# بررسی تغییرات مواد شبه جیبرلیک اسید در طول دوره چینه سرمایی در بذر زیتون

جعفر امیری و مجید راحمی[۱]


## چکیده

**این پژوهش به منظور بررسی تغییرات مواد شبه جیبرلیک اسید در طول دورهٔ چینه سرمایی (۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ روز در ۱۰°C) و بدون چینه سرمایی در بذر ارقام آربکئین و زرد، انجام شد. در آزمایش اول، عصاره‌گیری از بذرهای دو رقم آربکئین و زرد با اتانول (۸۰٪) انجام گردید و سپس با اتیل استات، خالص گردید. با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه‌ای مواد شبه جیبرلیک اسید از عصاره جدا شد. به منظور مقایسهٔ فعالیت بیولوژیکی کاهو قسمت‌های جدا شده، توسط TLC از آزمون هیپوکوتیل کاهو استفاده شد. نتایج به‌دست آمده از آزمایش اول نشان داد که در هر دو رقم با افزایش مدت چینه سرمایی مقدار مواد شبه جیبرلیک اسید افزایش می‌یابد. در آزمایش دوم عصاره‌گیری از قسمت‌های مختلف بذر بدون چینه سرمایی صورت گرفت. نتیجه آزمایش دوم نشان داد که در هر دو رقم، میزان مواد شبه جیبرلیک اسید آن در رویان بیشتر از سایر قسمت‌های بذر می‌باشد.**


**واژه‌های کلیدی: چینه سرمایی، مواد شبه جیبرلیک اسید، کرماتوگرافی، بذر زیتون**

## مقدمه

زیتون، جزء اولین درختان میوه‌ای بوده که با ظهور نخستین انسان‌های متمدن، در شرق مدیترانه (سوریه کنونی) ظاهر شده و بیش از ۶۰۰۰ سال پیشینه دارد (۲). زیتون در عرض‌های جغرافیایی ۲۰ تا ۴۵ درجه شمالی و جنوبی پرورش می‌یابد ولی تولید تجاری آن محدود به عرض‌های جغرافیایی ۳۰ تا ۴۵ درجه شمالی و جنوبی می‌باشد. آب و هوای مدیترانه‌ای که دارای بهار و پاییز کوتاه، تابستان گرم و خشک و زمستان معتدل و بارانی است، بهترین شرایط اقلیمی را برای کاشت زیتون داراست (۲). طبق آماری که سازمان‌های جهانی منتشر کرده است و مورد تأیید بسیاری از پژوهشگران نیز می‌باشد، در حدود ۸۰۰ میلیون درخت زیتون در مساحتی بیش از ۱۰ میلیون هکتار در دنیا وجود دارد (۳). روی هم رفته حدود ۹۷ درصد از درختان زیتون دنیا در مناطق اطراف دریای مدیترانه کاشته شده‌اند (۳). زیتون از طریق بذر، قلمه چوب نیمه سخت و قلمه چوب سخت افزایش می‌یابد (۱۰). در حال حاضر تنژگی بذر، یک مشکل اصلی و عمده در ازدیاد زیتون محسوب می‌شود. سرعت تنژگی بذرها در زیتون، خیلی کند بوده و در

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز



Archive of SID

www.SID.ir

تعدادی از جمعیت‌های بذری ممکن است به طور نامنظمی تا ۳ سال یا حتی بیشتر طول بکشد (۱۶). به‌نژادی کمی روی توسعه ارقام و پایه‌ها در درختان زیتون صورت گرفته، که دلیل عمده آن، درصد پایین تنژگی (حدود ۵ تا ۱۰ درصد) در بذرهای زیتون می‌باشد (۶). تا چندین سال پیش، برنامه‌های اصلاحی در زیتون، به دلیل میزان پایین تشکیل میوه (۱ تا ۴ درصد) هم به صورت طبیعی (۴ و ۸) و هم بعد از گرده افشانی مصنوعی (۱۲) خیلی محدود بود. علاوه بر این، مراحل تنژگی بذرها، رشد دانهال‌ها و انتقال به مرحله زایشی تا توسعه گل آذین‌های میوه ده، طولانی بوده، هم‌چنین در جمعیت دانهال‌ها به دلیل تفرق صفات، یک‌نواختی دیده نمی‌شود. اغلب از کاشت بذر تا شروع تولید میوه‌های دورگه، بیش از ۱۵ سال طول می‌کشید (۴). این دوره طولانی مدت، با کاربرد تکنیک‌های جدید کوتاه‌تر شده، هم‌چنین سرعت رشد افزایش یافته و دوره نونهالی کوتاه شده است (۱۳). در بذرهای زیتون اگر پوشش سخت (درون بر میوه)، حذف و خفتگی درونی برطرف شود، می‌توان به درصد تنژگی بالایی دست یافت (۶). مطالعات بعدی روی رقم مانزانیلا نشان داد که رویان برای تنژگی نیازی به چینه سرمایی نداشته، به محض آبگیری سبز خواهد شد. در حالی که بذرهای کامل زیتون (رویان، آندوسپرم و پوسته بذر) برای رسیدن به درصد تنژگی بالا، به چینه سرمایی در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد به میزان ۸۰۰ تا ۱۰۰۰ ساعت، نیاز دارند (۱۱).

