cách cắt tử diệp dưa lưới để theo dõi khả năng tái sinh chồi

Bố trí thí nghiệm: thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 2 nhân tố với 4 nồng độ BA (0,0; 0,5; 1,0 và 2,0 mg/L) và 3 nồng độ NAA (0,0; 0,1 và 0,2 mg/L), gồm 12 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 5 lần lặp lại, mỗi lần lặp lại 2 đĩa petri,

mỗi đĩa petri cấy 1 hạt (4 mẫu vùng gần và 4 mẫu vùng xa). Mẫu cấy được đặt trong tủ tối 1 tuần sau đó chuyển ra điều kiện ánh sáng phòng cấy mô.

Thí nghiệm 2: Hiệu quả của Kinetin và BA lên sự nhân chồi dưa lưới sau khi tái sinh từ tử diệp

Vật liệu: chồi dưa lưới thu được từ thí nghiệm 1 có chiều cao từ 0,7- 0,8 cm, được cấy trên môi trường MS không chứa chất điều hòa sinh trưởng khoảng 1 tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

Bố trí thí nghiệm: thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 2 nhân tố với 4 nồng độ Kinetin (0,0, 0,5, 1,0 và 1,5 mg/L) kết hợp với 3 nồng độ BA (0,0, 0,5 và 1,0 mg/L) gồm 12 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 4 lần lặp lại, 2 keo/lặp lại, mỗi keo chứa 4 mẫu.

Thí nghiệm 3: Hiệu quả của NAA và IBA đến khả năng tạo rễ của chồi dưa lưới

Vật liệu: chồi dưa lưới sau giai đoạn nhân nhanh, có chiều cao từ 1,0 đến 1,2 cm, được cấy trên môi trường MS không chứa chất điều hòa sinh trưởng khoảng 1 tuần trước khi bố trí thí nghiệm.

Bố trí thí nghiệm: thí nghiệm được bố trí theo thể thức hoàn toàn ngẫu nhiên 2 nhân tố với 2 loại auxin (NAA, IBA) tương ứng với 5 nồng độ (0,0; 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mg/L) gồm 10 nghiệm thức, mỗi nghiệm thức 4 lần lặp lại, 2 keo/lặp lại, mỗi keo chứa 4 mẫu.

Các chỉ tiêu theo dõi:

Tỷ lệ (%) mẫu tạo chồi = số mẫu tạo chồi/tổng số mẫu cấy, số chồi (đếm tất cả chồi > 0,2 cm), chiều cao chồi (cm) (đo từ gốc đến phần chóp ngọn cao nhất), tỷ lệ (%) mẫu tạo rễ = số mẫu tạo rễ/tổng số mẫu cấy, số rễ và chiều dài rễ (cm) (đo từ gốc đến chóp rễ dài nhất). Các số liệu được ghi nhận 1, 2 và 3 tuần sau khi cấy (SKC).

Các số liệu được xử lý bằng chương trình Microsoft Excel, phân tích phương sai ANOVA và kiểm định DUNCAN ở mức ý nghĩa 1% và 5% bằng phần mềm SPSS 22.0. Các số liệu là tỷ lệ phần trăm, trong khoảng biến động từ 0% đến 100% được chuyển đổi sang ArcSin√x trước khi phân tích thống kê theo công thức:

$ASIN(\sqrt{x}/10) \times 180/3,1416$. Các giá trị là 0% được thay thế bởi 1/4n và giá trị 100% được thay thế bởi 100-1/4n, trong đó n là số mẫu để tính phần trăm, x là giá trị phần trăm cần chuyển đổi (Gomez & Gomez, 1984).

Các số liệu là chiều cao gia tăng, số chồi gia tăng được tính theo công thức sau:

Giá trị gia tăng = giá trị sau – giá trị ban đầu.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Hiệu quả của BA và NAA lên sự tái sinh chồi dưa lưới từ tử diệp

Kết quả quan sát ở tuần đầu tiên cho thấy tất cả các nghiệm thức chưa có sự cảm ứng tạo chồi, từ tuần thứ hai mẫu cấy mới bắt đầu xuất hiện sự cảm ứng này. Sự tạo mô sẹo và cảm ứng tạo chồi ổn định vào tuần thứ ba. Tử diệp vùng gần có tỷ lệ cảm ứng tạo chồi cao hơn so với tử diệp vùng xa trên cùng loại môi trường và điều kiện nuôi cấy (Hình 2). Kết quả này phù hợp với nhận định của Lý et al. (2013) trong nuôi cấy tử diệp dưa hấu, hai vị trí của tử diệp cho khả năng tái sinh chồi trực tiếp rất khác nhau, vùng gần của tử diệp có khả năng tái sinh tốt hơn và Han et al. (2004) vị trí phát sinh chồi thường gặp tái sinh từ tử diệp là ngay rìa của vết cắt phía gần phôi. Theo Wehner (2007), có thể do tử diệp có chức năng chủ yếu là dự trữ dinh dưỡng để nuôi phần phôi khi hạt nảy mầm nên dinh dưỡng và năng lượng cũng có xu hướng tập trung về vùng gần phôi. Vì vậy, kết quả thí nghiệm này chỉ trình bày sự cảm ứng tạo chồi của tử diệp ở vùng gần phôi.



