

## تأثیر نانولوله‌های کربنی بر تحمل به خشکی توسکای ییلاقی (*Alnus subcordata* C.A.Mey) در مرحله جوانه‌زنی

درخشان رحیمی<sup>۱</sup>، داود کر تولی نژاد<sup>۲\*</sup>، کاظم نورمحمدی<sup>۳</sup> و رضا نقدی<sup>۴</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته جنگل‌شناسی و اکولوژی جنگل، دانشگاه سمنان

۲. استادیار گروه جنگلداری مناطق خشک، دانشکده کویرشناسی دانشگاه سمنان

۳. عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرم آباد، لرستان، ایران

۴. استادیار گروه صنایع چوب و کاغذ، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه سمنان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۹/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۰۷)

### چکیده

پژوهش حاضر با هدف ارزیابی اثر نانوپرایمینگ با استفاده از نانولوله‌های کربنی چند جداره بر تحمل به تنش خشکی بر گونه توسکای ییلاقی انجام گرفت. این مطالعه به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. با استفاده از محلول پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در سطوح ۰، -۲، -۴، -۶ و -۸ بار تنش خشکی در آزمایشگاه بر روی بذرهای پرایم شده با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربنی اعمال شد. نتایج نشان داد اثر نانو پرایمینگ و تنش خشکی بر روی شاخص‌های درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، وزن تر ریشه، وزن تر ساقه و نسبت وزن تر ریشه به ساقه در سطح احتمال ۹۹٪ معنی‌دار است. در تمام سطوح تنش خشکی، بالاترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کربن مشاهده شد (بیشترین مقدار مشاهده شده به ترتیب ۸۸٪ و ۶/۷۴ بذر در روز مربوط به تنش خشکی ۰ بار). همچنین بیشترین وزن تر ریشه و ساقه (بیشترین مقدار مشاهده شده به ترتیب ۱۷/۱ و ۳۰/۱ میلی‌گرم مربوط به تنش خشکی ۰ بار) در تمام سطوح خشکی متعلق به تیمار ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو کربن بود. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که نانو پرایمینگ با نانولوله‌های کربنی چند جداره موجب بهبود صفات جوانه‌زنی بذر درخت توسکا در شرایط تنش خشکی خواهد شد.

**کلمات کلیدی:** رشد گیاهچه، نانو پرایمینگ، جوانه‌زنی بذر، پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰، MWCNTs، تنش خشکی

## The Effect of Carbon Nanotubes on drought tolerance of Caucasian Alder (*Alnus subcordata* C.A.Mey) seeds in germination stage

D. Rahimi<sup>1</sup>, D. Kartoolinejad<sup>2\*</sup>, K. Nourmohammadi<sup>3</sup>, R. Naghdi<sup>4</sup>

1. MSc. of Forestry and Forest Ecology, Semnan University, Semnan, Iran.

2. Assistant Professor of Department of Arid Land Forestry, Faculty of Desert Studies, Semnan University, Semnan, Iran.

3. Young Researchers and Elite Club, Khorramabad Branch, Islamic Azad University, Khorramabad, Iran.

4. Assistant Professor of Engineering of Wood and Paper Industries Department, Faculty of Natural Resources, Semnan University, Semnan, Iran.

(Received: Dec. 11, 2016 – Accepted: Feb. 25, 2017)

### Abstract

This research aimed to evaluate the effects of nano priming using multi-walled carbon nanotubes on drought tolerance of Caucasian alder. In this study, a factorial experiment was used in a completely randomized design with four replications. Drought stress was applied in the laboratory, using a solution of polyethylene glycol 6000 at 0, -2, -4, -6, and -8 bar on the primed seeds with concentrations of 0, 10, 30, 50 and 100 mg l<sup>-1</sup> of carbon nanotubes. The results showed significant effects of nano priming and drought stress on germination characteristics such as germination rate and percentage, root fresh weight, shoot fresh weight and root to shoot fresh weight at the probability of 99%. The highest germination rate and percentage at all levels of drought stress, was related to 100 mg.l<sup>-1</sup> of nano carbon treatment (maximal value was 88% and 6.74 seed/day in 0 bar drought stress, respectively). The highest fresh weight of root and shoot at all levels of drought stress was related to 30 mg.l<sup>-1</sup> of nano carbon treatment (maximal value was 17.1 and 30.1 in 0 bar drought stress, respectively). According to the results of this experiment it could be concluded that nano-priming improved seed germination characteristics of alder tree under drought stress.

**Keywords:** Seedling growth, nano-priming, seed germination, polyethylene glycol 6000, MWCNTs, drought stress

\* Email: kartooli58@semnan.ac.ir

## مقدمه

بذر را دارند و از این طریق می‌توانند همچون پلی مولکول‌های آب و یا اتم‌های عناصر مغذی را از درون خود به سمت دیگر جدار بذر انتقال دهند. جذب آب بیشتر می‌تواند موجب افزایش و تسریع فعل و انفعالات درون بذر گردد و بدین ترتیب تا حدی مکانیسم جوانه‌زنی را تحت تأثیر قرار دهد (Khodakovskaya *et al.*, 2009; Haghghi and da Silva, 2014). استفاده از نانولوله‌های کربنی می‌تواند باعث ایجاد رخنه در بذر شده و در نتیجه ورود اکسیژن به درون بذرها تسهیل نماید. همچنین این احتمال وجود دارد که نانولوله‌های کربنی با تأثیر بر کانال‌های عبور آب در غشا و تنظیم عمل آن‌ها بتواند به ورود آب به درون سلول‌ها کمک کند (Khodakovskaya *et al.*, 2009).

خشکی می‌تواند روی جنبه‌های مختلف جوانه‌زنی مانند قدرت جذب آب (Gholami *et al.*, 2010)، درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی (An *et al.*, 2011)، میانگین زمان جوانه‌زنی بذر قدرت جوانه‌زنی و بنیه بذر (Boydak *et al.*, 2003) تأثیر منفی بگذارد. مرحله جوانی زنی بذر و رشد گیاهچه از مراحل بحرانی رشد گیاهان می‌باشد. به موفقیت گذرانیدن این دو، نقش مهمی در مراحل دیگر استقرار گیاه خواهد داشت (Pour Mombeini and Moalemi, 2016).

