

بررسی جوانه‌زنی بذره‌های حاصل از گرده افشانی ارقام مختلف توت فرنگی (*Fragaria × ananassa* Duch.) در محیط کشت طبیعی و درون شیشه

قدرت الله ریاضی^۱

چکیده

جوانه‌زنی بذره‌های توت فرنگی (*Fragaria × ananassa* Duch.) حاصل از خودگشنی و دگرگشنی ۴ رقم تجارتنی، در محیط کشت گلخانه و درون شیشه در سال‌های ۱۳۷۳ و ۱۳۷۴ در دانشگاه مک گیل کانادا بررسی شد. عملیات خود گرده افشانی (چمبلی × چمبلی و ردگت × ردگت) و دگر گرده افشانی (اکا × چمبلی و بالعکس، ردگت × ویستار و بالعکس) انجام و پس از برداشت میوه، بذره‌های آنها استخراج و خصوصیات مختلف وزن، اندازه و رطوبت موجود در بذر تعیین شد. نمونه‌ای از بذرها در محیط کشت مه پاش و هم‌چنین بر روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ بدون ویتامین و تنظیم‌کننده‌های رشد به دو صورت بذر کامل و بذره‌های نصف شده کاشته شدند. شاخص جوانه‌زنی (سرعت و میزان جوانه‌زنی) ملاک تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج این بررسی نشان داد که بذره‌های کامل در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ تا پایان دوره آزمایش (۴۰ روز) هیچ‌گونه نشانه‌ای از جوانه‌زنی را از خود بروز ندادند. این در حالی است که بذره‌های نصف شده (حاوی گیاهچه) تنها پس از دو روز کاشت بر روی محیط کشت مشابه، شروع به جوانه‌زنی نموده و در مدت یک هفته تا ۹۰ درصد جوانه زده بودند. جوانه‌زنی بذره‌های کامل در تحت شرایط مه‌پاش تقریباً ۱۵ روز پس از کاشت شروع و تا پایان آزمایش (تقریباً ۶۰ روز) از حداقل ۵۵ تا حداکثر ۸۷ درصد در بین ژنوتیپ‌ها متفاوت بود. شاخص جوانه‌زنی در این محیط کشت از ۱۵/۳۵ تا ۲۶/۰۶ متفاوت بود. مقایسه شاخص جوانه‌زنی کشت بذرها در محیط‌های درون شیشه و مه‌پاش، نشان دهنده در صد کمتر جوانه‌زنی و سرعت پایین‌تر آن در سیستم کشت مه‌پاش و در ژنوتیپ‌های متفاوت می‌باشد. انجام این بررسی هم‌چنین نشان داد که میزان جوانه‌زنی در بذر توت فرنگی از صفر تا ۱۰۰ درصد بسته به ژنوتیپ و نوع تیمار، متفاوت است و بهترین تیمار از نظر یکنواختی و سرعت جوانه‌زنی استفاده از بذره‌های نصف شده بر روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی، خود گرده افشانی و دگر گرده افشانی، نیمه کردن بذر، محیط کشت درون شیشه، محیط کشت مه‌پاش

۱. پژوهشیار (عضو هیئت علمی) مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس

مقدمه

به‌نژادگران برای دست یابی به صفات مطلوب حاصل از تلاقی بین والدین نر و ماده از بذر استفاده می‌کنند. بنابراین در یک برنامه به‌نژادی، یکنواختی و سرعت جوانه‌زنی بذرهای از اهمیت خاصی برخوردار است. رکود حاصل از پوسته بذر در قلمرو گیاهی به‌طور وسیع و گسترده به‌چشم می‌خورد (۲ و ۹). این رکود سبب بروز مسائل نامطلوبی در جاهایی که برنامه‌های به‌نژادی احتیاج به یکنواختی و سرعت جوانه‌زنی دارد، شده است (۱۳ و ۱۹). نفوذ ناپذیری پوسته و رکود حاصل از آن که باعث تأخیر در جوانه‌زنی می‌شود در بذرهای سخت و نیمه سخت، گزارش شده است (۶ و ۱۲ و ۱۵). این نفوذ ناپذیری و رکود ممکن است به‌واسطه ساختمان فیزیکی و یا شیمیایی بذر باشد (۳ و ۷). درجه نفوذ ناپذیری بذر به‌طور عمده به میزان رطوبت موجود در بذر (۱۴)، فاکتورهای ژنتیکی (۱۵)، کلفتی پوسته بذر (۳ و ۱۶)، وجود و یا رسوب مواد غذایی در پوسته بذر بستگی دارد. قسمت‌های مختلف یک بذر متشکل از پوسته، آندوسپرم، لپه‌ها و جنین با مشخصات فردی فیزیکی و شیمیایی بر روی جوانه‌زنی بذر و دانهال حاصل از آن تأثیر دارند (۳). از دیدگاه برنامه‌های به‌نژادی تولید دانهال‌های یکنواخت و یک‌دست از اهمیت زیادی برخوردار است (۱۳). هم‌چنین گرایشی برای انتخاب بذرهای با جوانه‌زنی سریع و یکنواخت برای محصولات مختلف گیاهی وجود دارد (۳). بنابراین بذر را می‌بایست به‌گونه‌ای تیمار کرد تا بتوان فاصله زمانی از کاشت بذر تا رسیدن به مرحله ارزیابی دانهال‌ها را به حداقل رساند.

در کشورهای پیشرفته تکثیر توت فرنگی در مقیاس تجارتي با استفاده از اجزای گیاهی مانند کشت مریستم و جوانه انتهایی (۴)، قطعاتی از برگ و غیره در محیط کشت درون شیشه انجام می‌شود، ولی ایجاد تنوع ژنتیکی به استثنای جهش در سلول‌های بدنی امکان‌پذیر نبوده و بنابراین از بذرهای حاصل از تلاقی استفاده می‌شود. بذرهای دیپلوئید فراگاریا وسکا سمپرفلورنس (*Fragaria vesca semperflorens Ehr.*) که تولید ساقه رونده نکرده و تنها به‌وسیله بذر تکثیر می‌شود به‌طور منظم و بلافاصله