Hình 2. Mẫu tử diệp vùng gần phôi và xa phôi sau 2 tuần nuôi cấy

3.1.1. Tỷ lệ (%) mẫu tử diệp vùng gần cảm ứng tạo chồi

Kết quả Bảng 1 vào thời điểm 3 tuần SKC, tỷ lệ mẫu cảm ứng tạo chồi cao nhất ở nồng độ BA 0,5 mg/L và 1,0 mg/L là 32,5% có khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với môi trường không bổ sung BA và môi trường bổ sung BA 2,0 mg/L. Khi nồng độ BA tăng dần lên 2,0 mg/L thì tỷ lệ mẫu cảm ứng tạo chồi giảm dần, điều này theo Toàn (2010) giải thích là do nồng độ BA cao sẽ ức chế sự tạo chồi. Giữa ba nồng độ NAA, môi trường có nồng độ NAA 0,0 mg/L cho tỷ lệ cảm ứng tạo chồi cao nhất là 55,6%, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với

môi trường có nồng độ NAA 0,1 và 0,2 mg/L có tỷ lệ cảm ứng tạo chồi lần lượt là 7,5% và 5,6%.

Bảng 1 còn cho thấy có sự tương tác giữa bốn nồng độ BA và ba nồng độ NAA đối với tỷ lệ cảm ứng tạo chồi. Nghiệm thức BA 0,5 mg/L + NAA 0,0 mg/L cho tỷ lệ mẫu cảm ứng chồi cao nhất là 97,5%, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với các nghiệm thức còn lại. Đối với các nghiệm thức BA (0,0 và 0,5) mg/L + NAA (0,1 và 0,2) mg/L không có cảm ứng tạo chồi, bên cạnh đó ở nghiệm thức nồng độ BA (0,0 mg/L) + NAA (0,0; 0,1 và 0,2) mg/L mẫu cây tạo nhiều rễ và mẫu cây tạo nhiều mô sẹo màu trắng to, xốp, bở (Hình 3 A và B). Đây là dạng mô sẹo khó tái sinh chồi (Akashi et al., 2005), sự hình thành khối mô sẹo này là không cần thiết trong quá trình tái sinh chồi trực tiếp nên cần chuyển các mô sẹo sang môi trường tái sinh mới (Mendi et al., 2009). Tuy nhiên, ở các nghiệm thức BA (1,0 và 2,0) mg/L + NAA (0,1 và 0,2) mg/L, mẫu cây có cảm ứng tạo chồi, nhưng các cảm ứng tạo chồi thường nhỏ, không đồng đều, khó hình thành chồi (Hình 3C).

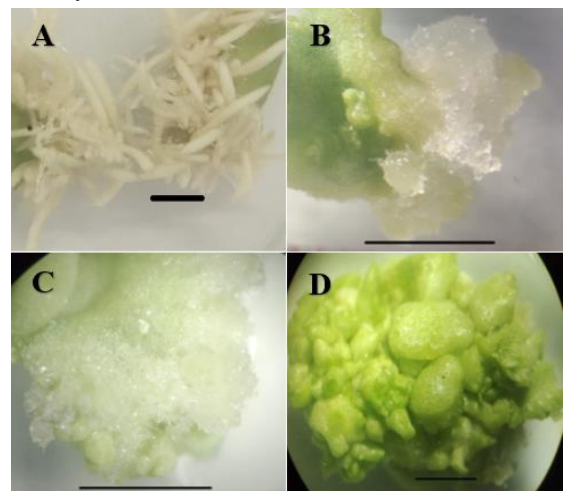
Bảng 1. Tỷ lệ (%) mẫu cảm ứng tạo chồi của tử diệp vùng gân dưa lưới trên môi trường có nồng độ BA và nồng độ NAA khác nhau ở 3 tuần nuôi cấy

Nồng độ BA (mg/L) (A)	Nồng độ NAA (mg/L) (B)			Trung bình (A)
	0,0	0,1	0,2	
0,0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
0,5	97,5 ^a	0,0 ^c	0,0 ^c	32,5 ^a
1,0	85,0 ^b	7,5 ^e	5,0 ^e	32,5 ^a
2,0	40,0 ^c	22,5 ^d	17,5 ^d	26,7 ^b
Trung bình (B)	55,6 ^a	7,5 ^b	5,6 ^b	
F _A		**		
F _B		**		
F _{A×B}		**		
CV (%)		20,5		

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; **: khác biệt ý nghĩa 1%.