نرخ جوانه‌زنی وابسته به نفوذپذیری پوسته بذر و مقدار آب موجود در منطقه جوانه‌زنی است (Khodakovskaya *et al.*, 2012). یکی از تکنیک‌های ساده و ارزان جهت کاهش تنش خشکی در گیاهان و افزایش جوانه‌زنی بذرها در شرایط نامطلوب محیطی استفاده از پرایمینگ بذر است (Afzal *et al.*, 2008). پرایمینگ بذر انواع مختلفی دارد که نانو پرایمینگ روشی جدید برای افزایش قدرت نهال و بهبود صفات جوانه‌زنی و رشد گیاه چه است (Dehkourdi and Mosavi, 2013). توسکای بیلاقی (*Alnus subcordata* C.A.Mey) از خانواده Betulaceae بوده و پراکنش آن در ایران محدود به استان‌های گیلان، مازندران و گرگان می‌باشد

فناوری نانو از فناوری‌های نوین است که اخیراً وارد عرصه کشاورزی شده است. فناوری نانو دست‌کاری یا مجتمع کردن اتم‌های منفرد، مولکول‌ها یا توده‌های مولکولی منفرد، به ساختارهایی با ویژگی‌ها و صفات جدید بسیار متفاوت است (Feizi *et al.*, 2012). نانو ذرات (ذرات در مقیاس نانو) ذرات اتمی یا مولکولی هستند که حداقل اندازه یک بعد آن‌ها بین ۱ تا ۱۰۰ نانومتر است. نانو ذرات نسبت به مواد درشت‌دانه با وزن معادل، سطح بزرگ‌تر و تعداد اتم بیشتر و در نتیجه سطح فعال بیشتری دارند (Haghghi *et al.*, 2012) در نتیجه دارای خواص منحصر به فرد فیزیکی و شیمیایی متفاوتی (اندازه کوچک، واکنش‌پذیری بیوشیمیایی بالا، توانایی نفوذ در سلول و جابه‌جایی سریع در داخل میکروارگانیسم‌ها) نسبت به مواد درشت‌دانه هستند (Khodakovskaya *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2014).

نانو مواد کربن، مواد جدیدی هستند که با خصوصیات مکانیکی، الکتریکی، فیزیکی و شیمیایی و حرارتی خود در سال‌های اخیر توجه گسترده‌ای را در میان محققان موجب شده است (Tripathi *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2012). نانو مواد کربنی طیف وسیعی از برنامه‌های کاربردی از جمله الکترونیک، پزشکی، هوافضا و کشاورزی را در برمی‌گیرد. در میان نانو مواد کربنی، نانولوله‌های کربنی تک جداره و نانولوله‌های کربنی چند جداره به دلیل اثرات مثبت در رشد محصولات مختلف، توجه زیست‌شناسان گیاهی را به خود جلب کرده‌اند (Lahiani *et al.*, 2015). نانولوله‌های کربنی می‌تواند خصوصیات ریختی و فیزیولوژیک سلول‌های گیاهی را تغییر دهد (Haghghi and da Silva, 2014). یکی از مؤثرترین اثرات نانولوله‌های کربنی روی بذر گیاهان بالا بردن درصد و سرعت جوانه‌زنی می‌باشد. از آنجایی که ابعاد نانو ذرات (حداقل یکی از بعد آنها) بسیار کوچک و کمتر از ۱۰۰ نانومتر است، قابلیت عبور از منافذ موجود در پوسته

(Savithramma *et al.*, 2014). لو و همکاران (Lu *et al.*, 2002) گزارش دادند که نانولوله‌های کربنی چند جداره می‌توانند به داخل دیواره سلولی گیاه تنباکو نفوذ کند و بارهای مختلفی را به اندامک‌های سلولی گیاه انتقال دهد. تریپاتی و همکاران (Tripathi *et al.*, 2011) نشان دادند که نانولوله‌های کربنی می‌تواند نرخ رشد را در همه بخش‌های گیاه *Cicer arietinum* از جمله ریشه و ساقه افزایش دهد. دهکردی و موسوی (Dehkourdi and Mosavi, 2013) در طی تحقیقی اثر نانوپرایمینگ با استفاده از نانو دی‌اکسید تیتانیوم (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که افزایش غلظت نانو  $TiO_2$  باعث بهبود صفات جوانه‌زنی خواهد شد. آنان مناسب‌ترین تیمار را ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از این نانو ماده معرفی کردند.

با توجه به عدم وجود تحقیقات کافی در مورد تأثیر نانولوله‌های کربنی در رشد گیاهان و جوانه‌زنی بذر در شرایط تنش خشکی، بخصوص برای درختان جنگلی و اهمیت گونه توسکای بیلاقی به‌عنوان گونه‌ای چندمنظوره و پیشرو در جنگل‌های هیرکانی، تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر نانولوله‌های کربنی بر صفات جوانه‌زنی بذر توسکای بیلاقی در تنش‌های مختلف خشکی، انجام گرفت. از آنجایی که گونه‌های توسکا معمولاً وابسته به اکوسیستم‌های آبی جهت جوانه‌زنی و استقرار هستند، این تحقیق قصد دارد تا به آستانه تحمل شرایط خشکی در زمان جوانه‌زنی و رویش اولین این گونه درختی مهم جنگل‌های هیرکانی بپردازد.

### مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر نانولوله‌های کربنی چند جداره بر صفات جوانه‌زنی بذر توسکای بیلاقی با مبدأ بذر نوشهر، در شرایط تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار، طراحی و به اجرا درآمد.

(Shayanmehr *et al.*, 2014). توسکا بیلاقی به‌عنوان چهارمین درخت مهم تجاری جنگل‌های شمال کشور، حدود ۷/۶ درصد از کل حجم سرپای جنگل‌های شمال را در برمی‌گیرد (Hosseinzadeh Colagar *et al.*, 2016; Shayanmehr *et al.*, 2014). همچنین این گونه از رشد سریعی برخوردار است و در بسیاری از منابع به رابطه همزیستی (symbiotic) مهم توسکا با باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن با نام علمی *Frankia alni* که یک اکتینومیست رشته‌ای است اشاره شده است. توسکا در نتیجه این ارتباط مفید دوسویه (mutually) به باروری خاکی که در آن می‌روید کمک نموده و به‌عنوان گونه‌ای پیشرو، نیتروژن اضافی برای گونه‌های مراحل بعدی توالی فراهم می‌نماید و موجب بهبود حاصل خیزی و تقویت خاک خواهد شد (Shayanmehr *et al.*, 2015). توسکا بیلاقی به‌عنوان گونه‌ای پیشگام در مناطق باز و حاشیه جاده‌ها و بر روی خاک‌های واریزه‌ای می‌روید و به تدریج شرایط را برای حضور سایر گونه‌ها در مراحل بعدی توالی فراهم می‌کند (Hosseinzadeh Colagar *et al.*, 2016).

