

بررسی روشهای شکست خواب بذر در گونه *Astragalus tribuloides*

اسفندیار فاتح^۱، ناصر مجنون‌حسینی^۱، حسن مداح‌عارفی^۲ و فرزاد شریف‌زاده^۱

چکیده

به منظور بررسی شکست خواب بذر در گیاه گونه *Astragalus tribuloides* آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه حیوانات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران با هشت تیمار و سه تکرار به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایش شامل چند روش سرمادهی و چند روش نفوذپذیرکردن پوسته بذر بودند. نتایج نشان داد که در میان تیمارهای خواب شکنی، تیمارهای خراش‌دهی و همچنین تیمارهای خراش‌دهی به‌همراه ۷ و ۱۴ روز سرمادهی، از لحاظ میزان جوانه‌زنی (۹۷٪-۹۶٪)، سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان دادند. بذرهای قرار گرفته تحت تیمار ۷ روز سرمادهی (بدون خراش‌دهی) درصد جوانه‌زنی بسیار پایینی داشتند، ولی بذرهای خراش داده شده چه در معرض سرما و چه بدون سرما بیشترین درصد جوانه‌زنی را داشتند. بنابراین می‌توان گفت که خواب بذر در این گونه بیشتر به علت پوسته سخت بذر می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: *Astragalus tribuloides*، خواب بذر، شکستن خواب، جوانه‌زنی و

پوسته بذر.

۱- دانشگاه تهران E-mail:esfandiartf@yahoo.com

۲- مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران

مقدمه

گون‌ها متعلق به خانواده پروانه‌آساها^۱ هستند و به‌طور وسیعی در سراسر مناطق معتدله جهان و در اصل در اروپا، آسیا و آمریکای شمالی پراکنش دارند. از این میان، کشور ایران خاستگاه اصلی و یکی از مراکز تنوع گونه‌های گون در دنیای قدیم می‌باشد (معصومی، ۱۳۶۹). اگرچه مصرف عمده گون به‌عنوان علوفه برای دامها و حیوانات وحشی می‌باشد، ولی از ۳۲ گونه آن برای مصارف غذایی، دارویی، آرایشی، جانشینی برای چای و قهوه یا به‌عنوان منبع صمغ‌های گیاهی استفاده می‌شود (نقل از عیسوند و همکاران، ۱۳۸۴). در جنس گون ترکیبهای دارویی نظیر پلی ساکاریدها و ساپونین‌ها و ترکیبهای سمی مانند آلکالوئیدهای ایندوزولیدین و ترکیبهای نیتروآلیفاتیک و سلنیوم وجود دارند. از گون‌ها مواد دارویی مختلفی از جمله مواد آنتی‌اکسیدان، محرکهای سیستم ایمنی، حفاظت‌کننده‌های کبدی، مواد ضد ویروس و باکتری و مواد مؤثر بر رگهای قلبی استخراج شده است (نقل از عیسوند و همکاران، ۱۳۸۴). ترکیبهای آنتی‌اکسیدان بدست آمده از گون‌ها از خسارات کبدی جلوگیری می‌کند. عصاره بدست آمده از ریشه از کاهش محتوی گلیکوژن کبدی جلوگیری کرده، پروتئین و آلبومین کل سرم را افزایش می‌دهد. جدیدترین خواص دارویی شناخته شده گون‌ها در زمینه اثرات ضد ایدزی و ضد سرطانی آنها است که در این راستا ترکیبهای کاستانوسپریمین^۲ و آستراگالوزوئید^۳ نوع دوم، در دست مطالعه‌اند (Rios و Waterman، ۱۹۹۷).

-
- 1- Papilionaceae
 - 2- Castanospermine
 - 3- Astragalozoid

گیاه *A. tribuloides* یکساله، علفی، از خانواده پروانه‌آساها با ارتفاع ۳-۵ سانتیمتر بوده که پوشیده از کرکهای سفید بوده، برگها به صورت شانه‌ای فرد و دارای دمبرگ بلند هستند و گل‌های آن به صورت سنبله یا خوشه (بنفش یا آبی رنگ) می‌باشند. این جنس در فلور ایران بیش از ۸۵۰ گونه دارد. در دنیا بیش از ۲۰۰۰ گونه دارد. این گونه گون در استانهای مازندران، تهران، قزوین، فارس و هرمزگان گزارش شده است (معصومی، ۱۳۶۵).