پس از کاشت شروع به رشد می‌نماید که به‌نظر می‌رسد نتیجه یک انتخاب در مدت زمان طولانی باشد. در میان اکتاپلوئیدهای (Octaploids) جنس فراگاریا (*Fragaria*)، بذرهای گونه ویرجینیانا (*Virginiana*) به آسانی و به سرعت جوانه‌زنی نموده، در حالی‌که گونه چیلیونسس (*Chileonsis*) به‌کندی و به‌صورت نامنظم جوانه می‌زند (۵). به‌طور کلی جوانه‌زنی در بذرهای توت فرنگی ناهمگون و طولانی بوده و حداکثر میزان جوانه‌زنی در توده‌های بذری متفاوت می‌باشد (۵، ۱۰، ۱۱ و ۱۳). جوانه‌زنی و رشد دانهال‌های توت فرنگی ممکن است از ۱۰ تا ۱۴۰ روز بعد از کاشت بذرهای به‌طول انجامد (۱۰، ۱۸). برای یک برنامه به‌نژادی، جوانه‌زنی متغییر و ناپایدار بذر توت فرنگی باعث بروز مشکلاتی از جمله حفاظت از ژرم پلاسما و از بین رفتن ارزش بالقوه ژنوتیپ‌ها و ارزیابی گیاهان در سنین مختلف می‌شود (۸ و ۱۳). کوتاه کردن زمان لازم برای جوانه‌زنی بذر، بالا بردن درصد جوانه‌زنی و به‌دست آوردن دانهال‌های یکنواخت حاصل از تلاقی، این اجازه را به به‌نژادگران می‌دهد که به راحتی ژرم پلاسما توت فرنگی را مورد ارزیابی قرار دهند. اطلاعات مفیدی در خصوص نفوذ پذیری بذرهای دارای پوسته سخت و نیمه سخت در خانواده‌های مختلف گیاهی از جمله بعضی از گیاهان خانواده رزاسه که توت فرنگی نیز جزو آن می‌باشد به‌دست آمده است (۳). تیمارهای مختلفی برای تأثیرگذاری جوانه‌زنی بذرهای توت فرنگی گزارش شده که شامل خراش دهی پوسته به‌وسیله اسید سولفوریک (۱۸)، سرمادهی و استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اسید جیبرلیک (۱۹)، اتفان (۲۱) و سایر تیمارها همچون استفاده از مه‌پاش (۲۰) است. تا حدودی هر کدام از این تیمارها موفقیت آمیز بوده‌اند، ولی به هر حال ژنوتیپ‌های توت فرنگی پاسخ‌های متفاوتی در رابطه با حداکثر درصد جوانه‌زنی داشته‌اند و علاوه بر آن جوانه‌زنی در مدت زمان طولانی صورت گرفته است. میلر و همکاران (۱۳) در آزمایشی مقایسه‌ای با کاشت بذرهای کامل توت فرنگی بر روی محیط‌های کشت مختلف از جمله محیط کشت بدون خاک، کاغذ فیلتر مرطوب و محیط کشت

مواد گیاهی و شرایط رشد

بوته‌های ارقام انتخاب شده در سال‌های ۱۳۷۳ و ۱۳۷۴ از شرکت Lue Lareault شهر کبک کانادا تهیه و به منظور شکستن رکود، گیاهان برای مدت حدود یک ماه در سردخانه (۱- درجه سانتی‌گراد) دانشکده کشاورزی دانشگاه مک گیل کانادا قرار داده شدند و سپس درون کیسه‌های پلاستیکی پلی اتیلن با ابعاد ۱۱×۲۵ سانتی‌متر که با پرومیکس (Promix) پر شده بود کاشته و در گلخانه همان دانشکده نگهداری شدند. به دلیل سمپاشی هیچ‌گونه آثاری از آلودگی قارچی برگ‌ها و یا ریشه در طول دوره رشد گیاهان دیده نشد. نور مکمل برای رشد به وسیله لامپ‌های سدیم با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تأمین شد.

تعیین قوه نامیه دانه گرده

پس از به گل نشستن گیاهان، دانه‌های گرده از هر رقم جمع آوری و بلافاصله قوه نامیه نمونه‌ای از دانه گرده هر رقم با استفاده از محلول رنگی بلینگ کارمین - استیک اسید گلیسرین (Belling Carmine Acetic Acid Glycerine Dye) (۱) در زیر میکروسکوپ مطالعه گردید.

اخته کردن و گرده افشانی

در آغاز گل‌دهی، خوشه‌های گل هر دو روز یک‌بار بررسی شد تا بهترین زمان اخته کردن گل مشخص شود. در شرایط گلخانه، بساک‌ها قبل از ریزش گلبرگ باز نمی‌شوند و این باعث می‌شود که بتوان هم‌زمان هم گل را اخته کرد و هم نسبت به عمل گرده افشانی مصنوعی اقدام نمود. گل‌های بالغ ولی ناشکفته با حذف بساک‌ها اخته شدند. گل‌های تازه از هر رقم روزانه برداشت و به مدت ۲۴ ساعت در درجه حرارت اتاق نگهداری شدند. این عمل باعث باز شدن گل‌ها، شکافته شدن بساک‌ها و آزاد شدن دانه‌های گرده شد. گل‌های ماده اخته شده با توجه به جدول گرده افشانی دو مرتبه و به فاصله هر سه روز یک‌بار با برس نرم و ظریف گرده افشانی شدند. تکرار این عمل برای اطمینان از تلقیح کامل گل‌های ماده صورت گرفت.

موراشیگ و اسکوگ حاوی تنظیم کننده‌های رشد متفاوت، مدت زمان جوانه‌زنی را بین ۲ تا ۳ ماه بسته به نوع تیمار به کار برده شده، گزارش کرده‌اند. زمانی که بذرها به وسیله دست یا ماشین خراش دهی شده و بر روی محیط کاغذ فیلتر مرطوب و یا روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ بدون تنظیم کننده‌های رشد کاشته شد، این مدت زمان اندکی کاهش یافت (۱۳).

پژوهشگران پیوسته در جستجوی روش‌های دیگری برای تسریع در جوانه‌زنی بذر و ارزیابی ژنوتیپ‌های حاصل از آن می‌باشند (۱۱ و ۱۳).

اخیراً موفقیت‌هایی در نصف کردن بذر و کاشت نیمه حاوی گیاهچه بر روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ به دست آمده است (۱۱ و ۱۳). هدف از این بررسی، انجام خودگشنی و دگرگشنی در بین ارقام تجارتي توت فرنگی موجود در منطقه محل آزمایش و تأثیر آن بر جوانه‌زنی بذرهاى نسل اول حاصل از آنها و هم‌چنین مقایسه روش‌های مختلف کشت مه‌پاش و درون شیشه در تسریع جوانه‌زنی بذرهاى حاصل از تلاقی بوده است.