ویاتزیز و همکاران در طی پژوهش‌های خود، میزان ایندول استیک اسید، مواد شبه جیبرلینی و سیس- آبسایزیک اسید را در آندوسپرم و رویان بذرهای زیتون رقم چالکی دیکیس مشخص کردند. در ابتدا بذرها در دماهای ۱۰، ۲۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد برای ۰ ، ۱ ، ۲ ، ۳ و ۴ هفته قرار گرفتند، سپس بعد از این مدت، به دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای تنژگی منتقل شدند (۱۸). غلظت سیس - آبسایزیک اسید در آندوسپرم، تقریباً سه برابر رویان بود. زمانی که بذرها تحت تأثیر تیمار سرمایی در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت یک هفته قرار گرفتند. میزان سیس - آبسایزیک اسید در آندوسپرم به شدت کم شد. غلظت سیس - آبسایزیک اسید، در رویان هم‌زمان با افزایش دورهٔ چینه سرمایی دمایی از دو هفته به چهار هفته، کاهش یافت. میزان مواد شبه جیبرلینی در رویان و آندوسپرم معمولاً پایین بود. در رویان بین میزان جیبرلیک اسید و سیس - آبسایزیک اسید ارتباط منفی بود. با توجه به این‌که افزایش مواد شبه جیبرلیک اسید، هم‌زمان با کاهش مواد شبه آبسایزیک اسید، در طول دورهٔ چینه سرمایی در قسمت‌های مختلف بذر، برای تنژگی بذر زیتون لازم است، تغییرات مواد شبه جیبرلیک اسید در طول دورهٔ چینه سرمایی در کل بذر، هم‌چنین تغییرات آن در قسمت‌های مختلف بذر مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

در سال ۱۳۸۲، آزمایش‌هایی به منظور بررسی تغییرات مواد شبه جیبرلیک اسید در بذر زیتون در آزمایشگاه بخش باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز صورت پذیرفت. میوه‌های مورد نیاز، از مرکز تولید نهال زیتون باغ بش، واقع در شمال غربی شیراز و ایستگاه تحقیقات زیتون شهرستان کازرون تهیه و بذرهای مورد استفاده برای پژوهش از این میوه‌ها استخراج گردید.

بذرهای مورد استفاده، از گیاهان مادری در مرحله بالغ (سبز مایل به زرد) برداشت شدند. پس از انتقال میوه‌ها به آزمایشگاه، قسمت گوشتی آنها (برون بر و میان بر) حذف و بذرها شسته و در معرض هوای آزاد قرار داده شد تا خشک شوند. پس از این‌که بذرها خشک شدند، در دمای اتاق (۱ ± ۲۴) تا زمان استفاده نگه‌داری شد. در این پژوهش از بذر رقم‌های آربکئین (Arbequina) و زرد استفاده شد.

### بررسی تغییرات شبه جیبرلیک اسید در بذر، در طول دورهٔ چینه سرمایی

بذرها پس از حذف پوشش سخت، به مدت ۲۴ ساعت داخل آب قرار داده شد، سپس ضدعفونی سطحی شدند و پس از آن



Archive of SID

www.SID.ir

به نسبت ۱ قسمت بذر با ۳ قسمت پیت ماس به عنوان محیط نگهدارنده رطوبت، آمیخته شد و در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بذرها در فواصل زمانی ۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز پس از آغاز چینه سرمایی از اتاقک رشد بیرون آورده شد و عصاره‌گیری از آنها صورت گرفت. سپس با استفاده از روش کروماتوگرافی لایه‌ای (Thin Layer Chromatography)(TLC)، مواد شبه جیبرلیک اسید از عصاره جدا گشته و به وسیله زیست سنجی هیپوکوتیل (Hypocotyle) کاهو، میزان آن با استاندارد مقایسه شد که مراحل انجام کار به شرح زیر می‌باشد.

