روش‌های موثر در شکست خواب و افزایش جوانه‌زنی بذر گون *Astragalus cicer* L.

مژده خیاط مقدم*[۱]، فاطمه آگاه [۱]، رضا صدرآبادی حقیقی[۲]

[۱] کارشناس ارشد، گروه علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، مشهد

[۲] دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۶/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۸/۰۷

چکیده

سرده گون متعلق به خانواده بقولات، بیشترین تنوع و پراکندگی را در ایران دارد. گون‌ها از نظر دارویی، علوفه‌ای و اقتصادی در ایران دارای اهمیت فراوانی می‌باشند. تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تیمارهای مختلف شکست خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر گیاه *Astragalus cicer* و پیشنهاد موثرترین تیمار در افزایش جوانه زنی و رشد اولیه گیاهچه‌ها انجام شد. به منظور بررسی شکست خواب بذر در گیاه گون گونه *Astragalus cicer* آزمایشی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد در سال ۱۳۹۱ انجام گردید. تیمارهای مختلفی جهت غلبه بر خواب بذور مورد استفاده قرار گرفت، از جمله: سرمادهی مرطوب در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد (صفر، ۷، ١٤ و ۲۱ روز)، اسید جیبرلیک (صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) و خراش‌دهی (شاهد، خراش‌دهی با سمباده). نتایج نشان داد که درصد جوانه‌زنی در تیمار خراش‌دهی با سمباده در ترکیب با سرمادهی و جیبرلیک اسید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. علاوه بر این سرمادهی به مدت ۷ و ١٤ روز در ترکیب با تیمار اسید جیبرلیک با غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام باعث بهبود جوانه‌زنی بذور سنباده خورده گردید. نتایج نشان داد که خواب بذر از نوع فیزیولوژیک است، زیرا بیشترین درصد جوانه زنی بذرها در اثر اعمال تیمار تلفیقی پیش سرمادهی مرطوب (به مدت ١٤ روز) و اسیدجیبرلیک (۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) بدست آمد.

واژگان کلیدی: جوانه‌زنی، خراش‌دهی، سرمادهی، گون.

مقدمه

گون بزرگترین سرده گیاهان آوندی با حدود ۳۰۰۰ گونه یکساله و چندساله در ۲۵۰ بخش رده‌بندی شده است (Lock and Simpson,1991; Maassoumi,1998; Podlech, 1998). این سرده از اعضای قبیله گالگه[۲] (Polhill, 1981)

*نویسنده مسئول: moghadam.mojde@gmail.com

2- Galegeae

در تیره بقولات می‌باشد و به شاخه (IRLC)[1] تعلق دارد. این شاخه از ٤٥ سرده پروانه آسا[2] تشکیل شده است. گون به جز قطب جنوب و استرالیا در سایر نقاط جهان پراکنش دارد. مرکز اولیه پیدایش این سرده در جنس گون دارای ترکیب‌های دارویی نظیر پلی ساکاریدها و ساپونین‌ها، ترکیب‌های سمی مانند آلکالوئیدهای ایندوزولیدین و ترکیب‌های نیتروآلیفاتیک و سلنیوم است. از گون‌ها مواد دارویی مختلفی از جمله آنتی‌اکسیدانت محرک‌های سیستم ایمنی، حفاظت کننده‌های کبدی، مواد ضدویروسی و باکتریایی و مواد موثر بر رگ‌های قلبی استخراج شده است (Eisvand et al., 2006). ترکیب‌های آنتی‌اکسیدانت درون ریشه از کاهش محتوی گلیکوژن کبدی جلوگیری کرده، پروتئین و آلبومین کل سرم را افزایش می‌دهد.

جدیدترین خواص دارویی شناخته‌شده گون‌ها در زمینه اثرات ضد ایدزی و ضد سرطانی آنهاست که در این راستا ترکیب‌های کاستانوسپرمین و آستراگالوزوئید نیز در دست بررسی می‌باشد (nasiri, 1994; Rios and Waterman, 1997; Du et al., 2003).

