

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

قدرت الله ریاضی^۱

چکیده

جوانهزنی بذرهای توت فرنگی (*Fragaria × ananassa Duch.*) حاصل از خودگشتنی و دگرگشتنی ۴ رقم تجاری، در محیط کشت گلخانه و درون شیشه در سال‌های ۱۳۷۳ و ۱۳۷۴ در دانشگاه مک گیل کانادا بررسی شد. عملیات خود گرده افشاری (چمبلی × چمبلی و ردگفت × ردگفت) و دگر گرده افشاری (آکا × چمبلی و بالعکس، ردگفت × ویستار و بالعکس)، انجام و پس از برداشت میوه، بذرهای آنها استخراج و خصوصیات مختلف وزن، اندازه و رطوبت موجود در بذر تعیین شد. نمونه‌ای از بذرها در محیط کشت مه‌پاش و همچنین بر روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ بدون ویتامین و تنظیم کننده‌های رشد به دو صورت بذر کامل و بذرهای نصف شده کاشته شدند. شاخص جوانهزنی (سرعت و میزان جوانهزنی) ملاک تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج این بررسی نشان داد که بذرهای 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 بذرهای 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 در صد جوانه زده بودند. جوانهزنی بذرهای کامل در تحت شرایط مه‌پاش تقریباً ۱۵ روز پس از کاشت شروع و تا پایان آزمایش (تقریباً ۶۰ روز) از حداقل ۵۵ تا حداًکثر ۸۷ در صد در بین ژنتیپ‌ها متفاوت بود. شاخص جوانهزنی در این محیط کشت از ۱۵/۲۵ تا ۲۶/۰۶ متفاوت بود. مقایسه شاخص جوانهزنی کشت بذرها در محیط‌های درون شیشه و مه‌پاش، نشان دهنده در صد کمتر جوانهزنی و سرعت پایین تر آن در سیستم کشت مه‌پاش و در ژنتیپ‌های متفاوت می‌باشد. انجام این بررسی هم‌چنین نشان داد که میزان جوانهزنی در بذر توت فرنگی از صفر تا ۱۰۰ در صد بسته به ژنتیپ و نوع تیمار، متفاوت است و بهترین تیمار از نظر یکنواختی و سرعت جوانهزنی استفاده از بذرهای نصف شده بر روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ می‌باشد.

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

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

مقدمه

پس از کاشت شروع به رشد می نماید که به نظر می رسد نتیجه یک انتخاب در مدت زمان طولانی باشد. در میان اکتاپلوبloidهای (Octaploids) جنس فراگاریا (*Fragaria*), بذرهای گونه (Octaploids) ویرجینیانا (*Virginiana*) به آسانی و به سرعت جوانهزنی نموده، در حالی که گونه چیلیونسیس (*Chileensis*) به کندی و به صورت نامنظم جوانه می زند (۵). به طور کلی جوانهزنی در بذرهای توت فرنگی ناهمگون و طولانی بوده و حداکثر میزان جوانهزنی در توده های بذری متفاوت می باشد (۵، ۱۰، ۱۱ و ۱۳). جوانهزنی و رشد دانهالهای توت فرنگی ممکن است از ۱۰ تا ۱۴۰ روز بعد از کاشت بذرها به طول انجامد (۱۰، ۱۱ و ۱۳). برای یک برنامه به نژادی، جوانهزنی متغیر و نایابی بذر توت فرنگی باعث بروز مشکلاتی از جمله حفاظت از ژرم پلاسم و از بین رفتن ارزش بالقوه ژنوتیپ ها و ارزیابی گیاهان در سنین مختلف می شود (۸ و ۱۳). کوتاه کردن زمان لازم برای جوانهزنی بذر، بالا بردن درصد جوانهزنی و به دست آوردن دانهالهای یکنواخت حاصل از تلاقی، این اجازه را به به نژادگران می دهد که به راحتی ژرم پلاسم توت فرنگی را مورد ارزیابی قرار دهند. اطلاعات مفیدی در خصوص نفوذ پذیری بذرهای دارای پوسته سخت و نیمه سخت در خانواده های مختلف گیاهی از جمله بعضی از گیاهان خانواده رزاسه که توت فرنگی نیز جزو آن می باشد به دست آمده است (۳). تیمارهای مختلفی برای تأثیرگذاری جوانهزنی بذرهای توت فرنگی گزارش شده که شامل خراش دهی پوسته به وسیله اسید سولفوریک (۱۸)، سرمادهی و استفاده از تنظیم کننده های رشد مانند اسید جیبریلیک (۱۹)، اتفان (۲۱) و سایر تیمارها همچون استفاده از مهپاش (۲۰) است. تا حدودی هر کدام از این تیمارها موافقیت آمیز بوده اند، ولی به هر حال ژنوتیپ های توت فرنگی پاسخ های متفاوتی در رابطه با حداکثر درصد جوانهزنی داشته اند و علاوه بر آن جوانهزنی در مدت زمان طولانی صورت گرفته است. میلر و همکاران (۱۳) در آزمایشی مقایسه ای با کاشت بذرهای کامل توت فرنگی بر روی محیط های کشت مختلف از جمله محیط کشت بدون خاک، کاغذ فیلتر مرطوب و محیط کشت