در خانواده پروانه‌آساها پوسته بذر معمولاً سخت بوده و نسبت به آب و گازها نفوذناپذیر است. بنابراین این بذرها به‌طور عمده دارای خواب از نوع پوسته سخت هستند و این سخت پوستی تحت تأثیر جنس، گونه و شرایط محیطی زمان نمو بذر است (نصیری، ۱۳۷۳). البته در برخی موارد ممکن است که علاوه بر سخت پوستی، مواد بازدارنده جوانه‌زنی نیز در بذر وجود داشته باشند که در چنین وضعیتی حتی در صورت نفوذپذیر بودن پوسته نسبت به آب، باز هم جوانه نمی‌زند (Ellis و همکاران، ۱۹۸۵). در بیشتر موارد مطالعه مورفولوژیکی بذر و رفتار آن راهنمای خوبی برای انتخاب تیمارهای خواب شکنی هستند. به‌عنوان مثال برای برطرف نمودن خواب بذرها لگوم با پوسته‌های غیر قابل نفوذ نسبت به آب، تیمار خراش‌دهی مناسب است و اعمال پیش تیمار سرما برای برطرف شدن خواب در بذرهایی که آب جذب می‌کنند، اما جوانه نمی‌زنند مفید خواهد بود (Kaye، ۱۹۹۷). این نوع خواب ممکن است منشأ فیزیولوژیکی داشته باشد.

تیمارهای مختلفی از جمله خراش‌دهی مکانیکی، خراش‌دهی شیمیایی (استفاده از اسید سولفوریک)، یخ-آب^۱، آب داغ و امواج التراسونیک جهت برطرف کردن خواب فیزیکی و تیمارهایی نظیر سرمادهی، پس رسی^۲، استفاده از برخی هورمون‌ها به‌طور عمده جیبرلیک

1- Freeze-thaw

2- After ripening

اسید، نوردهی و... برای شکستن خواب فیزیولوژیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در یک آزمایش امواج التراسونیک سبب افزایش جوانه‌زنی بذرهای یونجه گردید (Baskin و Baskin, ۱۹۹۸). با توجه به خصوصیات مفید گون‌ها از نظر دارویی و علوفه‌ای و نیز گسترش وسیع آنها در کشور، انجام مطالعات مختلف به‌ویژه در زمینه شکستن خواب بذر و کشت و کار آنها به‌ویژه گونه‌های بومی ضروری است. از آنجایی که بذرهای این جنس به‌طور عمده دارای خواب می‌باشند بدست آوردن بهترین تیمارهای خواب شکنی و دستیابی به بالاترین درصد جوانه‌زنی، پیش شرطی برای انجام مطالعات به‌زرایی، به‌نژادی و فارماکولوژیکی است. نظر به مطالب ذکر شده و با توجه به اینکه در بررسی منابع انجام شده گزارش اختصاصی در مورد جوانه‌زنی بذر در دسترس قرار نگرفت، تحقیق حاضر نیز به منظور بررسی جوانه‌زنی گونه *Astragalus tribuloides*، شکستن خواب بذر و یافتن مناسبترین تیمار جهت برطرف نمودن خواب بذر این گونه انجام شد.

مواد و روشها

این آزمایش در بهار سال ۱۳۸۴ در آزمایشگاه حبوبات دانشکده کشاورزی کرج در قالب طرح کاملاً تصادفی با هشت تیمار و سه تکرار به اجرا درآمد. بذرهای مورد آزمایش از استان گلستان از منطقه چات در سال ۱۳۸۰ جمع‌آوری و به بانک ژن منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع ارسال شده که در سردخانه بانک ژن منابع طبیعی در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری شده بودند. پس از جمع‌آوری، درصد جوانه‌زنی آن در آزمون استاندارد (بدون اعمال هیچ نوع تیماری) ۵٪ گزارش شده بود.