پوسته بذور گیاهان خانواده پروانه‌آسا معمولاً سخت و نسبت به آب و گازها نفوذناپذیر است. بنابراین، بذرها عموماً دارای خواب از نوع پوسته سخت بوده و این سخت پوستی تحت تاثیر جنس، گونه و شرایط محیطی زمان نمو بذر قرار می‌گیرد (Nasiri, 1994)، البته در برخی موارد ممکن است که علاوه بر سخت پوستی، مواد بازدارنده جوانه‌زنی نیز در بذر وجود داشته باشند که چنین وضعیتی حتی در صورت نفوذ پذیر بودن پوسته نسبت به آب، باز هم جوانه‌زنی صورت نمی‌گیرد (Ellis et al., 1985). در بیشتر موارد بررسی ریخت شناسی بذر و رفتار آن راهنمای خوبی برای انتخاب تیمارهای خواب‌شکنی می‌باشد مثلاً برای بر طرف نمودن خواب بذرهای لگوم با پوسته‌های غیر قابل نفوذ نسبت به آب، تیمار خراش‌دهی مناسب و اعمال تیمار پیش سرما برای بر طرف شدن خواب در بذرهایی که آب جذب می‌کنند، اما جوانه نمی‌زنند، مفید خواهد بود (Bewley, 1997; Kay, 1997). تیمارهای مختلفی از جمله خراش‌دهی مکانیکی، خراش‌دهی شیمیایی، یخ و آب، آب داغ و سرمادهی، امواج فرا صوت و برخی هورمون‌ها جهت برطرف کردن خواب فیزیولوژیکی بذرها مورد استفاده قرار می‌گیرند (Baskin and Baskin, 1998; Stout, 1998).

بنابراین با توجه به اهمیت ویژه گون‌ها در کشور انجام بررسی‌های مختلف در زمینه شکست خواب و تکثیر گونه‌های مهم این جنس به خصوص گونه‌های در حال انقراض حائز اهمیت می‌باشد.

با توجه به نقش بذر در تولید و پرورش گیاه گون و همچنین وجود پوسته سخت و خواب موجود در بذر گونه مذکور پژوهش حاضر به منظور تعیین تأثیر تیمارهای خراش‌دهی، سرمادهی و هورمون بر روی جوانه‌زنی و یافتن تیمارهای مناسب جهت برطرف نمودن خواب بذر گیاه *Astragalus cicer* L. به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۱ در آزمایشگاه علوم و تکنولوژی بذر دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. بذور یکسان گون (*Astragalus cicer* L.) از بین بذوری که از دشت قهیز یکی از مناطق استان اصفهان در سال ۱۳۹۰ جمع‌آوری شده بود، انتخاب گردید.

1- Inverted Repeat Lacking Clade
2- Papilionoid

تیمارهای مورد استفاده جهت شکست خواب بذور شامل خراش‌دهی در دو سطح (شاهد و خراش‌دهی با سنباده)، سرمادهی مرطوب در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در چهار سطح (صفر، ۷، ١٤ و ۲۱ روز) و اسیدجیبرلیک در سه سطح (صفر، ۵۰۰ پی‌پی‌ام و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام) بود. بذرها قبل از استفاده به مدت ۲ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵ در صد قرار گرفت و پس از آن نیز چندین بار با آب مقطر شستشو گردید و سپس به‌مدت ۳۰ دقیقه روی صافی آبکش قرار داده شدند تا خشک شوند.

بذرهای ضدعفونی شده جهت تیمار خراش‌دهی توسط سنباده نرم مالش داده شدند و بعد از آن مجدداً ۲ مرتبه با آب مقطر شسته شدند.

جهت تیمار سرمایی نیز ابتدا بذرهای شاهد و خراش داده شده به‌مدت ۳۰ دقیقه در آب مقطر خیس شده و مقداری از هر توده تیمار (سنباده شده و شاهد) را در حوله کاغذی مرطوب پیچیده و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز و ١٤ روز و ۲۱ روز نگهداری شدند، ابتدا بذور ۲۱ روزه و بعد ١٤ روزه و بعد از آنها بذور ۷ روزه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و هر هفته یکبار رطوبت ظروف محتوی بذر کنترل و در صورت لزوم مقداری آب مقطر به آنها اضافه گردید.