مواد و روش‌ها

انتخاب ارقام

در این بررسی از ۴ رقم توت فرنگی که برخی از آنها خود گرده‌افشانی شده [چمبلی (Chambly) × چمبلی، ردکت (Redcoat) × ردکت] و برخی دیگر به‌طور متقابل تلاقی داده شدند [اُکا (Oka) × چمبلی و بالعکس، ردکت × ویستار (Veestar) و بالعکس] استفاده گردید. والدین این ۴ رقم به ترتیب ماده و نر شامل چمبلی [اسپارکل (Sparkle) و هونئوی (Honeoy)] اُکا [کا - ۷۵ - ب (K-75-B) و هونئوی]، ردکت [اسپارکل و والتین (Valentine)] و ویستار (والتین و اسپارکل) با توجه به میزان سازگاری آنها در منطقه مورد آزمایش و قرار گرفتن در برنامه‌های به‌نژادی بوده است. همچنان‌که مشاهده می‌شود ارقام چمبلی و اُکا دارای والد نر یکسان ولی والد ماده متفاوت است، درحالی‌که ارقام ردکت و ویستار از لحاظ والد نر و ماده دقیقاً عکس یکدیگرند.

برداشت میوه و تهیه بذر

از میوه‌های طبیعی با شکل مناسب برای تعیین عملکرد میوه استفاده شد. میوه‌های بالغ و رسیده حاصل از تلاقی‌ها به‌طور روزانه برداشت و نمونه‌هایی از ۱۰ میوه، از هر کدام از گل‌های اولین، دومین، سومین و چهارمین به‌طور جداگانه و با ترازوی حساس تعیین وزن شدند. برای تهیه بذر، ابتدا میوه‌ها را له کرده و با جریان آب شستشو داده شد تا گوشت میوه از بذر آنها جدا شود. سپس در ظرف محتوی آب بذرهای سالم ته نشین و بذرهای پوک و ناسالم در سطح آب شناور ماندند. تعداد بذرهای سالم و پوک برای هر یک از میوه‌ها شمارش و میانگین آن برای میوه‌های هر تلاقی مشخص شد. بذرهای سالم در درجه حرارت اتاق برای مدت ۲۴ ساعت خشک شدند و در درجه حرارت ۵ درجه سانتی‌گراد برای اندازه‌گیری طول و قطر و استفاده‌های بعدی نگهداری شدند. در رابطه با اندازه بذر حاصل از تلاقی‌ها و تعیین اختلاف معنی دار بین آنها، تعداد ۱۰ بذر از هر توده بذری به‌طور تصادفی انتخاب و با میکروسکوپ بینوکولار مجهز به خط کش میکرو، طول و قطر آنها با ضریب بزرگ‌نمایی $\times 31/25$ اندازه‌گیری و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

جوانه‌زنی بذر

الف) کشت بذرهای کامل در محیط کشت درون شیشه
جعبه‌های ماجنتا (Magenta box) با قطر ۱۰ سانتی‌متر و محتوی ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت استاندارد موراشیگ و اسکوگ (Morashige & Skoog) بدون ویتامین و تنظیم‌کننده‌های رشد استفاده شد. ظروف همراه با محیط کشت آن برای مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. نمونه بذرها با ماده ضد عفونی‌کننده بلیچ (Bleach) ۱۵ درصد همراه با توین ۲۰ (Tween 20) برای مدت ۱۵ دقیقه ضد عفونی و ۳ مرتبه با آب مقطر شستشو شدند. تعداد ۵ بذر از هر نمونه بذری روی محیط کشت و در ۴ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی کاشته شد. جعبه‌های ماجنتا در اتاق رشد که به‌وسیله لامپ‌های فلورسنت نور می‌دیدند، نگهداری شدند. این آزمایش در دو نوبت انجام و نتایج

یادداشت شد.

ب) کشت بذرهای نصف شده حاوی جنین
(Cut achenes containing plantlets) در محیط کشت درون

شیشه

برای تعیین تأثیر حذف پوسته بذر در سرعت و میزان جوانه‌زنی آزمایش زیر صورت پذیرفت. از هر نمونه بذری تعدادی به شکل تصادفی جدا و به وسیله اسکالپر و با استفاده از میکروسکوپ بینوکولار در تحت شرایط ضد عفونی شده بریده شدند. قسمت بالا و بدون پوسته بذر که حاوی ریشه چه و ساقه چه بود بر روی محیط کشت (مشابه با آزمایش قبل) و از ناحیه بریده شده به فواصل ۲ سانتی‌متر از یکدیگر در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار کاشته شدند. سپس ظروف با پارافیلیم، کاملاً عایق‌بندی شده و در درجه حرارت 27 ± 1 سانتی‌گراد با ۱۲ ساعت روشنایی توسط لامپ‌های فلورسنت و با شدت ۹۰ مول بر متر مربع بر ثانیه در اتاق رشد نگهداری و با بررسی روزانه، نتایج یادداشت شدند.

بذرهای توت فرنگی کاشته شده از هر تیمار روزانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. ظاهر شدن گیاهچه در بذرهای نصف شده و بیرون آمدن لپه از پوسته نیمه سخت در بذرهای کامل به‌عنوان معیاری برای رشد و نمو بذر بر روی محیط کشت در نظر گرفته شد. شمارش تعداد بذرهای جوانه زده پس از ظاهر شدن نخستین گیاهچه یا لپه شروع و روزانه تا پایان دوره آزمایش (۴۰ روز) ادامه پیدا کرد.

ج) جوانه‌زنی تحت شرایط کشت مه‌پاش

به منظور مشاهده تأثیر محیط کشت و شرایط مه‌پاش در مقایسه با محیط درون شیشه، این آزمایش انجام شد. برای این منظور بذور مورد نظر از هر تیمار در ردیف‌هایی به فواصل ۵ سانتی‌متر از یکدیگر درون ظرف پلاستیکی به ابعاد $50 \times 30 \times 10$ سانتی‌متر که از مخلوط پرومیکس و پرلیت (Promix & Perlite) (برای ایجاد زهکش مناسب) به نسبت ۲ به ۱ پر شده بود، کشت شدند. تعداد ۲۰ بذر از هر توده بذری بر روی سطح یکنواخت این محیط، کشت و مه‌پاش به گونه‌ای تنظیم شد که

ماندند (تصویر ۱). نتایج نشان داد که دانه‌های گرده در ارقام مختلف چمبلی، آکا، ردگت و ویستار به ترتیب دارای ۸۵، ۸۱، ۸۶ و ۸۲ درصد قوه نامیه بودند. دانه‌های گرده‌ای که بیش از دو روز در درجه حرارت اطاق نگه‌داری شده بودند، کاهش معنی‌داری را در مقایسه با آنهایی که در یخچال نگه‌داری شده بودند از خود نشان دادند.

