

УДК 635.621.3:575.224.234
DOI:10.18619/2072-9146-2018-5-13-17

ОБРАЗОВАНИЕ АНОМАЛЬНЫХ ЦВЕТКОВ В ПОТОМСТВЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ КАБАЧКА (*CUCURBITA PEPO* L.)



DEVELOPMENT OF ABNORMAL FLOWERS IN GENERATION OF DOUBLED HAPLOIDS OF SUMMER SQUASH (*CUCURBITA PEPO* L.)

Домблидес Е.А.^{1*} – зав. лабораторией биотехнологии, кандидат с.-х. наук
<https://orcid.org/0000-0002-2695-190X>

Шмыкова Н.А.² – начальник отдела ОФР, доктор с.-х. наук, проф. по специальности биотехнология

Химич Г.А.¹ – с.н.с. лаборатории селекции тыквенных культур

Коротцева И.Б.¹ – зав. лабораторией селекции тыквенных культур, кандидат с.-х. наук

Домблидес А.С.¹ – зав. лабораторией генетики и цитологии, кандидат с.-х. наук
<https://orcid.org/0000-0002-5617-9498>

Domblides E.A.¹ – Ph.D. in Agriculture, Head of Laboratory of Biotechnology

Shmykova N.A.² – Director of OFR Department, Doctor of Sciences, Professor in Biotechnology

Khimich G.A.¹ – Senior Researcher, Laboratory Cucurbits Crop Breeding and Seed Production

Korotseva I.B.¹ – Ph.D. in Agriculture, Head of Laboratory Cucurbits Crop Breeding and Seed Production

Domblides A.S.¹ – Ph.D. in Agriculture, Head of Laboratory of Genetics and Cytology

¹ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства»
143072, Россия, Московская обл., Одинцовский р-н,
п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д. 14

*E-mail: Edomblides@mail.ru

²ООО «Ифар»
634021, Россия, г. Томск, ул. Елизаровых, д. 79/4

¹FSBSI Federal Scientific Vegetable Center
Selectionaya St. 14, VNISSOK, Odintsovo region,
Moscow oblast, 143072, Russia

*E-mail: Edomblides@mail.ru

²LLC Iphar
Elisarovykh St. 79/4, Tomsk, 634021, Russia

Культуру неопыленных семяпочек кабачка *in vitro* использовали для создания полностью гомозиготных линий с целью ускорения селекционного процесса. В результате проведенной оценки по хозяйственно ценным признакам было выделено семь перспективных ДН-линий, полученных из разных селекционных образцов кабачка, отличающихся по форме и окраске плода. Все полученные линии отличались высокой однородностью, сохраняющейся при последующем размножении, и были наделены комплексом хозяйственно ценных признаков. ДН-линии относились к женскому типу и имели до 96% женских цветков и лишь 4% мужских, причем мужские цветки появлялись через две недели после начала цветения женскими цветками, что представляет большую селекционную ценность. На отобранных ДН-линиях было отмечено формирование морфологически аномальных женских и мужских цветков, а также гинандроморфных цветков. За период вегетации на одном растении образовывалось от 26 до 36 цветков, при этом 19–21 штук из них были нормально развитыми женскими цветками, 3–5 штук – нормальными мужскими цветками и до 10–11 штук цветков развивались с той или иной аномалией. Процент уродливых цветков на этих линиях оставался неизменным, как при выращивании этих линий в пленочной теплице, где температура воздуха и влажность была достаточно высокой, так и в условиях открытого грунта. При самоопылении этих линий образование уродливых аномальных цветков наследовалось и проявлялось у потомства. В результате проведенной работы были описаны встречающиеся аномалии в развитии мужских и женских цветков кабачка *C. pepo* L., обнаруженные в ДН-линиях, полученных через культуру неопыленных семяпочек *in vitro*, часть из которых была обнаружена впервые.

Ключевые слова: кабачок (*Cucurbita pepo* L.), ДН-растения, культура неопыленных семяпочек *in vitro*, гиногенез, гаплоиды кабачка, аномальные цветки, гинандроморфные цветки, обоеполые цветки.