Như vậy, môi trường MS + BA 0,5 mg/L cho tỷ lệ cảm ứng chồi dưa lưới cao nhất là 97,5% ở 3 tuần SKC (Hình 3D). Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Bình (2011), môi trường MS + BA 0,5 mg/L cho tỷ lệ tái sinh chồi dưa lê cao nhất là 58,3% sau 4 tuần nuôi cấy. Tuy nhiên, theo Zhang et al. (2011), môi trường MS bổ sung BA 1,5 mg/L + IAA 0,1 mg/L là môi trường thích hợp nhất cho quá trình cảm ứng tạo chồi dưa lưới (97,5%). Kết quả thí nghiệm cho thấy khi môi trường nuôi cấy bổ sung

NAA đã kim hãm quá trình tái sinh chồi do NAA kích thích hình thành nhiều mô sẹo và tạo nhiều rễ, giống như kết quả nghiên cứu tử diệp dưa hấu của Krug et al. (2005). Khả năng tái sinh chồi của các mảnh tử diệp giảm đáng kể khi bổ sung NAA hoặc IAA trong môi trường nuôi cấy. Bên cạnh đó, những mẫu cây cảm ứng tạo chồi sau 4 tuần vẫn chưa hình thành chồi hoàn chỉnh. Krug et al. (2005) đã khẳng định những chồi tái sinh có kích thước nhỏ và xuất hiện muộn, mặc dù có thể quan sát rõ nhưng rất khó để kéo dài và tạo cây hoàn chỉnh. Theo Najla et al. (2007), một số chồi biến dạng sẽ chịu quá trình loại thải. Để cải thiện số chồi nên tiếp tục chuyển các cảm ứng tạo chồi của thí nghiệm một sang môi trường bổ sung Kinetin 0,2 mg/L để kéo dài chồi và tạo cây hoàn chỉnh.



Hình 3. Sự phát sinh hình thái của mẫu tử diệp dưa lưới trên môi trường có bổ sung BA và NAA ở 3 tuần SKC

Mẫu cây tạo rễ trên môi trường NAA 0,2 mg/L, (B) mẫu cây tạo mô sẹo trên môi trường BA 0,5 mg/L + NAA 0,1 mg/L, (C) mẫu cây cảm ứng tạo chồi trên môi trường BA 2,0 mg/L + NAA 0,1 mg/L và (D) mẫu cây cảm ứng tạo chồi trên môi trường BA 0,5 mg/L của tử diệp dưa lưới. Bars = 0,5 cm

3.2. Hiệu quả của Kinetin và BA lên sự nhân chồi dưa lưới sau khi tái sinh từ tử diệp

3.2.1. Số chồi gia tăng

Các chồi dưa lưới sau 1 tuần nuôi cấy bắt đầu thích nghi với môi trường, nhưng chưa có sự hình thành chồi mới. Đến tuần thứ hai mới có sự xuất hiện chồi, tuy nhiên chỉ thấy rõ và ổn định ở tuần thứ ba (Bảng 2). Vào thời điểm 3 tuần SKC, ở nồng độ Kinetin 1,0 mg/L có số chồi gia tăng cao nhất là 2,7 chồi, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với ba nồng độ còn lại và nồng độ Kinetin 1,5 mg/L có số

chồi gia tăng thấp nhất là 0,4 chồi. Nồng độ BA 0,5 mg/L có số chồi gia tăng cao nhất là 1,6 chồi, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với hai nồng độ BA còn lại. Môi trường không bổ sung Kinetin và BA có số chồi gia tăng dao động từ 0,7 đến 0,8 chồi.

Bảng 2. Số chồi gia tăng của chồi dưa lưới tái sinh từ tử diệp trên môi trường có nồng độ Kinetin và BA khác nhau ở thời điểm 3 tuần nuôi cấy

Nồng độ Kinetin (mg/L) (A)	Nồng độ BA (mg/L) (B)			Trung bình (A)
	0,0	0,5	1,0	
0,0	0,5 ^{cd}	0,9 ^c	0,6 ^{cd}	0,7 ^c
0,5	0,8 ^c	1,4 ^b	0,8 ^{cd}	1,0 ^b
1,0	1,5 ^b	3,4 ^a	3,2 ^a	2,7 ^a
1,5	0,3 ^d	0,5 ^{cd}	0,4 ^d	0,4 ^d
Trung bình (B)	0,8 ^c	1,6 ^a	1,3 ^b	
F _A		**		
F _B		**		
F _{A×B}		**		
CV (%)		26,6		

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; **: khác biệt ý nghĩa 1%.

Có sự tương tác giữa bốn nồng độ Kinetin và 3 nồng độ BA đối với số chồi gia tăng. Nghiệm thức Kinetin 1,0 mg/L + BA 0,5 mg/L và Kinetin 1,0 mg/L + BA 1,0 mg/L có số chồi gia tăng cao lần lượt là 3,4 và 3,2 chồi, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với các nghiệm thức còn lại. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Bình (2011), môi trường Kinetin 1,0 mg/L + BA 0,5 mg/L có số chồi dưa lê cao nhất là 1,6 chồi sau 3 tuần nuôi cấy. Khi môi trường nuôi cấy có bổ sung các chất điều hòa sinh trưởng thực vật Kinetin, BA và NAA kết hợp với nhau đã làm cho hệ số nhân chồi của chồi tăng lên rõ rệt (Huidrom et al., 2013). Theo Lộc (2011), nhóm chất điều hòa sinh trưởng cytokinin (BAP, kinetin, zeatin...) có vai trò kích thích quá trình tạo chồi trong nuôi cấy *in vitro*, trong đó BAP và kinetin thường được sử dụng do chúng có hoạt tính cao và bền với nhiệt. Các chồi phát triển thành cụm chồi, các chồi xuất hiện sau thường có kích thước nhỏ và xếp chồng lên nhau. Theo Chon (2010), cytokinin có khả năng kích thích chồi bên và vượt qua ưu thế chồi ngọn gây nên sự phát triển cụm chồi. Đối với nghiệm thức không bổ sung Kinetin và BA, mẫu cấy có số chồi gia tăng là 0,5 chồi, chồi xanh, to và ít mô sẹo. Những nghiệm thức Kinetin 1,5 mg/L + BA (0,0, 0,5 và 1,0) mg/L có số chồi gia tăng thấp, cho thấy khi nồng độ cytokinin cao thì số chồi giảm. Điều này có thể giải thích do khả năng tạo chồi còn