تیمارهای خواب شکنی اعمال شده عبارت بودند از: بذره‌های دست نخورده (شاهد)، خراش‌دهی با سمباده (ایجاد خراش روی پوسته بذر با استفاده از کاغذ سمباده به مدت ۲ دقیقه)، خراش‌دهی به همراه ۷ روز سرمادهی (ایجاد خراش روی پوسته بذر با استفاده از کاغذ سمباده به مدت ۲ دقیقه و متعاقب آن اعمال پیش سرما در دمای ۴-۰ درجه سانتیگراد و محیط مرطوب به مدت یک هفته)، خراش‌دهی به همراه ۱۴ روز سرمادهی، یخ آب: ۴ دوره ۶ ساعته در دمای زیر صفر و ۶ ساعت دمای اتاق)، ۷ روز سرمادهی، آب ۶۰ درجه سانتیگراد و آب ۷۵ درجه سانتیگراد.

بذرهای قبل از استفاده در محلول ۲۰٪ هیپو کلریت سدیم به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی شدند. پس از اعمال تیمارها بذرها بر روی یک لایه کاغذ کشت مرطوب در پتری‌دیش قرار داده شدند (۲۵ بذر در هر پتری با ارتفاع ۱/۵ cm و قطر ۸cm حاوی یک لایه کاغذ صافی استریل). هر ظرف پتری به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. بذرها پس از اعمال تیمارها در ژرمیناتور با دمای ثابت ۲۴ درجه، رطوبت ۷۰٪ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. خروج ریشه چه به طول ۱ mm به عنوان معیار بذر جوانه زده در نظر گرفته شد. شمارش بذره‌های جوانه زده هر روز انجام شد و تا زمانی که در دو شمارش متوالی، افزایشی در جوانه‌زنی مشاهده نگردید، ادامه یافت. در پایان آزمایش، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه، شاخص ویگور، سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی یادداشت شدند. سپس با استفاده از روابط زیر، سرعت جوانه‌زنی و شاخص ویگور (بنیه بذر) محاسبه گردید:

محاسبه سرعت جوانه‌زنی (Maguire, ۱۹۶۲)

$$Vg = \sum \frac{Ni}{Di}$$

Vg = سرعت جوانه زنی بر حسب تعداد بذر در روز شمارش

Ni = تعداد بذر جوانه زده در هر روز

Di = شماره روز پس از شروع آزمایش

محاسبه شاخص ویگور (Andersoni و Abdulbak، ۱۹۷۳)

$$Vi = \frac{Ls * Pg}{100}$$

Vg = سرعت جوانه زنی بر حسب تعداد بذر در روز شمارش

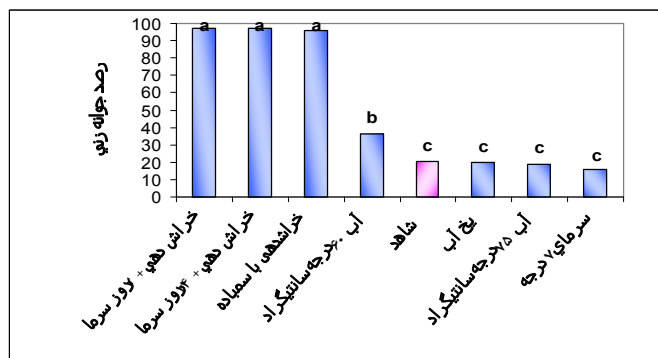
Ni = تعداد بذر جوانه زده در هر روز

Di = شماره روز پس از شروع آزمایش

برای تجزیه داده‌های این آزمایش از نرم افزارهای SAS، EXCEL و MINITAB استفاده گردید.