Для цитирования: Домблидес Е.А., Шмыкова Н.А., Химич Г.А., Коротцева И.Б., Домблидес А.С. ОБРАЗОВАНИЕ АНОМАЛЬНЫХ ЦВЕТКОВ В ПОТОМСТВЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ КАБАЧКА (*CUCURBITA PEPO* L.). Овощи России. 2018;(5):13-17. DOI:10.18619/2072-9146-2018-5-13-17

The culture of unpollinated ovules *in vitro* in summer squash was used to develop fully homozygous breeding lines with the aim of the speeding-up breeding program. As a result of assessment for economically valuable traits, the seven promising DH-lines obtained from summer squash accessions differed by fruit shapes and colours were selected out. All breeding lines produced showed high homogeneity that retained in following generations and also have an appropriate set of economically valuable traits. DH-lines belonging to female type have up to 96% female flowers and only 4% male flowers. It is very important for breeding when the male flowers appeared in two weeks just after the female flower began blooming. The development of morphologically abnormal female and male flowers, along with gynandromorphy flowers was noted on selected DH-lines. During vegetation period from 26 to 36 flowers appeared on the plant, where out of them 19-21 ones were normally developed female flowers, 3-5 ones were normally developed male flowers, and up to 10-11 ones showed an abnormal way of development. The percentage of abnormal flowers stayed invariable when growing in greenhouse condition with high humidity and temperature as well as in open field condition. As it was shown the development of deformed abnormal flowers inherited and manifested in the following generation after self-pollination. As a result of the study, the occurred anomalies in course of male and female flower development in summer squash (*C. pepo* L.) DH-lines produced through a cultivation of unpollinated ovules *in vitro* were described in details for the first time.

Keywords: summer squash (*Cucurbita pepo* L.), DH-plants, culture of unpollinated ovules *in vitro*, gynogenesis, haploid of summer squash, abnormal flowers, gynandromorphy flowers, bisexual flowers.

For citation: Domblides E.A., Shmykova N.A., Khimich G.A., Korotseva I.B., Domblides A.S. DEVELOPMENT OF ABNORMAL FLOWERS IN GENERATION OF DOUBLED HAPLOIDS OF SUMMER SQUASH (*CUCURBITA PEPO* L.). Vegetable crops of Russia. 2018;(5):13-17. (In Russ.) DOI:10.18619/2072-9146-2018-5-13-17

Введение

Семейство *Cucurbitaceae* является вторым после *Solanaceae* большим семейством овощных культур по экономической важности в мире. Оно включает в себя такие важные культуры, как дыня (*Cucumis melo*), арбуз (*Citrullus lanatus*), огурец (*Cucumis sativus*) и многие виды *Cucurbita* со

съедобными плодами (Jeffrey, 1980). Род *Cucurbita* ($2x = 2n = 40$), возникший в Северной и Южной Америке, включает в себя три экономически важных вида, таких как *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* и *Cucurbita maxima*, выращиваемых в умеренных, субтропических и тропических регионах (Wang et al., 2011). Вид *C. pepo* представлен

широким ассортиментом сортов и гибридов, известных своей уникальной формой и цветом плодов, и высоко ценится за свои кулинарные свойства. Среди различных видов этого рода *C. pepo*, куда относится и кабачок, имеет наибольшую экономическую ценность. Род *Cucurbita* представлен в основном однодомными формами, однако

отдельные виды могут иметь гермафродитные, полигамные или двудомные формы. В связи с таким большим разнообразием этот род представляет большой интерес с точки зрения изучения генов, регулирующих детерминацию пола у тыквенных культур. Обнаружение аномалий в развитии цветка, закрепленных генетически, представляет ценность, поскольку эти растения в дальнейшем смогут служить генетическими моделями, а использование для этих целей ДН-линий особенно эффективно, поскольку они содержат все гены в гомозиготном состоянии. В литературе имеются лишь единичные сообщения об аномальных цветках у кабачка, обнаруженных спонтанно в природной популяции (Кордюм, Глущенко, 1976), полученных искусственно с использованием мутагенов (Manzano et al., 2012) и среди потомства удвоенных гаплоидов (ДН-растения) были обнаружены представляющие большой селекционный интерес ДН-линии, образующие аномальные цветки, до этого не встречающиеся в нашей селекционной практике. Описанию и изучению новых форм аномальных цветков кабачка посвящена данная работа.