### ۱. عصاره‌گیری و استخراج

۱۰ گرم بذر زیتون (که پوشش آنها قبلاً حذف شده بود) توسط هاون چینی کاملاً سائیده شده، سپس ۸۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد (۸ میلی‌لیتر اتانول به ازای هر ۱ گرم بذر) به آن اضافه گردید. این مخلوط، به مدت ۹ ساعت در شیکر قرار گرفت، سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به کمک قیف بوخنر که به فلاسک بوخنر و به دستگاه خلاء (Vaccum) وصل شده بود، توسط کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) صاف شد. عصاره حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیده، تا بقایای بذر از عصاره کاملاً جدا گردد. سپس عصاره به دستگاه تبخیر کننده چرخشی در خلاء (Vaccum Rotary Evaporator) و در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد منتقل و به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به دنبال آن به وسیله هیدروکسید سدیم ۱۰ درصد، pH عصاره به ۸/۸ رسانده شد. پس از تنظیم pH، عصاره حاصل به قیف جداکننده منتقل و هم حجم محلول، اتیل استات (Ethyl Acetate) به آن اضافه شد که در نتیجه آن، دو فاز مختلف به دست آمد، به طوری که فاز بالایی که شامل مواد زاید بود، جدا گردید و فاز پایینی که محتوی عصاره بود، به کمک اسید کلریدریک ۰/۴ نرمال، pH آن به ۲/۴ رسانده و به قیف جداکننده برگردانده شد. مجدداً هم حجم محلول، اتیل استات به آن اضافه شد که در این مرحله فاز بالایی (فاز اتیل استات) را نگه‌داری کرده و فاز پایینی که محتوی ناخالصی بود، دور ریخته شد. محلول حاصل (فاز بالایی) مجدداً به دستگاه تبخیر کننده چرخشی در خلاء منتقل و در دمای ۳۶ درجه سانتی‌گراد، عصاره کاملاً خشک گردید. در این مرحله ۲ میلی‌لیتر اتانول خالص به آن اضافه و عصاره حاصل جمع آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (۱، ۵ و ۱۷).

### ۲. کروماتوگرافی لایه‌ای

برای این کار از صفحه‌های سیلیکاژل (Silica gel plates)، (Merk، ۰/۲۵ mm × ۲۰cm × ۲۰cm) استفاده شد. در ابتدا این صفحات به وسیله اتانول شسته شد تا ذرات گرد و غبار و ناخالصی‌های آن از بین برود. از قسمت پایین صفحه سیلیکاژل به اندازه ۱/۵ سانتی متر جدا گردید، سپس ۰/۲ میلی‌لیتر از عصاره خالص شده از مرحله قبل، به وسیله میکروپیپت روی ۱/۵ سانتی متری پایین صفحه، قرار داده شد و این صفحات درون مخزن (تانک) حاوی ایزوپروپانول و آمونیاک ۱/۵ نرمال (به نسبت ۸۵ میلی‌لیتر ایزوپروپانول و ۱۵ میلی‌لیتر آمونیاک) قرار گرفت. پس از اینکه حلال، ۱۵ سانتی متر روی صفحه حرکت کرد، صفحه از مخزن خارج و در برابر جریان هوا خشک و قسمت صعود کرده حلال، روی کاغذ سیلیکاژل به ۱۰ قسمت مساوی تقسیم بندی گردید (۱/۵ cm × ۱۰) و توسط چاقوی تیزی هر قسمت، جداگانه تراش داده شد. پودر حاصله در لوله آزمایش جداگانه‌ای ریخته و ۲ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد به هر کدام از لوله‌ها اضافه شد و به مدت ۲ دقیقه لوله‌ها در دستگاه مخلوط کن سریع (Super mixture)، لرزانده شدند. با این روش مواد شبه جیبرلیک اسید موجود در پودر حاصل از تراش کاغذ سیلیکاژل، در اتانول حل شده و سپس محلول حاصل در پتری دیش‌های حاوی کاغذ صافی ریخته شد. بعد از تبخیر الکل موجود، مواد شبه جیبرلیک اسید، باقی مانده و برای زیست سنجی مورد استفاده قرار گرفت (۱، ۵ و ۱۷).

### ۳. زیست سنجی

برای زیست سنجی جیبرلین‌ها، از آزمایش هیپوکوتیل کاهو استفاده شد. در ابتدا بذرهای کاهو در توری ریخته شد و زیر



Archive of SID

www.SID.ir

آب جاری به مدت ۳۶ ساعت در معرض نور قرمز، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، قرار گرفتند تا بذرها جوانه بزنند. سپس در هر پتری دیش حاوی مواد شبه جیبرلیک اسید، ۲۵ بذر کاهو قرار داده و ۲ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. سپس پتری دیش‌ها به مدت ۴۸ ساعت، به طور مداوم در زیر نور سفید، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از آن، طول هیپوکوتیل‌های کاهو اندازه‌گیری و میانگین طول هیپوکوتیل‌ها با استاندارد جیبرلیک اسید با غلظت‌های $10^{-3}$، $10^{-4}$، $10^{-5}$، $10^{-6}$، $10^{-7}$ و $10^{-8}$ مول مقایسه شد (۱ و ۵). (زمان قرار گیری بذرهای کاهو در پتری دیش‌های محتوی مواد شبه جیبرلیک اسید و پتری دیش‌های محتوی غلظت‌های استاندارد جیبرلیک اسید، هم‌زمان بود). به منظور اجرای این آزمایش، از طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار استفاده شد، به گونه‌ای که هر تکرار شامل ۲۵ عدد بذر کاهو بود. نتایج به دست آمده، تجزیه آماری شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncans New Multiple Range Test) (DNMRT) با یکدیگر مقایسه شد.

## نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از واکنش هیپوکوتیل‌های کاهو به عصارهٔ حاصل از بذرهای زیتون در زمان‌های مختلف چینه سرمایی نشان داد که با افزایش مدت چینه سرمایی، طول هیپوکوتیل‌ها افزایش می‌یابد. بیشترین طول هیپوکوتیل، مربوط به عصاره حاصل از بذرهایی بود که به مدت ۳۰ روز در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار داشتند و کمترین طول، مربوط به عصارهٔ حاصل از بذرهای بدون چینه سرمایی بود (شکل ۱ و ۲). در پژوهش دیگری از قسمت‌های مختلف بذر دو رقم آربکئین و زرد (بدون چینه سرمایی) عصاره‌گیری به عمل آمد تا مشخص شود که تجمع مواد محرک رشد در کدام قسمت بیشتر است. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که بیشترین تجمع مواد محرک رشد در رویان است (شکل ۳ و ۴).

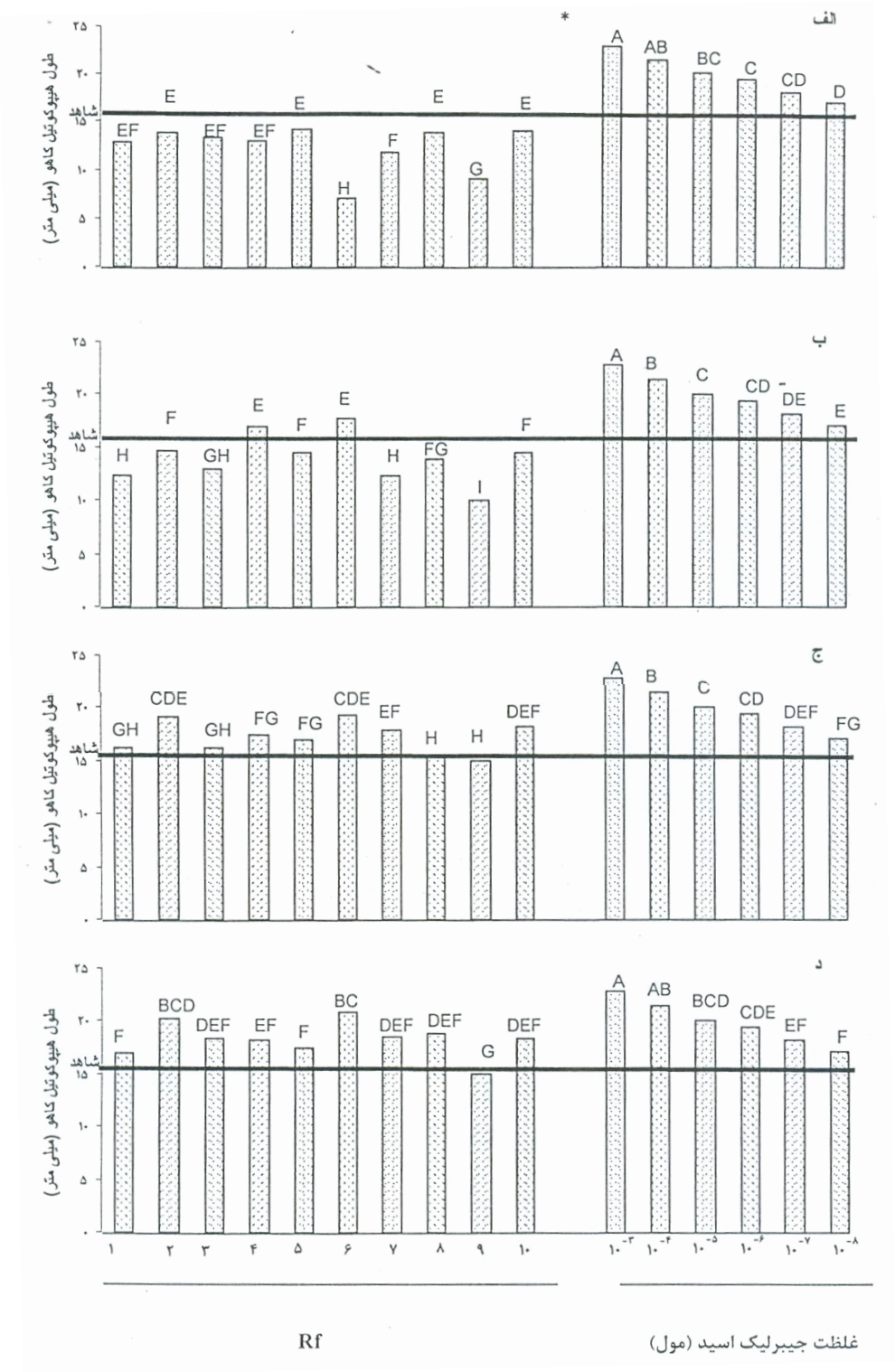
همان‌طور که شکل‌های ۱ و ۲ نشان می‌دهند، در دو رقم زرد و آربکئین، با افزایش چینه سرمایی، میزان مواد شبه جیبرلیک اسید، افزایش می‌یابند. در رقم آربکئین (شکل ۱) پس از ۲۰ روزچینه سرمایی، نیازسرمایی آن، به طور کامل برطرف شده به طوری که طول هیپوکوتیل‌های کاهو، در RFهای مختلف در مقایسه با ۰ و ۱۰ روزچینه سرمایی، تفاوت قابل ملاحظه‌ای نموده اما با ۳۰ روز چینه سرمایی، طول هیپوکوتیل‌ها در مقایسه با ۲۰ روز، تغییر محسوسی نمی‌نماید. در رقم زرد (شکل ۲) پس از ۲۰روز، نیاز سرمایی آن، به طور کامل برطرف نشده زیرا طول هیپوکوتیل‌ها در RFهای مختلف، تفاوت محسوسی با مدت زمان ۰ و۱۰ روز ننموده اما پس از ۳۰روز، نیاز سرمایی آن، به طور کامل برطرف شده و میزان مواد شبه جیبرلیک اسید افزایش و هم‌چنین طول هیپوکوتیل‌هانیز، افزایش یافت.

