تأثیر نانوتیوب‌های کربنی بر جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای بذور دو رقم توت‌فرنگی

Effect of Carbon Nanotubes on *In Vitro* Germination of Seeds of Two Strawberry Cultivars

رحمان یوسفی[۱]، موسی موسوی[۲*]، نورالله معلمی[۳] و محمدهادی غفاریان مقرب[۴]

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۱۸

چکیده

جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی طولانی، غیریکنواخت و متغیر می‌باشد که این امر می‌تواند باعث ایجاد مشکلاتی برای برنامه‌های به‌نژادی این گیاه شود. کوتاه کردن زمان لازم برای جوانه‌زنی و رسیدن به درصد بالای جوانه‌زنی بذور، این اجازه را به به‌نژادگران می‌دهد که به‌راحتی ژرم‌پلاسم‌های توت‌فرنگی را ارزیابی کنند. اخیراً نانوتیوب‌های کربنی برای بهبود جوانه‌زنی بذور گیاهان مورد استفاده قرار گرفته‌اند. لذا این آزمایش به‌منظور بررسی تأثیر نانوتیوب‌های کربنی بر جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای بذور توت‌فرنگی انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار اجرا گردید. فاکتورها شامل دو نوع محیط‌کشت درون‌شیشه‌ای (MS و B5)، غلظت‌های مختلف نانوتیوب‌های کربنی (صفر (شاهد)، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) و رقم توت‌فرنگی (پاروس و کاماروزا) بودند. در پایان دوره آزمایش (۴۰ روز) شاخص‌های جوانه‌زنی شامل درصد و سرعت جوانه‌زنی، زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نهایی و میانگین طول ریشه‌چه و ساقه‌چه اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که بذور هر دو رقم کشت شده بر روی محیط‌کشت MS و B5 حاوی غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب پس از ۴۰ روز نشانه‌ای از جوانه‌زنی بروز ندادند. در شاهد و غلظت ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر در هر دو نوع محیط‌کشت، بذور جوانه زدند و بین تیمارها تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید. در اکثر شاخص‌ها تیمار شاهد بهتر بود و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. نتایج به‌دست آمده نشان داد که نانوتیوب‌های کربن غلظت‌های بالا باعث ایجاد محدودیت در جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی شدند که احتمال می‌رود که شاید به دلیل ایجاد سمیت برای جنین بذر باشد.

واژه‌های کلیدی: جنین بذر، سمیت، غلظت، محیط‌کشت

۱، ۲ و۳. به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز

۴. استادیار مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان، زنجان

*: نویسنده مسئول Email: m.mousavi@scu.ac.ir

این مقاله بخشی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نویسنده اول می‌باشد که در دانشگاه شهید چمران اهواز انجام شده است.