tùy thuộc vào giống, mẫu cấy... cũng như môi trường, kỹ thuật nuôi cấy khác nhau. Theo Lượng và Tiên (2002), nhu cầu về loại và nồng độ cytokinin rất khác nhau đối với một số loại cây.

3.2.2. Chiều cao gia tăng

Bảng 3 cho thấy ở thời điểm 3 tuần SKC, Kinetin bổ sung vào môi trường nuôi cấy có ảnh hưởng đến chiều cao gia tăng của chồi dưa lưới, chiều cao gia tăng cao nhất ở Kinetin 0,0 mg/L là 1,0 cm, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với ba nồng độ còn lại. Môi trường có nồng độ Kinetin 1,5 mg/L có chiều cao chồi gia tăng thấp nhất 0,7 cm. Ba nồng độ BA khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau, nồng độ BA 0,0 mg/L có chiều cao gia tăng là 0,9 cm, nồng độ BA 0,5 mg/L và BA 1,0 mg/L có chiều cao gia tăng là 0,8 cm.

Bảng 3. Chiều cao gia tăng (cm) của chồi dưa lưới tái sinh từ tử diệp trên môi trường có nồng độ Kinetin và BA khác nhau ở thời điểm 3 tuần nuôi cấy

Nồng độ Kinetin (mg/L) (A)	Nồng độ BA (mg/L) (B)			Trung bình (A)
	0,0	0,5	1,0	
0,0	1,2 ^a	0,9 ^b	0,8 ^{bc}	1,0 ^a
0,5	0,7 ^d	0,9 ^b	0,9 ^b	0,8 ^b
1,0	0,9 ^b	0,8 ^{bc}	0,8 ^{bc}	0,9 ^b
1,5	0,7 ^c	0,7 ^c	0,8 ^{bc}	0,7 ^c
Trung bình (B)	0,9	0,8	0,8	
F _A		**		
F _B		ns		
F _{A×B}		**		
CV (%)		8,4		

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; **: khác biệt ý nghĩa 1%; ns: khác biệt không có ý nghĩa.

Có sự tương tác giữa nồng độ Kinetin và BA đến chiều cao gia tăng của chồi dưa lưới, nghiệm thức Kinetin 0,0 mg/L + BA 0,0 mg/L có chiều cao gia tăng cao nhất là 1,2 cm, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với các nghiệm thức còn lại. Chiều cao gia tăng giữa các nghiệm thức còn lại dao động từ 0,7 cm đến 0,9 cm. Điều này cho thấy môi trường bổ sung cytokinin đã gây hạn chế sự phát triển chiều cao của chồi dưa lưới nhưng phát sinh chồi phụ. Điều này phù hợp với nhận định của Hòa và Toàn (2005), khi nồng độ cytokinin cao sẽ kích thích phát triển chồi bên và làm hạn chế chiều cao của chồi. Chính vì bị kích thích tạo chồi nên sự phát triển chiều cao chồi bị giới hạn (Lượng và Tiên, 2002). Nhận thấy môi trường nuôi cấy có bổ sung Kinetin

cho chiều cao chồi tốt hơn BA đồng thời giảm sự hình thành mô sẹo ở mẫu cây, tuy nhiên môi trường bổ sung BA cho số chồi cao hơn. Bên cạnh đó, ở môi trường không bổ sung BA và Kinetin, nhận thấy chồi dưa lưới có sự phát sinh rễ, có thể thấy trong tế bào dưa lưới vẫn có auxin nội sinh kích thích tạo rễ.

Ở thời điểm 2 tuần SKC, lá của các nghiệm thức kinetin 1,5 mg/L + BA (0,0; 0,5 và 1,0 mg/L) bắt đầu vàng từ dưới lên, những nghiệm thức còn lại lá vẫn xanh. Như vậy, môi trường Kinetin 0,0 mg/L + BA 0,0 mg/L có chiều cao gia tăng cao nhất là 1,2 cm sau 3 tuần nuôi cấy (Hình 4).



Hình 4. Hiệu quả của Kinetin và BA lên sự nhân chồi dưa lưới sau khi tái sinh từ tử diệp ở 3 tuần sau khi cấy

(A) Kinetin 0,0 mg/L; (B) Kinetin 0,5 mg/L; (C) Kinetin 1,0 mg/L; (D) Kinetin 1,5 mg/L; (E) Kinetin 0,0 mg/L + BA 0,5 mg/L; (F) Kinetin 0,5 mg/L + BA 0,5 mg/L; (G) Kinetin 1,0 mg/L + BA 0,5 mg/L; (H) Kinetin 1,5 mg/L + BA 0,5 mg/L; (I) Kinetin 0,0 mg/L + BA 1,0 mg/L; (J) Kinetin 0,5 mg/L + BA 1,0 mg/L; (K) Kinetin 1,0 mg/L + BA 1,0 mg/L; (L) Kinetin 1,5 mg/L + BA 1,0 mg/L.

