

شکستن خواب بذر و افزایش درصد جوانه‌زنی کیکم (*Acer monspessulanum*) و دیوآلبالو (*Sorbus greaca*) با کمک تیمارهای میکروبی

مریم تیموری^{*}، مصطفی خوشنویس^۱ و محمد متینی‌زاده^۲

^۱ عضو هیأت علمی (مربی)، بخش جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
^۲ دانشیار بخش جنگل، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱/۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۷/۵)

چکیده

متداول‌ترین روش مورد استفاده در احیای جنگل، بذرکاری است که به همین دلیل، موفقیت در رویاندن بذر اهمیت ویژه‌ای دارد. درختان کیکم و دیوآلبالو به دلیل تحمل شرایط سخت رویشگاهی در ایجاد پوشش درختی و درختچه‌ای در مناطق زاگرسی و ایران - تورانی از اهمیت زیادی برخوردارند. با توجه به جوانه‌زنی سخت بذرهای آنها، یافتن روش‌های مناسب برای شکستن خواب بذر اهمیت زیادی دارد. در این مطالعه تأثیر باکتری‌های مولد ایندول استیک اسید (اکسین) و نیز تیمارهای نیترا پتاسیم و اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی کیکم و دیوآلبالو بررسی شد. باکتری‌های مولد اکسین با روش غربالگری جداسازی شدند. بذرهای جمع‌آوری شده پس از استریل شدن سطحی با باکتری‌ها تلقیح و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد لایه‌گذاری سرد شدند. نتایج نشان داد که تیمارهای میکروبی و همچنین تیمار نیترا پتاسیم باعث افزایش جوانه‌زنی بذر هر دو گونه شد. در مورد بذر کیکم اگرچه تفاوت بین تیمارها و کنترل معنی‌دار بود، در میان خود تیمارها تفاوت معنی‌دار نشد. در مورد بذر دیوآلبالو تیمارهای نیترا پتاسیم ۵۰۰۰۰ ppm، سیتروباکتر و آلکالی‌ژنز تفاوت معنی‌داری را با کنترل و با سایر تیمارها نشان داد. در مجموع این قابلیت وجود دارد که از تیمارهای میکروبی به‌تنهایی یا همراه با تیمارهایی که تأثیرات زیست‌محیطی نامناسب ندارند، برای افزایش میزان درصد جوانه‌زنی بذرها و کاهش طول مدت دوره خواب آنها استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: اکسین، باکتری‌های افزایش دهنده رشد، جوانه‌زنی، دیوآلبالو، کیکم.

مقدمه و هدف

درختان کیکم^۱ متعلق به تیره^۲ افرا^۳ و دیوآلبالو^۴ متعلق به تیره^۴ گلسرخیان^۴ از جمله گونه‌هایی هستند که در رویشگاه‌های جنگلی زاگرسی و ایران تورانی حضور دارند. این گونه‌ها به دلیل تحمل شرایط سخت رویشگاهی به‌ویژه خشکی در ایجاد پوشش درختی و درختچه‌ای اهمیت دارند و گزینه‌های مناسبی برای برنامه‌های جنگلکاری و احیای نواحی جنگلی مخروطی به‌شمار می‌روند. یکی از مهم‌ترین مشکلات در زمینه تولید نهال این گونه‌ها، جوانه‌زنی سخت بذرهای آنهاست. یکی از دلایل مهم در عدم جوانه‌زنی یا جوانه‌زنی کند بذر خواب بذر است. بذر کیکم دارای خواب دوگانه بوده و جوانه‌زنی آن با مشکل مواجه است. یکی از مشکلات در مورد استقرار جنس *Sorbus* تأخیر در جوانه‌زنی بذرها است، به‌نحوی که بیشتر بذرها به‌شکل نهفته در می‌آیند و در سال اول کاشت جوانه نمی‌زنند (Espahbodi et al., 2007). بذر بیشتر گیاهان مناطق معتدله، بلافاصله پس از رسیدن، تحت شرایط مناسب جوانه نمی‌زنند و وارد مرحله^۵ کمون یا نهفتگی می‌شوند. نهفتگی بذر، نوعی واکنش متقابل پیچیده بین محیط بیرونی و موانع جوانه‌زنی ارثی و درونی بذر است که قبل از جوانه‌زنی باید حذف شوند. در شرایط طبیعی، این پدیده از نظر اکولوژیک اهمیت دارد، زیرا سبب جوانه‌زدن در شرایط محیطی مناسب برای استقرار نهال می‌شود (Green, 1973). برای شکستن خواب بذر از روش‌های فیزیکی و شیمیایی متفاوت مانند خراش‌دهی، دمای کم و متناوب، هورمون‌ها و اسیدها استفاده می‌شود. این روش‌ها معمولاً زمانبرند و با آسیب‌های زیست‌محیطی همراه‌اند. نصیری (۱۳۸۷) با استفاده از تیمار سرمادهی زمان شش ماه را برای جوانه‌زنی