مقدمه

توت‌فرنگی با نام علمی *Fragaria× ananassa* Duch. متعلق به تیره Rosaceae و گیاهی دولپه‌ای، چندساله و علفی بوده که به‌طور متوسط ۳ تا ۵ سال عمر می‌کند (مرندی، ۱۳۸۶). توت‌فرنگی آناناسی که یک هیبریدی بین توت‌فرنگی ویرجینیایی[1] و توت‌فرنگی شیلیایی[2] می‌باشد، دارای اهمیت زیادی در سرتاسر جهان به‌عنوان یک ریز میوه می‌باشد (*گردکانه*[3] و همکاران، 2009؛ *دبنات*[4] و همکاران، 2007). روش معمول ازدیاد توت‌فرنگی استفاده از ساقه‌های رونده می‌باشد. تکثیر توت‌فرنگی با استفاده از اجزای گیاهی مانند کشت مریستم، جوانه انتهایی و قطعاتی از برگ در محیط‌کشت درون-شیشه‌ای نیز در مقیاس تجاری انجام می‌شود ولی ایجاد تنوع ژنتیکی به استثنای جهش در سلول‌های بدنی امکان‌پذیر نبوده و بنابراین از بذرهای حاصل از تلاقی استفاده می‌شود (*ریاضی*[5]، 2004).کشت بذر در برنامه‌های اصلاحی معمول است (مرندی، ۱۳۸۶). جوانه‌زنی بذرهای توت‌فرنگی غیریکنواخت و طولانی بوده و حداکثر میزان جوانه‌زنی در توده‌های بذری متفاوت است (*مایلر*[6] و همکاران، 1992). جوانه‌زنی و شروع رشد دانهال‌های توت‌فرنگی ممکن است از ۲ تا ۱۲ هفته بعد از کشت بذر به طول بینجامد (*آیر*[7] و همکاران، 1979؛ *ویلسون*[8] و همکاران، 1973). برای یک برنامه‌ی اصلاحی، غیریکنواختی و کند بودن جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی، باعث از بین رفتن ارزش بالقوه ژنوتیپ‌ها و ارزیابی گیاهان در سنین مختلف می‌شود (*مایلر* و همکاران، 1992). کوتاه کردن زمان جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی و رسیدن به یکنواختی، درصد و سرعت جوانه‌زنی بالا این اجازه را به به‌نژادگران می‌دهد که به راحتی ژرم‌پلاسم‌های[9] توت‌فرنگی را مورد ارزیابی قرار دهند (*ریاضی*، 2004). محققان به‌طور مداوم در جستجوی روش‌های متفاوتی برای تسریع و بهبود جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی می‌باشند. تیمارهای مختلفی برای تأثیر بر فرآیند جوانه‌زنی و بهبود شاخص‌های جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی گزارش گردید که از آن جمله می‌توان به خراش‌دهی بذور با اسید سولفوریک و کشت در شرایط درون‌شیشه‌ای (یوسفی و همکاران، ۱۳۹۲) و استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند اسید جیبرلیک (*تامسون*[10]، 1969؛ یوسفی و همکاران، ۱۳۹۰) و دیگر تیمارها اشاره کرد. علی‌رغم همه موانعی که پوشش سخت بذر برای جوانه‌زنی ایجاد می‌کند، اخیراً نشان داده شد که نانوتیوب‌های کربنی می‌توانند به‌طور مؤثری در پوشش بذر نفوذ کنند و به دنبال آن بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه تأثیرگذار باشند (*سرینیواسان*[11] و همکاران، 2010). نانوتیوب‌های کربنی در واقع لوله‌هایی از گرافیت می‌باشند (گرافیت، شکلی از کربن است که از لایه‌های حاوی آرایش‌های شش‌ضلعی اتم‌های کربن تشکیل می‌شود) که دارای اندازه‌های مختلفی می‌باشند (خیام‌نکویی و همکاران، ۱۳۸۹). نانوتیوب‌های کربنی چند دیواره معمولاً ۱۰۰ برابر پهنای خود طول دارند و قطر خارجی آن‌ها اغلب در حدود چند ده نانومتر می‌باشد. نانوتیوب‌های چند دیواره، دارای قطری مابین ۲۰۰-۱۰۰ نانومتر و دو تا چند ده دیواره می‌باشند (خیام‌نکویی و همکاران، ۱۳۸۹). *سرینیواسان* و همکاران (2010) گزارشی درمورد اثر نانوتیوب‌های کربنی بر افزایش جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه گوجه‌فرنگی دادند که در آزمایش آن‌ها نانوتیوب‌های کربنی باعث تسریع جوانه‌زنی و افزایش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شده است. *جیانگ*[12] و همکاران (2013) در بررسی اثر نانوتیوب‌های کربنی بر جوانه‌زنی بذر و رشد ریشه برنج به این نتیجه رسیدند که جوانه‌زنی بذر و رشد ریشه برنج تا غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب‌های کربنی بهبود پیدا کرد ولی وقتی غلظت آن به ۱۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر افزایش پیدا کرد باعث کاهش فعالیت و طول ریشه و نیز قطر ساقه در مقایسه با غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر گردید. *حقیقی*[13] و همکاران (2014) در بررسی اثر نانوتیوب‌های کربنی بر جوانه‌زنی بذر و رشد دانهال چهار گونه سبزی شامل گوجه‌فرنگی، پیاز، شلغم و تربچه به این نتیجه رسیدند که بهبود جوانه‌زنی بذور گوجه‌فرنگی و پیاز بیشتر از شلغم و تربچه بوده است و درمورد تربچه، تیمار شاهد بیش‌ترین جوانه‌زنی بذر را در شرایط آزمایشگاهی نشان داده است. هم‌چنین نانوتیوب‌های کربنی در غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر اثرات سمیتی و مخربی بر جوانه‌زنی بذور پیاز و تربچه داشته است. وزن تر دانهال تربچه با افزایش غلظت نانوتیوب‌های کربنی در گلخانه کاهش پیدا کرد و نانوتیوب کربنی نتوانست جوانه‌زنی و رشد دانهال شلغم را تغییر بدهد. *لاهیانی*[14] و همکاران (2013) گزارش داداند که کاربرد نانوتیوب‌های کربنی سبب بهبود جوانه‌زنی و رشد دانهال جو، سویا و ذرت گردید و بیان کردند