В нашей работе мы использовали культуру неопыленных семян кабачка *in vitro* для создания полностью гомозиготных линий с целью ускорения селекционного процесса. Среди потомства удвоенных гаплоидов (ДН-растения) были обнаружены представляющие большой селекционный интерес ДН-линии, образующие аномальные цветки, до этого не встречающиеся в нашей селекционной практике. Описанию и изучению новых форм аномальных цветков кабачка посвящена данная работа.

Материалы и методы
Растительный материал
и условия выращивания
донорных растений

В работе использовали селекционные образцы кабачка из коллекции лаборатории тыквенных культур ФГБНУ ФНЦО. Донорные растения выращивали в 2014-2017 годах в Московской области в условиях пленочной теплицы и открытого грунта.

Получение ДН-растений кабачка в культуре неопыленных семян *in vitro*

Для индукции гиногенеза использовали питательную среду IMC (Induction Medium for *Cucurbitaceae*), разработанную в лаборатории биотехнологии ФГБНУ ФНЦО (ВНИИССОК).

Культивирование проводили на стеллажах с люминесцентными лампами при 25°C и фотопериоде 14 часов, освещенности 2,5 тыс. люкс.

Получение растений-регенерантов

Нормально развитые образовавшиеся эмбриониды переносили на безгормональную среду МС (Murashige and Skoog, 1962) с 2% сахарозы и 3 г/л фитогеля и культивировали на стеллажах при тех же условиях.

Выращивание растений-регенерантов

Растения с нормально развитыми листьями и корневой системой переносили в вегетационные сосуды, заполненные смесью минерализованного торфа и перлита (7:3), накрывали перфорированными пластиковыми стаканчиками для адаптации растений к условиям *in vivo*. Выращивали растения-регенеранты в климатической камере при режиме 25°C круглосуточно, 16 ч. день/8 ч. ночь

Результаты

В результате проведенной работы из 9 отозвавшихся в культуре неопыленных семян образцов *S. perlo* в течение 4-х лет (2014-2017) было получено 341 растение-регенерант. На этапе адаптации к условиям *in vivo* потери составили 25%. Около 7% растений были предположительно гаплоидными, и получить от них потомство не удалось. Все адаптированные ДН-растения были переданы селекционерам для оценки и дальнейшей селекционной работы. Для включения удвоенных гаплоидов в селекционный процесс необходимо одновременное цветение мужскими и женскими цветками, что происходит достаточно редко (рис.1). Поэтому не всегда удается получить потомство от самоопыления. Мы можем рекомендовать использовать на этапе регенерации клональное микроразмножение, чтоб увеличить количество растений с одинаковым геномом, и в этом случае их можно высаживать совместно и самоопылять внутри группы.



Рис. 1. Одновременное раскрытие мужского и женского цветка на растении-регенеранте R₀.
 Fig. 1. Regenerated plant R₀ with simultaneous male and female flower opening.

В результате проведенной оценки по хозяйственно ценным признакам, было выделено 7 перспективных ДН-линий, включенных в селекционный процесс (рис. 2). Все полученные линии отличались высокой однородностью, сохраняющейся при последующем размножении, и были наделены комплексом хозяйственно-ценных признаков. Особенно ценно, что выделенные линии, помимо высокой продуктивности, характеризовались очень большой насыщенностью женскими цветками, что нетипично для вида *S. perlo*. Сорта и гибриды кабачка, у которых преобладают мужские цветки,

относят к мужскому типу цветения, имеющие – 50% мужских и 50% женских цветков – к смешанному типу, а с преобладанием женских цветков – к женскому типу. Все выделенные нами ДН-линии относились к женскому типу и имели до 96% женских цветков и лишь 4% мужских, причем мужские цветки появлялись через две недели после начала цветения женскими цветками, что представляет большую селекционную ценность. Однако на растениях этих линий одновременно с нормально развивающимися цветками формировались и аномальные цветки, и плоды (рис. 3), что значительно снижало их семенную продуктивность.