جهت تیمار هورمونی، محلول اسید جیبرلیک به غلظت‌های صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی پی ام، بوسیله رقیق کردن با آب مقطر تهیه شد، سپس بذور سرما دیده و شاهد نیز به‌مدت ۸ ساعت تحت تاثیر جیبرلین صفر، ۵۰۰ و ۱۰۰۰پی‌پی‌ام قرار گرفتند.

بعد از انجام تیمارها تعداد ۲۵ بذر در پتری‌دیش‌های ۱۰ سانتی‌متری بر روی یک لایه کاغذ صافی واتمن قرار گرفت و حدود ۱۰ سی‌سی آب مقطر به آن اضافه گردید و در ژرمیناتور با درجه حرارت ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

شمارش و ثبت بذرهای جوانه‌زده هر روز انجام گرفت و تا زمانی که در سه شمارش متوالی افزایشی در جوانه‌زنی مشاهده نشد، ادامه یافت. خروج ریشه‌چه به طول دو میلی‌متر به‌عنوان معیار بذر جوانه‌زده در نظر گرفته شد. پس از اتمام آزمون جوانه‌زنی صفت در صد جوانه‌زنی مورد ارزیابی قرار گرفت.

محاسبه در صد جوانه‌زنی نیز از رابطه زیر استفاده شد:

$GP = GN/SN \times 100$ در این فرمول

GP: در صد جوانه زنی

GN : تعداد بذر جوانه‌زده

SN : تعداد کل بذر مورد آزمایش

برای تجزیه واریانس، تجزیه داده‌ها و آزمون مقایسه میانگین به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد از برنامه آماری SAS 6.12 استفاده شد. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

اثر خراش‌دهی، سرمادهی و اثرهای متقابل خراش‌دهی × سرمادهی و سرمادهی × اسیدجیبرلیک و اثر متقابل سه گانه آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر درصد جوانه‌زنی، تاثیر داشت (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین مربعات آنالیز واریانس تأثیر تیمارها بر صفت درصد جوانه‌زنی در بذر گیاه *Astragalus cicer*

منبع تغییرات	درجه آزادی	درصد جوانه زنی
خراش دهی	۱	٤١٥٥/٦٨**
سرمادهی	۳	۲۸۱۰/۱۲**
اسیدجیبرلیک	۲	٥٦/٥١ ns
خراش دهی × سرمادهی	۳	٦٩٥/٦٨**
خراش دهی × اسیدجیبرلیک	۲	۳۳/۳۸ ns
سرمادهی × اسیدجیبرلیک	٦	۱۳٥/٩٥**
خراش دهی × سرمادهی × اسیدجیبرلیک	٦	۲۰۸/۱۸۰**
خطای آزمایش	٤٨	۲٤/۳۰
ضریب تغییرات (CV٪)		۷/۳۲

*، ** و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵٪، ۱٪ و عدم معنی داری

ارزیابی برهمکنش تیمار خراش‌دهی و سرمادهی بر درصد جوانه‌زنی نشان داد تلفیق این دو تیمار باعث توسعه جوانه‌زنی می‌شود. تیمارهای خراش‌دهی با ۷ و ١٤ روز سرمادهی به‌ترتیب باعث افزایش جوانه‌زنی به میزان ۳۳/۳۳ و ۳٦/۱۱ درصد نسبت به تیمار خراش‌دهی به تنهایی شد (جدول۲).

جدول ۲- اثرات متقابل خراش دهی و سرمادهی بر درصد جوانه‌زنی بذر *Astragalus cicer*

خراش دهی	سرمادهی(روز)			
	شاهد	۷	١٤	۲۱
شاهد	٥۰ d	٥۳/۳۳ d	۷۳/۳۳ b	٦۲ d
سنباده	٥۰d	۸۳/۳۳ a	۸٦/۱۱ a	۸۰ ab

میانگین‌هایی که با حروف مشابه نشان داده شده‌اند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