1. *Fragaria virginiana* Duch.
2. *Fragaria chiloensis* Duch.
3. Gerdakaneh
4. Debnath
5. Riazi
6. Miller
7. Iyer
8. Wilson
9. Germplasms
10. Thompson
11. Srinivasan
12. Jiang
13. Haghighi
14. Lahiani

که اثرات مثبت نانوتیوب‌های کربنی بر جوانه‌زنی و رشد دانهال در بین گونه‌های مختلف گیاهی توسط رهایش نانوتیوب‌های کربنی به روش‌های مختلف می‌تواند مشاهده شود. *پورخالویی*[1] و همکاران (2011) گزارش دادند که در شرایط آزمایشگاهی کاربرد نانوتیوب‌های کربنی تک دیواره سبب افزایش جوانه‌زنی بذر مریم‌گلی، فلفل دلمه‌ای و فستوکا در مقایسه با شاهد گردید. در مطالعه آزمایشگاهی و گلخانه‌ای آن‌ها، غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر نانوتیوب کربنی بیش‌ترین اثر را بر وزن تر و خشک دانهال در مقایسه با شاهد داشته است. در بیشتر پارامترهای اندازه‌گیری شده غلظت‌های بالای نانوتیوب‌های کربنی با اثرات منفی همراه بوده است. در مجموع بهترین جوانه‌زنی بذر و رشد دانهال برای مریم‌گلی و فستوکا در غلظت ۳۰ میلی‌گرم در لیتر و برای فلفل دلمه‌ای در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. *تریپاتی*[2] و همکاران (2011) در بررسی که بر روی تحریک رشد گیاه نخود توسط محلول آبی نانوتیوب‌های کربنی داشتند گزارش داد که این محلول آبی باعث افزایش سرعت رشد گیاه نخود گشته است. گیاهان نخود تیمارشده با ۶ میکروگرم در میلی‌لیتر محلول آبی نانوتیوب‌های کربنی، افزایش سرعت رشد در چندین قسمت گیاه شامل ریشه‌ها، شاخه‌ها و انشعابات را نشان دادند. با تفاوت قابل توجه بین رشد گیاهان تیمار شده با محلول نانوتیوب‌های کربنی و گیاهان شاهد، پیشنهاد شد که افزایش رشد گیاهان نخود وابسته به جذب و نگهداری بهتر آب می‌باشد. در هر حال، مطالعات بر روی نانوذرات مهندسی‌شده درجه معینی از سمیت گیاهی را نیز به‌خصوص در غلظت‌های بالا نشان داده است. تحقیقات نشان داده است که نانوذرات اکسید فلزی مانند اکسید روی در مراحل مختلف رشد گیاه مانند جوانه‌زنی بذر و توسعه ریشه، ممانعت ایجاد می‌کند (*لین* و *زینگ*[3]، 2007؛ *یانگ* و *واتس*[4]، 2005). نانوذرات فلز مس نیز بر روی سرعت رشد دانهال دو گیاه باقلا و گندم اثرات سمیتی نشان داده است (*لی*[5] و همکاران، 2008). مطالعات اخیر نشان داده است که غلظت‌های خیلی پایین نانوذرات نقره[6] در حد کمتر از ۱ پی‌پی‌ام می‌تواند برای دانهال آرابیدوپسیس و دیگر گیاهان دولپه‌ای با ساختار ریشه‌ای مشابه باقلا سمیت ایجاد کند. نانوذرات نقره با اندازه ۲۰ نانومتر تا ۸۰ نانومتر به‌طور واضحی اثر بازدارنده روی رشد رویشی داشته است و این سمیت گیاهی وابسته به غلظت و اندازه نانوذرات می‌باشد (*زینگما*[7] و همکاران، 2010). سمیت گیاهی نانوذرات اکسید روی درمورد ریگراس نیز در مطالعات اخیر نشان داده شده است (*لین* و *زینگ*، 2008). با توجه به اهمیت جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی و رویکردی که در استفاده از نانوذرات و نانوتیوب‌ها برای بهبود جوانه‌زنی گیاهان به‌وجود آمده است، هدف این آزمایش آن است که تأثیر کاربرد نانوتیوب‌های کربنی در محیط‌کشت درون‌شیشه‌ای را بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی بررسی نماید و مشخص کند که آیا نانوتیوب‌های کربنی می‌توانند باعث بهبود جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی شود یا خیر؟ و در این بین نیز مقایسه‌ای بین نوع محیط‌کشت درون‌شیشه‌ای و نوع رقم در خصوص جوانه‌زنی بذر توت‌فرنگی انجام گیرد. بدین منظور این آزمایش طراحی و اجرا گردید.