کیکم گزارش کرده است. بنابراین یافتن روش‌های مناسب برای شکستن خواب بذر بدون داشتن آثار منفی زیست‌محیطی و در کوتاه مدت با حداقل هزینه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در سال‌های اخیر، استفاده از تیمارهای زیستی از جمله میکروارگانیسم‌ها مورد توجه بوده‌اند. میکروارگانیسم‌های خاک بخش مهمی از اکوسیستم‌های جنگلی را تشکیل می‌دهند. این میکروارگانیسم‌ها در گردش مواد غذایی، نگهداری ساختمان خاک و تنظیم رشد گیاه عامل مهمی به‌شمار می‌روند (Hart et al., 1994). باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد، گروه بسیار مهمی از میکروفلور عمومی ریزوسفر را تشکیل می‌دهند که سبب افزایش رشد گیاهان از طریق سازوکارهای مختلف می‌شوند. تأثیرات مفید باکتری‌های ریزوسفری احتمالاً در مراحل اولیه سبب تحریک جوانه‌زنی و تشکیل دانه‌رست می‌شود (Quispel, 1988).

مطالعات اولیه در زمینه تأثیر میکروارگانیسم‌ها در جوانه‌زنی بذر توسط Pfeiffer (1934) صورت گرفت. وی نشان داد میزان جوانه‌زنی در بذرهای *Symphoricarpos racemosus* تیمار شده با اسپریلوس و آلترناریا به ترتیب حدود ۳۵ و ۹۰ درصد بیشتر از بذرهای تیمار نشده بود. پس از آن مطالعات متعددی در زمینه تأثیر میکروارگانیسم‌ها بر جوانه‌زنی بذر گیاهان مختلف صورت گرفته است که می‌توان به مطالعه^۵ Koaze (1957) در مورد تأثیر *Streptomyces sp. S-580* بر افزایش جوانه‌زنی بذرهای برنج، افزایش جوانه‌زنی دو واریته^۵ *Ulocladium charatarum* با قارچ (Guttridge et al., 1984)، اثر کمپوست تجاری بر جوانه‌زنی *Rosa corymbifera 'Laxa'* (Morpeth and Hall, 2000)، افزایش جوانه‌زنی *Solidago nemoralis* و *Verbascum thapsus* با قارچ آلترناریا (Kotanen and Schafer, 2004)، افزایش جوانه‌زنی جنین سوماتیک *Pinus sylvestris* در اثر قارچ *Pisolithus tinctorius*