به نژادگران برای دست یابی به صفات مطلوب حاصل از تلاقی بین والدین نر و ماده از بذر استفاده می کنند. بنابراین در یک برنامه به نژادی، یکنواختی و سرعت جوانهزنی بذرها از اهمیت خاصی برخوردار است. رکود حاصل از پوسته بذر در قلمرو گیاهی به طور وسیع و گستردگی به چشم می خورد (۲ و ۹). این رکود سبب بروز مسائل نامطلوبی در جاهایی که برنامه های به نژادی 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 می شود در بذرهای سخت و نیمه سخت، گزارش شده است (۶ و ۱۲ و ۱۵). این نفوذ ناپذیری و رکود ممکن است به واسطه ساختمان فیزیکی و یا شیمیابی بذر باشد (۳ و ۷). درجه نفوذ ناپذیری بذر به طور عمدہ 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. قسمت های مختلف یک بذر متشکل از پوسته، آندوسپرم، لپهای و جنبین با مشخصات فردی فیزیکی و شیمیابی بر روی جوانهزنی بذر و دانهال حاصل از آن تأثیر دارند (۳). از دیدگاه برنامه های به نژادی تولید دانهالهای یکنواخت و یک دست از اهمیت زیادی برخوردار است (۱۳). همچنین گرایشی برای انتخاب بذرهای با جوانهزنی سریع و یکنواخت برای محصولات مختلف گیاهی وجود دارد (۳). بنابراین بذرها را می بایست به گونه ای 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 تجاری با استفاده از اجزای گیاهی مانند کشت مریستم و جوانه انتهایی (۴)، قطعاتی از برگ و غیره در محیط کشت درون شیشه انجام می شود، ولی ایجاد تنوع ژنتیکی به استثنای جهش در سلول های بدنسی امکان پذیر نبوده و بنابراین از بذرهای حاصل از تلاقی استفاده می شود. بذرهای دیپلوبloid فراگاریا و سکا سمپرفلورنس (*Fragaria vesca semperflorens Ehr.*) که تولید ساقه رونده نکرده و تنها به وسیله بذر تکثیر می شود به طور منظم و بلا فاصله

مواد گیاهی و شرایط رشد

بوتهای 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) داشتکده کشاورزی دانشگاه مک‌گیل کانادا قرار داده شدند و سپس درون کیسه‌های پلاستیکی پلی‌اتیلن با ابعاد ۱۱×۲۵ سانتی‌متر که با پرومیکس (Promix) پر شده بود کاشته و در گلخانه همان داشتکده 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 به‌وسیله 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 بلافصله قوه نامیه نمونه‌ای از دانه گرده هر رقم با استفاده از محلول رنگی بلینگ کارمین-استیک اسید گلیسرین (Belling Carmine Acetic Acid Glycerine Dye) در زیر میکروسکوپ مطالعه گردید.

اخته کردن و گرده افشاری

در آغاز گل‌دهی، خوش‌های 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 افشاری 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 اطاقداری 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 افشاری دو مرتبه و به فاصله هر سه روز یکبار با برس نرم و ظریف گرده افشاری 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 به‌وسیله دست یا ماشین خراش دهی شده و بر روی محیط کاغذ فیلتر مرتبط 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 تسريع در جوانه‌زنی بذر و ارزیابی ژنتیک‌های حاصل از آن می‌باشند (۱۱ و ۱۳).

اخیراً موقیت‌هایی در نصف کردن بذر و کاشت نیمه حاوی گیاهچه بر روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ به‌دست آمده است (۱۱ و ۱۳). هدف از این بررسی، انجام خودگشتنی و دگرگشتنی در بین ارقام تجاری توت فرنگی موجود در منطقه محل آزمایش و تأثیر آن بر جوانه‌زنی بذرهای نسل اول حاصل از آنها و همچنین مقایسه روش‌های مختلف کشت مهپاش و درون شیشه در تسريع جوانه‌زنی بذرهای حاصل از تلاقی بوده است.