مواد وروش‌ها

این مطالعه به‌منظور بررسی اثرات نانوتیوب‌های کربنی بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی ارقام پاروس و کاماروزا (*Fragaria ananassa* cv. Paros and Camarosa) در سال ۱۳۹۰ در آزمایشگاه کشت‌بافت گیاهی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار به اجرا درآمد. از آنجایی‌که به استناد نتایج آزمایشات مقدماتی مشخص گردید که خراش‌دهی بذور توت‌فرنگی با اسیدسولفوریک ۳۶ نرمال تأثیر خوبی بر جوانه‌زنی بذور داشت، لذا این آزمایش به‌منظور بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی در بذور توت‌فرنگی ارقام پاروس و کاماروزا که با اسیدسولفوریک ۳۶ نرمال خراش‌دهی شدند طراحی گردید که در آن از غلظت‌های صفر، پنج، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب‌های کربنی در محیط‌کشت درون‌شیشه‌ای MS و B5 استفاده شد. در مجموع ۲۰ ترکیب تیماری هر کدام با ۵ تکرار و در هر تکرار ۲۰ عدد بذر در هر پتری‌دیش به کار برده شد. در تمامی ترکیبات تیماری، بذرها پس از اینکه با اسیدسولفوریک ۳۶ نرمال به‌مدت ۵ دقیقه خراش‌دهی شدند بر روی محیط‌ها کشت گردیدند. کشت‌ها در فیتوترون با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی ۱۶ ساعت و دوره تاریکی ۸ ساعت منتقل شدند و تا پایان دوره آزمایش (۴۰ روز) در این شرایط قرار داشتند. بذور جوانه‌زده (بذوری که طول ریشه‌چه آن‌ها ۲ میلی‌متر باشد جوانه‌زده محسوب می‌شوند) شمارش شدند و تا پایان دوره آزمایش شمارش ادامه پیدا کرد و در پایان شاخص‌های درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، زمان رسیدن به

1. Pourkhaloee
2. Tripathi
3. Lin and Xing
4. Yang and Watts
5. Lee
6. AgNPs
7. Xingma

۵۰٪ جوانه‌زنی نهایی، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه (دو هفته پس از شروع جوانه‌زنی) اندازه‌گیری شد. درصد جوانه‌زنی[1] از تقسیم تعداد بذور جوانه‌زده بر تعداد کل بذور ضرب‌در ۱۰۰ محاسبه گردید (*کامبراتو و مک‌کارتی*[2]، 1999).

$$GP\% = \frac{\sum G}{N} * 100$$

G: تعداد بذور جوانه‌زده

N: تعداد کل بذور

سرعت جوانه‌زنی[3] بر حسب تعداد بذر جوانه‌زده در روز طبق فرمول *ماگیور*[4] (1962) و *ایشی*[5] (1994) محاسبه گردید. طول ریشه‌چه و ساقه‌چه (دو هفته پس از شروع جوانه‌زنی) بر حسب میلی‌متر با استفاده از خط‌کش میلی‌متری اندازه‌گیری شد.

$$GR = \sum_{i=1}^{n} \frac{Si}{Di}$$

S_i: تعداد بذور جوانه‌زده در هر شمارش

D_i: تعداد روز تا شمارش iام

n: دفعات شمارش

در پایان آزمایش نتایج با استفاده از نرم‌افزار آماری 9.1.1 SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده گردید.