اگرچه گیاهان نقش مهمی در اکوسیستم ایفا می‌کنند و به‌عنوان گیرنده‌های بسیار مهم در سیستم‌های زیست‌محیطی هستند، اما باین وجود اثرات نانو ذرات بر روی گیاهان به‌طور گسترده مورد بررسی قرار نگرفته است (Nair *et al.*, 2012). جیانگ و همکاران (Jiang *et al.*, 2014) نشان دادند که نانولوله‌های کربنی در غلظت‌های پایین می‌تواند جوانه‌زنی و رشد بذر برنج را افزایش دهد ولی در غلظت‌های بالا اثرات سمی دارند. تحقیقات حقیقی و همکاران (Haghighi *et al.*, 2012) نشان داده است که نانو ذرات سیلیکون در غلظت ۲۵ میلی‌گرم در لیتر می‌تواند اثرات منفی و مخرب شوری را بر درصد جوانه‌زنی بذر گوجه‌فرنگی بهبود بخشد. در تحقیقی دیگر بر روی گونه در حال انقراض *Boswellia ovalifoliolata* مشاهده شد نانو ذرات نقره در غلظت‌های ۱۰ تا ۳۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر جوانه‌زنی را به میزان ۹۵ درصد افزایش داده است

نوری، ۸ ساعت تاریکی، ۶۵ درصد رطوبت نسبی و دمای  $21 \pm 0.2$  درجه سانتی گراد قرار گرفتند. عمل شمارش بذور جوانه زده هر ۲۴ ساعت یک بار، به مدت ۱۹ روز انجام گرفت. معیار جوانه زنی ظهور ریشه به اندازه دو میلی متر در نظر گرفته شد (Nourmohammadi et al., 2016; Yousefi et al., 2017). پس از ثابت ماندن تعداد بذره‌های جوانه زده در تمام پتری دیش‌ها، از ژرمیناتور خارج و اقدام به اندازه گیری پارامترهای جوانه زنی و رویشی ریشه و ساقه شد.

برای اندازه گیری درصد جوانه زنی و سرعت جوانه زنی بذرها به ترتیب از روابط  $GS = \sum(n_i/t_i)$  و  $GP = (n/N) \times 100$  که در این روابط n تعداد جوانه زنی بذرها در طول دوره، N تعداد کل بذره‌های کشت شده،  $n_i$ : تعداد جوانه زنی بذور در یک فاصله زمانی است (Nourmohammadi et al., 2016). برای اندازه گیری وزن تر ریشه و ساقه از ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ استفاده شد. در نهایت جهت نرمال کردن داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف و پس از آن جهت بررسی همگنی واریانس‌ها از آزمون لون استفاده شد سپس داده‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شد. اثرات مورد بررسی شامل دو فاکتور خشکی و نانولوله‌های کربنی بود. پس از بررسی معنی داری داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA)، مقایسات چندگانه با استفاده از آزمون توکی مورد مقایسه قرار گرفت. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد.

## نتایج

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر تیمارهای خشکی و نانو بر روی صفات اندازه گیری شده معنی دار گردید. همچنین اثرات متقابل خشکی و نانو بر روی صفات اندازه گیری شده به غیر از درصد جوانه زنی در سطح ۹۹ درصد معنی دار بود (جدول ۱).

تیمارهای مورد بررسی شامل ۶ سطح تنش خشکی (۰، ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰- بار) و ۵ غلظت نانو (۰، ۱۰، ۳۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر) بود (Khodakovskaya et al., 2012; Begum et al., 2012; Rahimi et al., 2016). نانولوله‌های کربنی چند جداره با خلوص ۹۸ درصد به بالا، از شرکت پیشگامان نانو مواد ایران خریداری شد. برای ساخت مخلوط یکنواخت نانو ذرات با غلظت‌های ذکر شده، نانو ذرات به طور مستقیم در آب مقطر ریخته شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه التراسونیک با شدت ۱۰۰ وات و ۴۰ کیلوهرتز قرار داده شدند (Khodakovskaya et al., 2012; Begum et al., 2012; Ikhtari, 2014). برای اجرای آزمایش، بذور توسکای ییلاقی با خلوص ۹۷ درصد و رطوبت اولیه ۱۰/۹ درصد، با قارچ کش بنومیل (دو در هزار) به مدت ۱ دقیقه ضد عفونی شده و سپس برای از بین بردن مواد ضد عفونی کننده، به مدت سه دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند و سپس جهت پرایم کردن بذور، بذور در محلول نانو ذرات با غلظت‌های مشخص شده به مدت ۲۴ ساعت غوطه ور شدند و جهت جلوگیری از ته نشین شدن نانو ذرات در طول مدت پرایم کردن بر روی شیکر قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت بذور از محلول خارج شده و با آب مقطر شستشو داده شدند و برای رسیدن به وزن اولیه خود در دمای اتاق و شرایط تاریکی به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. برای ایجاد سطوح مختلف تنش خشکی از پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ استفاده شده و مقدار لازم از این ماده جهت هر یک از سطوح تنش خشکی (۰، ۲، ۴، ۶، ۸- و ۱۰- بار) با استفاده از فرمول میشل و کافمن (Michel and Kaufmann, 1973) برآورده شد. برای ایجاد سطح تنش صفر از آب مقطر استفاده شد. در هر تکرار تعداد ۲۵ عدد بذر در پتری دیش قرار گرفت و برای اعمال سطوح تنش خشکی مقدار ۵ سی سی از محلول مورد نظر به هر پتری دیش اضافه گردید. سپس پتری دیش‌ها به صورت تصادفی در ژرمیناتور با شرایط استاندارد ۱۶ ساعت روشنایی با شدت ۱۰۰۰ لوکس

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس دوطرفه شاخص‌های جوانه‌زنی بذر توسکای بیلاقی با تیمارهای نانو پرایمینگ و تنش خشکی

Table 1- The results of analysis of variance of seed germination of Caucasian alder under nano priming and drought stress conditions