Рис. 2. Отобранные селекционно-ценные ДН-линии кабачка.
 Fig. 2. Selected DH valuable breeding lines of summer squash.



Рис.3. Нормальный и аномальный цветок на растении кабачка.
Fig. 3. Normal and abnormal flowers on plant of summer squash.

В норме цветки *C. pepo* крупные, жёлтые или белые правильные, одиночные или собраны в пучки (мужские цветки); цветки однополые (растения однодомные), но в редких случаях способны формировать обоеполюе цветки. Чашечка и венчик колокольчатые или ворончато-колокольчатые из пяти (редко четырёх-семи) долей. В мужских цветках тычинки спаялись пыльниками в головку, пыльники извитые; в женском цветке развиты три-пять стаминодиев и пестик, с толстым коротким столбиком, с трёх- или пятилопастным рыльцем и с нижней, 3-5-гнездной многосемянной завязью. Плод – тыква (лат. *pepo, peponium*) – паракарпный многосемянный плод с сочным эндокарпием, мясистым мезокарпием и твердым экзокарпием. Плод образуется из нижней завязи, включающей обычно 3 плодолистика (рис.4, 5).

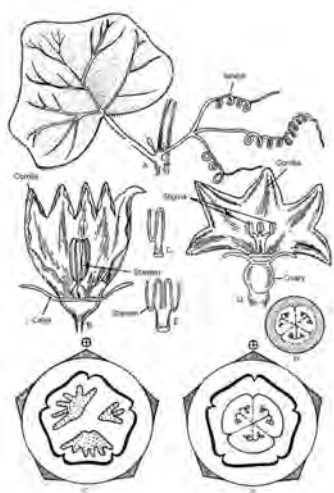


Рис. 4. Строение типичного мужского и женского цветка растений рода *Cucurbita* (по Sambamury, 2005).
A. междоузлие;
B. мужской цветок;
C. однолопастная тычинка;
D. женский цветок;
E. двулопастная тычинка;
F. цветочная диаграмма мужского цветка;
G. цветочная диаграмма женского цветка;
H. поперечный срез завязи.
Fig. 4. Typical male and female flowers in genus *Cucurbita* (by Sambamury, 2005)
A. a twig;
B. a male flower;
C. Single lobed stamen;
D. a female flower;
E. doubled lobed stamen;
F. floral diagram of male flower;
G. floral diagram of female flower;
H. an ovary

