



Farklı Hıyar Genotiplerinin Işınlanmış Polenle Tozlaşma ile Partenogenetik Embriyo Oluşturma Frekansları ve Haploid Embriyo Gelişimi

Çağlar YILDIZ^{1*}, Mücahit KORUK¹, Ahmet Can DOĞAN¹, Ş.Şebnem ELLİALTIOĞLU²

¹Fidesan Tarım San. Tic. Ltd. Şti., Antalya, Türkiye

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara, Türkiye

Çağlar YILDIZ ORCID No: 0000-0002-2499-5925

Mücahit KORUK ORCID No: 0000-0002-9404-5132

Ahmet Can DOĞAN ORCID No: 0000-0002-9575-7107

Şeküre Şebnem ELLİALTIOĞLU ORCID No: 0000-0002-3851-466X

*Sorumlu yazar: caglarydz@gmail.com

(Alınış: 26.03.2020, Kabul: 31.05.2020, Online Yayınlanma: 18.06.2020)

Anahtar Kelimeler

Cucumis sativus,
Embriyo kurtarma,
Gamma ışını,
Partenogenetik

Öz: Işınlanmış polenlerle yapılan tozlaşmalar, kabakgiller familyasında partenogenetik haploid embriyo oluşumunu uyarmaktadır. Hıyarda da bu yöntemle haploid embriyo oluşabilmekte, embriyo kültürü yapılarak haploid embriyoların bitkiye dönüşümü sağlanabilmektedir. 16 adet hıyar genotipinden haploid bitki elde edebilmek için yapılan çalışmada Beith Alpha, silor, langa ve dikenli tipte ürün segmentlerine ait çeşitler seçilmiştir. Bitkiler çiçeklenmeye başladığında erkek çiçekler anthesisten bir gün önce toplanarak Ankara'da Atom Enerjisi Kurumunda 300 Gy olacak şekilde Gamma ışınına maruz bırakılmış, 12 saat içerisinde yeni açan dişi çiçeklerin tozlanmasında kullanılmıştır. Gelişen meyveler 21-45 günler arasında toplanarak aseptik koşullarda tohumları çıkartılmıştır. Hem tohum açma yöntemi hem de tohumların doğrudan kültüre alma yöntemi uygulanmıştır. Tohum açma yöntemi ile globular aşamadaki embriyoların da yakalanması ile daha fazla sayıda embriyo elde etmek mümkün olsa da bunlardan bitkiye dönüşüm düşük oranda gerçekleşmektedir. Doğrudan tohum ekimi yöntemiyle elde edilen çimlenmelerden bitkiye dönüşüm oranı yüksek olmakta, zamandan ve işgücünden tasarruf sağlanmaktadır. Genotiplerin verdiği partenogenetik yanıt ve bitkiye dönüşüm farklılık göstermiştir. Tozlamadan sonra 40 gün sınır süre olarak belirlenmiş, 38-40.günlerden sonra embriyoların tohum içerisinde nekroze olma oranı % 85 olarak bulunmuştur. En yüksek canlı embriyo oranı toplamda 19 embriyo ile dikenli tipteki Bazeal genotipinden elde edilmiştir. Hıyarda ışınlanmış polenle haploid elde etmeye alternatif olabilecek ovaryum kültürü tekniğinin geliştirilmesi, gamma ışın dozu denemelerinin yapılması önerilmektedir.

Parthenogenetic Embryogenesis Frequencies of Different Cucumber Genotypes by Irradiated Pollen Pollination and Haploid Embryo Development

Keywords

Cucumis sativus,
Embryo rescue,
Gamma ray,
Parthenogenetic

Abstract: Pollination with irradiated pollen stimulates the formation of parthenogenetic haploid embryos in the *Cucurbitaceae* family. Haploid embryos can be formed in cucumbers with this method and haploid embryos can be transformed into plants by embryo culture. In order to obtain haploid plants from 16 cucumber genotypes, varieties of Beith Alpha, mini, langa and spiny segments were selected. When the plants started to bloom the male flowers were collected one day before the anthesis and exposed to Gamma ray at 300 Gy at Atomic Energy Institution in Ankara. After pollination with irradiated pollens, growing fruits were collected between 21-45 days-old and seeds were extracted under aseptik conditions. Both seed opening method and direct in vitro seed cultivation (germination) method were applied. Although it is possible to obtain more embryos by capturing the embryos in the globular stage by seed opening method, the transformation rate to plants is low. Direct germination obtained by seed sowing method is high conversion rate to plants, saving time and labor. Parthenogenetic response of genotypes and differentiation to plant were different. 40 days after the pollination was determined as the limit time, the necrosis rate of embryos in the seed after 38-40 days was found to be 85%. The highest

viable embryo ratio was obtained from the spiny type Bazeal genotype with a total of 19 embryos. It is recommended to develop an effective ovary culture technique which can be an alternative to haploid irradiated pollen in cucumber and to perform gamma ray dose trials.