3.3. Hiệu quả của NAA và IBA đến khả năng tạo rễ của chồi dưa lưới

3.3.1. Tỷ lệ (%) tạo rễ

Các chồi dưa lưới sau một tuần nuôi cấy đã bắt đầu xuất hiện mô sẹo và tạo rễ, đến tuần thứ hai tỷ lệ (%) mẫu cây tạo rễ đã ổn định. Quan sát kết quả Bảng 4 cho thấy ở 2 tuần SKC, hai loại auxin IBA hay NAA khi sử dụng cho tỷ lệ tạo rễ lần lượt là 41,9% và 38,1%, khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau. Đối với năm nồng độ auxin, nồng độ 0,5 mg/L có tỷ lệ tạo rễ cao nhất là 81,3%, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% với các nồng độ còn lại.

Khi nồng độ auxin tăng từ 1,0 mg/L đến 2,0 mg/L thì tỷ lệ tạo rễ giảm dần từ 48,4% còn 15,6%. Có sự tương tác giữa hai loại auxin (IBA và NAA) và năm nồng độ auxin đến tỷ lệ tạo rễ. Trong đó, tỷ lệ mẫu tạo rễ cao nhất ở nghiệm thức NAA 0,5 mg/L và IBA 0,5 mg/L khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nhau, tỷ lệ mẫu tạo rễ lần lượt là 84,4% và 78,1%, bên cạnh đó thì khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% với các nghiệm thức còn lại. Đối với nghiệm thức không bổ sung auxin, tỷ lệ tạo rễ dao động 34,4% đến 37,5%. Tỷ lệ tạo rễ thấp nhất ở nghiệm thức NAA 2,0 mg/L là 12,5%.

Bảng 4. Tỷ lệ (%) tạo rễ của cây dưa lưới tái sinh từ tử diệp trên môi trường có nồng độ NAA và IBA khác nhau ở thời điểm 2 tuần nuôi cấy

Loại auxin (A)	Nồng độ auxin (mg/L) (B)					Trung bình (A)
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	
IBA	34,4 ^{cd}	78,1 ^a	56,3 ^b	21,9 ^{de}	18,8 ^e	41,9
NAA	37,5 ^c	84,4 ^a	40,6 ^c	15,6 ^e	12,5 ^e	38,1
Trung bình (B)	36,0 ^c	81,3 ^a	48,4 ^b	18,8 ^d	15,6 ^d	
F _A			ns			
F _B			**			
F _{A×B}			*			
CV (%)			31,9			

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; *: khác biệt ý nghĩa 5%; **: khác biệt ý nghĩa 1%; ns: khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.3.2. Số rễ

Ở thời điểm 3 tuần SKC, giữa 2 loại auxin, mẫu cây ở môi trường NAA có 2,5 rễ khác biệt thống kê

ở mức ý nghĩa 5% so với ở IBA có 1,8 rễ. Giữa các nồng độ auxin, nồng độ 0,5 mg/L có số rễ cao nhất là 4,4 rễ, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 5% so

với các nồng độ còn lại (Bảng 5). Khi nồng độ auxin tăng dần từ 1,0 mg/L đến 2,0 mg/L, số rễ giảm dần từ 3,9 rễ còn 0,4 rễ. Có sự tương tác giữa hai loại auxin và năm nồng độ, nghiệm thức NAA 0,5 mg/L và NAA 1,0 mg/L có số rễ cao lần lượt là 4,9 rễ và

4,8 rễ, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với các nghiệm thức còn lại. Nghiệm thức không bổ sung auxin số rễ dao động từ 1,1 đến 1,2 rễ. Nghiệm thức có số rễ thấp nhất là IBA 2,0 mg/L là 0,3 rễ.

Bảng 5. Số rễ của cây dưa lưới tái sinh từ tử diệp trên môi trường có nồng độ NAA và IBA khác nhau ở thời điểm 3 tuần nuôi cấy

Loại auxin (A)	Nồng độ auxin (mg/L) (B)					Trung bình (A)
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	
IBA	1,1 ^d	3,8 ^b	2,9 ^c	0,6 ^c	0,3 ^c	1,8 ^b
NAA	1,2 ^d	4,9 ^a	4,8 ^a	1,0 ^d	0,5 ^c	2,5 ^a
Trung bình (B)	1,1 ^c	4,4 ^a	3,9 ^b	0,8 ^d	0,4 ^d	
F _A			*			
F _B			*			
F _{A×B}			**			
CV(%)			12,3			

Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; *: khác biệt ý nghĩa 5%; **: khác biệt ý nghĩa 1%