خصوصیات اندازه‌گیری شده مربوط به میوه و دانه

تنها بعضی از مادگی‌ها در خود گرده‌افشانی و تعدادی در دگرگرده افشانی تلقیح نشده و به رنگ قهوه‌ای درآمدند. در ضمن ارقام چمبلی و ردگت به خود گرده افشانی سازگار بودند. از زمان تلقیح مادگی‌ها تا برداشت میوه بالغ، حدوداً ۲۰ تا ۳۰ روز بسته به نوع رقم طول کشید. میوه‌های اولیه در هر تیمار از نظر اندازه و تعداد بذره‌های سالم در مرتبه اول قرار گرفتند، به علاوه میزان باقی ماندن این میوه‌ها در مقایسه با سایرین نسبتاً بیشتر بود. جدول ۱ نشان می‌دهد که بیشترین میانگین وزن میوه‌های اولین متعلق به خود گرده‌افشانی رقم چمبلی و کمترین آن مربوط به گرده افشانی چمبلی بر روی آکا می‌باشد. این روند در میوه‌های دومین و چهارمین هم تکرار می‌شود و در میوه‌های سومین در حالی که بیشترین وزن مربوط به خود گرده افشانی چمبلی می‌شود، ولی کمترین وزن میوه تازه از تلاقی ردگت بر روی ویستار به دست آمده است. در این جدول هم‌چنین اختلاف معنی‌داری بین خودگرده افشانی چمبلی و دگرگرده افشانی چمبلی بر روی آکا در رابطه با تعداد بذر سالم و پوک و وزن میوه تازه دیده می‌شود، با این‌که آکا بر روی چمبلی اختلاف معنی‌داری را با چمبلی در حالت خود گرده افشانی از نظر میانگین وزن میوه تازه نشان می‌دهد، ولی در رابطه با میانگین تعداد بذر سالم و پوک این اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد. میانگین تعداد بذر سالم و پوک در جدول ۱ نشان می‌دهد که میوه‌های حاصل از خود گرده افشانی چمبلی و بعد از آن آکا بر روی چمبلی دارای بیشترین بذر سالم و چمبلی بر روی آکا دارای کمترین بذر سالم در هر میوه است. هم‌چنین ترکیب چمبلی بر روی آکا دارای بیشترین میزان پوکی بذر در میوه‌های

هر ۳۰ دقیقه یک‌بار به مدت ۱۵ ثانیه سطح محیط کشت را مه‌پاشی کند. درجه حرارت محیط کشت در ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم و هیچ‌گونه نور مصنوعی استفاده نشد. شمارش تعداد بذور جوانه زده با ظاهر شدن گیاهچه یا لپه بر سطح خاک شروع و روزانه تا پایان دوره آزمایش ادامه پیدا کرد. شاخص جوانه‌زنی (Germination Index) که توسط ملویل و همکاران (۱۲) مورد استفاده قرار گرفته بود، برای سرعت رشد و درصد کل جوانه‌زنی بذر در شرایط مختلف کشت درون شیشه و مه‌پاش در نظر گرفته شد.

د) تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات به دست آمده از این اندازه‌گیری‌ها در یک طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار استفاده شد و با ریشه مربع آرکسین (Arcsine Square Root)، تبدیل داده‌ها انجام و با استفاده از مدل خطی عمومی (GLM) و نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. میانگین‌ها با آزمون t استیودنت با هم مقایسه شدند.

نتایج

زمان گل‌دهی

رقم ویستار تنها بعد از ۲۷ روز پس از کاشت بوته‌های توت فرنگی به حداکثر میزان گل‌دهی رسید در حالی که ارقام ردگت، آکا و چمبلی به ترتیب پس از ۳۳، ۴۲ و ۳۷ روز به اوج گل‌دهی خود در طول دوره رشد رسیدند. این فاصله زمانی در تعیین اوج گل‌دهی و در کاشت به موقع نهال‌ها برای بهره‌برداری از حداکثر گل‌دهی و استفاده از گرده آنها برای تلاقی‌های لازم در نظر گرفته شد.

قوه نامیه دانه گرده

نمونه‌ای از هر دانه گرده ۴ رقم مورد استفاده در آزمایش با چند قطره محلول رنگی بلینگ مخلوط و بلافاصله در زیر میکروسکوپ دیده شد. دانه‌های گرده زنده رنگ ظرف چند ثانیه تغییر رنگ داده و به رنگ قرمز در آمدند در حالی که دانه‌های گرده غیر زنده و بد شکل به همان رنگ زرد باقی

جدول ۱. وزن میوه تازه، تعداد بذور سالم و پوک در هر میوه حاصل از تلاقی ارقام توت فرنگی

والدین	وزن تازه میوه (گرم) ^۱			میانگین وزن ^۲		میانگین تعداد بذر در هر میوه
	اولین	دومین	سومین	چهارمین	میوه تازه (گرم)	
چمبلی × چمبلی	۷/۵۹	۴/۵۵	۳/۲۹	۱/۷۴	۴/۲۹ ± ۲/۳۰ ^a	۱۶۸ ± ۵۰ ^a
ردگت × ردگت	۶/۶۶	۳/۳۶	۲/۴۶	۱/۵۲	۳/۵۰ ± ۲/۰۸ ^c	۱۳۶ ± ۲۵ ^{abc}
چمبلی × اگا	۳/۸۹	۰/۵	۱/۵۹	۰/۷۲	۲/۰۴ ± ۱/۱۷ ^e	۱۰۳ ± ۲۶ ^c
اگا × چمبلی	۷/۰۲	۴/۵۱	۲/۷۹	۱/۲۳	۳/۸۹ ± ۲/۳۶ ^b	۱۵۶ ± ۲۷ ^{ab}
ردگت × ویستار	۴/۴۹	۳/۴۶	۲/۱۸	۱/۱۳	۲/۸۱ ± ۱/۳۳ ^d	۱۱۷ ± ۳۳ ^{bc}
ویستار × ردگت	۵/۴۶	۳/۳۴	۰/۵	۰/۸۶	۲/۹۱ ± ۱/۷۷ ^d	۱۲۷ ± ۳۲ ^{abc}
میانگین ^۲	۵/۸۴ ± ۱/۸۲ ^a	۳/۵۵ ± ۰/۸۶ ^b	۲/۳۹ ± ۰/۶۵ ^c	۱/۲۰ ± ۰/۴۶ ^d	۳/۲۴	۱۴۰

۱. هر عدد ستون متوسط اندازه گیری ۱۰ میوه و هر میانگین نتیجه ۶۰ میوه می باشد.

۲. مقادیری که به وسیله یک حرف مشابه مشخص شده در سطح ۵ درصد هیچ گونه تفاوت معنی داری با هم ندارند.