1. GİRİŞ

Kabakgiller (*Cucurbitaceae*) familyası, sebze olarak kullanılan türlerinin sayısı bakımından en zengin bitki ailelerinden biridir. Hıyar (*Cucumis sativus* L.), kabakgiller içerisinde yer alan ve dünya üzerinde yaygın olarak çok farklı tipleri yetiştirilen, ekonomik değeri yüksek bir sebzedir. Dünyada 2 144 672 ha alan üzerinde toplam 80 616 692 ton hıyar üretimi yapılmakta ve üretimin büyük çoğunluğu Asya kıtasında gerçekleşmektedir [1]. Hıyar üretimi bakımından yaklaşık 5.7 milyon tonluk üretim miktarı ile Çin birinci sırada yer almakta, bunu Rusya Federasyonu, İran ve Türkiye takip etmektedir. Tüm yıl boyunca üretilen hıyarın Türkiye'deki toplam yıllık üretim miktarı kayıtlarda 1 827 782 ton olarak verilmektedir. Türkiye'de hıyar üretimi hem açıkta sofralık ve turşuluk olarak yetiştirilmekte hem de örtü altında domates ve karpuzdan sonra en fazla üretimi yapılan tür olma özelliğini taşımaktadır. Sofralık hıyar üretimi 1 687 927 ton, turşuluk hıyar üretimi 139 855 ton ve örtü altı hıyar üretimi ise 1 221 625 ton'dur [2].

Açıkta yetiştirilenlerin önemli bir kısmı, örtü altı tarımında kullanılan hıyarların tamamına yakını F₁ hibrit çeşitlerden oluşmaktadır. Yılda yaklaşık 150 milyon adet hıyar tohumu kullanılmakta olup, bunun %80'i yurtdışından ithalat yoluyla karşılanmaktadır. Son yıllarda yerli tohum firmalarının kendi Ar-Ge işletmelerini kurmaları, devlet olanakları ile alınan proje ve teşvikler sayesinde sebze türlerinin bir kısmında yerli hibrit çeşitler piyasada yer almaya başlamıştır. Ülkemizde yabancı orijinli F₁ hibrit çeşitler büyük ölçüde yerel çeşitlerin yerini alırken, yerli F₁ hibrit çeşit ıslah çalışmalarına 20. yüzyılın son çeyreğinde ağırlık vermeye başlanmıştır [3,4]. Hıyarın da içinde yer aldığı *Cucumis* cinsi Afrika ve Asya kıtalarının tropik veya subtropik bölgelerinden dünya geneline yayılış göstermişlerdir [5,6]. Hıyar Asya grubuna dahil olup, Hindistan orijinlidir [7]. Bununla birlikte ülkemiz, hıyar genetik kaynakları ve varyasyon bakımından oldukça zengindir. Yerli hibrit çeşitlerin ıslah edilmesinde hız kazandıracak tekniklerin kullanılması gereklidir.

Hıyar yabancı tozlanan bir türdür ve bu nedenle klasik ıslah çalışmaları 8-10 yıl gibi uzun bir zaman almaktadır. ıslah süresini kısaltmak için farklı biyoteknolojik yöntemler uygulayarak modern ıslaha geçmek gereklidir. Bu amaçla kullanılan yöntemlerden biri dihaploid saf hatları oluşturmak amacıyla dihaplodizasyon tekniğinin kullanılmasıdır [8]. *Cucurbitaceae* familyasındaki önceleri hem anterler hem de ovul ve ovaryumlar *in vitro* kültüre alınarak denenmiştir [9,10]. Androgonesis, kabakgillerde etkin bir yöntem olarak görülmemiş, ovul-ovaryum kültürlerinden elde edilen bitki sayıları ise çok az olmuştur. 1990'lı yıllara doğru gama ışını uygulanmış polenlerle tozlamalar yaparak *in situ* haploid embriyo uyartımı ve bu embriyoların özel besin ortamları