3.3.3. Chiều dài rễ

Theo kết quả Bảng 6 cho thấy 3 tuần SKC, giữa 2 loại auxin IBA và NAA, mẫu cây có chiều dài rễ lần lượt là 3,1 cm và 1,8 cm, có khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1%. Giữa các nồng độ auxin, nồng độ 0,5 mg/L có chiều dài rễ cao nhất là 4,9 cm khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với các nồng độ còn lại, chiều dài rễ thấp nhất ở nồng độ 2,0 mg/L là

0,8 cm. Có sự tương tác giữa hai loại auxin và năm nồng độ auxin đến chiều dài rễ cây dưa lưới cây mô. Nghiệm thức IBA 0,5 mg/L chiều dài rễ là 5,8 cm, khác biệt thống kê ở mức ý nghĩa 1% so với các nghiệm thức còn lại. Ở nghiệm thức không bổ sung auxin, chiều dài rễ dao động từ 2,0 cm đến 1,6 cm. Nghiệm thức NAA 2,0 mg/L có chiều dài rễ ngắn nhất là 0,6 cm.

Bảng 6. Chiều dài rễ của cây dưa lưới tái sinh từ tử diệp trên môi trường có nồng độ NAA và IBA khác nhau ở thời điểm 3 tuần nuôi cấy

Loại auxin (A)	Nồng độ auxin (mg/L) (B)					Trung bình (A)
	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0	
IBA	2,6 ^{bc}	5,8 ^a	4,8 ^{ab}	1,5 ^c	1,0 ^d	3,1 ^a
NAA	2,0 ^c	3,9 ^b	1,9 ^c	0,7 ^d	0,6 ^d	1,8 ^b
Trung bình (B)	2,3 ^c	4,9 ^a	3,4 ^b	1,1 ^d	0,8 ^d	
F _A			**			
F _B			**			
F _{A×B}			**			
CV(%)			24,3			

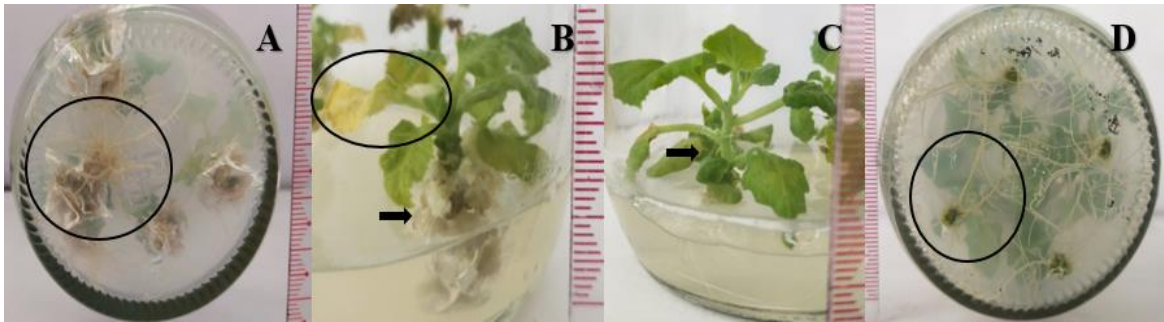
Ghi chú: Các số có chữ theo sau giống nhau thì khác biệt không có ý nghĩa thống kê qua phép thử Duncan; **: khác biệt ý nghĩa 1%.

Kết quả thí nghiệm 3 cho thấy khi bổ sung NAA cho kết quả tỷ lệ tạo rễ cũng như số rễ/mẫu cao hơn so với IBA. Tuy nhiên, khi quan sát cũng như quá trình thực hiện thí nghiệm thì môi trường MS bổ sung NAA có tỷ lệ tạo rễ rất cao, tuy nhiên lá bị vàng, tạo mô sẹo lớn ở gốc chồi, rễ to mọc từ mô sẹo, rễ sần sùi, giòn và hầu hết bị gãy khi chuyển từ môi trường thạch ra môi trường bên ngoài (Hình 5A và 5B). Khi nồng độ NAA càng tăng, tỷ lệ chồi tạo rễ và chiều dài rễ càng giảm. Mặt khác, môi trường MS bổ sung IBA 0,5 mg/L mẫu cây tạo rễ thấp hơn,

nhưng cây vẫn xanh tốt, ít mô sẹo, rễ dài, ít bị đứt gãy khi lấy ra khỏi môi trường thạch (Hình 5). Theo Hà và ctv. (2021), việc bổ sung NAA vào môi trường nuôi cấy làm giảm tỷ lệ chồi tạo rễ cũng như chiều dài rễ. Như vậy, kết quả cho thấy môi trường tạo rễ thích hợp cho dưa lưới tái sinh từ tử diệp là MS + IBA 0,5 mg/L. Theo Lượng và Tiên (2002), những cây thân thảo nên sử dụng loại auxin có tác dụng yếu như IBA trong suốt quá trình tạo rễ, việc bổ sung IBA là cần thiết cho sự tạo rễ họ bầu bí dưa (Venkatachalam et al., 2018). Nhiều nhà nghiên cứu

đã báo cáo ở các loại cây họ bầu bí dưa khi sử dụng IBA sẽ kích thích tạo rễ tốt hơn các loại auxin khác (Ahmed & Anis, 2005; Karim et al., 2010; Nahar et al., 2010). Bên cạnh đó, chồi dưa lưới có thể tạo rễ trên môi trường MS (Akashi et al., 2005), cây vẫn xanh, sinh trưởng và phát triển bình thường, có

chiều cao gia tăng cao, tuy nhiên thân cây nhỏ hơn so với các nghiệm thức còn lại. Theo nghiên cứu của Trang và ctv. (2021), sự tạo rễ dưa leo xảy ra tốt nhất trên môi trường không bổ sung chất điều hòa sinh trưởng.