در بذر *Astragalus siliquosus* تیمار پیش سرمایی که همراه با خراش‌دهی مکانیکی استفاده شد، جوانه‌زنی را به طور چشمگیری افزایش داد (Eisvand et al., 2006). همچنین محققین بذور *Astragalus tribuloides* را تحت تیمارهای مختلف خراش‌دهی و سرمادهی قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که تیمارهای خراش‌دهی (با یا بدون سرمادهی) منجر به بالاترین درصد جوانه‌زنی گردید (Fateh et al., 2006). از آنجایی که کمبود اکسیژن از عوامل القاء کننده خواب است (Baskin and Baskin, 1998)، شاید تیمارهای خراش‌دهی، به واسطه تسریع در جذب آب و تسهیل در تبادل گازها به‌ویژه اکسیژن و دی‌اکسید کربن و تیمار سرمادهی به واسطه اثری که در برطرف نمودن عوامل بازدارنده جوانه‌زنی دارد سبب افزایش تعداد بذرهای جوانه زده در واحد زمان و در نهایت افزایش درصد جوانه‌زنی می‌گردد.

مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی تحت اثر متقابل سرمادهی و اسیدجیبرلیک نشان داد بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار ١٤ روز سرمادهی به همراه اسیدجیبرلیک ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام بود و کمترین درصد جوانه‌زنی در تیمارهای عدم سرمادهی در سطوح متفاوت اسیدجیبرلیک بود (جدول ۳). با دقت در این جدول مشخص می‌شود که سرمادهی نقش

به مراتب مهمتری را در مقایسه با تیمارهای اسید جیبرلیک در افزایش درصد جوانه‌زنی بذرها داشته است. فرایند سرمادهی، تولید برخی مواد محرک رشد نظیر جیبرلین را زیاد می‌کند، دمای پایین نیز ممکن است که از طریق تأثیر روی نفوذپذیری غشاء موجب رسیدن جیبرلین به مراکز هدف در بذر گردد، افزایش سطوح آنزیم‌های کاتالاز، فسفاتاز، آلکالین لیپاز و پراکسیداز در بذرهای سرمادیده و تشکیل اسیدهای آمینه ضروری برای تغذیه جنین در طول رشد نیز از جمله تغییراتی هستند که به دنبال تیمار سرما در بذرهای سرمادیده روی می دهند (Zarska-Maciejewskanal and Lewak, 1976). در بررسی‌ها آمده است که کاربرد جیبرلین بعد از سرمادهی نه تنها اثر مثبتی بر جوانه زنی نداشته، بلکه تأثیر معکوس خواهد داشت و از نقطه نظر آنها اگرچه جیبرلین اثر مطلوبی در راه‌اندازی بسیاری از واکنش‌های آنزیمی مربوط به جوانه‌زنی دارد، اما کاربرد بلند مدت آن پس از سرما منجر به عدم تعادل ترکیب هورمونی بذرها شده و موجب عدم نمو محور جنینی می‌شود (El-Dengawy, 2005).

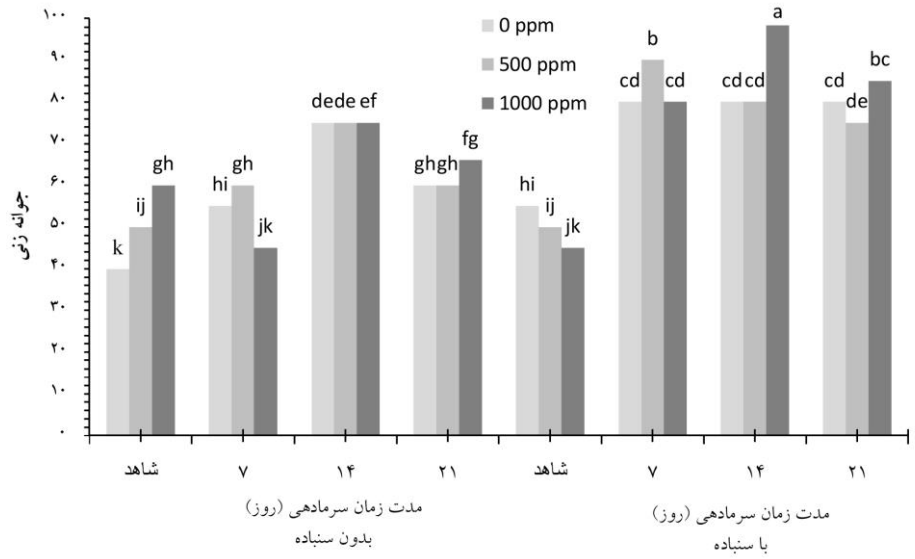
جدول ۳- اثرات متقابل سرمادهی و اسیدجیبرلیک بر درصد جوانه زنی بذر *Astragalus cicer*