üzerinde *in vitro* kültüre alınarak bitkiye dönüştürülmesi araştırılmıştır. Bu yolla *Cucumis* türlerinin ilk haploid embriyoları kavunda elde edilmiş ve bu embriyoların *in vitro* bitkiye dönüştürülmesi için E20A ortamı geliştirilmiştir [11]. Daha sonra aynı teknik hıyarda [12,13] denenmiştir. Türkiye'de 1995 yılında Çağlar tarafından yapılan Doktora çalışmasında ilk hıyar dihaploidleri elde edilmiştir. Hıyar, ışınlanmış polen tekniği ile partenogenetik embriyo oluşturmaya uygun bir türdür. İlerleyen yıllarda hıyarda ovaryum kültürü tekniği de geliştirilmiş ve ışınlanmış polenle uyartım ve partenogenetik embriyo oluşturma yöntemine alternatif olarak belirlenmiştir [14,15]. Çetinkaya [16], ovaryum kültürünü optimize ederek hıyarda haploid bitkilerin başarıyla elde edilebileceğini ortaya koymuştur. Erol [17] ise hıyarlarda ovül ve ovaryum kültürlerini karşılaştırarak en uygun haploid embriyo elde etme yöntemini belirlemeye çalışmıştır. Aynı zamanda Co⁶⁰ ışın kaynağında 300 Gy ışın dozu uygulayarak ışınlanmış polen tekniğini de kullanmış, 14 adet haploid bitki elde etmiştir. Toprak [18], 23 adet hıyar genotipinde ovaryum kültürü yöntemiyle haploid bitki elde etme üzerinde çalışmış olup genotip etkisinin çok belirgin olduğu, uygun protokol geliştirilmesi çalışmalarına devam edilmesi gerektiği belirtilmiştir. Çalışmalar hıyarda partenogenesis için genotipe bağlı olmakla birlikte bir yakınlık bulunduğunu, ıslah çalışmalarında bu özellikten yararlanma yoluna gidilmesi gerektiğini göstermektedir.

Işınlanmış polen tekniğinde embriyo kurtarma aşaması çok zahmetli, emek ve zaman alıcı bir işlemdir. Bu nedenle en uygun işlem serisinin kullanılması kısa zamanda çok sayıda kültürün yapılmasını ve en yüksek oranda embriyo çıkışı sağlayabilecektir. Bu konuda Baktumur [19]'un kavunlarda yaptığı çalışmada 'tohumların tek tek açılması' ve 'tohumların doğrudan besin ortamına ekimi' yöntemleri arasında haploid embriyo oluşumu bakımından istatistiksel fark çıkmamış olup her ikisi de uygulanabilir bulunmuştur.

Çalışmamızın amacı, farklı tiplerdeki 16 adet hıyar çeşidinde ışınlanmış polen tekniği kullanarak haploid embriyo ve bitki elde etme üzerinde tek tohum açma ve doğrudan tohum ekimi yöntemlerinin etkisini incelemektir.

2. MATERYAL VE METOT

Bu araştırma 2019 ilkbahar döneminde Fidesan Tarım San. Tic. Ltd. Şti. Serik Çakallık Köyü Araştırma İstasyonu'nda bulunan yetiştirme serasında ve bitki doku kültürü laboratuvarında yürütülmüştür. Bitkisel materyal olarak beith alpha, silor, langa ve dikenli tipte ürün segmentlerine ait 16 adet hıyar çeşidi bitkileri kullanılmıştır. Mini hıyar tipine ait 5 adet (Kahraman, Elanor, Ekvator, Ktır ve Zincir), beith alpha tipine ait 6 adet (Termessos, Talisya, Ps 64, Melen, Cemre ve 6608), tarla tipi beith alpha tipine ait 2 adet (Altay ve Toros),

dikenli tipe ait 2 adet (9608 ve Bazeal), uzun tipe ait 1 adet (Langa) genotiplerine ait 20'şer adet bitki seraya dikilmiş, bakımları yapılarak çiçeklenme aşamasına getirilmiştir. Çiçeklenme aşamasında oluşan erkek çiçekler polen ışınlanması için kullanılacak materyali oluşturmuştur (Şekil 1).