نتایج

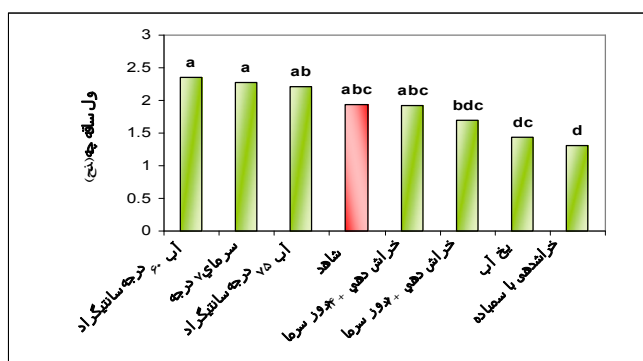
نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارها برای تمامی صفات در سطح یک درصد معنی‌دار بود. دسته‌بندی تیمارها با آزمون دانکن (در سطح احتمال ۱٪) آنها را در سه طبقه جداگانه قرار داد. به طوری که بیشترین درصد جوانه‌زنی را به ترتیب تیمارهای خراش‌دهی به همراه ۷ روز سرما (۹۶٪)، خراش‌دهی به همراه ۱۴ روز سرما (۹۶٪)، خراش‌دهی با سمباده (۹۴٪) داشتند که از لحاظ آماری در یک گروه قرار گرفتند. آب ۶۰ درجه با ۳۲٪ جوانه‌زنی در گروه دوم و بقیه تیمارها شامل شاهد، یخ آب، آب ۷۵ درجه و سرمای ۷ درجه کمترین درصد جوانه‌زنی را داشتند که در گروه بعدی آماری قرار گرفتند (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱- مقایسه میانگین درصد جوانه زنی گیاه گونه *A. tribuloides*

تحت تأثیر تیمار شکست خواب بذر

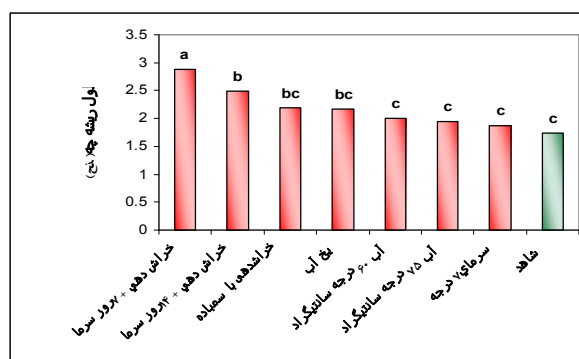
در مورد صفت سرعت جوانه زنی نیز مشابه درصد جوانه زنی، در تیمارهای خراش دهی با سمباده بیشترین سرعت جوانه زنی وجود داشت و در گروه a قرار گرفته و همچنین تیمارهای خراش دهی به همراه ۷ روز سرما و خراش دهی به همراه ۱۴ روز سرما در گروه b قرار گرفتند. آب ۶۰ درجه نیز پس از این تیمارها در گروه دوم و بقیه تیمارها شامل شاهد، آب ۷۵ درجه، یخ آب و سرمای ۷۵ درجه کمترین درصد جوانه زنی داشته که در گروه بعدی قرار گرفتند (شکل شماره ۲).



شکل شماره ۳- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای مختلف شکست خواب

بر روی طول ساقه چه گیاه گون گونه *A. tribuloides*

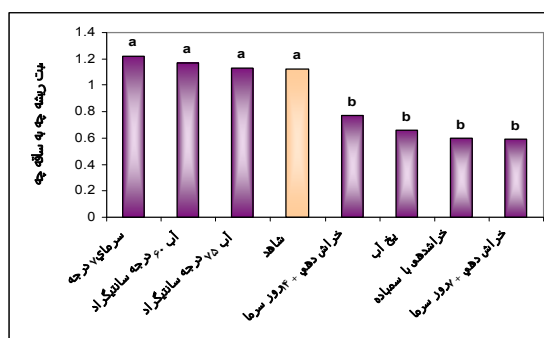
بیشترین طول ریشه چه مربوط به تیمار خراش دهی به همراه ۷ روز سرما بیشترین طول ریشه چه که در گروه یک قرار داشته و بعد تیمارهای خراش دهی به همراه ۱۴ روز سرما، خراش دهی و یخ آب در گروه دوم و سپس آب ۶۰ درجه و آب ۷۵ درجه و همچنین سرمای ۷ درجه و شاهد در گروه سوم قرار گرفتند. نکته جالب در مورد صفت ریشه چه این بود که تیمار شاهد، کمترین طول ریشه چه را داشت. شاید تأثیر تیمارهای اعمال شده باعث افزایش طول ریشه چه این گونه گون شده است (شکل شماره ۴).