مواد و روش‌ها

انتخاب ارقام

در این بررسی از ۴ رقم توت فرنگی که برخی از آنها خود گرده‌افشاری شده [چمبلي (Chambly) × چمبلي، ردکت (Redcoat) × ردکت] و برخی دیگر به‌طور متقابل تلاقی داده شدند [اکا (Oka) × چمبلي و بالعكس، ردکت × ويستار (Veestar) و بالعكس] استفاده گردید. والدين این ۴ رقم به ترتیب ماده و نر شامل چمبلي [[اسپارکل (Sparkle) و هونتوی (Honeoy) [اکا [کا - ۷۵ - ب (K-75-B) و هونتوی]، ردکت [اسپارکل و والتین (Valentine)]] و ويستار (والتين و اسپارکل) با توجه به میزان سازگاری آنها در منطقه مورد آزمایش و قرار گرفتن در برنامه‌های بهنژادی بوده است. همچنانکه مشاهده می‌شود ارقام چمبلي و اکا دارای والد نر یکسان ولی والد ماده متفاوت است، درحالی‌که ارقام ردکت و ويستار 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 به کرده و با جریان آب شستشو داده شد تا گوشت میوه از بذر آنها جدا شود. سپس در ظرف محتوى آب بذرها سالم نهشین و بذرها پوک و ناسالم در سطح آب شناور مانندند. تعداد بذرها سالم و پوک برای هر یک از میوه‌ها شمارش و میانگین آن برای میوه‌های هر تلاقی مشخص شد. بذرها سالم در درجه حرارت اطاق 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 بذرها کامل در محیط کشت درون شیشه جعبه‌های ماجتنا (Magenta box) با قطر ۱۰ سانتی‌متر و محتوى ۳۰ میلی لیتر محیط کشت استاندارد موراشیگ و اسکوگ (Morashige & Skoog) بدون ویتامین و تنظیم کننده‌های رشد استفاده شد. ظروف همراه با محیط کشت آن برای مدت ۲۰ دقیقه اتو کلاو شدند. نمونه بذرها با ماده ضد عفونی کننده بیلیچ (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 ماجتنا در اطاق رشد که به‌وسیله لامپ‌های فلورسنت نور می‌دیدند، نگه‌داری شدند. این آزمایش در دو نوبت انجام و نتایج

یادداشت شد.

ب) کشت بذرها 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 پارافیلم، 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 اطاق رشد نگه‌داری و با بررسی روزانه، نتایج یادداشت شدند.

بذرها توت فرنگی کاشته شده از هر تیمار روزانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. ظاهر شدن گیاهچه در بذرها نصف شده و بیرون آمدن لپه از پوسته نیمه سخت در بذرها کامل به عنوان معیاری برای رشد و نمو بذر بر روی محیط کشت در نظر گرفته شد. شمارش تعداد بذرها 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 $50 \times 30 \times 10$ (Promix & Perlite) (برای ایجاد زهکش مناسب) به نسبت ۲ به ۱ پرشده بود، کشت شدند. تعداد ۲۰ بذر از هر توده بذری بر روی سطح یکنواخت این محیط، کشت و مه‌پاش به گونه‌ای تنظیم شد که

مانند (تصویر ۱). نتایج نشان داد که دانه‌های گرده در ارقام مختلف چمبلی، آکا، ردکت 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 گردهافشاری و تعدادی در دگرگرده افشاری تلقیح نشده و به رنگ قهوه‌ای درآمدند. در ضمن ارقام چمبلی و ردکت به خود گرده افشاری سازگار بودند. از زمان تلقیح مادگی‌ها تا برداشت میوه بالغ، حدوداً ۲۰ تا ۳۰ روز بسته به نوع رقم طول کشید. میوه‌های اویله در هر تیمار از نظر اندازه و تعداد بذرهای 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 اویلین متعلق به خود گردهافشاری رقم چمبلی و کمترین آن مربوط به گرده افشاری 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 افشاری چمبلی می‌شود، ولی کمترین وزن میوه تازه از تلاقی ردکت بر روی ویستار به دست آمده است. در این جدول همچنین اختلاف معنی‌داری بین خود گرده افشاری چمبلی و دگرگرده افشاری 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 افشاری از نظر میانگین وزن میوه تازه نشان می‌دهد، ولی در رابطه با میانگین تعداد بذر سالم و پوک این اختلاف معنی دار نمی‌باشد. میانگین تعداد بذر سالم و پوک در جدول ۱ نشان می‌دهد که میوه‌های حاصل از خود گرده افشاری 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 حداقل میزان گل‌دهی رسید در حالی که ارقام ردکت، 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 حداقل 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 بلافارسله در زیر میکروسکوپ دیده شد. دانه‌های گرده زنده زرد 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 تلاقي ارقام توت فرنگی