Şekil 1. Işınlanmış polen tekniğinde kullanılacak olan hıyar bitkilerinin seradaki görünümü ve erkek çiçekler

Denemelerde yer alan çeşitlerdeki dişi çiçekler, tozlama öncesinde anthesisten 1 gün önceki aşamada (kapalı durumda bulunan ve taç yaprakların uç kısımlarının yeşilden sarıya dönüşme aşamasında) yabancı çiçek tozlarının çiçeğe girişini engellemek için tül ile kapatılarak izole edilmiştir (Şekil 2). Işınlanmış polenle tozlanan çiçeklerde meyve tutumunu artırmak amacıyla tozlama yapılan bitkilerde açan diğer dişi çiçekler koparılarak bitkiden uzaklaştırılmıştır.



Şekil 2. Hıyarda anthesisten bir gün önceki dişi çiçekler ve bunların izolasyonu

Çiçek tozlarının elde edilmesi için anthesisten bir önceki güne rastlayan büyüklükte, henüz açılmamış fakat iyi gelişmiş erkek çiçek tomurucukları seçilerek toplanmıştır. Bu tomurucuklar taç ve kısmen çanak yapraklardan ayrıldıktan sonra 9 cm çaplı cam petri kaplarına konularak gama ışınıyla muameleye tabi tutulmuştur. Ankara'da Atom Enerjisi Kurumu'nda ışınlamaya maruz bırakılan anterler, 12 saat içerisinde yeni açan dişi çiçeklerin tozlanmasında kullanılmıştır. Işınlamada, Co⁶⁰ kaynağından gelen 300 Gy dozunda gama ışını kullanılmıştır [20,21] (Şekil 3).



Şekil 3. Anthesisten bir gün önce toplanan erkek hıyar çiçekleri, petri kutularında ışınlama işlemi ve ışın kaynağı

Işınlanmış polenlerle tozlama, 1-2 erkek çiçek tomurcuğunun stigma üzerine sürülmesi şeklinde yapılmıştır. Tozlamadan sonra yabancı polen girişini engellemek için çiçekler taç yaprakların ucundan penslerle kapatılmıştır. İlerleyen günlerde dişi çiçeğin şişkinleşmeye başladığı aşamada keseler çıkarılmıştır. Tozlama işlemini 17 Mayıs tarihinde yapılmıştır. Meyve gelişimleri sağlıklı bir şekilde elde edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Işınlanmış polenlerle tozlanan hıyar dişi çiçeklerinden gelişen meyveler (28 günlük)

Embriyo kurtarma işlemi için ışınlanmış polenle tozlanıp tutan meyveler 21. günde seradan toplanarak laboratuvara getirilmiş ve önce distile saf su ve %10'luk sodyum hipoklorit çözeltisi ile yıkanmış, yüzey sterilizasyonu için kabin içerisindeki yanmaz küvet içerisine alınmış meyveler saf alkol yardımıyla yakılarak steril hale getirilmiştir. Steril hale gelen meyveler, içerideki tohumlara zarar vermeden, metal saplı bir bıçakla boyuna kesilerek tohumlar ayıklanmış, sayılmış ve steril kaplar içerisine alınmıştır. Tohumlar pens ve bistüri yardımıyla tek tek açılarak embriyo kurtarma işlemine geçilmiştir [19]. Tohumların bir kısmı da doğrudan petrilere MS besin ortamlarına ekilmiştir.

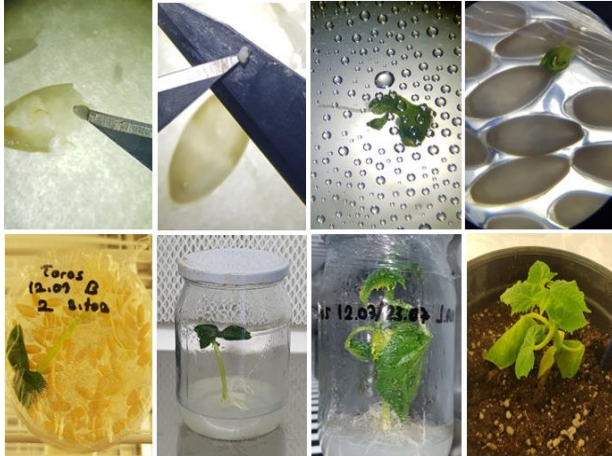
3. BULGULAR

16 farklı hıyar genotipinde tek tek tohum açma yöntemi veya doğrudan tohum ekimi yöntemiyle elde edilen kültürlerin 25 °C'deki ve iklim odasında inkübe edilmesinin ardından embriyo ve bitki gelişimi özellikleri incelenmiştir. 25-45 günler arasında toplanarak aseptik koşullarda tohumları çıkartılmıştır. Hem tohum açma yöntemi hem de tohumların doğrudan kültüre alma yöntemi uygulanmıştır. Her çeşitten alınan meyvelerden yarısı tek tek tohum açma yöntemi yarısı da doğrudan tohum ekiminde kullanılmıştır. Çeşit bazında kullanılan meyve sayıları ve uygulanan yöntem ile elde edilen embriyo sayıları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Genotiplere ait meyve sayıları, uygulanan yöntem ve elde edilen embriyo sayıları (adet)