۳. هر میانگین حاصل جمع وزن کلی میوه های اولین، دومین، سومین و چهارمین برداشت شده در تاریخ های مختلف است (در سطح ۰/۵٪).

۴ و ۵. هر مقدار، میانگینی از بذرهای حاصل از ۴ تکرار و استخراج شده از میوه های اولین، دومین، سومین و چهارمین است (در سطح ۰/۵٪).

جدول ۲. اثر والدین بر اندازه، وزن تازه و خشک بذور حاصل از تلاقی ارقام توت فرنگی

والدین	قطر طولی ^۱ (میلی متر)	قطر عرضی ^۲ (میلی متر)	وزن تازه بذور (میلی گرم)	وزن خشک بذور (میلی گرم)	درصد رطوبت ^۳ موجود در بذر
چمبلی × چمبلی	۱/۱۹۲ ± ۰/۰۴۳ ^a	۰/۸۹۲ ± ۰/۰۹۴ ^a	۶۶ ± ۱/۲۵ ^a	۶۱/۸۸ ± ۱/۹۸ ^a	۶/۲۷ ± ۱/۲۵ ^{bc}
ردگت × ردگت	۱/۲۲۰ ± ۰/۰۴۰ ^a	۰/۹۳۸ ± ۰/۰۵۶ ^a	۶۶ ± ۰/۸۶ ^a	۶۱/۲۵ ± ۸۳/۰ ^a	۷/۲۰ ± ۰/۲۴ ^{ab}
چمبلی × اگا	۱/۰۵۴ ± ۰/۰۶۰ ^c	۰/۷۹۲ ± ۰/۰۵۲ ^c	۴۵/۵ ± ۲/۸۰ ^c	۳۹/۸۳ ± ۲/۴۵ ^c	۶/۲۶ ± ۰/۷۳ ^{bc}
اگا × چمبلی	۱/۲۰۶ ± ۰/۱۰۰ ^a	۰/۸۷۴ ± ۰/۰۵۳ ^{ab}	۶۳/۰۵ ± ۴/۳۷ ^a	۶۰ ± ۴/۰۶ ^a	۴/۸۲ ± ۰/۳۳ ^c
ردگت × ویستار	۱/۰۸۲ ± ۰/۰۴۶ ^{bc}	۰/۷۸۴ ± ۰/۰۴۴ ^{bc}	۴۶ ± ۱/۲۱ ^c	۴۲/۸۸ ± ۱/۳۴ ^c	۶/۷۸ ± ۲/۱۹ ^B
ویستار × ردگت	۱/۱۶۸ ± ۰/۱۱۶ ^{ab}	۰/۸۵۸ ± ۰/۰۶۴ ^{abc}	۵۸ ± ۱/۴۹ ^b	۵۳ ± ۱/۴۶ ^b	۸/۶۲ ± ۰/۵۳ ^A

۱ و ۲. هر مقدار میانگینی از ۱۰ عدد بذر است (در سطح ۰/۵٪).

۳. میانگین اندازه گیری ۱۰ عدد بذر (در سطح ۰/۵٪).



تصویر ۱. آزمایش تعیین قوه نامیه دانه گرده با استفاده از محلول بلینگ کارمین استیک- اسید گلیسرین. دانه‌های گرده زنده با رنگ قرمز دیده می‌شوند.

روی ردگت متفاوت است. تفاوت بسیار معنی‌داری در بین سه تلاقی اُکا بر روی چمبلی و ردگت بر روی ویستار و ویستار بر روی ردگت در رابطه با میزان رطوبت موجود در بذر وجود دارد. هم‌چنین است بین ویستار بر روی ردگت و چمبلی بر روی اُکا که دومی کمتر از اولی است.

جوانه‌زنی بذره‌های کامل و نصف‌شده در محیط کشت درون شیشه

از آنجا که ملاک جوانه‌زنی بیرون آمدن و ظهور گیاهیچه از بذر بوده است، بذره‌های کامل کشت شده از هر تیمار بر روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ تا پایان آزمایش (۴۰ روز) هیچ‌گونه نشانه‌ای از جوانه‌زنی را از خود بروز ندادند. این در حالی است که بذور تیمار شده (نصف شده) بر روی محیط کشت مشابه تنها پس از دو روز بعد از قرار گرفتن روی محیط کشت شروع به جوانه‌زنی نموده و تا یک هفته پس از کاشت تا ۹۰ درصد جوانه زده بودند (تصویر ۲). هم‌چنین لپه‌هایی که از نیم پوسته خود جدا نشده بودند سریع‌تر از آنهایی که کاملاً از نیم پوسته خود جدا شده بودند، رشد کردند. سرعت جوانه‌زنی که در شاخص جوانه‌زنی جا دارد تا حدودی در بین تیمارهای مختلف متفاوت بود. نگاهی به شاخص جوانه‌زنی در جدول ۳ و در حالت جوانه‌زنی در محیط کشت درون شیشه نشان می‌دهد که بیشترین شاخص جوانه‌زنی مربوط به بذره‌های

حاصله بوده در حالی که خود گرده افشانی ردگت دارای کمترین میزان پوکی بذر بوده است. سایر موارد گرده افشانی در بین این دامنه قرار می‌گیرند.

با توجه به نتایج موجود در جدول ۲، سه گروه متمایز در رابطه با اندازه و قطر در توده‌های بذری حاصل از تلاقی می‌توان تشخیص داد. بذره‌های حاصل از خود گرده افشانی چمبلی و ردگت و بذره‌های حاصل از دگر گرده افشانی اُکا بر روی چمبلی در گروه اول و دارای بیشترین اندازه قطر طولی و عرضی بوده‌اند. بذره‌های حاصل از تلاقی چمبلی بر روی اُکا از نظر اندازه در ردیف کوچک‌ترین بذرها و تلاقی ردگت بر روی ویستار و برگشتی آن در میان این دو گروه قرار می‌گیرند. در رابطه با وزن تر و خشک بذرها (جدول ۲)، میانگین وزن تر بذره‌های حاصل از خودگشتی چمبلی از همه بیشتر، در حالی که میانگین وزن خشک در خود گرده افشانی ردگت از همه بیشتر و بعد از آن اُکا بر روی چمبلی می‌باشد. ویستار بر روی ردگت در دومین موقعیت و تلاقی‌های ردگت بر روی ویستار و چمبلی بر روی اُکا دارای کمترین مقادیر وزن تر و خشک بوده‌اند.