سرمادهی (روز)	اسیدجیبرلیک (پی‌پی‌ام)		
	شاهد	۵۰۰	۱۰۰۰
شاهد	٤٧/٥ e	٥٠ e	٥٢/٥ e
٧	٦٧/٥ cd	٧٥ bc	٦٢/٥ d
١٤	٧٧/٥ ab	٧٧/٥ ab	٨٤/١٦ a
٢١	٧٠ bcd	٦٧/٥cd	٧٥/٥ abc

میانگین‌هایی که با حروف مشابه نشان داده شده‌اند، براساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ ندارند.

مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی گونه *Astragalus cicer* تحت تاثیر اثر متقابل خراش‌دهی، سرمادهی و اسیدجیبرلیک در شکل ۱ آمده است. مقایسات میانگین نشان داد بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار ترکیبی خراش‌دهی به همراه ١٤ روز سرمادهی و اسیدجیبرلیک ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام بود و کمترین درصد جوانه‌زنی در شاهد مشاهد شد.

محققین در بذور *Eriochola villosa* (Bello et al., 1998)، *Chickpea* (Iglesias and Babiano, 1997)، *Echinacea angustifolia* (Macchia et al., 2001) و بذر باران طلایی (Rehman, 2000)، سرما و اسیدجیبرلیک را بهترین عامل شکستن رکود و افزایش جوانه‌زنی دانستند، چون در دمای پایین اکسیژن بیشتری در آب حل شده بنابراین احتیاجات اکسیژنی جنین بهتر جبران می‌گردد (Young and Young, 1986). جیبرلین‌ها با القاء تغییراتی در مراحل رونویسی و یا ترجمه برخی از ژن‌ها موجب تغییرات کمی و کیفی در سنتز برخی از پروتئین‌ها می‌شوند و در نهایت سنتز آنزیم‌های هیدرولیز کننده مولکول‌های ذخیره‌ای دانه، نظیر α-آمیلاز، را تحریک می‌نمایند. این آنزیم‌ها واکنش‌های ضروری جهت تولید انرژی و ترکیبات ساختمانی لازم برای رشد و ظهور جنین را کاتالیز می‌نمایند و به این ترتیب پدیده جوانه‌زنی القاء می‌شود (Harberd and Peng, 2002). کاربرد ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ پی‌پی‌ام اسید جیبرلیک جوانه‌زنی بذرهای *Koelreuteria paniculata* را از صفر در شاهد به‌ترتیب به ۱۷، ۱۸ و ۱۵ درصد و پیش سرمادهی بذرهای مرطوب به مدت ٦٠ روز جوانه‌زنی را ٤٤ درصد، و ترکیب هر دو تیمار جوانه‌زنی را بعد از ۳۰ روز به‌ترتیب ٦٠، ٥١ و ٥٤ درصد افزایش می دهد، بنابراین کاربرد توام سرما و اسیدجیبرلیک بر روی بذور خراش‌دهی شده درصد جوانه‌زنی را افزایش داد (Rehman, 2000).



شکل ۱- اثرات متقابل خراش دهی، سرمادهی و اسیدجیبرلیک بر درصد جوانه‌زنی بذر *Astragalus cicer*

نتیجه‌گیری نهایی

در مورد بذر گونه *Astragalus cicer* به رغم سختی پوسته بذر، حذف پوشش تاثیر چشمگیری بر میزان جوانه‌زنی بذر آن نشان نداد و تیمارهای سرمادهی و اسیدجیبرلیک در بهبود روند شکست خواب این گونه موثر بودند، این امر نشان می‌دهد که سختی پوسته تنها مانع جوانه‌زنی بذر این گونه نیست، بلکه عوامل فیزیولوژیکی نیز در خواب بذر آن موثر است و سرمادهی و اسیدجیبرلیک باعث حذف هر دو نوع خواب می‌شود و روی جنین بذر موثر است. این نتیجه این فرضیه را در ذهن مجسم می‌سازد که احتمالاً یکی از علل خواب بذر این گونه گون، عدم تناسب هورمونی در بذرهای آنهاست که کاربرد سرما و اسیدجیبرلیک خارجی این تعادل را به سمت افزایش جیبرلین و آمادگی برای جوانه‌زنی سوق می‌دهد.