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (seed/day)	وزن تر ریشه (میلی گرم) Root fresh weight (mg)	وزن تر ساقه (میلی گرم) Shoot fresh weight (mg)	نسبت وزن تر ریشه به ساقه Root/shoot fresh weight
نانو پرایمینگ Nano priming	4	F Pvalue	25.806 0.000 **	21.350 0.000 **	49.691 0.000 **	222.650 0.000 **	121.493 0.000 **
تنش خشکی Drought stress	4	F Pvalue	380.002 0.000 **	411.563 0.000 **	151.299 0.000 **	781.987 0.000 **	372.070 0.000 **
نانو پرایمینگ × تنش خشکی Nano priming × Drought stress	16	F Pvalue	0.537 0.919 ns	3.453 0.000 **	5.489 0.000 **	33.056 0.000 **	65.071 0.000 **

\*\* : significant at 1% and ns: not significant

\*\* : معنی دار در سطح ۱٪ و ns: بدون وجود اختلاف معنی دار

میلی گرم بر لیتر نانو ۱۵ و ۱۳ درصد جوانه‌زنی صورت گرفت. از طرفی بذور شاهد و پرایم شده (۱۰ و ۳۰ میلی گرم بر لیتر) در تنش ۸- و ۱۰- بار متوقف شده است و در تنش ۶- بار نیز بذور شاهد و پرایم شده (۱۰ میلی گرم بر لیتر) جوانه‌زنی صورت گرفته ولی ساقه تشکیل نشده است.

**وزن تر ریشه، وزن تر ساقه و نسبت وزن تر ریشه به ساقه**  
مقایسه میانگین صفات مشخص می کند که تیمارهای ۳۰ میلی گرم در لیتر نانو و شاهد به ترتیب بیشترین و کمترین وزن تر ریشه و ساقه را در تمام سطوح خشکی مورد آزمون به خود اختصاص داده اند. به طوری که تیمار ۳۰ میلی گرم در لیتر نانو کربن در سطوح تنش خشکی ۲- و ۴- بار، وزن تر ریشه و ساقه را نسبت به شاهد حدود ۲ برابر افزایش داده است. همچنین مشاهده گردید که بیشترین نسبت وزن تر ریشه به ساقه در تمام سطوح تنش به غیر از ۴- بار به تیمار ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نانو بود (جدول ۲).

### سرعت جوانه‌زنی

نتایج (جدول ۲) نشان می دهد که در سطوح مختلف تنش خشکی تحت تأثیر تیمارهای نانولوله‌های کربنی نسبت به شاهد موجب افزایش سرعت جوانه‌زنی گردیده است؛ به طوری که در تمام سطوح خشکی بالاترین نرخ سرعت جوانه‌زنی به تیمار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو تعلق گرفت. همچنین اثر نانو پرایمینگ بر افزایش سرعت جوانه‌زنی در سطوح بالای تنش خشکی به وضوح قابل مشاهده است.

### درصد جوانه‌زنی

نتایج مقایسه میانگین‌ها طبق (جدول ۲) بیشترین و کمترین درصد جوانه‌زنی را در تمام سطوح تنش به ترتیب در تیمارهای ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو و شاهد نشان می دهد. در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر نانو کربن، درصد جوانه‌زنی بذور نسبت به شاهد در شرایط تنش ۶- بار نزدیک به ۸ برابر افزایش داشت. بذور تیمارهای شاهد، ۱۰ و ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانولوله‌های کربنی، در تنش خشکی ۸- بار، جوانه‌زنی نداشتند؛ اما در تیمار ۱۰۰ و ۵۰

جدول ۲- نتایج مقایسه میانگین تأثیر نانو پرایمینگ بر صفات جوانه‌زنی توسکای بیلاقی در سطوح مختلف تنش خشکی\*

Table 2- The results of mean comparison of nano priming effects on germination characteristics of Caucasian alder seed in different levels of drought stress\*

تنش خشکی (بار) Drought stress (bar)	نانو کربن (میلی گرم بر لیتر) Nano carbon (mg l <sup>-1</sup> )	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (seed/day)	وزن تر ریشه (میلی گرم) Root fresh weight (mg)	وزن تر ساقه (میلی گرم) Shoot fresh weight (mg)	نسبت وزن تر ریشه به ساقه Root/shoot fresh weight
0	0	62 (1.5) efghi	4.70 (0.21) de	11.95 (0.49) cd	22.82 (1.22) d	0.54 (0.01) cde
	10	70 (2.0) cdef	4.10 (0.20) ef	11.97 (0.64) cd	22.25 (1.06) d	0.53 (0.01) de
	30	78 (1.15) abc	5.77 (0.14) bc	17.07 (0.47) a	30.90 (0.92) a	0.55 (0.00) cde
	50	82 (5.03) ab	6.10 (0.39) ab	16.55 (2.66) a	27.92 (1.03) b	0.60 (0.11) bcde
	100	88 (4.32) a	6.74 (0.52) a	15.92 (1.75) ab	22.30 (0.24) d	0.71 (0.07) ab
-2	0	52 (a.63) ijk	3.59 (0.22) fg	7.60 (0.24) ef	12.62 (0.28) ijk	0.60 (0.01) bcde
	10	57 (4.12) ghik	3.96 (0.27) ef	8.77 (0.41) e	15 (0.67) gh	0.58 (0.01) bcde
	30	66 (2.58) defg	3.10 (0.35) gh	15.95 (1.09) ab	24.27 (1.2) c	0.65 (0.01) abcd
	50	72 (2.30) cde	4.67 (0.16) de	14.30 (0.73) abc	20.35 (0.44) de	0.70 (0.02) abc
	100	75 (6.60) bcd	5.25 (0.49) cd	11.92 (0.76) cd	15 (0.80) gh	0.79 (0.00) a
-4	0	47 (1.0) k	2.55 (0.12) hi	5.45 (0.23) f	11.17 (0.26) jkl	0.48 (0.01) e
	10	50 (2.0) jk	2.10 (0.80) i	7.60 (0.93) ef	12.17 (0.26) ijkl	0.62 (0.09) bcde
	30	54 (5.29) hijk	3.80 (0.41) gh	13.3 (0.16) bc	19.82 (0.22) e	0.67 (0.00) abcd
	50	59 (3.41) fghij	3.09 (0.39) gh	8.32 (0.19) ef	16.10 (0.66) fg	0.51 (0.01) de
	100	64 (3.65) defh	3.73 (0.30) fg	8.90 (1.46) e	13.70 (0.54) hi	0.65 (0.11) abcd
-6	0	3 (1.0) no	0.06 (0.02) j	1.72 (0.57) g	0	0
	10	7 (1.91) mno	0.73 (0.30) j	2.45 (0.14) g	0	0
	30	15 (7.72) lm	0.14 (0.03) j	9.55 (0.14) de	17.33 (0.11) f	0.54 (0.00) de
	50	16 (1.63) lm	0.41 (0.23) j	6.96 (1.03) ef	12.85 (1.11) ij	0.54 (0.01) de
	100	23 (8.38) l	0.69 (0.3) j	6.80 (1.25) ef	10.65 (0.38) kl	0.65 (0.09) abcd
-8	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0
	30	0	0	0	0	0
	50	13 (1.91) lmo	0.23 (0.13) j	7.30 (0.05) ef	11.26 (0.80) jkl	0.62 (0.02) bcde
	100	15 (1.91) lm	0.28 (0.22) j	7.10 (0.17) ef	10.41 (0.17) l	0.66 (0.01) abcd