شکل‌های ۳ و ۴ نشان می‌دهد که تجمع مواد محرک رشد (مواد شبه جیبرلیک اسید) درقسمت‌هایی از بذر (بدون چینه سرمایی) مانند آندوسپرم، کم است، زیرا هم در رقم زرد و هم در رقم آربکئین، میزان رشد هیپوکوتیل‌ها در RFهای مختلف کم بود. ازطرف دیگر، میزان رشد هیپوکوتیل‌ها در واکنش به عصاره رویان رقم‌های زرد وآربکئین در RFهای مختلف در مقایسه با سایر قسمت‌های بذر به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر بود. بنابراین نتیجه گرفته شد که تجمع مواد شبه جیبرلیک اسید با افزایش چینه سرمایی، افزایش می‌یابد. هم‌چنین با مقایسه رشد هیپوکوتیل‌های کاهو در واکنش به عصاره قسمت‌های بذر دو رقم زرد و آربکئین نتیجه گرفته شد که میزان تجمع مواد شبه جیبرلیک در رویان، زیاد و در آندوسپرم و پوسته بذر، کمترین است. نتایج این پژوهش با یافته‌های ویاتزیز و پورلینگز (۱۹۸۶) مطابقت دارد و در سیب علاوه بر $GA_3$ سایر GAهای داخلی در لپه‌ها و محورهای رویانی بذر سیب در طول دوره چینه سرمایی گزارش شده است. در این پژوهش میزان $GA_3$ به میزان قابل توجهی در دماهای پایین در لپه‌ها افزایش یافت، $GA_7$ نیز هم‌زمان در محورهای رویانی افزایش یافت. دماهای پایین هیچ تأثیری روی $GA_4$ نداشت. $GA_1$ نیز در هیچ مرحله از چینه