نتایج

درصد جوانه‌زنی بذور

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر متقابل سه جانبه فاکتورهای مورد بررسی بر روی درصد جوانه‌زنی بذور معنی‌دار نگردید. اثر نوع محیط‌کشت، غلظت نانوتیوب و رقم بر این شاخص معنی‌دار شد. مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۳) نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشته است. بذور هر دو رقم کشت شده، در غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب‌های کربنی در هر دو محیط‌کشت MS و B5 پس از ۴۰ روز هیچ نشانه‌ای از جوانه‌زنی بروز ندادند (جدول ۳). در هر دو رقم پاروس و کاماروزا بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی در هر دو نوع محیط‌کشت MS و B5 در تیمارهای شاهد (صفر میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب) مشاهده گردید که نسبت به دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند. کاربرد نانوتیوب‌های کربنی در غلظت پنج میکروگرم در میلی‌لیتر منجر به کاهش درصد جوانه‌زنی و در غلظت‌های بالاتر منجر به عدم جوانه‌زنی بذور نسبت به شاهد گردید (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات اصلی فاکتورها نشان داد که محیط‌کشت B5 نسبت به MS و رقم کاماروزا نسبت به رقم پاروس درصد جوانه‌زنی بهتر و با اختلاف معنی‌داری داشتند. در بین تمامی غلظت‌ها نیز غلظت صفر میلی‌گرم در لیتر نانوتیوب‌های کربنی بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی را به دنبال داشته است (جدول ۲).

سرعت جوانه‌زنی بذور

تمامی اثرات اصلی و متقابل فاکتورهای مورد بررسی بر سرعت جوانه‌زنی بذور معنی‌دار گردید (جدول ۱). کاربرد نانوتیوب‌های کربنی باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی گردید به‌طوری‌که بیش‌ترین سرعت جوانه‌زنی بذور در هر دو نوع محیط‌کشت MS و B5 و برای هر دو رقم پاروس و کاماروزا در غلظت صفر میلی‌گرم در میکرولیتر نانوتیوب کربنی (تیمارهای شاهد) ملاحظه گردید که با تمامی دیگر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ۳). در غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب‌های کربنی هیچ‌گونه جوانه‌زنی بذری مشاهده نگردید. محیط B5 نسبت به محیط MS و رقم کاماروزا نسبت به رقم پاروس سرعت جوانه‌زنی بهتر و با اختلاف معنی‌داری را نشان دادند (جدول ۲).

1. Germination percentage
2. Camberato and Mccarty
3. Germination rate
4. Maguirw
5. Eschie

جدول ۱: میانگین مربعات شاخص‌های جوانه‌زنی تحت تأثیر محیط‌کشت، غلظت نانوتیوب‌های کربنی و رقم

Table 1: Mean squares of germination indexes affected by culture medium, carbon nanotubes concentration and cultivar

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نهایی Time to 50% of final germination	طول ساقه‌چه Plumule length	طول ریشه‌چه Radicle length
محیط کشت Culture medium	1	1.6219**	0.043**	12.96**	2.05**	6.09**
غلظت نانوتیوب Nanotube concentration	4	45958.11**	0.536**	2866.13**	378.81**	275.81**
محیط‌کشت × غلظت نانوتیوب Culture medium × nanotube concentration	4	0.6592**	0.016**	9.08**	0.77**	2.28**
رقم Cultivar	1	1.6347**	0.008**	21.16**	4.40**	13.41**
محیط‌کشت × رقم Culture medium × cultivar	1	0.3626ns	0.0004*	1.44ns	0.09ns	0.11ns
غلظت نانوتیوب × رقم Nanotube concentration × cultivar	4	0.8864**	0.003**	11.53**	1.90**	5.05**
محیط‌کشت × غلظت نانوتیوب × رقم Culture medium × nanotube concentration × cultivar	4	0.3434ns	0.002**	2.56**	0.23**	0.06ns
خطا Error	80	0.14	0.001	0.60	0.049	0.044
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	1.09	8.04	8.89	7.02	7.77

ns، * و **: به‌ترتیب بیانگر غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ می‌باشند

ns, * and **: are respectively non-significant, significant at the 5% and 1% level