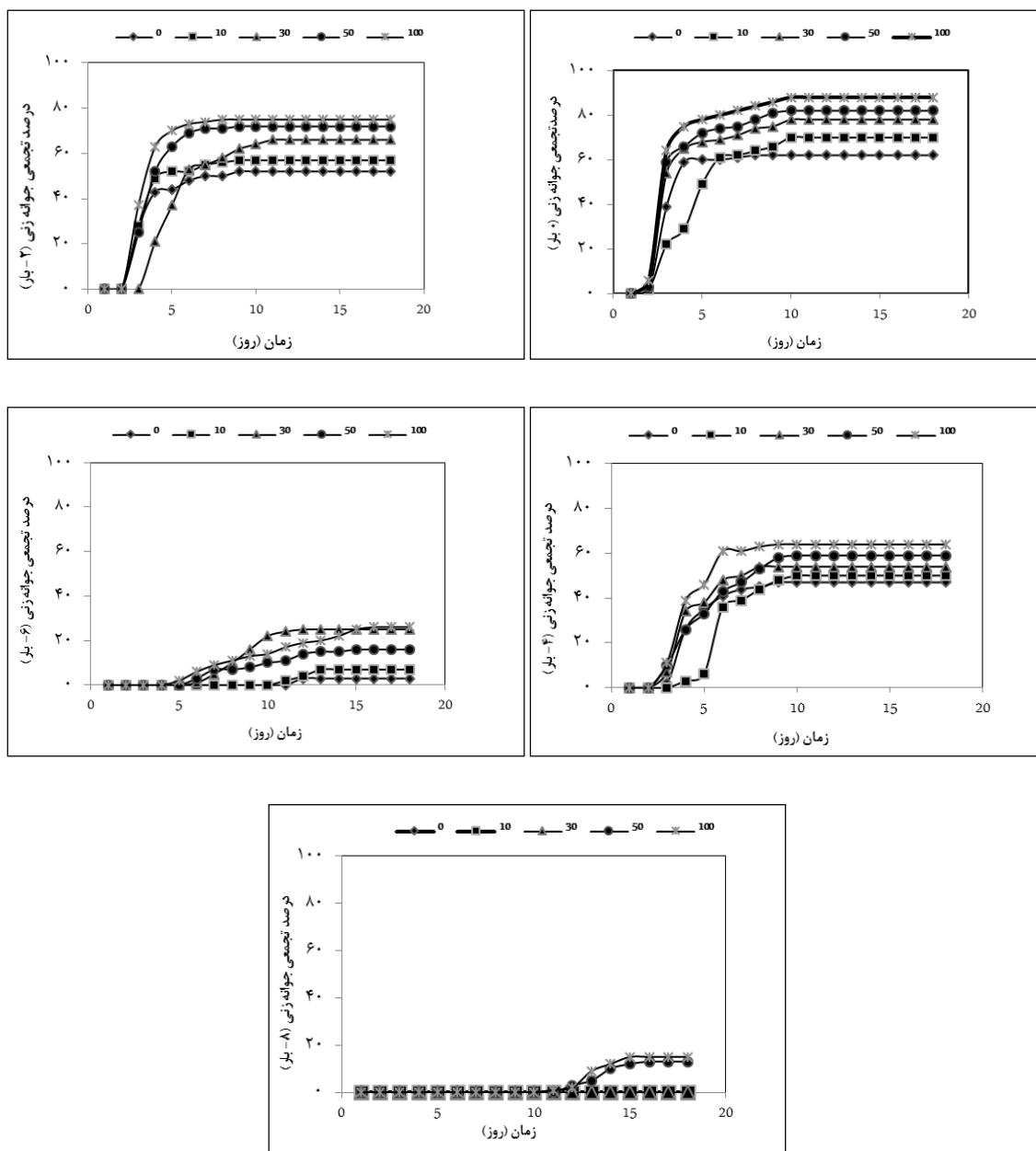
\* اعداد درون پرانتز اشتباه معیار هر تیمار است. حروف غیرمشترک نیز بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون از جدول است.

\*The values in the parentheses is related to standard error. Dissimilar letters indicate significant difference in each column of table.

### درصد تجمعی جوانه‌زنی

لیتر در تمام سطوح (به‌غیر از ۶-بار)، بالاترین میزان جوانه‌زنی را در کل طول زمان آزمایش به خود اختصاص داده است.

میزان جوانه‌زنی در هر یک از تیمارهای نانو در سطوح مختلف خشکی یک روند افزایشی را در ابتدای جوانه‌زنی نشان داده است (شکل ۱) و باگذشت زمان، میزان جوانه‌زنی ثابت شده است. تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر



شکل ۱: روند درصد تجمع‌ی جوانه‌زنی بذور در تیمارهای نانو تحت تنش سطوح مختلف خشکی

Figure 1. Germination responses of nano primed seeds of Caucasian alder under stress conditions.

به تنش خشکی و همچنین بررسی تأثیر نانو پرایمینگ با استفاده از نانولوله‌های کربنی چند جداره بر صفات جوانه‌زنی بذر توسکای ییلاقی تحت تنش خشکی بود. نتایج اعمال تنش خشکی نشان داد که سطوح مختلف تنش خشکی توانسته است محیطی نامناسب برای جوانه‌زنی بذور فراهم کند به طوری که تنش خشکی اثر

### بحث

در این تحقیق آستانه تحمل خشکی گونه‌ای رطوبت پسند از گونه‌های درختی جنگل‌های هیرکانی مورد آزمون قرار گرفت. هدف، تعیین مقاومت بذر گونه توسکای ییلاقی نسبت

تنش ۶- بار، جوانه‌زنی را از ۳ درصد در شاهد به ۲۳ درصد افزایش داده است و در تنش ۸- بار جوانه‌زنی را از صفر (شاهد) به ۱۵ درصد افزایش داده است. به‌طور کلی با افزایش غلظت نانولوله‌های کربنی از صفر به ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سرعت جوانه‌زنی و درصد جوانه‌زنی روند افزایشی را نشان داد. همچنین بیشترین درصد جوانه‌زنی تجمعی در طول زمان و تمام سطوح تنش خشکی به‌غیر از تنش ۶- بار، در بذور تیمار شده با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو مشاهده شد. وزن تر ریشه و ساقه همانند سایر شاخص‌های اندازه‌گیری شده، تحت تأثیر نانولوله‌های کربنی قرار گرفت. بالاترین مقدار وزن تر مربوط به تیمار ۳۰ میلی‌گرم در لیتر بود که با افزایش غلظت نانولوله‌های کربنی، وزن تر کاهش پیدا کرد؛ باوجود این، پایین‌ترین وزن تر همچنان در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۲).