Archive of SID

www.SID.ir

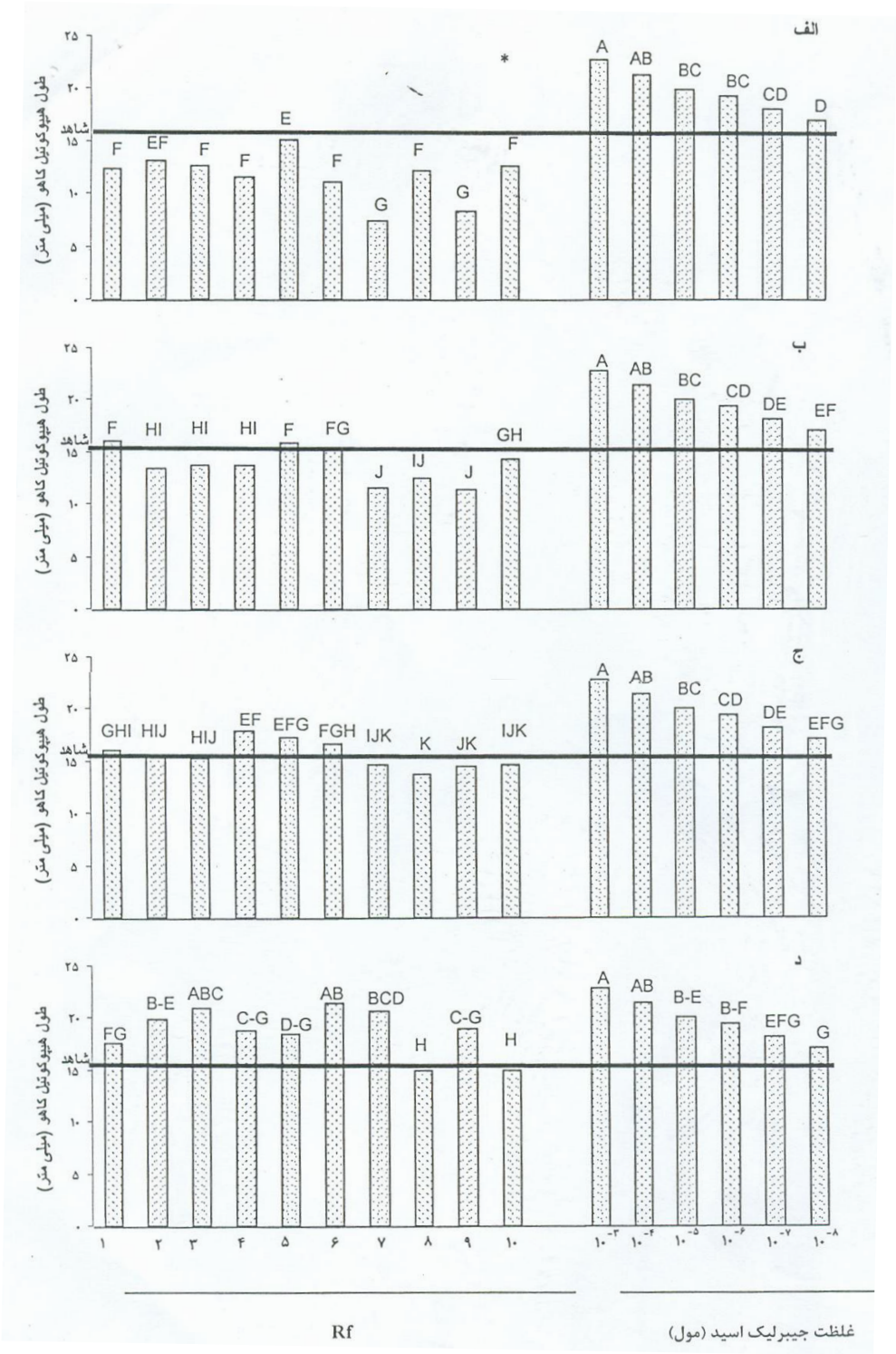



**شکل ۱. واکنش هیپوکوتیل‌های کاهو به غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک و عصاره حاصل از بذر رقم آربکئین در تیمارهای الف) بدون چینه سرمایی ب) ۱۰ روز چینه سرمایی ج) ۲۰ روز چینه سرمایی د) ۳۰ روز چینه سرمایی**

* : ستون‌هایی که با حروف مشترک مشخص شده‌اند. در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.