جدول ۲: اثرات اصلی محیط‌کشت، غلظت نانوتیوب و رقم بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذور

Table 2: Main effects of culture medium, nanotube concentration and cultivar on seed germination indexes

فاکتور Factor	سطوح level	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (seed/day)	زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نهایی (روز) Time to 50% of final germination (day)	طول ساقه‌چه (میلی‌متر) Plumule length (mm)	طول ریشه‌چه (میلی‌متر) Radicle length (mm)
محیط‌کشت Culture medium	B5	11.30a	0.13a	8.38b	3.30a	2.95a
	MS	9.10b	0.09b	9.10a	3.01b	2.46b
غلظت نانوتیوب (میکروگرم در میلی‌لیتر) Carbon nanotube concentration (µg/ml)	0	31.75a	0.34a	21.45b	7.28b	6.72a
	5	19.25b	0.24b	22.25a	8.52a	6.83a
	10	0c	0c	0c	0c	0c
	20	0c	0c	0c	0c	0c
	40	0c	0c	0c	0c	0c
رقم Cultivar	پاروس Paros	9.30b	0.10b	9.20a	2.95b	2.34b
	کاماروزا Camarosa	11.10a	0.12a	8.28b	3.37a	3.07a

میانگین‌های با حروف مشابه در هر ستون مربوط به هر فاکتور جداگانه، در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند

Means with the same letters in each column related to each separate factor, are not significantly different at the 0.05 level

زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی بذور

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که به غیر از اثر متقابل دوجانبه نوع محیط‌کشت در رقم، سایر اثرات اصلی و متقابل فاکتورهای مورد بررسی بر زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی نهایی بذور معنی‌دار گردید. در محیط‌کشت B5، غلظت پنج میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب کربنی در هر دو رقم پاروس و کاماروزا باعث افزایش زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی بذور گردید (جدول ۴) که این افزایش زمان برای جوانه‌زنی بذور یک جنبه منفی به شمار می‌رود. در واقع تیمار شاهد (صفر میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب کربنی) کم‌ترین

زمان لازم برای رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی نهایی بذور را به دنبال داشته است که این یک امتیاز مثبت برای تیمار شاهد می‌باشد. با مشاهده جدول مقایسه میانگین اثرات اصلی (جدول ۲) ملاحظه می‌گردد که محیط B5 نسبت به محیط MS و رقم کاماروزا نسبت به پاروس زمان کمتری را برای رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی نهایی بذور نیاز داشتند که این اختلاف معنی‌دار بوده است. در بین غلظت صفر و پنج میکروگرم در میلی‌لیتر نیز غلظت صفر میکروگرم در میلی‌لیتر زمان کمتری برای رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی نهایی بذور نیاز داشته است که اختلاف بین آنان معنی‌دار بوده است (جدول ۲).

طول ساقه‌چه دو هفته پس از شروع جوانه‌زنی بذور

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) به غیر از اثر متقابل دوجانبه نوع محیط‌کشت در رقم که غیرمعنی‌دار شد، سایر اثرات اصلی و متقابل فاکتورهای مورد بررسی بر طول ساقه‌چه در سطح ۱٪ معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۴) نشان داد که کاربرد پنج میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب کربنی باعث افزایش معنی‌دار طول ساقه‌چه نسبت به تیمارهای شاهد در هر دو رقم پاروس و کاماروزا و در هر دو نوع محیط‌کشت MS و B5 گردید. بیش‌ترین طول ساقه‌چه در بین تمامی تیمارها در تیمار بذور رقم کاماروزا کشت شده در محیط‌کشت B5 حاوی غلظت پنج میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب به میزان ۹/۱۹ میلی‌متر مشاهده گردید که اختلاف آن با تمامی دیگر تیمارها معنی‌دار بوده است (جدول ۴). محیط B5 نسبت به محیط MS و رقم کاماروزا نسبت به رقم پاروس دارای طول ساقه‌چه بیشتر و با اختلاف معنی‌دار بوده‌اند (جدول ۲).