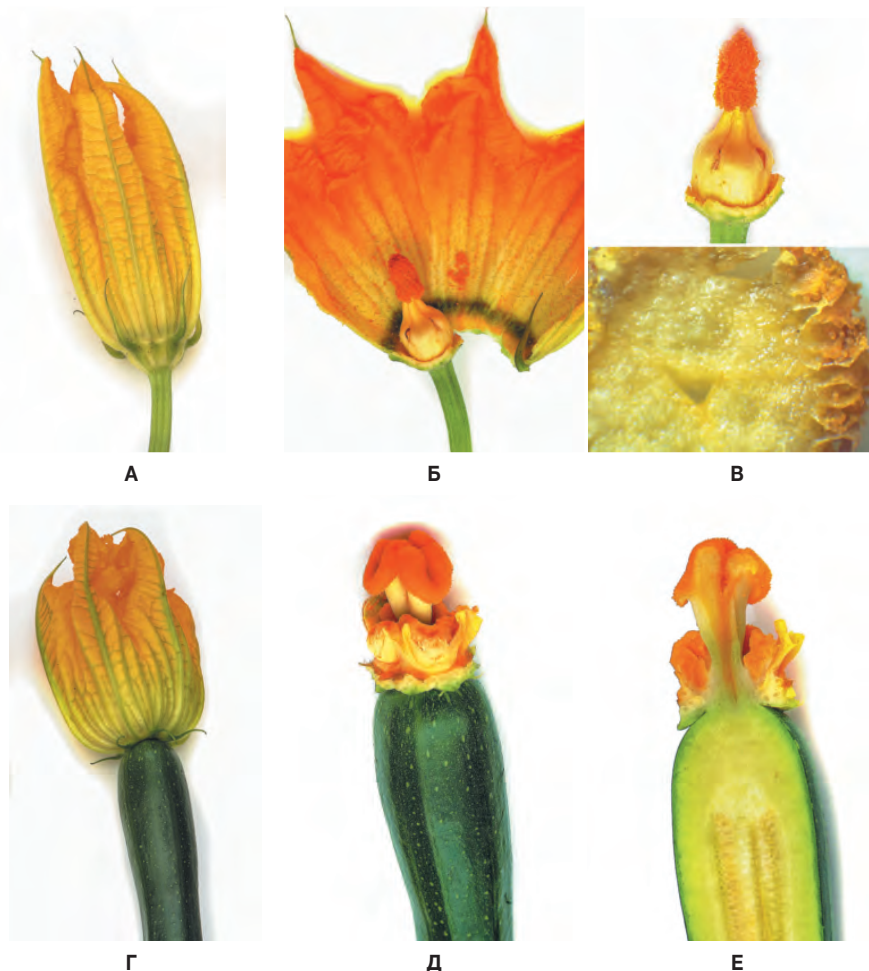


Рис. 5. Строение мужского и женского цветка кабачка. Внешний вид мужского (А) и женского (Г) цветка кабачка; вид мужского (Б) и женского (Д) цветка с удаленным околоцветником; сросшиеся в столбик тычинки и их поперечный срез (В); продольный срез женского цветка (Е).
Fig. 5. Male and female flowers of summer squash. Male (А) and female flower (Г); male (Б) and female (Д) with removed floral envelope; stamens accreted together into a style and its transverse section; longitudinal section of a female flower (Е)

На растениях выделенных 7 линий, полученных из разных селекционных образцов кабачка, различающихся по форме и окраске плода, было отмечено формирование морфологически аномальных женских и мужских цветков, а также гинандроморфных цветков. За период вегетации на одном растении образовывалось от 26 до 36 цветков, при этом 19-21 штук из них были нормально развитыми женскими цветками, 3-5 штук – нормальными мужскими цветками и до 10-11 штук цветков развивались с той или иной аномалией. Процент уродливых цветков на этих линиях оставался неизменным, как при выращивании этих линий в пленочной теплице, где температура воздуха и влажность были достаточно высокими, так и в условиях открытого грунта. При самоопылении этих линий образование уродливых аномальных цветков наследовалось и проявлялось у потомства. Было отмечено, что при скрещивании ДН-линий кабачка, образующих аномальные цветки с другими линиями или сортами, в потомстве образование аномальных цветков не наблюдалось. Возможно этот признак контролируется рецессивными генами, и требуется проведение дальнейших генетических исследований для выяснения природы его наследования.

Чаще всего мы отмечали образование на растении аномальных женских цветков, они составляли до 85% от общего числа всех

обнаруженных аномалий. Эти цветки можно было определить по внешнему виду еще до раскрытия цветка. Степень развития аномалии женского цветка могла варьировать (рис.6). Рыльце могло либо вообще отсутствовать, либо быть представленным одно- или двулопастной формой. Вместо обычного трехлопастного рыльца на верхушке завязи формировались уродливые образования из дополнительных плодолистиков. При этом часть плодолистиков могла быть полностью стерильной и обнаруживать сходство с рыльцем, у другой части могло образовываться незначительное число семязпочек на брюшной стороне плодолистиков. В других случаях семязпочки вообще могли лежать открыто, при этом они значительно разрастались и по внешнему виду были сходны с зачатками семян. Однако, как и в случае аномалий, описанных Кордюм и Глуценко в 1976 году, они не содержали зародыша и эндосперма, а увеличение размера происходило за счет разрастания паренхимной ткани интегументов и нуцеллуса (Кордюм, Глуценко, 1976). В цветках, у которых рыльце хотя бы частично формировалось, опыление было возможно, хотя семена образовывались только в количестве 4-5 штук. Плоды из таких цветков формировались и могли достигать 30 см в длину (фаза технической спелости). Бутоны женских цветков с полностью отсутствующим рыльцем обычно не распускались, увеличивались в размере, достигая фазы технической спелости, однако через месяц верхушка плода начинала загнивать.