Genotip	Meyve Sayısı	Tohum Açma	Tohum Ekimi	Embriyo Sayısı (Tohum ekimi/Tohum açma)
Kahraman	18	9	9	3/0
Elanor	20	10	10	2/0
Ekvator	12	6	6	0/3
Kıtır	14	7	7	2/0
Zincir	10	5	5	1/0
Termessos	12	6	6	3/0
Talisya	14	7	7	1/1
PS64	24	12	12	0/0
Melen	10	5	5	0/0
Altay	6	3	3	2/0
Toros	12	6	6	2/0
Cemre	5	2	3	1/3
6608	23	12	13	1/1
9608	11	5	6	0/0
Bazeal	10	5	5	5/14
Langa	7	4	3	0/0

Tohum açma yöntemiyle elde edilen embriyolar, gelişen bitkicikler ve doğrudan tohum ekimi ile elde edilen haploid hıyar bitkicikleri gösterilmektedir. Sağlıklı gelişenler saksılara aktarılmıştır (Şekil 5).



Şekil 5. Tohum açma yöntemiyle kurtarılan embriyolar ile kültüre aldıktan yaklaşık 10 gün sonraki embriyoların görüntüleri ve petride doğrudan tohum ekiminde çimlenen tohumlar, haploid hıyar bitkicikleri ve dış koşullara aktarım

Tohum açma yöntemi ile globular aşamadaki embriyoların da yakalanması ile daha fazla sayıda embriyo elde etmek mümkün olsa da bunlardan bitkiye dönüşüm düşük oranda gerçekleşmektedir. Doğrudan tohum ekimi yöntemiyle elde edilen çimlenmelerden bitkiye dönüşüm oranı yüksek olmakta, zamandan ve işgücünden tasarruf sağlanmaktadır. Baktemur [19] tarafından kavunda iki yöntemin de kullanılabilir olduğu belirtilmiş olmakla birlikte, hıyarda tek tohum açma ile yaşayabilir bitkicik elde etme oranının düşük olduğu, doğrudan tohum ekiminin daha elverişli bulunduğu söylenebilir.

4. SONUÇ

Hıyarda ışınlanmış polenle embriyo uyartımına genotiplerin verdiği partenogenetik yanıt ve bitkiye dönüşüme yakınlık özelliği farklılık göstermiştir. Tozlamadan sonra 40 gün sınır süre olarak belirlenmiş, 38-40.günlerden sonra embriyoların tohum içerisinde nekroze olma oranı % 85 olarak bulunmuştur. En yüksek canlı embriyo oranı toplamda 19 embriyo ile dikenli tipteki Bazeal genotipinden elde edilmiştir. Langa tipteki hıyar genotipinde ise hiçbir oluşum belirlenmemiştir. Benzer bulgular Erol [17] tarafından da rapor edilmektedir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda hıyarda ışınlanmış polenle haploid elde etmeye alternatif olabilecek ovaryum kültürü tekniğinin geliştirilmesi, genotip bazında uygun ortamların ve koşulların sağlanması [18]; ışınlanmış polen tekniği için ise doğrudan tohum ekimi yönteminin kullanılması ve gama ışın dozu denemeleri yapılması önerilmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK TEYDEB 75879 No'lu Proje kapsamında gerçekleştirilmiştir. 12. Ulusal Sebze Tarımı Sempozyumu'na bildirili katılım sağlanmıştır.

KAYNAKLAR

- [1] FAO; 2017 [Erişim Tarihi:30.08.2019]. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- [2] TÜİK; 2017 [Erişim Tarihi:30.08.2019]. <http://www.biruni.tuik.gov.tr/medas/>
- [3] Gözen V. Hıyarda (*Cucumis sativus* L.) Örtüaltı Yetiştiriciliğine Uygun Hibrit Çeşit Islahında Morfolojik Karakterizasyon, Hibrit Kombinasyonları ile Hibrit Tohum Verim ve Kalitesinin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 196 s, Ankara; 2008.