والدين	وزن تازه میوه (گرم)						
	میانگین وزن ^۳		وزن تازه میوه (گرم)				
	سالم ^۴	میوه ^۵	چهارمين	سومين	دومين	اولين	
چمبلی ×	۲۹ ± ۶ ^{bc}	۱۶۸±۵۰ ^a	۴/۲۹ ± ۲/۳۰ ^a	۱/۷۴	۳/۲۹	۴/۵۵	۷/۵۹
چمبلی	۲۴ ± ۸ ^c	۱۳۶ ± ۲۵ ^{abc}	۳/۵۰ ± ۲/۰۸ ^c	۱/۵۲	۲/۴۶	۳/۳۶	۶/۶۶
ردگت ×	۵۲± ۱۳ ^a	۱۰۳ ± ۲۶ ^c	۲/۰۴ ± ۱/۱۷ ^e	۰/۷۲	۱/۵۹	۰/۵	۳/۸۹
ردگت	۲۵ ± ۷ ^{bc}	۱۵۶ ± ۲۷ ^{ab}	۳/۸۹ ± ۲/۳۶ ^b	۱/۲۳	۲/۷۹	۴/۵۱	۷/۰۲
اکا ×	۳۵ ± ۷ ^b	۱۱۷ ± ۳۳ ^{bc}	۲/۸۱ ± ۱/۳۳ ^d	۱/۱۳	۲/۱۸	۳/۴۶	۴/۴۹
ویستار	۳۰ ± ۸ ^{bc}	۱۲۷ ± ۳۲ ^{abc}	۲/۹۱ ± ۱/۷۷ ^d	۰/۸۶	۰/۵	۳/۳۴	۵/۴۶
ردگت ×	۴۵	۱۴۰	۳/۲۴	۱/۲۰±۰/۴۶ ^d	۲/۳۹±۰/۶۵ ^c	۳/۵۵±۰/۸۶ ^b	۵/۸۴±۱/۸۲ ^a
میانگین ^۲							

۱. هر عدد ستون متوسط اندازه‌گیری ۱۰ میوه و هر میانگین نتیجه ۶۰ میوه می‌باشد.

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

۳. هر میانگین حاصل جمع وزن کلی میوه‌های اولین، دومین، سومین و چهارمين برداشت شده در تاریخ‌های مختلف است (در سطح ۰/۵%).

۴ و ۵. هر مقدار، میانگینی از بذرها حاصل از ۴ تکرار و استخراج شده از میوه‌های اولین، دومین، سومین و چهارمين است (در سطح ۰/۵%).

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

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

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

۳. میانگین اندازه‌گیری ۱۰ عدد بذر (در سطح ۰/۵%).



تصویر ۱. آزمایش تعیین قوه نامیه دانه گرده با استفاده از محلول بلیسگ کارمین استیک- اسید گلیسیرین. دانه های گرده زنده با رنگ قرمز دیده می شوند.

روی ردگت متفاوت است. تفاوت بسیار معنی داری 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.

جوانه زنی بذرهای کامل و نصف شده در محیط کشت درون شیشه

از آنجا که ملاک جوانه زنی بیرون آمدن و ظهر گیاهچه از بذر بوده است، بذرهای کامل کشت شده از هر تیمار بر روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ تا پایان آزمایش (۴۰ روز) هیچ گونه نشانه ای از جوانه زنی را از خود بروز ندادند. این در حالی است که بذور تیمار شده (نصف شده) بر روی محیط کشت شروع تنها پس از دو روز بعد از قرار گرفتن روی محیط کشت شروع به جوانه زنی نموده و تا یک هفته پس از کاشت تا ۹۰ درصد جوانه زده بودند (تصویر ۲). همچنین لپه هایی که از نیم پوسته خود جدا نشده بودند سریع تر از آنهایی که کاملاً از نیم پوسته خود جدا شده بودند، رشد کردند. سرعت جوانه زنی که در شاخص جوانه زنی جا دارد تا حدودی در بین تیمارهای مختلف متفاوت بود. نگاهی به شاخص جوانه زنی در جدول ۳ و در حالت جوانه زنی در محیط کشت درون شیشه نشان می دهد که بیشترین شاخص جوانه زنی مربوط به بذرهای