شکل شماره ۴- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای مختلف شکست خواب

بر روی طول ریشه چه گیاه گونه *A. tribuloides*

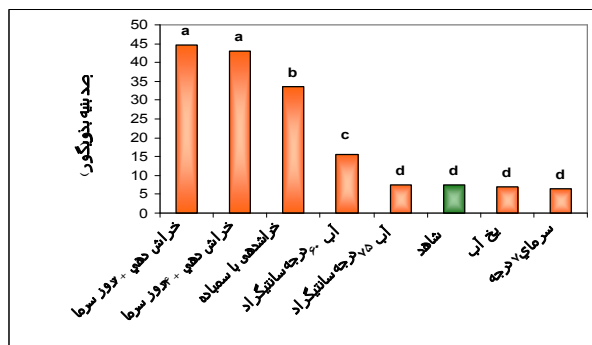
نسبت ریشه چه به ساقه چه نیز (برعکس طول ریشه چه)، در تیمارهای سرمای ۷ درجه، آب ۶۰ درجه، آب ۷۵ درجه و تیمار شاهد بیشترین نسبت را داشته و در یک گروه قرار گرفت و تیمارهای خراش دهی به همراه ۱۴ روز سرما، یخ آب، خراش دهی و خراش دهی به همراه ۷ روز سرما با کمترین نسبت در گروه دوم قرار گرفتند (شکل شماره ۵).



شکل شماره ۵- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای مختلف شکست خواب

بر روی نسبت ریشه به ساقه گیاه گونه *A. tribuloides*

در مورد صفت بینه بذر نیز تیمارهای خراش دهی به همراه ۷ روز سرما و خراش دهی به همراه ۱۴ روز سرما و خراش دهی بیشترین بینه را داشته است و در یک گروه قرار گرفته و سپس آب ۶۰ درجه در گروه سوم قرار گرفته و تیمارهای آب ۷۵ درجه، شاهد، یخ آب و سرمای ۷ درجه در گروه چهارم قرار گرفتند (شکل شماره ۶).



شکل شماره ۶- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای مختلف شکست خواب

بر روی درصد بینه بذر گیاه گونه *A. tribuloides*

بحث

با توجه به نتایج بدست آمده از آزمایش، بهترین تیمار برای رفع خواب در *A. Tribuloides*، تیمار خراش‌دهی با سمباده، تیمار خراش‌دهی به‌همراه ۷ روز سرمادهی و تیمار خراش‌دهی به‌همراه ۱۴ روز سرمادهی بودند. همچنین تیمارهای فوق، بیشترین میزان جوانه زنی، سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر را داشتند. با توجه به اینکه در اثر اعمال تیمار، تمامی بذرهای آب جذب کردند و همچنین در تیمارهای خراش‌دهی چه در ترکیب با تیمار سرما و چه بدون آن بالاترین درصد جوانه‌زنی مشاهده شد، ولی تیمار سرمایی به تنهایی (بدون خراش‌دهی) کمترین درصد جوانه‌زنی را داشتند، بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که علاوه بر خواب مربوط به پوسته بذر، خواب فیزیولوژیکی نیز در این گونه وجود دارد که با نتایج برخی محققان مطابقت دارد (عیسوند و همکاران، ۱۳۸۴).

کمتر بودن درصد جوانه‌زنی در تیمار یخ-آب نسبت به تیمار شاهد، احتمالاً به دلیل فشرده شدن پوسته بذر در اثر نیروی حاصل از تشکیل یخ در اطراف آن بوده و یا می‌تواند ناشی از القا خواب ثانویه در شرایط غرقاب (کمبود اکسیژن) باشد. زیرا کمبود اکسیژن خود یکی از عوامل القاکننده خواب می‌باشد (Baskin و Baskin، ۱۹۹۸).