باوجود اینکه ورود جسم خارجی به سلول‌های گیاهی به علت دیواره سلولی آن‌ها دشوار است، اما اخیراً توانایی نفوذ نانولوله‌های کربنی از پوسته بذر را گزارش شده است (Khodakovskaya et al., 2009). آن‌ها نشان دادند نانولوله‌های کربنی چند جداره با نفوذ در پوسته ضخیم بذر و افزایش جذب آب و تأثیر بر فعالیت‌های بیولوژیکی موجب افزایش رشد و سرعت جوانه‌زنی می‌شود. نانولوله‌های کربنی با افزایش منافذ جدید در پوسته بذر می‌توانند موجب افزایش جذب آب شود. همچنین این احتمال وجود دارد که نانولوله‌های کربنی با تأثیر بر کانال‌های عبور آب در پوسته بذر و تنظیم عمل آن‌ها بتوانند به ورود آب به درون سلول‌ها کمک کنند (Khodakovskaya et al., 2012). حقیقی و داسیلوا (Haghighi and da Silva, 2014) بیان کردند که شکل استوانه‌ای نانولوله‌های کربنی جذب آب و گاز را تسهیل می‌کند و موجب جوانه‌زنی و رشد راحت‌تر گیاه چه می‌شود.

با این وجود، مطالعات کامل و دقیق در مورد اثرات نانو مواد مانند نانولوله‌های کربنی در فیزیولوژی گیاهی و رشد گیاه در سطح ارگانسیم و مکانیسمی که نانولوله‌های

کاهنده‌ای بر درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، وزن تر ریشه و ساقه در همه سطوح نانو پرایمینگ و تیمار شاهد داشته است که با نتایج بویداک و همکاران (Boydak et al., 2003) که اثرات تنش خشکی بر جوانه‌زنی *Pinus brutia* با اعمال پلی‌اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ در سطوح (۰، ۲، ۴، ۶، ۸-) مورد بررسی قرار دادند، مطابقت دارد. اگر جذب آب توسط بذر دچار اختلال گردد و یا جذب به‌آرامی صورت گیرد فعالیت‌های متابولیکی جوانه‌زنی در داخل بذر به‌آرامی انجام خواهد شد و در نتیجه مدت زمان خروج ریشه از بذر افزایش می‌یابد و لذا سرعت جوانه‌زنی کاهش می‌یابد (Hegarty, 1978). المنصوری و همکاران (Almansouri et al., 2001) دلیل کاهش درصد جوانه‌زنی را کاهش رطوبت سلول‌ها و به دنبال آن کاهش تولید هورمون‌های محرک جوانه‌زنی و هورمون‌های هیدرولیز کننده مواد ذخیره‌ای بذر مانند آمیلاز و نیز اختلال در عمل ساختاری بذر بیان کردند. درصد جوانه‌زنی تجمعی نیز همانند سایر شاخص‌های اندازه‌گیری شده تحت تأثیر سطوح مختلف خشکی قرار گرفت؛ به‌طوری که درصد تجمعی جوانه‌زنی بذور شاهد و تیمار شده با گذشت زمان در تمام سطوح تنش افزایش یافت و در نهایت به روند ثابتی رسید. همچنین با افزایش تنش خشکی، میزان درصد تجمعی جوانه‌زنی بذور شاهد و تیمار شده کاهش یافت (شکل ۱).

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، تأثیر مثبت و معنی‌داری نانو پرایمینگ بر افزایش مقاومت بذور به تنش خشکی مشاهده شد؛ به‌طوری که با افزایش غلظت نانو بر میزان مقاومت بذور به تنش خشکی افزوده می‌شود. به‌عنوان مثال با افزایش غلظت نانو از صفر (تیمار شاهد) به ۱۰۰ میلی‌گرم، مقاومت بذور به تنش خشکی از ۴- (بدون اعمال نانو) به ۸- (۱۰۰ میلی‌گرم نانو در لیتر) افزایش یافته است. در تمام سطوح تنش خشکی بالاترین درصد جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو تعلق دارد به‌طوری که در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم نانو،



ساقه چه) داشته باشد. درحالی که بذور تیمار شده تا سطح تنش خشکی ۸- بار را نیز می‌توانند جهت جوانه‌زنی و رویش ساقه چه و ریشه چه تحمل نمایند.

پاسخ گیاهان به نانو ذرات برحسب نوع گونه، مرحله رویشی - سنی و ماهیت نانو ذرات متفاوت می‌باشد (Nair *et al.*, 2012). محققین مختلفی اثرات نانو ذرات را بر رشد گیاهان موردبررسی قرار دادند. در تحقیقات لی و همکاران (Lee *et al.*, 2010) نشان داده شده است که نانو ذره  $TiO_2$  به دلیل افزایش دادن فعالیت نیترات ردوکتاز، می‌تواند جذب آب و کود را افزایش دهد و همچنین کلروپلاست را از پیر شدن محافظت کند و در تحقیقی دیگر نشان داده شده است  $TiO_2$  و  $SiO_2$  باعث افزایش نیترات ردوکتاز در *Glycine max* شده است که به نوبه خود رشد و جوانه‌زنی را از طریق افزایش جذب آب، ترویج داده است (Lu *et al.*, 2002). محققان نشان دادند که نانولوله کربنی چند جداره در غلظت ۵ تا ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌تواند ۵۵ تا ۶۴ درصد سرعت رشد سلول‌های تنباکو را افزایش دهد. این در حالی است که کربن فعال در غلظت پنج میکروگرم در میلی‌لیتر تنها ۱۶ درصد رشد سلول‌ها را افزایش می‌دهد (Khodakovskaya *et al.*, 2012). ونگ و همکاران (Wang *et al.*, 2012) اثر نانولوله‌های کربنی چند جداره (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰  $\mu g/ml$ ) بر جوانه‌زنی و فیزیولوژی گیاه *Triticum aestivum* موردبررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که پس از ۷ روز از قرار گرفتن بذور در محیط کشت نانولوله، رشد ریشه سریع‌تر و بیوماس افزایش یافت اما جوانه‌زنی و طول ساقه با بذور شاهد تفاوتی نداشت. لین و ژینگ (Lin and Xing, 2007) اثر سم ۵ نوع نانو ذره را در ۶ گونه گیاهی عالی موردبررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که به جز نانو ذرات روی و دی‌اکسید روی که به ترتیب بر جوانه‌زنی چچم چندساله و ذرت در غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اثر داشتند، بقیه تیمارها اثری بر جوانه‌زنی گیاهان نداشت. آن‌ها نشان دادند که مهار رشد ریشه به صورت قابل توجهی