- [4] Sarı N, Tan A, Yanmaz R, Yetişir H, Balkaya A, Solmaz İ, Aykas L. General status of cucurbit genetic resources in Turkey. *Cucurbitaceae*, Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of *Cucurbitaceae* (Pitrat M, ed), INRA, Avignon (France): 2008.
- [5] Leppik EE. Searching gene centers of the genus *Cucumis* through host-parasite relationship. *Euphytica*; 1966;15: p. 323-338.
- [6] Bates DM, Robinson RW. Cucumbers, melons and watermelons (*Cucumis* and *Citrullus* (*Cucurbitaceae*)). 22nd Edn. Longman Scientific, Harlow, Essex, UK: 1995. p. 89-96.
- [7] De Candolle A. Origin of cultivated plants (2 ed.), Hafner Publishing Co. USA: 1967.
- [8] Zhang YX, Lespinasse Y, Chevreau E. Induction of haploid in fruit trees. In: *In vitro* Culture and Horticultural Breeding. (eds: Janicks J, Zimmerman RH). *Acta Horticulturae*. 1990;280: 293-305.
- Xue GR, Yu WY, Fei KW. Watermelon plants derived by *in vitro* anther culture. *Plant Physiology Commun*. 1983;4:40-42.
- [9] Xue GR, Yu WY, Fei KW. Watermelon plants derived by *in vitro* anther culture. *Plant Physiology Commun*. 1983;4:40-42.
- [10] Chambonnet D, Dumas de Vault R. Obtention of embryos and plants from *in vitro* culture of unfertilized ovules of *Cucurbita pepo*. *Cucurbit Genetics Coop Rep*. 1985;8: 66.
- [11] Sauton A, Dumas de Vault, R. Production of haploid plants in melon (*Cucumis melo* L.) as a result of gynogenesis induced by irradiated pollen. *Agronomie*. 1987;7(2):141-147.
- [12] Sauton A. Haploid gynogenesis in *Cucumis sativus* induced by irradiated pollen. *Cucurbit Genetics Coop*. 1989;12:22-23.
- [13] Niemirowicz-Szczytt K, Dumas de Vault R. Preliminary data on haploid cucumber (*Cucumis sativus* L.) induction. *Cucurbit Genet Coop*. 1989;12:2425.
- [14] Gałazka J, Słomnicka R, Góral-Radziszewska K, Niemirowicz-Szczytt K. From pollination to DH lines verification and optimization of protocol for production of doubled haploids in cucumber. *Acta Sci Pol Hortorum Cultur*. 2015;14(3):81-92.
- [15] Moqbeli E, Peyvast G, Hamidoghli Y, Olfati J. *In vitro* cucumber haploid line generation in several new cultivars. *As Pac J Mol Biol Biotechnol*, 2013;21(1):18-25.
- [16] Çetinkaya E. Farklı besi ortamı kombinasyonlarının bazı hıyar (*Cucumis sativus* L.) genotiplerinde gynogenesis yolu ile embriyo ve haploid bitki oluşumu üzerine etkisi. Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 58 s, Antalya; 2015.
- [17] Erol MH. Hıyarlarda ovül-ovaryum kültürleri ve ışınlanmış polen tekniği ile spermidin ve putresin uygulamalarının haploid embriyo uyartımına etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi 99 s, Adana; 2018.
- [18] Toprak S. ZYMV dayanımlı farklı hıyar tiplerinin double haploid etkinliğinin belirlenmesi ve ovül kültürünün optimizasyonu. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 59 s, Kayseri; 2019.
- [19] Baktemur G. Kavunda (*Cucumis melo* var. *inodorus*) ışınlanmış polenle uyartılmış haploid embriyoların ayrılmasında kullanılabilecek farklı yöntemler. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 61 s, Adana; 2009.
- [20] Çağlar G, Abak K. Progress in the production of haploid embryos, plants and doubled haploids in cucumber (*C. sativus* L.) by gamma irradiated pollen, in Turkey. In *Ist International Symposium on Cucurbits*; 1997;492: p. 317-322.
- [21] Lotfi M, Kashi A, Onsinejad R. Induction of parthenogenetic embryos by irradiated pollen in cucumber. *First International Symposium on Cucurbits*, 1997;492: p. 323-328.