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

با توجه به نتایج موجود در جدول ۲، سه گروه متمایز در رابطه با اندازه و قطر در توده های بذری حاصل از تلاقی می توان تشخیص داد. بذرهای حاصل از خود گرده افشاری اُکا بر چمبلی و ردگت و بذرهای حاصل از دگر گرده افشاری اُکا بر روی چمبلی در گروه اول و دارای بیشترین اندازه قطر طولی و عرضی بوده اند. بذرهای حاصل از تلاقی چمبلی بر روی اُکا از نظر اندازه در ردیف کوچک ترین بذرها و تلاقی ردگت بر روی ویستار و برگشتی آن در میان این دو گروه قرار می گیرند. در رابطه با وزن تر و خشک بذرها (جدول ۲)، میانگین وزن تر بذرهای حاصل از خود گشتنی چمبلی از همه بیشتر، در حالی که میانگین وزن خشک در خود گرده افشاری ردگت از همه بیشتر و بعد از آن اُکا بر روی چمبلی می باشد. ویستار بر روی ردگت در دو میان موقعیت و تلاقی های ردگت بر روی ویستار و چمبلی بر روی اُکا دارای کمترین مقادیر وزن تر و خشک بوده اند.

جدول ۲ همچنین تفاوت های دامنه داری در میزان رطوبت موجود در بذر حاصل از ترکیب های مختلف گرده افشاری را نشان می دهد که از مقدار کمترین ۴/۸۲ درصد در تلاقی اُکا بر روی چمبلی تا مقدار بیشترین ۸/۶۲ درصد در تلاقی ویستار بر



ج. رشد دانهال توت فرنگی ۷ روز بعد از کشت
ب. رشد گیاهچه ۴ روز بعد از کشت
الف. رشد گیاهچه ۲ 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 ^۲	درصد جوانهزنی ^۳	سیستم کشت مهپاش (روز بعد از کاشت)	محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (۱۲ روز بعد از کاشت)
چمبلی × چمبلی	۹۵±۹ ^a	۲۸/۸۴	۷۰±۴ ^{bc}	۱۵/۳۵	
ردکت × ردکت	۹۵±۹ ^a	۲۷/۱۵	۸۷±۳ ^a	۲۴/۹۷	
چمبلی × اکا	۶۰±۲۴ ^{ab}	۳۲	۵۵±۱۳ ^d	۱۹/۲۵	
اکا × چمبلی	۱۰۰±۰ ^a	۳۲	۶۰±۶ ^{bc}	۱۹/۳۳	
ردکت × ویستار	۹۵±۹ ^a	۲۹/۲۶	۵۵±۹ ^d	۱۶/۳۶	
ویستار × ردکت	۹۵±۹ ^a	۲۸	۷۹±۴ ^{ab}	۲۶/۰۶	

۱ و ۲. میانگین های جوانهزنی بذور (در سطح ۰/۵)
۳. تعدادی از بذور که آلودگی قارچی داشتند حذف شده‌اند.

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 دگر گردهافشانی ویستار بر روی ردکت و خود گشنی ردکت می‌باشد که دارای بیشترین شاخص جوانهزنی و به ترتیب ۲۶/۰۶ و ۲۴/۹۷ است. دسته دیگر مربوط به تلاقی‌های بین اکا و چمبلی و بالعکس (به ترتیب ۱۹/۳۳ و ۱۹/۲۵)، و دسته سوم مربوط به گرده افشانی ردکت بر روی ویستار و خود گشنی 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 خود گرده افشانی چمبلی و ردکت متفاوت بوده و مقدار آن در بذرها حاصل از خود گرده افشانی ردکت بیشتر از آن در چمبلی بوده است.

حاصل از تلاقی چمبلی بر روی اکا و بالعکس و کمترین آن مربوط به خود گرده افشانی ردکت می‌باشد.

به هر حال جدول ۳ اختلاف معنی داری 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 اکا می‌باشد که آن هم به دلیل آلودگی قارچی بوده است.