www.SID.ir

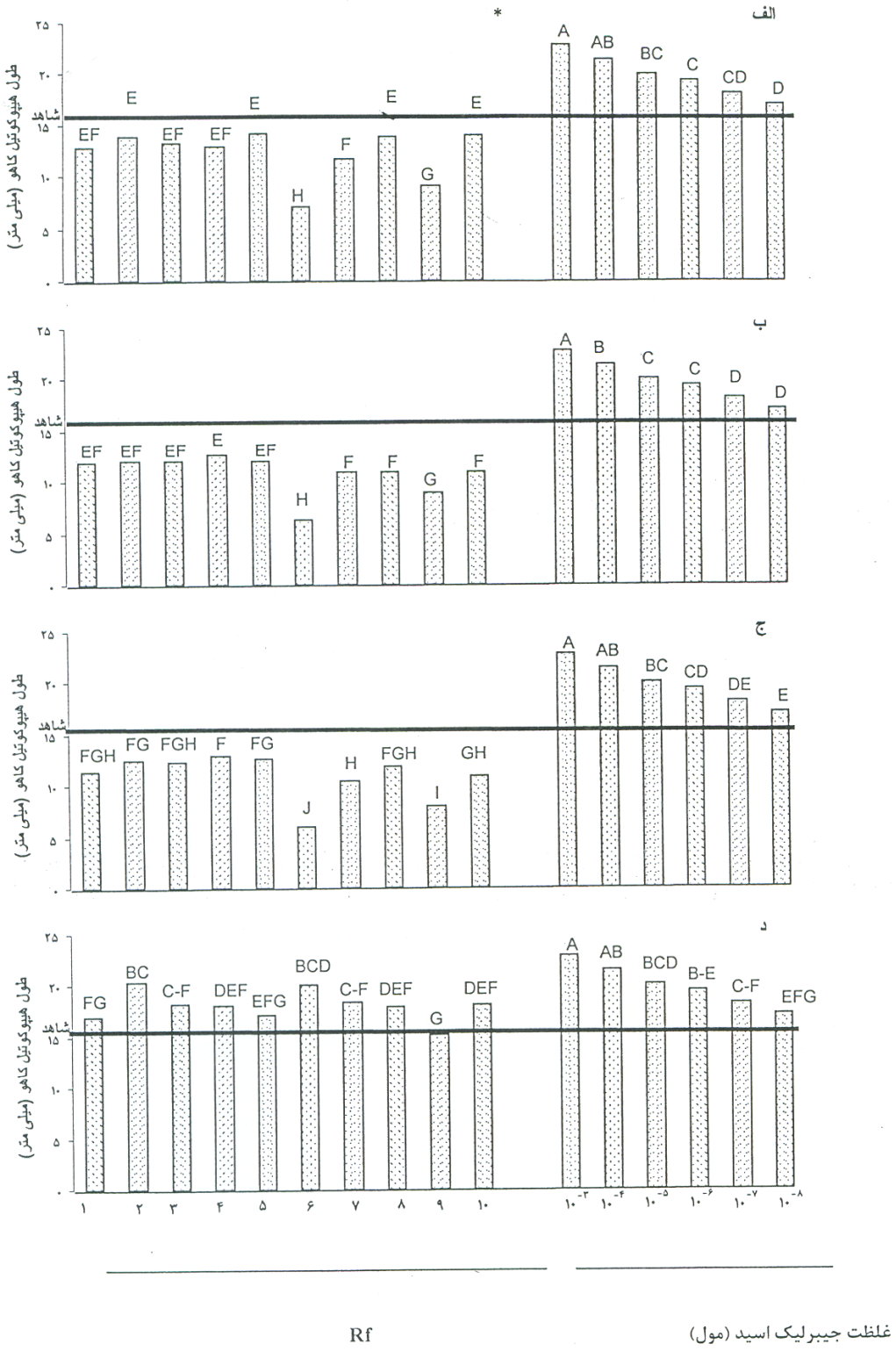



**شکل ۲. واکنش هیپوکوتیل‌های کاهو به غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک و عصاره حاصل از بذر رقم زرد در تیمارهای الف) بدون چینه سرمایی ب) ۱۰ روز چینه سرمایی ج) ۲۰ روز چینه سرمایی د) ۳۰ روز چینه سرمایی**

* : ستون‌هایی که با حروف مشترک مشخص شده‌اند. در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.



www.SID.ir

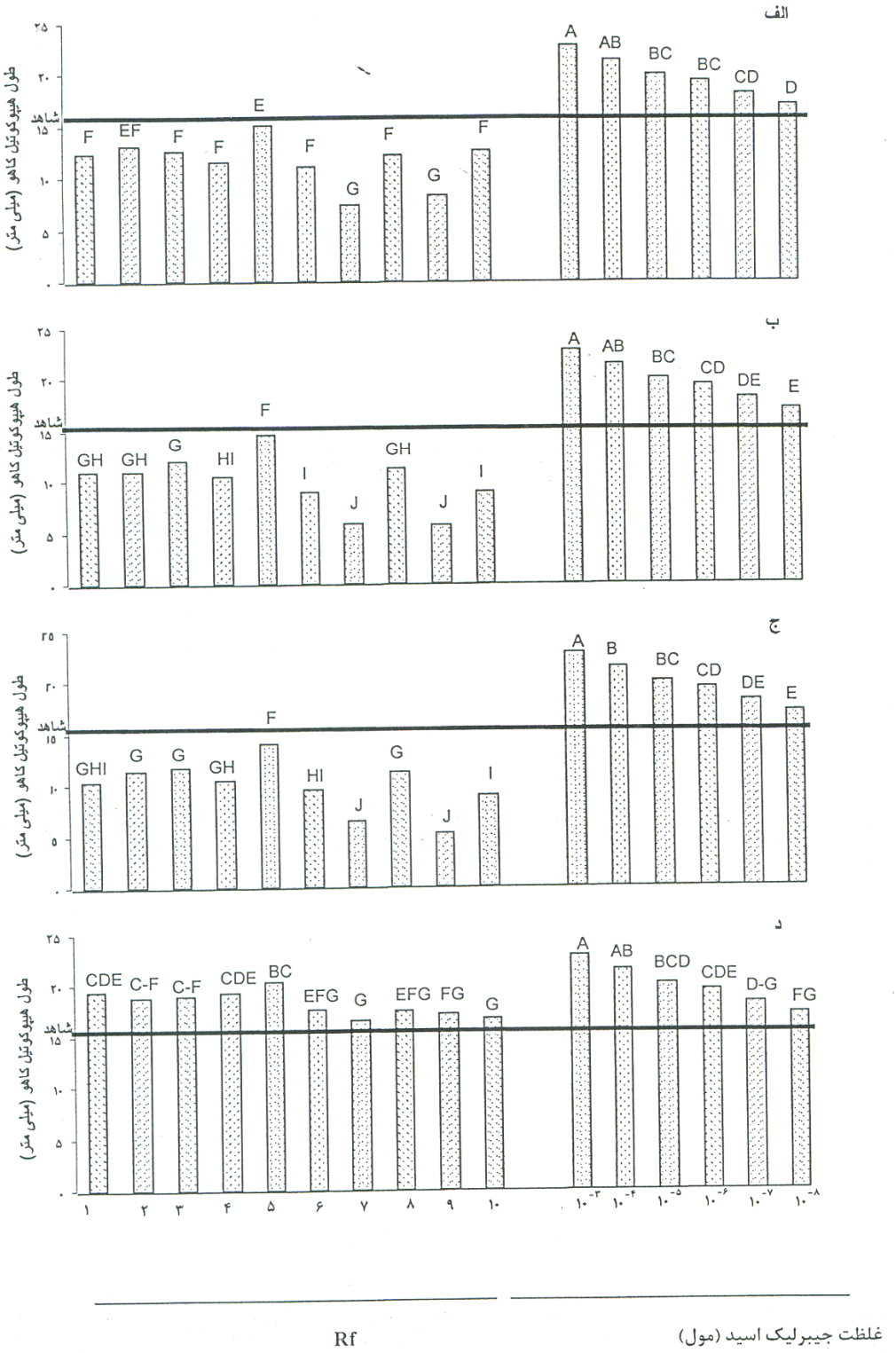



**شکل ۳. واکنش هیپوکوتیل‌های کاهو به غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک و عصاره حاصل از قسمت‌های مختلف بذر رقم آربکئین (بدون چینه سرمایی) الف) بدون کامل ب) آندوسپرم به همراه پوسته بذر ج) آندوسپرم د) رویان**