جدول ۲ هم‌چنین تفاوت‌های دامنه داری در میزان رطوبت موجود در بذر حاصل از ترکیب‌های مختلف گرده افشانی را نشان می‌دهد که از مقدار کمترین ۴/۸۲ درصد در تلاقی اُکا بر روی چمبلی تا مقدار بیشترین ۸/۶۲ درصد در تلاقی ویستار بر



الف. رشد گیاهچه ۲ روز بعد از کشت ب. رشد گیاهچه ۴ روز بعد از کشت ج. رشد دانه‌های توت فرنگی ۷ روز بعد از کشت

تصویر ۲. مراحل جوانه‌زنی بذر نصف شده توت فرنگی حاوی گیاهچه در محیط کشت درون شیشه (*In vitro*)

جدول ۳. درصد کل جوانه‌زنی و شاخص جوانه‌زنی (GI) بذر توت فرنگی حاصل از تلاقی در دو سیستم کشت

والدین	درصد جوانه‌زنی ^۱	شاخص جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی ^۲	شاخص جوانه‌زنی
چمبلی × چمبلی	۹۵±۹ ^a	۲۸/۸۴	۷۰±۴ ^{bc}	۱۵/۳۵
ردگت × ردگت	۹۵±۹ ^a	۲۷/۱۵	۸۷±۳ ^a	۲۴/۹۷
چمبلی × آکا	۶۰±۲۴ ^{۳b}	۳۲	۵۵±۱۳ ^d	۱۹/۲۵
آکا × چمبلی	۱۰۰±۰ ^a	۳۲	۶۰±۶ ^{bc}	۱۹/۳۳
ردگت × ویستار	۹۵±۹ ^a	۲۹/۲۶	۵۵±۹ ^d	۱۶/۳۶
ویستار × ردگت	۹۵±۹ ^a	۲۸	۷۹±۴ ^{ab}	۲۶/۰۶

۱ و ۲. میانگین‌های جوانه‌زنی بذور (در سطح ۵٪)
۳. تعدادی از بذور که آلودگی قارچی داشتند حذف شده‌اند.

حاصل از تلاقی چمبلی بر روی آکا و بالعکس و کمترین آن مربوط به خود‌گرده افشانی ردگت می‌باشد.

به هر حال جدول ۳ اختلاف معنی‌داری را از نظر درصد جوانه‌زنی در بین تیمارهای مختلف گرده افشانی در حالتی که بذرها به صورت نیمه بر روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ کشت شده بودند از خود نشان نمی‌دهد و تنها مورد اختلاف مربوط به گرده افشانی چمبلی بر روی آکا می‌باشد که آن هم به دلیل آلودگی قارچی بوده است.

جوانه‌زنی بذور در تحت شرایط مه‌پاش

بذرهای کشت شده از هر تیمار در تحت شرایط مه‌پاشی چند روز بعد از کاشت به‌طور روزانه ارزیابی شدند. اولین نشانه‌های جوانه‌زنی ۱۵ روز بعد از کشت ظاهر شد. با توجه به شاخص

جوانه‌زنی برای سرعت رشد و درصد کل جوانه‌زنی بذر (جدول ۳)، جوانه‌زنی بذر در محیط کشت مه‌پاش را می‌توان به سه دسته تقسیم نمود. نخستین دسته شامل دگر‌گرده‌افشانی ویستار بر روی ردگت و خودگشنی ردگت می‌باشد که دارای بیشترین شاخص جوانه‌زنی و به ترتیب ۲۶/۰۶ و ۲۴/۹۷ است. دسته دیگر مربوط به تلاقی‌های بین آکا و چمبلی و بالعکس (به ترتیب ۱۹/۳۳ و ۱۹/۲۵)، و دسته سوم مربوط به گرده افشانی ردگت بر روی ویستار و خودگشنی چمبلی (به ترتیب ۱۶/۳۶ و ۱۵/۳۵) است. همچنان‌که در جدول ۳ دیده می‌شود مقایسه میانگین کل میزان جوانه‌زنی در تحت شرایط مه‌پاش در دو ترکیب خود‌گرده افشانی چمبلی و ردگت متفاوت بوده و مقدار آن در بذرهای حاصل از خود‌گرده افشانی ردگت بیشتر از آن در چمبلی بوده است.

جدول ۴. ضرایب هم‌بستگی بین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی اندازه‌گیری شده در آزمایش با میزان جوانه‌زنی

در محیط کشت‌های مختلف

رطوبت	ضخامت	اندازه بذر (قطر)		وزن بذر		
		عرضی	طولی	خشک	تر	
موجود بذر (درصد)	پوسته بذر					
۰/۱۷۴۹ ^{ns}	۰/۰۹۹۲ ^{ns}	۰/۱۳۲۷ ^{ns}	۰/۳۰۱۷ ^{ns}	۰/۴۹۸۱ ^{**}	۰/۴۹۸۹ ^{**}	جوانه‌زنی در محیط کشت درون شیشه (نیم بذر)
۰/۶۷۳۳ ^{**}	-۰/۳۰۶۵ [*]	۰/۶۰۱۳ ^{**}	۰/۴۴۱۴ ^{**}	۰/۴۷۳۳ ^{**}	۰/۴۹۱۰ ^{**}	جوانه‌زنی در محیط کشت مه فشان

اعداد ضریب هم‌بستگی و سطح احتمال برای کلیه فاکتورهای موجود در جدول را نشان می‌دهد.

*: معنی‌دار در سطح ۵٪

** : معنی‌دار در سطح ۱٪

که تأثیر والد پدری دقیقاً مربوط به کدام قسمت بذر (پوسته، جنین و یا اجزای دیگر) می‌شود و تأثیر آن قسمت روی جوانه‌زنی چگونه است. در بررسی حاضر و با مقایسه شاخص جوانه‌زنی در محیط کشت مه‌پاش و ترکیب‌های مختلف گرده‌افشانی (جدول ۳)، نتایج متفاوتی به دست آمد، به طوری که در صد جوانه‌زنی در بین دگر گرده‌افشانی‌ها زمانی که آکا به عنوان منبع گرده دهنده بر روی چمبلی استفاده شده بیشتر از حالت برعکس آن می‌باشد و این تفاوت کاملاً معنی‌دار بوده است. همین‌طور زمانی که ویستار به مثابه پایه پدری با ردکت تلاقی داده شده، در صد جوانه‌زنی بیشتر از حالت تلاقی بر عکس است و باز هم تفاوت معنی‌دار می‌باشد. این روند در شاخص جوانه‌زنی هم (همان جدول) تکرار شده ولی از لحاظ آماری تست نشده است. بنابراین شاید بتوان به نوعی نظر هنری را در رابطه با والد پدری مورد استفاده در یک تلاقی مد نظر قرار داد، ولی این‌که تأثیر این عامل و تفاوت به وجود آمده به کدام قسمت بذر بر می‌گردد، مسئله‌ای است که احتیاج به تحقیق و پژوهش دارد.