Кроме аномальных женских цветков, на



Рис. 6. Внешний вид аномальных женских цветков кабачка.
Fig. 6. Abnormal female flower of summer squash.



Рис. 7. Внешний вид стерильных мужских цветков.
Fig. 7. Sterile male flowers.

линиях удвоенных гаплоидов кабачка могли образовываться и аномальные стерильные мужские цветки (рис. 7). Эти цветки обычно были мельче по размеру и не образовывали фертильной пыльцы.

Кроме аномальных женских и мужских цветков, были обнаружены и обоеполые цветки. Формирование обоеполых цветков у растений в норме с однополыми цветками следует рассматривать как явление гинандроморфизма. На ранних этапах органогенеза культур семейства *Cucurbitaceae* отсутствуют четкие морфологические отличия между цветками различных половых типов (мужскими, женскими, обоеполыми) у разных форм (Whitaker, 1931, Пангало, 1943). В мужских и женских цветках большинства тыквенных элементы органов другого пола останавливаются в своем развитии, как правило, на стадии недифференцированных зачатков и обнаруживаются в сформированных цветках лишь в виде небольших бугорков (Кордюм, Глуценко, 1976). В наших исследованиях гинандроморфные цветки мы наблюдали на ДН-линиях, причем степень развития гинецея и андроцея варьировала, наблюдались различные отклонения, вплоть до образования полностью стерильных цветков (рис. 8). В литературе нам встречались единичные сообщения об образовании сходных гинандроморфных цветков у кабачка и огурца (Кордюм, Глуценко, 1976). В наших исследованиях чаще всего тычинки гинандроморфного цветка имели нити нормальной длины, а



Рис. 8. Образование аномальных обоеполюх (гинандроморфных) цветков.
Fig. 8. Development of abnormal hermaphrodite and bisexual (gynandromorph) flowers.

пыльники были заполнены пыльцевыми зёрнами. Верхушки тычиночных нитей и пыльники тесно примыкали к аномально развитому гинецею. Иногда срастание пыльников было неполное (рис.8). Бокал завязи у таких цветков чаще всего был не сформирован, и завязь производила впечатление верхней. Это могло свидетельствовать о том, что описанные гинандроморфные цветки формировались из мужских. Рыльца, как и в случае, описанном Кордюм и Глуценко в 1976 году на обнаруженном аномальном цветке кабачка сорта Грибовский 37, чаще всего имели вид уродливых образований. При самоопылении таких цветков нам иногда удавалось получить семена, однако их количество было не более четырех в одном плоде.

Обсуждения

В результате проведенной работы нам удалось описать встречающиеся аномалии в развитии мужских и женских цветков кабачка *C. pepo* L., обнаруженные в ДН-линиях, полученных через культуру неопыленных семяпочек *in vitro*. Упоминание об образовании похожих гинандроморфных уродливых форм было сделано в работе Кордюм и Глуценко в 1976 году, где они описали цветки с единичного обнаруженного в сорте Грибовский растения кабачка (Кордюм, Глуценко, 1976). Аномальные цветки на растениях-регенерантах кабачка были обнаружены среди потомства, полученного через культуру пыльников (Metwally et al. (1998), однако авторы не дали подробного описания встретившихся аномалий. Также фото и описание трех мутантных линий, полученных искусственно при использовании мутагена этил метан сульфоната (ethyl methane sulfonate (EMS)) было сделано в работе Manzano с соавторами в 2012 году (Manzano et al., 2012). На этих мутантных линиях (внешне они были похожи на некоторые обнаруженные нами гинандроморфные цветки) авторы в дальнейшем изучали гены, контролирующие чувствительность к этилену и переход женских цветков к бисексуальным и гермофродитным (Garcna et al., 2016). Описание образования уродливых аномальных цветков среди потомства ДН-линий, полученных в культуре неопыленных семяпочек в литературе нам не встречалось.