گزارش شده که نگهداری بذر گون نخودی^۱ در آب به مدت یک هفته با دمای متناوب (۸ ساعت دمای ۳۵ درجه سانتیگراد و ۱۶ ساعت دمای ۵۰ درجه سانتیگراد) باعث ۹۰٪ جوانه‌زنی در مدت ۳ روز شد (Stout، ۱۹۹۸). همچنین در یک بررسی تیمارهای یخ آب میزان سختی بذر گون نخودی را ۴۹٪-۴۶٪ کاهش داد و سبب افزایش جوانه‌زنی آن گردید. خراش‌دهی مکانیکی بدون ایجاد خسارت برای بخشهای ضروری بذر قابل انجام

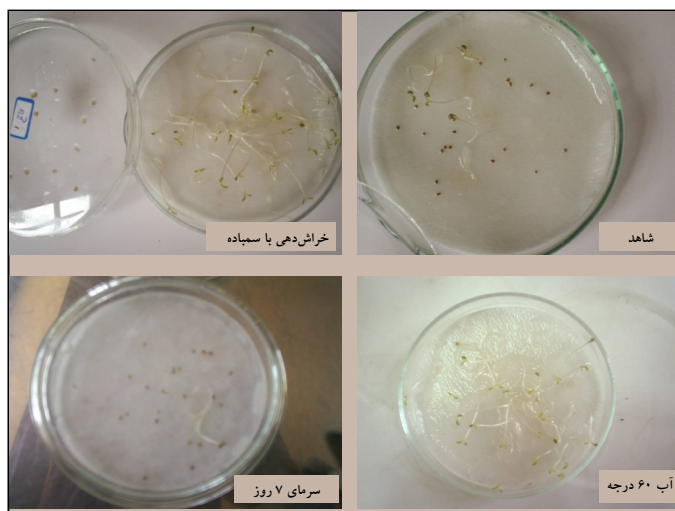
1- *Astragalus cicer*

است. عبور بذر گون نخودی از میان استوانه فلزی کوچکی که با کاغذ سمباده نرم پوشانده شده بود تحت فشار $2/8 \text{ kg/cm}^2$ ، خواب بذر را از ۵۴٪ به ۱٪ کاهش داد (Townsend و Ginnies، ۱۹۷۲).

در تیمار آب ۷۵ درجه سانتیگراد در حدود ۸٪ از گیاهچه‌ها غیر عادی بودند که شاید این به علت تأثیر روی جنین بذر به علت افزایش تحریک رشد و غیر نرمال کردن جوانه‌ها بوده باشد. به نظر می‌رسد که تیمارهای خراش‌دهی، به واسطه تسریع در جذب آب و تسهیل در تبادل گازها (به‌ویژه O_2 و CO_2) و تیمار سرمادهی به واسطه اثری که در برطرف نمودن عوامل بازدارنده جوانه‌زنی دارد سبب افزایش تعداد بذره‌های جوانه‌زده در واحد زمان می‌شوند که در نهایت افزایش سرعت جوانه‌زنی را سبب می‌گردند (عیسوند و همکاران، ۱۳۸۳). وجود ۸٪ گیاهچه‌های غیرعادی در تیمار یخ-آب، ممکن است دلیل ناهنجاریهای کروموزومی و خسارت به بافتهای بذر در اثر جذب سریع آب (Ellis و همکاران، ۱۹۸۵) باشد.

بیشترین درصد بنیه، از تیمارهای خراش‌دهی با سمباده، تیمار خراش‌دهی به‌همراه ۷ روز سرمادهی و تیمار خراش‌دهی به‌همراه ۱۴ روز سرمادهی بدست آمد. با توجه به رابطه مستقیم شاخص بنیه با درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه، بالا بودن این شاخص در این تیمارها امری بدیهی است و ناشی از بالا بودن درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه می‌باشد. بخشی از افزایش طول گیاهچه مربوط به جوانه‌زنی زود هنگام در این تیمارها و بخش دیگر احتمالاً به دلیل تعدیلات هورمونی ایجاد شده در جهت جوانه‌زنی در اثر تیمار پیش‌سرما می‌باشد (Baskin و Baskin، ۱۹۹۸). با توجه به نتایج بدست آمده از این آزمایش، بهترین تیمار بدست آمده برای شکستن خواب بذر در گونه *Astragalus tribuloides*