شاخص جوانه‌زنی بذرها در سیستم کشت درون شیشه همراه با تیمار نصف کردن بذر و مقایسه آن با کشت کامل بذر در محیط مه‌پاش نشان‌دهنده درصد کمتر جوانه‌زنی همراه با سرعت پایین‌تر آن در ژنوتیپ‌های متفاوت در سیستم کشت مه‌پاش است. در واقع ضخامت پوسته بذر و وجود لایه‌های متعدد موجود در آن که توسط نویسنده و با میکروسکوپ

به منظور تعیین هم‌بستگی متغیرهای مهم مانند وزن تر و خشک بذرها، قطر طولی و عرضی، ضخامت پوسته و رطوبت موجود در بذر در جوانه‌زنی بذر در بین محیط کشت درون شیشه و مه‌پاش، مطالعه هم‌بستگی انجام گرفت. نتایج این بررسی (جدول ۴) نشان می‌دهد که تنها وزن تر و خشک بذر نشانگر یک نوع هم‌بستگی مثبت در رابطه با جوانه‌زنی در محیط کشت درون شیشه است، ولی سایر متغیرها شامل اندازه و ضخامت پوسته بذر، درصد رطوبت موجود در بذر هیچ نوع هم‌بستگی معنی‌داری را در ارتباط با جوانه‌زنی بذر نداشته است. در محیط کشت مه‌پاش کلیه عوامل ذکر شده به استثنای ضخامت پوسته بذر دارای یک هم‌بستگی مثبت و بسیار معنی‌دار با جوانه‌زنی بذرها بوده است. رابطه ضخامت پوسته بذر با جوانه‌زنی دارای یک هم‌بستگی منفی و معنی‌دار می‌باشد.

بحث

در رابطه با متغیر بودن میزان جوانه‌زنی در توده‌های مختلف بذر توت فرنگی و آنهایی که از تلاقی به دست آمده‌اند عامل ژنتیکی و نوع والدین را می‌توان به عنوان عامل مهمی در کنار سایر عوامل ذکر نمود. هنری (۱۰) بیان می‌کند که والد پدری ممکن است روی در صد جوانه‌زنی بذر حاصل از دو رگه‌گیری تأثیر بگذارد و بذرها حاصل از یک دو رگه‌گیری مشخص ممکن است نسبت به آنهایی که با ارقام دیگر گرده افشانی شده‌اند دارای جوانه‌زنی بیشتری باشند. هنری مشخص نمی‌کند

الکترونی بررسی شد (نتایج ارائه نشده)، می‌تواند عامل مهمی در عدم یکنواختی و سرعت جوانه‌زنی بذرها در این بررسی باشد. از طرف دیگر ویلسون و همکاران (۲۱) در خصوص مقایسه سیستم مه‌پاش و سیستم عادی گلخانه بر روی جوانه‌زنی ۵ رقم بذر کامل توت فرنگی به ترتیب ۱۶ تا ۲۴ روز و ۲۴ تا ۳۳ روز را برای ۵۰ درصد جوانه‌زنی در بذرهای این ارقام گزارش کرده‌اند که این خود می‌تواند به خصوصیات فیزیکی و شیمیایی بذر و پوسته آن مربوط شود که در حالت مه‌پاش جوانه‌زنی زودتر صورت می‌گیرد. رولستون (۱۵) و روسی و همکاران (۱۶) عامل ضخامت و سختی پوسته بذر را در بعضی از گونه‌ها از جمله یونجه و شبدر عامل نفوذ ناپذیری این قبیل بذرها بر شمرده‌اند. هم‌چنین عدم جوانه‌زنی بذرهای تیمار نشده (بذر کامل) در محیط کشت درون شیشه تا چهل روز بعد از کاشت و مقایسه آن با بذرهای بریده شده روی محیط کشت مشابه که تنها دو روز پس از کشت شروع به جوانه‌زنی نمودند، نقش نفوذ ناپذیری پوسته‌های نیمه سخت را در جذب آب و تبادل گازی به داخل و خارج آن نشان می‌دهد. علت استفاده پژوهشگران (۸، ۱۳، ۱۸، ۱۹ و ۲۰) از تیمارهای مختلف برای از بین بردن رکود حاصل از پوسته و تسریع در جوانه‌زنی دقیقاً به همین منظور می‌باشد.

میزان جوانه‌زنی بذرها تحت محیط کشت مه‌پاش، ۴۰ روز بعد از کاشت به حد نهایی خود رسیده و دیگر تغییر محسوسی نداشته است، در حالی که در سیستم کشت درون شیشه و در حالتی که بذرها به صورت نیمه کشت شدند، صرف‌نظر از نوع ژنوتیپ تنها بعد از ۶ تا ۷ روز حداکثر جوانه‌زنی به دست آمده است. نخستین موارد جوانه‌زنی با تیمار بریدن بذر در آزمایش میلر و همکاران (۱۳)، ۵ روز بعد از کشت و حداکثر جوانه‌زنی بعد از ۲ هفته گزارش شده در حالی که جوانه‌زنی بذرهای حاصل از تلاقی در این بررسی تنها پس از ۲ روز آغاز و در مدت یک هفته به بیش از ۹۵ درصد رسیده است. علت این اختلاف را شاید بتوان در شدت نور دهی، عناصر محیط کشت و یا رطوبت موجود در بذر و فاکتورهای دیگر ذکر نمود. اعداد

و ارقام در جوانه‌زنی بذرها در شرایط مختلف در نظر گرفته شده در این بررسی نشان داد که سرعت و درصد جوانه‌زنی در محیط کشت درون شیشه همراه با تیمار کردن بذرها (نصف کردن) به مراتب بهتر از آن در تحت شرایط کشت مه‌پاش و کشت در محیط مه‌پاش نیز مطلوب‌تر از آن در مقایسه با کاشت بذور کامل روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ بوده است.

مقایسه درصد جوانه‌زنی و به‌طور کلی شاخص جوانه‌زنی در این بررسی و در بین تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که ظاهراً رکود بذر توت فرنگی فیزیولوژیکی نبوده و احتیاجی به تیمار سرمادهی برای شکستن دوره رکود نمی‌باشد و این بر خلاف نظر تامپسون (۲۰) است که عامل سرمادهی را در شکستن این رکود ضروری دانسته است.