جوانهزنی بذور در تحت شرایط مهپاش بذرها کشت شده از هر تیمار در تحت شرایط مهپاشی چند روز بعد از کاشت به طور روزانه ارزیابی شدند. اولین نشانه‌های جوانه زنی ۱۵ روز بعد از کشت ظاهر شد. با توجه به شاخص

جدول ۴. ضرایب همبستگی بین فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی اندازه‌گیری شده در آزمایش با میزان جوانه زنی در محیط کشت‌های مختلف

روطوبت	ضخامت	اندازه بذر (قطر)			وزن بذر	
		پوسته بذر	عرضی	طولی	خشک	تر
موارد بذر (درصد)						
جوانه زنی در محیط کشت درون شیشه (نیم بذر) جوانه زنی در محیط کشت مه فشان						

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

*: معنی دار در سطح ۵٪

**: معنی دار 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 جوانه زنی چگونه است. در بررسی حاضر و با مقایسه شاخص جوانه زنی در محیط کشت مه‌پاش و ترکیب‌های مختلف گرده‌افشاری (جدول ۳)، نتایج متفاوتی به دست آمد، به طوری که در صد جوانه زنی در بین دگر گرده‌افشاری‌ها زمانی که اُکا به عنوان منبع گرده دهنده بر روی چمبلی استفاده شده بیشتر از حالت بر عکس آن می‌باشد و این تفاوت کاملاً معنی دار بوده است. همین‌طور زمانی که ویستان را به مثابه پایه پدری با ردکت تلاقی داده شده، در صد جوانه زنی بیشتر از حالت تلاقی بر عکس است و باز هم تفاوت معنی دار می‌باشد. این روند در شاخص جوانه زنی 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 مدنظر قرار داد، ولی این که تأثیر این عامل و تفاوت به وجود آمده به کدام قسمت بذر بر می‌گردد، مسئله‌ای است که احتیاج به تحقیق و پژوهش دارد.

شاخص جوانه زنی 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 جوانه زنی همراه با سرعت پایین‌تر آن در ژنتیک‌های 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 جوانه زنی 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 جوانه زنی در محیط کشت درون شیشه است، ولی سایر متغیرها شامل اندازه و ضخامت پوسته بذر، درصد رطوبت موجود در بذر هیچ نوع همبستگی معنی داری را در ارتباط با جوانه زنی بذر نداشته است. در محیط کشت مه‌پاش کلیه عوامل ذکر شده به استثنای ضخامت پوسته بذر دارای یک همبستگی مثبت و بسیار معنی دار با جوانه زنی بذرها بوده است. رابطه ضخامت پوسته بذر با جوانه زنی دارای یک همبستگی منفی و معنی دار می‌باشد.

بحث

در رابطه با متغیر بودن میزان جوانه زنی 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 کثار سایر عوامل ذکر نمود. هنری (۱۰) بیان می‌کند که والد پدری ممکن است روی درصد جوانه زنی بذر حاصل از دو رگه‌گیری تأثیر بگذارد و بذرهای حاصل از یک دو رگه‌گیری مشخص ممکن است نسبت به آنهایی که با ارقام دیگر گرده افشاری شده‌اند دارای جوانه زنی بیشتری باشند. هنری مشخص نمی‌کند

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 به طور 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) پیش‌بینی نموده‌اند که گلیکوزیدهای سیانوژنیک (Cyanogenic glycosides) که به طور 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 بذراها 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 شاهدی بر

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 بدن رکود حاصل از پوسته و تسريع 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، صرف نظر از نوع ژنتیک پ 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

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 پوسته بذر می‌تواند به عنوان قوی‌ترین دلیل تأثیر گذارنده روی جوانه‌زنی بذور توت فرنگی در ژنتوتیپ‌های متفاوت باشد.

سپاسگزاری

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 ژنتوتیپ و تیمار به کار برد شده متغیر است. به عنوان مؤثرترین روش در رابطه با بذور نیمه سخت توت فرنگی، به‌نظر می‌رسد قطع کردن بذر از وسط و استفاده از قسمت حاوی جتین که تا ۱۰۰ درصد جوانه‌زنی را در توده‌های بذری ممکن می‌سازد، راه حلی مناسب برای غلبه بر رکود حاصل از پوسته بذر و تسريع در جوانه‌زنی باشد. این عمل باعث حفظ اکثریت ترکیبات ژنتیکی حاصل از تلاقی و سبب پیشرفت در

منابع مورد استفاده

1. Avigdori-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. Ouoririn 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 Logevity. 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. Galletta 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. Inst. 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.