Hình 5. Hiệu quả của NAA và IBA đến khả năng tạo rễ của chồi dưa lưới *in vitro* ở 3 tuần sau khi cấy

Ghi chú: (A) và (B) là cây dưa lưới tạo rễ trên môi trường MS + NAA 0,5 mg/L; (C) và (D) là cây dưa lưới tạo rễ trên môi trường MS + IBA 0,5 mg/L

4. KẾT LUẬN VÀ ĐỀ NGHỊ

4.1. Kết luận

Từ diệp vùng gần dưa lưới 3 ngày sau khi gieo, cấy vào môi trường MS bổ sung BA 0,5 mg/L cho hiệu quả tái sinh chồi tốt nhất là 97,5%. Môi trường MS bổ sung Kinetin 1,0 mg/L + BA 0,5 mg/L cho hiệu quả nhân chồi tốt nhất là 3,4 chồi và môi trường MS + IBA 0,5 mg/L thích hợp tạo rễ cho chồi dưa lưới *in vitro* với tỷ lệ tạo rễ và số rễ lần lượt là 78,1% và 3,8 rễ.

4.2. Đề nghị

Nghiên cứu giai đoạn thuần dưỡng và trồng cây dưa lưới tái sinh từ từ diệp trong điều kiện nhà màng cần tiếp tục thực hiện để hoàn thiện quy trình nhân giống *in vitro*.

LỜI CẢM ƠN

Đề tài được thực hiện thuộc đề tài nghiên cứu khoa học “Xây dựng quy trình nhân giống và trồng dưa tây và dưa lưới tại Mãng Đen” CTCS2022-07 từ nguồn kinh phí nghiên cứu khoa học của Trường Đại học Cần Thơ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Ahmed, N., & Anis, M. (2005). *In vitro* Mass propagation of *Cucumis sativus* L. from nodal segment. *Turk Journal Botany*, 29, 237-240.
- Akashi, K., Morikawa, K., & Yokota, A. (2005). *Agrobacterium*-mediated transformation system for the drought and excess light stress-tolerant wild watermelon (*Citrullus lanatus*). *Plant Biotechnology*, 22, 13-18. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.22.13>
- Bình, T. T. (2011). *Hiệu quả của chất điều hòa sinh trưởng (BA, NAA) lên sự tái sinh chồi từ từ diệp Dưa Lê (Cucumis melo L)*. Luận văn thạc sĩ. Trường Đại học Cần Thơ.
- Chon, N. M. (2010). *Giáo trình Chất điều hòa sinh trưởng thực vật*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
- Craig, R. A. (2006). *Musk melon*. Division of Agriculture. University of Arkansas.
- Duệ, P. V. (2005). *Giáo trình kỹ thuật trồng cây hoa cảnh*. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, Hà Nội.
- Gill, N. S., Bajwa, J., Dhiman, K., Sharma, P., Sood, S., Sharma, P. D., Singh, B. & Bali, M. (2011). Evaluation of therapeutic potential of traditionally consumed *Cucumis melo* seeds. *Asian Journal of Plant Sciences*, 10, 86-91. <https://doi.org/10.3923/ajps.2011.86.91>
- Gomez, K. A., & Gomez, A. A. (1984). *Statistical Producers for Agriculture Research*. John Wiley and Sons, Inc., Singapore.
- Hà, T. T. T., Hằng, L. T. T., & Thủy, D. T. (2021). Nghiên cứu tái sinh chồi *in vitro* cây dưa lưới (*Cucumis melo* L.). *Tạp Chí Khoa Học & Công Nghệ Nông Nghiệp*, 6(2), 2994-3004. <https://doi.org/10.46826/huaf-jasat.v6n2y2022.902>
- Han, J. S., Oh, D. G., Mok, I. G., & Kim, C. K. (2004). Efficient plant regeneration from cotyledon explants of bottle gourd (*Legenaria*