میلر و همکاران (۱۳) پیش بینی نموده‌اند که گلیکوزیدهای سیانوژنیک (Cyanogenic glycosides) که به‌طور عادی در گیاهان خانواده رزاسه (Rosaceae) یافت می‌شود، ممکن است به عنوان بازدارنده احتمالی شیمیایی در مقابله با جوانه‌زنی باشد. کاشت بذور قطع شده روی محیط کشت درون شیشه و کاشت بذور کامل در سیستم کشت مه‌پاش که باعث از میان برداشتن و یا شسته شدن این مواد شده و در نتیجه سبب جوانه‌زنی سریع‌تر بذر می‌شود، می‌تواند حاکی از وجود احتمالی مواد شیمیایی موجود در پوسته بذر به عنوان عاملی در بازدارندگی جوانه‌زنی بذر توت فرنگی باشد. به وسیله قطع کردن بذرها از وسط در واقع پوسته بذر که می‌تواند هم به عنوان یک سد فیزیکی و هم شیمیایی در راه جوانه‌زنی بذر عمل نماید به یک‌باره حذف شده و بنابراین رشد و نمو جنین آزاد شده به راحتی و به سرعت صورت می‌پذیرد. حتی جنین‌های نابالغ هم با این روش جوانه‌زنی نموده‌اند (۱۱). البته در آزمایشی که برای تشخیص وجود آمیگدالین (یک نوع سیانوژن گلیکوزید) در نمونه‌ای از بذرها و در حاشیه این مطالعه به عمل آمد (نتایج ارائه نشده)، اثری از این بازدارنده شیمیایی را نشان نداد، ولی وجود ترشحات سیاه رنگ در اطراف اکثریت بذور کامل کاشته شده بر روی محیط کشت درون شیشه می‌تواند شاهدهی بر

برنامه‌های به‌نژادی خواهد شد. به هر حال نتایج به دست آمده در این آزمایش در موافقت کامل با گزارش‌هایی از میلر و همکاران (۱۳) است که پیشنهاد نموده‌اند رکود حاصل از پوستهٔ بذر می‌تواند به عنوان قوی‌ترین دلیل تأثیر گذارنده روی جوانه‌زنی بذور توت فرنگی در ژنوتیپ‌های متفاوت باشد.

سیاسگزارى

بدین وسیله از مسئولین وزارت جهاد سازندگی وقت که امکان انجام این پژوهش را فراهم نمودند، تشکر و قدردانی می‌کنم.

وجود بعضی ترکیبات شیمیایی ترشح شده از پوسته بذر مانند فنول‌های محلول در آب باشد.

انجام این بررسی و استفاده از تکنیک‌های متفاوت نشان داد که جوانه‌زنی بذر در توت فرنگی از صفر تا ۱۰۰ درصد بسته به نوع ژنوتیپ و تیمار به کار برده شده متغیر است. به عنوان مؤثرترین روش در رابطه با بذور نیمه سخت توت فرنگی، به نظر می‌رسد قطع کردن بذر از وسط و استفاده از قسمت حاوی جنین که تا ۱۰۰ درصد جوانه‌زنی را در توده‌های بذری ممکن می‌سازد، راه حلی مناسب برای غلبه بر رکود حاصل از پوسته بذر و تسریع در جوانه‌زنی باشد. این عمل باعث حفظ اکثریت ترکیبات ژنتیکی حاصل از تلاقی و سبب پیشرفت در

منابع مورد استفاده

1. Avigdor-Avidov, H. 1985. Strawberry. pp. 419-448. In: SP. Monselise (Ed.), Handbook of Fruit Set and Development. CRC Press, Boca Raton, Florida, U. S. A.
2. Ballard, L. A. T. 1973. Physical barriers to germination. Seed Sci. and Technol. 1:285-303.
3. Bewley, J. D. and M. Black. 1982. Physiology and Biochemistry of Seeds. Vol. 2. Springer-Verlag, Berlin. 375 P.
4. Boxus, P. H., M. Ouoirin and J. M. Laine. 1977. Large Scale Propagation of Strawberry Plants from Tissue Culture. In: J. Reinert and Y. P. S. Bajaj (Eds.), Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture. Springer-Verlag, New York.
5. Darrow, G. M. 1966. The Strawberry. History, Breeding and Physiology. Holt, Reinhart & Winston, New York.
6. Donnelly, E. D. 1971. Breeding hard-seeded vetch using interspecific hybridization. Crop Sci. 11:721-724.
7. Egley, G. H. 1989. Water impermeable seed coverings as barriers to germination. pp. 207-223. In: R. B. Taylorson (Ed.), Recent Advances in the Development and Germination of Seeds. Plenum Press, New York.
8. Guttridge, C. G. and S. Bright. 1978. Accelerating and synchronizing germination of strawberry seeds by osmotic pre-treatments. Euphytica 27:843-848.
9. Harrington, J. F. 1972. Seed Storage and Longevity. pp. 145-245. In: T.T. Kozlowski (Ed.), Seed Biology. Vol. III, Academic Press, N. Y.
10. Henry, E. M. 1935. The germination of strawberry seeds and the technique of handling Seedlings. Proc. Am. Soc. Hort. Sci. 2:431-433.
11. Lis, E. K. 1990. *In vitro* clonal propagation of strawberry from immature achenes. Acta Hort. 280:147-149.
12. Melville, A. H., G. J. Galleta and A. D. Draper. 1980. Seed germination and early seedling vigor in progenies of inbred strawberry selections. Hort. Sci. 15(6):749-750.
13. Miller, A. R., J. C. Scheerens, P. S. Erb and C. D. Chandler. 1992. Enhanced strawberry seed germination through *in vitro* culture of cut achenes. J. Am. Soc. Hort. Sci. 117(2):313-316.
14. Quinlivan, B.J. 1971. Seed coat impermeability in legumes. J. Aust. Instit. Agric. Sci. 37:283-295.
15. Rolston, M. P. 1978. Water impermeable seed dormancy. Botanic. Rev. 44:365-396.
16. Russi, L., P. S. Cooks and E. H. Roberts. 1992. Coat thickness and hard-seededness in some medicago and trifolium species. Seed Sci. Res. 2:243-249.
17. Salisbury, F. B. and C. W. Ross. 1992. Plant Physiology. 4th ed., Wadsworth Publishing Company. Belmont, California. 682 P.
18. Scott, D. H. and D. P. Ink. 1948. Germination of strawberry seed as affected by scarification treatments with sulfuric acid. Proc. Am. Soc. Hort. Sci. 51:299-300.
19. Thompson, P. A. 1969. The use of chilling and chemical treatments to promote rapid germination of strawberry achenes. J. Hort. Sci. 44:201-210.
20. Wilson, D., A. Goodall and J. Reeves. 1973. An improved technique for the germination of strawberry seeds. Euphytica 12:362-366.