¹ *Acer monspessulanum*

² Aceraceae

³ *Sorbus greaca*

⁴ Rosaceae

⁵ Dormancy

مواد و روش‌ها

این تحقیق در رویشگاه چهارطاق اردل در ۱۰۰ کیلومتری جنوب شرقی مرکز استان چهارمحال و بختیاری و ۴۰ کیلومتری شهرستان اردل و در مجاورت روستای چهارطاق انجام گرفته است. از نظر جغرافیایی در حد فاصل $31^{\circ}50'34''$ تا $31^{\circ}52'44''$ عرض شمالی تا $50^{\circ}48'39''$ تا $50^{\circ}50'51''$ طول شرقی واقع شده است. ارتفاع از سطح دریا در این رویشگاه از حداقل ۲۱۰۰ متر از کنار رودخانه سبزه‌کوه تا ۳۱۰۰ متر در ارتفاعات کوه کلار متغیر است. میانگین بارندگی سالیانه منطقه، $530/1$ میلی‌متر، و حداقل و حداکثر درجه حرارت مطلق به ترتیب $19/5-$ و 35 درجه سانتی‌گراد است. براساس روش دومارتن این منطقه جزء اقلیم مرطوب محسوب می‌شود. نمونه‌های خاک و بذر از رویشگاه چهارطاق اردل استان چهارمحال و بختیاری جمع‌آوری شد. از عمق ۳۰-۱۰ سانتی‌متری خاک غیرریزوسفری چهار نمونه تهیه و پس از مخلوط‌شدن به‌عنوان نمونه شاخص منطقه نام‌گذاری شد. نمونه‌ها در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به آزمایشگاه منتقل و از آن برای جداسازی باکتری‌ها با روش رقت متوالی استفاده شد (Yahya and Azawi, 1989). برای غربالگری^۵ باکتری‌های مولد اکسین از محیط کشت Tryptone Soy Broth (MERCK) حاوی تریپتوفان به‌عنوان پیش‌ساز اکسین در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. باکتری‌های مولد اکسین با تولید رنگ صورتی توسط معرف سالکوفسکی شناسایی شدند (Brick et al., 1991). برای شناسایی باکتری‌ها از روش‌های استاندارد میکروبی استفاده شد (MacFadine, 1980). از باکتری‌های مولد اکسین برای تهیه مایه تلقیح باکتریایی (معادل استاندارد ۱

(Niemi and Haggman, 2002)، افزایش سرعت جوانه‌زنی در کاج *Loblolly* و *Slash* (Enebak et al., 1998) اشاره کرد. به‌نظر می‌رسد وجود میکروارگانیسم‌ها شرایطی را فراهم می‌کند که فرایندهای متابولیک مسبب جوانه‌زنی شروع شوند (Nelson, 2004). تولید هورمون‌های گیاهی توسط باکتری‌ها سازوکار مهمی است که بر رشد و توسعه گیاهان تأثیر می‌گذارد. ایندول استیک اسید فراوان‌ترین عضو از گروه هورمون‌های گیاهی اکسین است و در شروع رشد ریشه و طویل شدن آن و نیز سایر فرایندهای تمایز بافت‌های گیاهی تأثیر دارد (Woodward and Bartel, 2005). این هورمون علاوه بر تولید توسط بافت‌های گیاهی، در باکتری‌های مرتبط با ریشه^۱ و خاک مانند سودوموناس^۲، انتروباکتر^۳ و آزوسپیریلیوم^۴ نیز تولید می‌شود (Pedraza et al., 2004) و یکی از ویژگی‌های شاخص باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد است. میکروارگانیسم‌های ریزوسفری گیاهان مختلف به‌دلیل وجود منابع غذایی قوی در ریزوسفر قادرند اکسین را به‌عنوان متابولیت ثانویه تولید و آزاد کنند (Tsavkelova et al., 2007). استفاده از برخی منابع طبیعی اکسین مانند بذرهای جوانه‌زده، عصاره قارچ‌ها و جلبک‌ها برای افزایش جوانه‌زنی درختان زیتون (Centeno and Gomez, 2008) و باکتری‌های مولد اکسین برای القای تشکیل ریشه‌های جانبی (Montero_Calasanaz et al., 2013) در اسپانیا گزارش شده است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر باکتری‌های مولد هورمون اکسین و همچنین تیمارهای نیترات پتاسیم و اسید جیبرلیک بر جوانه‌زنی کیکم و دیوآلبالو بوده است.

¹ Root associated bacteria

² *Pseudomonas*

³ *Enterobacter*

⁴ *Azospirillum*

⁵ Screening

منفی بر جوانه‌زنی بذرها داشت، طوری که هیچ کدام از بذرهای تیمار شده با اسید جیبرلیک جوانه نزدند و در واقع این غلظت مانع جوانه‌زنی می‌شود. میانگین درصد جوانه‌زنی بذرهای کیکم در تیمار شاهد 10 ± 50 محاسبه شد. بیشترین مقدار این پارامتر $13/3 \pm 63/66$ در تیمار میکروبی با آلکالی‌ژنز و کمترین مقدار (0 ± 0) در تیمار با اسید جیبرلیک بود. اگرچه تیمارها در مقایسه با کنترل سبب افزایش معنی‌دار جوانه‌زنی شدند، در میان خود تیمارها، تفاوت معنی‌دار نشد (جدول ۲).