کربنی می‌تواند جذب آب به داخل بذر را حمایت کنند بسیار محدود است (Khodakovskaya *et al.*, 2012; Begum *et al.*, 2012; Ikhtari, 2014). نتایج تحقیقی که توسط Begum و همکاران (۲۰۱۲) و نیز Ikhtari (۲۰۱۴) انجام شد بیانگر اثرات سمیت نانولوله‌های کربنی بر ویژگی‌های رویشی، جوانه‌زنی و فیزیولوژی هفت گونه زراعی کاهو، اسفناج قرمز، بامیه، برنج، خیار، فلفل و سویا بوده است. وی نشان داد که نانولوله‌های کربنی در دزهای ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر می‌تواند موجب اثرات منفی ای همچون مرگ سلول، نکروز شدن سطح برگ‌ها، توقف جوانه‌زنی بذر و کاهش رشد و بیوماس گیاهان شود. وی بیان نمود که این اثرات ناشی از تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) به دلیل مکانیسم استرس اکسیداسیونی در گیاه در دزهای بالا بود. وی همچنین اذعان نمود که دزهای پایین تا غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از نانولوله‌های کربنی تأثیرات معنی‌دار منفی نداشته است.

توسکاهای به‌طور طبیعی در چهار نوع شرایط رویشگاهی نسبتاً متفاوت رویش می‌یابند: نظیر محیط‌های ماندابی، حاشیه‌های رودخانه‌ها و... که سطح آب زیرزمینی بسیار بالایی دارند (Claessens *et al.*, 2010)؛ اما یکی از این رویشگاه‌ها که محیط‌های دور از آب نیز هست در مورد توسکای بیلاقی اهمیت ویژه‌ای دارد و آن را نسبت به دیگر همتای خود یعنی توسکای قشلاقی که گونه‌ای آب‌دوست تر نیز هست مجزا می‌کند. توسکای بیلاقی می‌تواند در محیط‌های دور از رودخانه و حتی بر روی دامنه‌های بالاتر از دره‌ها و یا حتی یال‌ها نیز جوانه‌زنی و رشد نماید. در کل شرایط جوانه‌زنی بذرهای توسکاهایی نظیر *A. glutinosa* بسیار وابسته به آب است ولی نتایج این تحقیق نشان داد که گونه توسکای بیلاقی مقاومت به خشکی بیشتری نسبت به همتای دیرینه خود در جنگل‌های هیرکانی دارد و بدون تیمار نانولوله‌های کربنی می‌تواند تنش خشکی تا ۴- بار را تحمل و حتی در تنش ۶- بار جوانه‌زنی (با کاهش رویش ریشه چه و عدم رویش

مقاومت گونه توسکا بیلاقی و بهبود مشخصه‌های جوانه‌زنی این گونه در شرایط تنش خشکی دارد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانولوله‌های کربنی در راستای بهبود صفات جوانه‌زنی این گونه معرفی می‌شود. انجام پژوهش‌های با غلظت‌های بالای ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در عرصه پیشنهاد می‌شود. با توجه به اینکه تحقیق حاضر بر تأثیر نانولوله‌های کربنی بر جوانه‌زنی و مراحل اولیه رویش انجام شده است، پیشنهاد می‌گردد که تحقیقات آتی بر مراحل بعدی رشد و نیز استقرار نهال‌های گونه‌های مختلف در عرصه صوت پذیرد.

در میان نانو ذرات و گیاهان متنوع است و تا حد زیادی به غلظت نانو ذرات در ارتباط است. کاناس و همکاران (Cañas *et al.*, 2008) گزارش دادند که نانولوله‌های کربنی تک‌جداره به‌طور قابل توجهی مانع طویل شدن رشد ریشه گوجه‌فرنگی، کلم، هویج و کاهو در ۲۴ تا ۴۸ ساعت می‌شود اما طول ریشه را در پیاز و خیار افزایش می‌دهد. نتایج آن‌ها نشان داد که اثرات نانولوله‌های کربنی بسته به گونه‌های گیاهی متفاوت است.

### نتیجه‌گیری

به‌طور کلی از نتایج این پژوهش برمی‌آید که استفاده از نانولوله‌های کربنی چند جداره نقش بسزایی در افزایش

### Reference

### منابع

- Afzal, I., S. Rauf, S. M. A. Basra, and G. Murtaza, 2008. Halopriming improves vigor, metabolism of reserves and ionic contents in wheat seedlings under salt stress. *Plant. Soil. Environ.* 54(9):382–388.
- Almansouri, M., J. M. Kinet, and S. Lutts, 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf). *Plant. Soil.* 231(2):243–245.
- An, Y. Y., Z. S. Liang, and Y. Zhang, 2011. Seed germination responses of *Periploca sepium* Bunge, a dominant shrub in the loess hilly regions of China. *J. Arid. Environ.* 75(5):504–508.
- Boydak, M., H. Dirik, F. Tilki, and M. Çalikoğlu, 2003. Effects of water stress on germination in six provenances of *Pinus brutia* seeds from different bioclimatic zones in Turkey. *Turk. J. Agric. For.* 27(2):91–97.
- Cañas, J. E., M. Long, S. Nations, R. Vadan, L. Dai, M. Luo, R. Ambikapathi, E. H. Lee, and D. Olszyk, 2008. Effects of functionalized and nonfunctionalized single-walled carbon nanotubes on root elongation of select crop species. *Environ. Toxicol. Chem.* 27(9):1922–1931.
- Dehkourdi, E. H., and M. Mosavi, 2013. Effect of anatase nanoparticles (TiO<sub>2</sub>) on parsley seed germination (*Petroselinum crispum*) in vitro. *Biol. Trace. Elem. Res.* 155(2):283–286.
- Feizi, H., P. R., Moghaddam, N. Shahtahmassebi, and A. Fotovat, 2012. Impact of bulk and nanosized titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) on wheat seed germination and seedling growth. *Biol. Trace. Elem. Res.* 146:101–106.
- Gholami, M., M. Rahemi, and B. Kholdebarin, 2010. Effect of drought stress induced by polyethylene Glycol on Seed Germination of four wild almond species. *Aust. J. Basic Appl. Sci.* 4(5):785–791.
- Haghighi, M., Z. Afifipour, and M. Mozafarian, 2012. The effect of N-Si on tomato seed germination under salinity levels. *J. Biol. Environ. Sci.* 6(16):87–90.
- Haghighi, Maryam, and J. A. T. da Silva, 2014. The effect of carbon nanotubes on the seed germination and seedling growth of four vegetable species. *J. Crop. Sci. Biotechnol.* 17(4):201–208.
- Hegarty, T. W. 1978. The physiology of seed hydration and dehydration, and the relation between water stress and the control of germination: a review. *Plant. Cell. Environ.* 1(2):101–119.