Reference

Baskin, C.C., and Baskin, J.M. 1998. Seeds: Ecology, Biogeography, Evolution of Dormancy and Germination. Academic Press. San Diego.

Bello, I.A., Hatterman-Valentini, H., and Owen, M.D.K. 1998. Effects of stratification, temperature, and oxygen on wooly Cupgrass (*Eriochloa villosa*) seed dormancy. Weed Science. 46: 526-529.

Bewley, J.D. 1997. Seed germination and dormancy. The plant cell. 9: 1055-1066.

Du, M., Wu, X.J., Ding, J., Hu, Z.B., White, K.N., and Branford, C.J. 2003. Astragaloside IV and polysaccharide production by hairy roots of *Astragalus membranaceus* in bioreactors. Biotech-nology letters, 25:1853-1856.

Eisvand, H.R., Arefi, H.M., and Tavakol-Afshari, R. 2006. Effects of various treatments on breaking seed dormancy of *Astragalus siliquosus*. Seed Science and Technology. 34(3):747-752.

El-Dengawy, E.F.A. 2005. Promotion of seed germination and subsequent seedling growth of loaquat (*Eriobotrya japonica*) by moist-chilling and GA3 applications. Scientia Horticulturae 105: 331-342.

Ellis, R.H., Hong, T.D., and Roberts, E.H. 1985. Handbook of seed technology for gene-banks. Volume II. Compendium of specific germination information and test recommendations. Handbook for genebanks. No. 3. IBPGR.

Fateh, E., Majnoonhosseini, N., Arefi, H.M., and Sharif-Zadeh, F. 2006. Seed dormancy methods breakage in *Astragalus tribuloides*. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 13(4): 345-360.

Harberd, N.P. and Peng, J. 2002. The role of GA-mediated signaling in the control of germination. Sci. 5: 376-381.

Iglesias, R.G. and Babiano, M.J. 1997. Endogenous abscisic acid during the germination of chickpea seed. Physiology. Plant 100, 500-504.

Kay, 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.

Lock, J.M., and Simpson, K. 1991. Legumes of west Asia, a checklist. Royal Botanic Gardens, Kew.

Maassoumi, A.A. 1998. *Astragalus* in the old world. Check list. Research Inistitute of Forests and Rangelands. Tehran.

Macchia, M., Angelini, L.G., and Ceccarini, L. 2001. Methods to over come seed dormancy in Echinacea angustifolia DC. Scientia Horticulture 89: 317-324.

Nasiri, M. 1994. Factor affecting dormancy, germination and seed development Agricultural Research and Education Organization press, pp.63.

Podlech, D. 1998. Phylogeny and progression of characters in Old World Astragali (Leguminosae).,*In:* Zhang A.,Wu S. (Eds.) Floristic characteristicus and Diversity of east Asian Plants., China higher Education Press., Beijing., pp. 405-407.

Polhill, R.M. 1981. Galegeae. *In:* Polhill R. M., Raven P.H. (eds.) Advances in legume systematic, part Royal Botanical Gardens, Kew, pp: 371-374.

Rehman, S. 2000. Effect of scarification, GA and chillimg on the germination of golden-tree (*Koelreuteria paniculata Laxm.*). Scientia Horticulture. 85: 319-329.

Rios, J.L. and Waterman, P.G. 1997. A review of the pharmacology and toxicology of Astragalus. Phototherapy Res., 11:411-418.

Stout, D. 1998. Rapid and synchoronus germination of *Cicer milkvetch* seed following diurnal temperature priming. Crop Sci., 181:263-266.

Young, J.A., and Young, C.G. 1986. Seeds of Woody Plants in North America.Dioscorides Press, Portland, Oregon.

Zarska-Maciejewskanal, S., and Lewak, T. 1976. The role of lipases in the removal of dormancy in apple seeds. Planta. 132: 177-181.