آنالیز واریانس داده‌ها در مورد بذرهای دیوالبالو نشان داد که تیمارهای اعمال شده تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی بذرها داشتند. تیمار اسید جیبرلیک به مقدار 1000 و 2000 ppm تأثیر منفی بر جوانه‌زنی بذرها داشت، طوری که هیچ کدام از بذرهای تیمار شده با اسید جیبرلیک جوانه نزدند و در واقع این غلظت مانع جوانه‌زنی می‌شود (جدول ۳). میانگین درصد جوانه‌زنی بذرهای دیوالبالو در تیمار شاهد $5/77 \pm 39/96$ محاسبه شد. بیشترین مقدار این پارامتر $1/96 \pm 98/86$ در تیمار با نیترات پتاسیم 50000 و کمترین مقدار (0 ± 0) در تیمار با اسید جیبرلیک بود. تیمارها در مقایسه با کنترل سبب تأثیر معنی‌دار در مقدار جوانه‌زنی شدند. در بین تیمارها، تیمارهای نیترات پتاسیم 50000 ppm، سیتروباکتر و آلکالی‌ژنز بهترین تأثیر را داشتند (جدول ۴).

مک فارلند حاوی 3×10^8 cfu/ml استفاده شد و با طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با سه تکرار، بذرهای تلقیح شدند (Enebak et al., 1998). بذرها (30 بذر برای هر تیمار) به صورت سطحی سترون شدند و سپس به مدت 18 ساعت درون مایه تلقیح باکتریایی قرار گرفتند. با روش مشابه بذرها با اسید جیبرلیک 1000 و 2000 ppm و نیترات پتاسیم 25000 و 50000 ppm تیمار شدند. بذرهای تیمار شده و کنترل (بدون تیمار) بر روی کاغذ صافی‌های استریل درون پتری‌دیش‌های استریل قرار گرفتند و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد به مدت سه ماه قرار داده شدند. مقدار جوانه‌زنی بذرها تعیین شد و آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از روش one way ANOVA و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام گرفت.

نتایج

بر اساس آزمون‌های بیوشیمیایی، باکتری‌های شناسایی شده به جنس‌های سودوموناس، آلکالی‌ژنز^۱ اکتینوباسیلوس^۲، باسیلوس^۳ و سیتروباکتر^۴ تعلق داشتند که همگی به‌غیر از باسیلوس از نوع باکتری‌های میله‌ای گرم منفی هستند.

آنالیز واریانس داده‌ها (جدول ۱) در مورد بذرهای کیکم نشان داد که تیمارهای اعمال شده تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی بذرها داشتند. تیمار اسید جیبرلیک به مقدار 1000 و 2000 ppm تأثیر

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی بذرهای کیکم با توجه به تیمارهای اعمال شده

معنی‌داری	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	
$0/000^*$	۱۷۲۷/۵۰۴	۹	۱۵۵۴۷/۵۴۰	بین گروه‌ها
	۷۴/۲۹۰	۲۰	۱۴۸۵/۷۹۳	درون گروه‌ها
		۲۹	۱۷۰۳۳/۳۳۴	کل

* معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح ۹۵ درصد

^۱ Alkaligenese

^۲ Actinobacillus

^۳ Bacillus

^۴ Citrobacter

جدول ۲- داده‌های جوانه‌زنی بذرهای کیکم با توجه به تیمارهای اعمال شده

درصد جوانه‌زنی				تیمار
بیشترین	کمترین	انحراف معیار	میانگین	
۴۶/۶۰	۳۳/۳	۶/۵۵	۳۹/۹۶ ^d	<i>Pseudomonas</i>
۸۳/۳	۵۰	۱۶/۶۵	۶۳/۶۶ ^a	<i>Alcaligenese</i>
۶۶/۶	۴۰	۱۳/۳۰	۵۳/۳۰ ^{abcd}	<i>Actinobacillus</i>
۵۰	۳۶/۶	۶/۷	۴۳/۳۰ ^{cd}	<i>Bacillus</i>
۶۶/۶	۵۳/۳	۶/۶۵	۵۹/۹۶ ^{ab}	<i>Citrobacter</i>
۶۶/۳	۵۶/۶	۳/۳۵	۵۹/۹۶ ^{ab}	KNO ₃ (۲۵۰۰۰ ppm)
۶۶/۳	۵۰	۶/۶۵	۵۶/۶۳ ^{abc}	KNO ₃ (۵۰۰۰۰ ppm)
.	.	.	±.f	Giberllic acid (۱۰۰۰ ppm)
.	.	.	±.f	Giberllic acid (۲۰۰۰ ppm)
۶۰	۴۰	۱۰	۲۰ ^e	Control
۸۳/۳	.	۲۴/۲۳	۴۲/۹۷	total

جدول ۳- تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی بذرهای دیوالبالو با توجه به تیمارهای اعمال شده

معنی‌داری	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	
۰/۰۰۰*	۳۸۴۵/۵۴۰	۹	۳۴۶۰۹/۸۵۹	بین گروه‌ها
	۴۶/۸۰۰	۲۰	۹۲۰/۱۶۰	درون گروه‌ها
		۲۹	۳۵۵۳۰/۰۱۹	کل

* معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح ۹۵ درصد

جدول ۴- داده‌های جوانه‌زنی بذرهای دیوالبالو با توجه به تیمارهای اعمال شده

درصد جوانه‌زنی				تیمار
بیشترین	کمترین	انحراف معیار	میانگین	
۶۳/۳۰	۴۳/۳۰	۱۰/۷۲	۵۵/۵۳ ^{cd}	<i>Pseudomonas</i>
۹۳/۳۰	۷۳/۳۰	۱۰/۰۰	۸۳/۳۰ ^{ab}	<i>Alcaligenese</i>
۹۳/۳۰	۷۶/۶۰	۸/۸۲	۸۳/۳۰ ^{ab}	<i>Actinobacillus</i>
۶۰/۰۰	۴۶/۶۰	۶/۹۶	۵۴/۴۰ ^d	<i>Bacillus</i>
۹۶/۶۰	۹۰/۰۰	۳/۳۰	۹۳/۳۰ ^{ab}	<i>Citrobacter</i>
۸۳/۳۰	۶۶/۶۰	۸/۴۰	۷۴/۴۰ ^{bc}	KNO ₃ (۲۵۰۰۰ ppm)
۱۰۰/۰۰	۹۶/۶۰	۱/۹۶	۹۸/۸۶ ^a	KNO ₃ (۵۰۰۰۰ ppm)
.	.	.	±.f	Giberllic acid (۱۰۰۰ ppm)
.	.	.	±.f	Giberllic acid (۲۰۰۰ ppm)
۴۳/۳۰	۳۳/۳۰	۵/۷۷	۲۵ ^e	Control
۱۰۰	.	۳۵/۰۰	۵۸/۳۰	total