* : ستون‌هایی که با حروف مشترک مشخص شده‌اند، در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.



www.SID.ir




**شکل ۴. واکنش هیپوکوتیل‌های کاهو به غلظت‌های مختلف اسید جیبرلیک و عصاره حاصل از قسمت‌های مختلف بذر رقم زرد (بدون چینه سرمایی) الف) بدون کامل ب) آندوسپرم به همراه پوسته بذر ج) آندوسپرم د) رویان**

* : ستون‌هایی که با حروف مشترک مشخص شده‌اند، در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.



www.SID.ir

سرمایی پیدا نشد (۹). در بذر فندق با افزایش طول دوره چینه سرمایی، افزایش اندکی در میزان مواد شبه جیبرلیک اسید گزارش شد (۱۵). در پژوهش دیگری دیده شد که در بذرهای هلو در طول دوره چینه سرمایی، میزان $GA_7$,$GA_3$ افزایش یافتند (۷). هم‌چنین دیده شده که در بذرهای آلو در طول ۹۰ روز چینه سرمایی، میزان مواد شبه جیبرلیک اسید افزایش یافتند (۱۴).

## منابع مورد استفاده


۱. بانی نسب، ب. ۱۳۷۵. رکود بذر و اثر اسید جیبرلیک بر رشد دانهال دو گونه پسته وحشی. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

۲. بی نام. ۱۳۷۳. *برگزیده مقالات اولین گردهمایی سراسری بررسی مسائل زیتون*. انتشارات فجر رایانه،

۳. طباطبائی، م. ۱۳۷۴. *زیتون و روغن آن*. صندوق مطالعاتی توسعه کشت زیتون، چاپ اول، ۴۰۰ صفحه.

4. Acebedo, M. M., S. Lavee, J. Linan and A. Troncoso. 1997 .*In vitro* germination of embryos for speeding up seedling development in olive breeding programmes. Sci. Hort. 69:207-215.
5. Baninasab, B. and M. Rahemi. 2001. Seed dormancy in *Pistacia mutica* F. & M. Iran Agric. Res. 20:181-188 .
6. Crisosto, C. and E. G. Sutter. 1985. Role of the endocarp 'Manzanilla' olive seed germination. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 110:50-52.
7. Diaz, D. H. and G. C. Martin. 1972. Peach seed dormancy in relation to endogenous inhibitors and applied growth substances. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97:651-654.
8. Griggs, W. H., H. T. Hartmann, M. V. Bradley, B. T. Iwakiri and J. E. Whisler. 1975. Olive pollination in California. Calif. Agric. Exp. Sta. Bull. 869:1-50.
9. Huanpu, M., P. S. Blake and G. Browning. 1997. Ghanges in content of endogenous methyl jasmonate and gibberellins $A_3$, $A_4$ and $A_7$ measured by gas chromatography-mass spectrometry during stratification of apple seeds. Seed Abst. 20 :303.
10. Hudson, T. H., E. K. Dale, F. T. Davies, Jr and R. L. Geneve. 2002. Plant Propagation, Principles and Practices. 6th ed., Prentice & Hall of India Private Ltd., New Delhi.
11. Lagarda, A., G. C. Martin and D. E. Kester. 1983. Influence of environment, seed tissue and seed maturity on 'Manzanillo' olive seed germination. HortScience 18:868-869.
12. Lagarda, A., G. C. Martin and V. S. Polito. 1983. Anatomical and morphological development of 'Manzanillo' olive seed in relation to germination. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 108:741-743.
13. Lavee, S. 1990. Aims, methods and advances in breeding of new olive cultivars. Acta Hort. 286:23-36.
14. Lin, C.F. and A. A. Boe. 1972. Effects of some endogenous and exogenous growth regulators on plum seed dormancy. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 97:41-44.
15. Mathur, D. D., G. A. Couvillon, H. M. Vines and C. H. Hendershott. 1971. Stratification effects on endogenous gibberellic acid in peach seeds. HortScience 6:538-539
16. Sotomayor-Leon E. M. and J. M. Caballero. 1990. An easy method of breaking olive stones to remove mechanical dormancy. Acta Hort. 286:113-116.
17. Tafazoli, E. 1975. Fruit growth and development in Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch). Ph.D. Thesis, Reading University, Reading, England.
18. Voyiatzis, D. G. and I. C. Porlingis. 1986. Quantitative changes of endogenous growth substances in olive seeds subjected to low temperature for breaking their dormancy. Acta Hort. 179:173.


Archive of SID



www.SID.ir