- Hosseinzadeh Colagar, A., H. Yousefzadeh, F. Shayanmehr, S. Gh. Jalali, H. Zare, and N. P. Tipperly, 2016.** Molecular taxonomy of Hyrcanian *Alnus* using nuclear ribosomal ITS and chloroplast trnH-psbA DNA barcode markers. *Syst. Biodivers.* 14(1):88–101.
- Jiang, Y., Z. Hua, Y. Zhao, Q. Liu, F. Wang, and Q. Zhang, 2014.** The effect of carbon nanotubes on rice seed germination and root growth. In *Proceedings of the 2012 International Conference on Applied Biotechnology (ICAB 2012)*, pp. 1207–1212. Springer Berlin Heidelberg.
- Khodakovskaya, M. V., K. de Silva, A. S. Biris, E. Dervishi, and H. Villagarcia, 2012.** Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. *ACS nano.* 6(3):2128–2135.
- Khodakovskaya, M., E. Dervishi, M. Mahmood, Y. Xu, Z. Li, F. Watanabe, and A. S. Biris, 2009.** Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS Nano.* 3(10):3221–3227.
- Lahiani, M. H., J. Chen, F. Irin, A. A. Puretzky, M. J. Green, and M. V. Khodakovskaya, 2015.** Interaction of carbon nanohorns with plants: Uptake and biological effects. *Carbon.* 81:607–619.
- Lee, S. K., E. Y. Sohn, M. Hamayun, J. Y. Yoon, and I. J. Lee, 2010.** Effects of silicon on growth and salinity stress of soybean plant grown under hydroponic system. *Agroforest. Syst.* 80:333–430.
- Lin, D., and B. Xing, 2007.** Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. *Environ. Pollut.* 150(2):243–250.
- Lu, C. M., C. Y. Zhang, J. Q. Wen, G. R. Wu, M. X. Tao, 2002.** Research of the effect of nanometer materials on germination and growth enhancement of *Glycine max* and its mechanism. *Soybean Sci.* 21:168–172.
- Michel, B. E., M. R. Kaufmann, 1973.** The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51(5):914–916.
- Nair, R., M. S. Mohamed, W. Gao, T. Maekawa, Y. Yoshida, P. M. Ajayan, and D. S. Kumar, 2012.** Effect of carbon nanomaterials on the germination and growth of rice plants. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 12(3):2212–2220.
- Nourmohammadi, K., D. Rahimi, R. Naghdi, and D. Kartoolinejad, 2016.** Effects of physical and chemical treatments of seed dormancy breaking on seedling quality index (QI) of Caspian locust (*Gleditsia caspica* Desf.). *Austrian. J. For. Sci.* 133(2):157–171.
- Savithramma, N., S. Ankanna, and G. Bhumi, 2012.** Effect of nanoparticles on seed germination and seedling growth of *Boswellia ovalifoliolata* an endemic and endangered medicinal tree taxon. *Nano Vision.* 2:61–68.
- Shayanmehr, F., S. Gh. J., A. Hosseinzadeh Colagar, H. Zare, and H. Yousefzadeh, 2014.** Morphological variations of genus *Alnus* in Iran: assessment of five new taxa. *Taxon. Biosystem.* 6(18):45–64.
- Shayanmehr, F., S. Jalali, A. Hosseinzadeh Colagar, H. Yousefzadeh, and H. Zare, 2015.** Pollen Morphology of the genus *Alnus* Mill. in Hyrcanian Forests, North of Iran. *Appl. Ecol. Env. Res.* 13(3):833–847.
- Tripathi, S., S. K., Sonkar and S. Sarkar, 2011.** Growth stimulation of gram (*Cicer arietinum*) plant by water soluble carbon nanotubes. *Nanoscale.* 3(3):1176–1181.
- Wang, X., H. Han, X. Liu, X. Gu, K. Chen, and D. Lu, 2012.** Multi-walled carbon nanotubes can enhance root elongation of wheat (*Triticum aestivum*) plants. *J. Nanopart. Res.* 14(6):1–10.
- Begum, P., R. Ikhtiari, B. Fugetsu, M. Matsuoka, T. Akasaka, and F. Watari, 2012.** Phytotoxicity of multi-walled carbon nanotubes assessed by selected plant species in the seedling stage. *Appl. Surf. Sci.* 262:120–124.
- Ikhtiari, R., 2014.** Studies on phytotoxicities of carbon nanomaterials in seedling stage. Doctoral thesis, Hokkaido University, Japan, pp. 1–107.
- Rahimi, D., D. Kartoolinejad, K. Nourmohammadi, and R. Naghdi, 2016.** Increasing drought resistance of *Alnus subcordata* CA Mey. seeds using a nano priming technique with multi-walled carbon nanotubes. *J. For. Sci.* 62(6):269–278.

**Yousefi, S., D. Kartoolinejad, M. Bahmani, and R. Naghdi, 2017.** Effect of *Azospirillum lipoferum* and *Azotobacter chroococcum* on germination and early growth of hopbush shrub (*Dodonaea viscosa* L.) under salinity stress. *J. Sustain. For.* 36(2):107–120.

**Claessens, H., A. Oosterbaan, P. Savill, and J. Rondeux, 2010.** A review of the characteristics of black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) and their implications for silvicultural practices. *Forestry.* 83(2):163–175.