بحث

ریزوسفر می‌توانند سبب کاهش دوره کمون و افزایش جوانه‌زنی بذر درختان جنگلی شوند. افزایش جوانه‌زنی بذرها نشان داد که اکسین تولیدشده توسط این باکتری‌ها عامل محرکی برای جوانه‌زنی بذر کیکم و دیوالبالو است که بدون نیاز به طی دوره‌های طولانی استراتیفیکاسیون (تناوب دمایی) قادر به جوانه‌زنی‌اند. احتمالاً اکسین تولیدشده سبب افزایش نفوذپذیری پوسته بذر و نفوذ آب به درون آن و افزایش جوانه‌زنی می‌شود (Barket *et al.*, 2007). کند بودن افزایش جوانه‌زنی توسط برخی از جدایه‌های باکتریایی احتمالاً به دلیل تولید کم اکسین است که با یافته‌های (Kumar *et al.*, 2011) مطابقت دارد که نشان داد برحسب مقدار اکسین تولیدی، افزایش جوانه‌زنی بین ۳ تا ۷۳ درصد تغییر می‌کند. البته این احتمال نیز وجود دارد که به دلیل سختی پوسته بذر، نفوذ مواد محرک تولیدی به‌درون بذر و از بین رفتن خواب چنین امکان‌پذیر نباشد (Babalola *et al.*, 2007). بنابراین در مورد این گونه بذرها شاید لازم باشد با استفاده از خراش مکانیکی (میرزاده واقفی و همکاران، ۱۳۸۸) ابتدا از سختی پوشش بذر کاست یا همزمان از باکتری‌های دیگری با توانایی حذف پوشش سخت بذر مانند باکتری‌های سلولیتیک یا لیگنولیتیک (Howard and Elliot, 1988; Singh *et al.*, 2011) استفاده کرد. در مجموع می‌توان گفت نتایج این مطالعه نشان داد می‌توان از تیمارهای میکروبی به‌تنهایی، یا همراه با تیمارهایی که آثار زیست‌محیطی نامناسب ندارند برای افزایش جوانه‌زنی بذرهای جنگلی در ذخیره گاه‌های طبیعی آنها یا نهالستان‌های تجاری استفاده کرد.

منابع

نصیری، محسن، ۱۳۸۷. تعیین تیمار مطلوب جهت شکستن خواب و افزایش جوانه‌زنی بذر کیکم (*Acer monosperulatum* L.)، تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۶ (۱): ۹۵-۱۰۴.

روش‌های مختلفی برای افزایش درصد جوانه‌زنی بذرهای درختان استفاده می‌شود. یکی از روش‌های متداول برای تحریک جوانه‌زنی بذرها استفاده از مواد شیمیایی قوی مانند اسیدهای مختلف است که علاوه بر افزایش هزینه استفاده از آنها، برای محیط زیست آلوده‌کننده و برای سلامت انسان نیز مضر است. در نتیجه یافتن روش‌های جایگزین برای شکستن خواب بذر بدون آثار منفی بر محیط زیست و روند رشد و نمو نهال‌ها اهمیت زیادی دارد. طی چند دهه اخیر به‌منظور شکستن خواب بذرها یا ارتقای قدرت جوانه‌زنی آنها استفاده از تیمارهای زیستی مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعه از باکتری‌های دارای توانایی تولید ایندول استیک اسید (اکسین) برای افزایش جوانه‌زنی دو گونه جنگلی کیکم و دیوالبالو استفاده شد. تولید هورمون‌های گیاهی توسط باکتری‌ها، سازوکار مهمی است که بر رشد و توسعه گیاهان تأثیر می‌گذارد (Tsavkelova, 2007). ایندول استیک اسید فراوان‌ترین عضو از گروه هورمون‌های گیاهی اکسین است و در شروع رشد ریشه و طویل شدن آن و نیز سایر فرایندهای تمایز بافت‌های گیاهی اهمیت زیادی دارد (Sessitsch *et al.*, 2004). این هورمون علاوه بر تولید توسط بافت‌های گیاهی، توسط باکتری‌ها نیز تولید می‌شود (Pedraza *et al.*, 2004). استرپتومیسس‌های ریزوسفر خاک منبع قوی تولیدکننده اکسین هستند که می‌توانند برای افزایش جوانه‌زنی و رشد به‌کار روند (Khamna *et al.*, 2010). جوانه‌زنی برخی از ارکیده‌ها در حضور باکتری‌های مولد اکسین گزارش شده است و در واقع باور بر این است که بدون وجود این باکتری‌ها جوانه‌زنی امکان‌پذیر نیست (Tsavkelova *et al.*, 2007). در مطالعه دیگری، (Ng *et al.*, 2012) مشاهده کردند که تلقیح باکتری‌های مولد اکسین به افزایش طول ریشه و جوانه‌زنی بذرها و نیز استقرار اولیه برنج منجر می‌شود. نتایج این مطالعه نیز نشان داد که باکتری‌های