Полученные нами в культуре неопыленных семяпочек ДН-линии с аномальными цветками могут служить прекрасным материалом не только для селекции, но и в исследованиях по изучению детерминации пола у тыквенных культур. Поскольку образование уродливых форм отмечалось и в последующих от самоопыления потомствах, то эти линии представляют интерес для генетических, эмбриологических и эволюционных исследований.

Литература

1. Кордюм Е.Л., Глуценко Г.И. Цитоэмбриологические аспекты проблемы пола покрытосеменных. «Наукова думка», Киев, 1976. – 200 с.
2. Пангало К.И. Пол и цветение у возделываемых *Cucurbitaceae*. Ботанический журнал СССР, 1943. – 28, 1. – С.10-23.
3. Garcia A., Manzano S., Aguado E., Megnas Z., Martnhez C., Garrido D., Jamilena M. Isolation and Characterization of Three Recessive Andromonoecious Mutants of *Cucurbita pepo*. Proceedings of *Cucurbitaceae* 2016, the Xlth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of *Cucurbitaceae*. July 24-28, 2016, Warsaw, Poland. P.45-49.
4. Jeffrey C. (1980). A review of the *Cucurbitaceae*. Botanical Journal of the Linnean Society, 81(3), 233–247. doi:10.1111/j.1095-8339.1980.tb01676.
5. Manzano S., Megias Z., Martínez C., Jamilena M. (2012). Generation and evaluation of a preliminary EMS mutant library in zucchini squash. In: Sari N., Solmaz I., Aras V. (eds) *Cucurbitaceae* 2012. Adana: Cukurova University. Pp 669-673.
6. Metwally El., Moustafa S.A., El-Sawy B.I. & Shalaby T.A. (1998) Haploid plantlets derived by another culture of *Cucurbita pepo*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 52: 171–176, 1998.
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 1962, 15: 473-497 (doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x).
8. Whitaker, T.W. (1931) Sex ratio and sex expression in the cultivated Cucurbits. Amer.J.Bot., 1931, 18, p.359.
9. Wang Y.H., Behera T.K., Kole C., editors. (eds.). (2011). Genetics, Genomics and Breeding of Cucurbits. CRC Press.

References

1. Kordum E.L., Glushenko G.I. (1976). Cytoembriological aspects and problems of gender in angiosperms. Kiev: Naukova Dumka. P.200.
2. Pangalo K.I. (1943). Gender and flowering in cultivated *Cucurbitaceae*. Botanical Journal, USSR. V.28. P.10-23.
3. Garcia A., Manzano S., Aguado E., Megnas Z., Martnhez C., Garrido D., Jamilena M. Isolation and Characterization of Three Recessive Andromonoecious Mutants of *Cucurbita pepo*. Proceedings of *Cucurbitaceae* 2016, the Xlth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of *Cucurbitaceae*. July 24-28, 2016, Warsaw, Poland. P.45-49.
4. Jeffrey C. (1980). A review of the *Cucurbitaceae*. Botanical Journal of the Linnean Society, 81(3), 233–247. doi:10.1111/j.1095-8339.1980.tb01676.
5. Manzano S., Megias Z., Martínez C., Jamilena M. (2012) Generation and evaluation of a preliminary EMS mutant library in zucchini squash. In: Sari N., Solmaz I., Aras V. (eds) *Cucurbitaceae* 2012. Adana: Cukurova University, pp 669–673.
6. Metwally El., Moustafa S.A., El-Sawy B.I. & Shalaby T.A. (1998) Haploid plantlets derived by another culture of *Cucurbita pepo*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 52: 171–176, 1998.
7. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 1962, 15: 473-497 (doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x).
8. Whitaker, T.W. (1931) Sex ratio and sex expression in the cultivated Cucurbits. Amer.J.Bot., 1931, 18, p.359.
9. Wang Y.H., Behera T.K., Kole C., editors. (eds.). (2011). Genetics, Genomics and Breeding of Cucurbits. CRC Press.