تیمارهای خراش‌دهی با سمباده، تیمار خراش‌دهی به‌همراه ۷ روز سرمادهی و تیمار خراش‌دهی به‌همراه ۱۴ روز سرمادهی می‌باشند که نتیجه اخیر با نتایج عیسوند و همکاران (۱۳۸۴) مطابقت دارد و در نهایت پیشنهاد می‌گردد که استفاده از خراش‌دهی شیمیایی و همچنین مطالعه خواب گونه‌های دیگر این جنس (به ویژه گونه‌های بومی ایران) آزمون گردد.



شکل شماره ۷- مقایسه تیمارهای شاهد، خراش‌دهی با سمباده، سرمای ۷ روز و آب ۶۰ درجه در مورد صفت درصد جوانه‌زنی

سپاسگزاری

بذر این تحقیق از بخش بانک ژن منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع تهیه شد که بدین وسیله از مسئولان محترم مؤسسه تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از آقایان دکتر علیزاده و مهندس عیسوند به خاطر همکاری صمیمانه‌شان تشکر می‌شود.

منابع

- معصومی، ع.، ا.، ۱۳۶۵. گون‌های ایران (جلد اول گون‌های یکساله). انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع.
- معصومی، ع.، ا.، ۱۳۶۹. گون‌های ایران (جلد چهارم). انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع.
- عیسوند، ح. و علیزاده، م.، ع.، ۱۳۸۳. بررسی برخی فاکتورهای کیفیت فیزیولوژیکی بذر (درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و شاخص بینه) گیاه دارویی بادرشبویه *Dracocephalum moldavic L.* تحت شرایط آزمون پیری زودرس. فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۱(۲): ۲۴۹-۲۵۵.
- عیسوند، ح.، مداح عارفی، ح. و توکل افشاری، ر.، ۱۳۸۴. بررسی شکستن خواب و جوانه‌زنی بذر *Astragalus siliqosus*. فصلنامه پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۳(۱): ۸۴-۶۷.
- نصیری، م.، ۱۳۷۳. بررسی عوامل مؤثر بر خواب، جوانه‌زنی و نمو بذرها، انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ۶۳ صفحه.
- Abdul-baki, A.A. and Anderson, J.D., 1973. Vigor determination in soybean seed by multiplication. Crop Sci., 3:630-633.

- Baskin, C. C. and Baskin, J. M. 1998. seeds, ecology, biographe and evolution of dormancy and germination. Academic Press, New York.
- Bewley. J. D., 1997. Seed germination and dormancy. The plant cell. 9: 1055-1066.
- Ellis, R. H., Hong, T. D. and Roberts, E. H. 1985. Handbook of seed technology for genebanks. Volume II. Compendium of specific germination information and test recommendations. Handbook for genebanks, No.3, IBPGR.
- Kaye, T. N., 1997. Seed dormancy in high elevation plants: Implications for ecology and restoration. Conservation and management of native plants and fungi. Native plants society of Oregon.
- Maguire, J. D., 1962. Speed of germination in selection and evaluation for seedling vigor. Crop Sci., 2:176 -177.
- Nasreen, S., Akbar., M. Y. S. Mohmand and Ashraf M. Malik, 2002. Study of seed dormancy mechanisms. Causes and control. Asian journal Of plant Science. 2: 210-212.
- Rios, J. L. and Waterman, P. G. 1997. A review of the pharmacology and Toxicology of Astragalus. Phytotherapy Research. 11:411- 418.
- Stout, D. 1998. Rapid and synchoronous germination of cicer milkvetch seed following diurnal temperature priming. Crop Sci. 181:263-266.
- Susko. D. J., Mueller J.P. and Spears. J.F. 2001. An evaluation of methods for breaking seed dormancy in kudzu (*Pueraria lobata*). Can. J. Bot. 79: 197-203.
- Townsend, C. E and Ginnies, W. M. 1972. Temperature requirements for seed germination of several forage legumes. Agron. J. 64: 809-812.