- Hart, S.C., G.E. Nason, D.D. Myrold, and D.A. Perly, 1994. Dynamics of gross nitrogen transformation in an old – growth forest: The carbon connection, *Ecology*, 75: 880-891.
- Howard, G., and L. Elliot, 1988. Effects of cellulolytic ruminal bacteria and of cell extracts on germination of *Euonymus Americas L.* seeds, *Applied and Environmental Microbiology*, 36: 218-224.
- Khamna, S., A. Yokota, J.F. Peberdy, and S. Lumyong, 2010. Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils, *Eur-Asian Journal of Bioscience*, 4:23-32.
- Koaze, Y., 1957. Germination promotants for plant seed, produced by microorganisms, *Bulletin of the Agriculture Chemical Society Japan*, 22: 91-97.
- Kumar, S., A. Shrut, V.S. Kumar, and S.S. Kumar, 2011. Characterization of plant growth promoting bacteria from soil of central and upper Himalayan region, *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(1): 363-369.
- MacFadine, J.F., 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Second edition, Warley Press, Inc. U.S.A. 527 p.
- Montero-Calasanz, M.C., C. Santamaría, M. Albareda, A. Daza, J. Duan, B.R. Glick, and M. Camacho, 2013. Alternative rooting induction of semi-hardwood olive cuttings by several auxin-producing bacteria for organic agriculture systems, *Spanish Journal of Agricultural Research*, 11(1): 146-154.
- Morpeth, D.R., and A.M. Hall, 2000. Microbial enhancement of seed germination in *Rosa corymbifera* 'Laxa', *Seed Science Research*, 10: 489-494.
- Niemi, K., and H. Haggman, 2002. *Pisolithus tinctorius* promotes germination and forms mycorrhizal structures in Scot's pine somatic embryos in-vitro, *Mycorrhiza*, 12:263-267.
- Nelson, E.B., 2004. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere, *Annual Review of Phytopathology*, 42: 271-309.
- میرزاده واقفی، سعیده، زیبا جمزاد، عادل جلیلی و محسن نصیری، ۱۳۸۸. بررسی شکستن خواب بذر و تشدید جوانه زنی در سه گونه زالزالک (*Crataegus persica*، *C. babakhan* و *C. aminii*)، تحقیقات جنگل و صنوبر ایران، ۱۷ (۴): ۵۴۴-۵۵۹.
- Babalola, O.O., D.K. Bernerm, and N.A. Amusa, 2007. Evaluation of some bacterial isolates as germination stimulants of *Striga hermonthica*, *African Journal of Agricultural Research*, 2(1): 27-30.
- Barket, A., R. Indu, H. Shamsul, and A. Ahmad, 2007. Effect of 4-Cl-indole-3-acetic acid on the seed germination of *Cicer arietinum* exposed to cadmium, *Acta Botanica Croatica*, 66(1): 57-65.
- Brick, J.M., R.M. Bostock, and S.E. Silverstone, 1991. Rapid in situ assay for iodole acetic acid production by bacteria immobilized on nitrocellulose membrane, *Applied Environmental Microbiology*, 57: 535-538.
- Centeno, A., and M. Gomez Del Campo, 2008. Effect of root promoting products in the propagation of organic olive (*Olea europaea L cv Cornicabra*) nursery plants, *Horticultural Science*, 43: 2066-2069.
- Enebak, S.A., G. Wei, and J.W. Kloepper, 1998. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on loblolly and Slash Pine Seedlings, *Forest Science*, 44 (1): 139-143.
- Espahbodi, K., S.M. Hosseini, H. Mirzaie-Nodoushan, M. Tabari, M. Akbarinia, and Y. Dehghan-Shoorak, 2007. Tree age effects on seed germination in *Sorbus torminalis*, *Genetic Applied Plant Physiology*, 33(1-2): 107-119.
- Green, T.W., 1973. Factors affecting the ecology of *Astragalus libarius* and *Astragalus utahensis* with emphasis on role of insects, Ph.D dissertation, Utah State University, 143 p.
- Guttridge, C.G., S.E. Woodley, and T. Hunter, 1984. Accelerating strawberry seed germination by fungal infection, *Annals of Botany*, 54(2): 223-230.