- siceraria Standl.). *Plant Cell Rep*, 23, 291-296. <https://doi.org/10.1007/s00299-004-0846-3>
- Hòa, L. V., & Toàn, N. B. (2005). *Giáo trình Sinh lý thực vật*. Đại học Cần Thơ
- Huidrom S, D., Sanglakpam, I. D., & Thingbaijam, D. S. (2013). High frequency plant regeneration system of *Aerides odorata* Lour, through Foliar and shoot tip culture. *Not Bot Horti Agrobo*, 42(1), 169-176. <https://doi.org/10.15835/nbha4119007>
- Karim, M. A., & Ahmed, S. U. (2010). Somatic embryogenesis and micropropagation in teasel gourd. *International Journal of Environmental Science and Development*, 1(1), 10-14. <https://doi.org/10.7763/IJESD.2010.V1.3>
- Keng, C. L., & Hoong, L. K. (2006). In vitro Plantlets Regeneration from Nodal Segments of Musk Melon (*Cucumis melo* L.). *Biotechnology Journal*, 4(4), 354-357.
- Khoa học công nghệ (CESTI). (2019). Quy trình sản xuất dưa lưới ứng dụng 4.0. Khai thác từ <https://cesti.gov.vn/chi-tiet/9932/mo-hinhcong-nghe-ung-dung-vao-san-xuat/quy-trinh-san-xuat-dua-luoi-ung-dung-cong-nghe-40>.
- Kiên, D. C. (2002). *Nuôi cấy mô thực vật*. Nhà xuất bản Đại Học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh (199 trang).
- Krug, M. G. Z., Stipp, L. C. L., Rodriguez, A. P. M., & Mendens, B. M. (2005). In vitro organogenesis in watermelon cotyledons. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 40(9), 861-865. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2005000900004>
- Lin, Y. T., Lin, C. W., Chung, C. H., Su, M. H., Ho, H. Y., Yeh, S. D., Jan, F. J., & Ku, H. M., (2011). In vitro regeneration and genetic transformation of *Cucumis metuliferus* through cotyledon organogenesis. *Hortscience*, 46(4), 616-621. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.46.4.616>
- Lộc, N. H. (2011). *Nuôi cấy mô tế bào thực vật - các khái niệm và ứng dụng*. Nhà xuất bản Đại học Huế. Trung tâm thông tin và thống kê
- Lượng, N. D., & Tiên, L. T. T. (2002). *Công nghệ tế bào*. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia Thành Phố Hồ Chí Minh.
- Lý, L. M., Phương, L. N., và Ngọc, N. P. (2013). Ảnh hưởng của vị trí tử diệp và benzyl adenin (BA) trên sự tái sinh chồi dưa hấu (*Citrullus vulgaris* Schard). *Kỷ yếu Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc*. Nhà xuất bản Khoa học và công nghệ.
- Mendi, Y. Y., Ipek, M., Buzkan, N., Kacar, Y. A., & Curuk, S. (2009). Regeneration and Histological Analysis of Regeneration in Bottle Gourb (*Lagenaria siceraria* (Molina) Stand.). *Turkey Journal Agriculture For.*, 33, 165-172. <https://doi.org/10.3906/tar-0806-29>
- Milind, P., & Kulwant, S. (2011). Musk melo is eatmust melo. *International Research Journal of Pharmacy*, 8, 52-57.
- Murashige, T., & Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15, 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nahar, E., Haque, M. E., & Sikdar, B. (2010). Comparison of the effects of growth regulators on in vitro regeneration of ridge gourd and sponge gourd through shoot tips. *Journal of Bioscience*, 18, 93-98. <https://doi.org/10.3329/jbs.v18i0.8781>
- Najla, M., Ahmed, J., Nedhra, E., Radhia G. B., & Spiros, K. (2007). Morpho histological study on shoot bud regeneration in cotyledon cultures of pepper (*Capsicum annum*). *Biologia*, 62, 704-710. <https://doi.org/10.2478/s11756-007-0146-9>
- Ong, Y. Q., Harith, S., Shahril, M. R., & Shahidan, N. (2019). Bioactive compounds in cucumis melo L. and its beneficial health effects: a scoping review, 48, 11–23.
- Pati, P. K. M., Sharma, S. M., & Ahuja, P. S. (2005). Direct shoot regeneration from leaf explants of *R damascena* Mill. *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant*: 40(2), 192-195. <https://doi.org/10.1079/IVP2003503>
- Toàn, N. B. (2010). *Giáo trình nuôi cấy mô và tế bào thực vật*. Nhà xuất bản Đại học Cần Thơ.
- Trang, H. T. H., Linh, H. K., Linh, N. T., Duy, T. D., Thảo, L. T. N., Ngọc, P. B., Hà, C. H., & Phát, D. T. (2021). Nghiên cứu khả năng tái sinh và chuyển gen chi thị vào giống dưa chuột Choka F1. TNU. *Journal of Science and Technology*, 226 (01), 83-91.
- Venkatachalam, P., Jinu, U., Sangeetha, P., Geetha, N., & Sahi, S. V. (2018). High frequency plant regeneration from cotyledonary node explants of *Cucumis sativus* L. cultivar ‘Green Long’ via adventitious shoot organogenesis and assessment of genetic fidelity by RAPD-PCR technology. *3 Biotech*, 8(1), 1-12. Doi: 10.1007/s13205- 018-1083-8.
- Vishwakarma, V. K., Gupta, J. K., & Upadhyay, P. K. (2017). Pharmacological importance of *Cucumis melo* L. An overview. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10, 8-12. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i3.13849>
- Wehner, T. C. (2007). Watermelon, Vegetables I Asteraceae, Brassicaceae, Chenopodiaceae, and Cucurbitaceae. *SpringerLink-Book*, Chapter., 1, 381-418.
- Zhang, H., Gao, P., & Luan, Feishi. (2011). Efficient plant regeneration from cotyledonary node explants of *Cucumis melo* L. *African Journal of Biotechnology*, 10(35), 6757-6761.