- Ng, L.C., M. Sariha, O. Sarim, O. Radziah, and M.A. Zinalabidin, 2012. Rice seed bacterization for promoting germination and seedling growth under aerobic condition system, *Australian Journal of Crop Science*, 6(1): 170-175.
- Pedraza, R.O., A. Ramirez-Mata, M. L. Xiqui and B.E. Baca., 2004. Aromatic amino acid aminotransferase activity and indole- 3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bacteria, *FEMS Microbiology Letters*, 233:15–21.
- Pfeiffer, N.E., 1934. Morphology of the seed of *Symphoricarpos racemosus* and the relation of fungal invasion of the coat to germinative capacity, *Boyce Thompson Institute*, 6: 103-122.
- Quispel, A., 1988. Hellriegel and Wilfarth's discovery of (symbiotic) nitrogen fixation hundred years ago, in: Nitrogen Fixation: Hundred Years after, edited by Bothe, H., F. J. Deburjin and W. E. Newton, Gustav Fischer, Stuttgart, 3-12.
- Schafer, M., and P.M. Kotanen, 2004. Impacts of naturally occurring soil fungi on seeds of meadow plants, *Plant Ecology*, 175: 19-35.
- Sessitsch, A., B. Reiter, and G. Berg, 2004. Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant growth-promoting and antagonistic abilities, *Canadian Journal of Microbiology*, 50: 239–249.
- Singh, S.K., A. Pancholy, S.K. Jindal, and R. Pathak, 2011. Effect of plant growth promoting rhizobia on seed germination and seedling traits in Acacia Senegal, *Annals of Forest Research*, 54(2): 161-169.
- Tsavkelova, E.A., T.A. Cherdvntseva, S.G. Botina, and A.I. Netrusov, 2007. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin, *Microbiological Research*, 162: 69-76.
- Woodward, A.W., and B.I. Bartel, 2005. Auxin: Regulation, Action, and Interaction, *Annals of Botany*, 95: 707–735.
- Yahya, L., and A.S.K, Azawi, 1989. Occurrence of phosphate solubilizing bacteria from Iraq soils, *Plant and Soil*, 17: 135-141.

Breaking dormancy and increasing seed germination in Montpellier maple (*Acer monspessulanum*) and white beam (*Sorbus greaca*) by microbial treatment

M. Teimouri^{1*}, M. Khoshnevis¹, and M. Matinizadeh²

¹ Senior Research Expert, Scientific board, Forest Department, Research Institute of Forests and Rangelands, I. R. Iran.

² Associate Prof., Forest Department, Research Institute of Forests and Rangelands, I. R. Iran.

(Received: 19 February 2013, Accepted: 29 July 2014)

Abstract

Sowing seeds is the most common method for forest rehabilitation, for this reason, the success in sowing is very important. *Sorbus greaca* and *Acer monspessulanum* growing in Zagros and Iran-Tourani zones are important because they tolerate very harsh conditions and make plant cover. One of the most important issues in seedling production is low percent of seed germination. Finding solution for seed germination without negative environmental effect with less charge has great importance. The effects of indole acetic acid (auxin) producing bacteria, nitrate potassium and giberllic acid treatments were determined on two forest species including *Sorbus greaca* and *Acer monspessulanum*. For this purpose, indole acetic acid (auxin) producing bacteria was isolated by dilution and screening method and identified by microbiological methods. Collected seeds were sterilized and treated by mentioned treatments and incubated at 4 C. There was a significant different between control and treated seeds in *Acer* but no difference was seen among treatments. Results indicated a significant different between KNO₃ (5000ppm), *Citrobacter* and *Alcaligenese* treatments and control and other treatments in *Sorbus* seeds germination. In conclusion, there is possibility and potential to use microbial treatments alone or with other environmental friendly method to increase the seed germination or decreasing seed dormancy period.

Keywords: *Acer monspessulanum*, Auxin, Germination, Plant growth promoting rhizobacteria, *Sorbus greaca*.

* Corresponding author

Tel:+982144580282-5

E-mail: mteimouri@rufr-ac.ir