جدول ۳: اثر متقابل محیط‌کشت، غلظت نانوتیوب و رقم بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور

Table 3: Interaction effect of culture medium, nanotube concentration and cultivar on percentage and rate of seed germination

سرعت جوانه‌زنی (بذر در روز) Germination rate (seed/day)		درصد جوانه‌زنی (درصد) Germination percentage (%)		غلظت (میکروگرم در میلی‌لیتر) Concentration (μg ml^{-1})	محیط‌کشت Culture medium
رقم کاماروزا Camarosa cultivar	رقم پاروس Paros cultivar	رقم کاماروزا Camarosa cultivar	رقم پاروس Paros cultivar		
0.31b	0.25c	30ab	26bc	0	MS
0.20d	0.19d	21d	14e	5	
0e	0e	0f	0f	10	
0e	0e	0f	0f	20	
0e	0e	0f	0f	40	
0.41a	0.38a	38a	33ab	0	B5
0.33b	0.25c	22cd	20d	5	
0e	0e	0f	0f	10	
0e	0e	0f	0f	20	
0e	0e	0f	0f	40	

میانگین‌های با حروف مشابه در دو ستون مربوط به هر شاخص، در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند

Means with the same letters in two columns related to each index, are not significantly different at the 0.05 level

جدول ۴: اثر متقابل محیط‌کشت، غلظت نانوتیوب و رقم بر زمان رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی نهایی، طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه

Table 4: Interaction effect of culture medium, nanotube concentration and cultivar on time to 50% of final germination and the length of Plumule and radicle

محیط‌کشت Culture medium	غلظت (میکروگرم در میلی‌لیتر) Concentration (μg ml^{-1})	زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی نهایی (روز) Time to 50% of final germination (day)		طول ساقه‌چه (میلی‌متر) Plumule length (mm)		طول ریشه‌چه (میلی‌متر) Radicle length (mm)	
		رقم پاروس Paros cultivar	رقم کاماروزا Camarosa cultivar	رقم پاروس Paros cultivar	رقم کاماروزا Camarosa cultivar	رقم پاروس Paros cultivar	رقم کاماروزا Camarosa cultivar
MS	0	23.4b	22.6b	6.46e	7.39d	5.26e	6.92b
	5	25a	20cd	7.73c	8.59b	5.39e	7.06b
	10	0e	0e	0f	0f	0f	0f
	20	0e	0e	0f	0f	0f	0f
	40	0e	0e	0f	0f	0f	0f
B5	0	20.6c	19.2d	6.73e	8.53b	6.26d	8.46a
	5	23b	21c	8.59b	9.19a	6.53c	8.33a
	10	0e	0e	0f	0f	0f	0f
	20	0e	0e	0f	0f	0f	0f
	40	0e	0e	0f	0f	0f	0f

میانگین‌های با حروف مشابه در دو ستون مربوط به هر شاخص، در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند

Means with the same letters in two columns related to each index, are not significantly different at the 0.05 level

طول ریشه‌چه دو هفته پس از شروع جوانه‌زنی بذور

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که به غیر از اثر متقابل دوجانبه نوع محیط‌کشت در رقم و هم‌چنین اثر متقابل سه‌جانبه نوع محیط‌کشت در غلظت نانوتیوب‌های کربنی در رقم که معنی‌دار نشدند، سایر اثرات اصلی و متقابل فاکتورهای مورد بررسی بر طول ریشه‌چه معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین تیمارها (جدول ۴) نشان داد که بین غلظت ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر و شاهدها در رقم کاماروزا در محیط‌های کشت MS و B5 و نیز رقم پاروس در محیط‌کشت MS تفاوت معنی‌داری ملاحظه نگردید، هرچند که در برخی موارد افزایش اندک و غیر معنی‌داری در طول ریشه‌چه در غلظت ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر ملاحظه گردید. در رقم پاروس کشت شده در محیط B5 غلظت ۵ میکروگرم در میلی‌لیتر باعث افزایش معنی‌دار طول ریشه‌چه نسبت به شاهد گردید (جدول ۴). در بین تمامی تیمارها بیش‌ترین طول ریشه‌چه در تیمارهای بذور رقم کاماروزا در محیط B5 حاوی صفر میلی‌گرم در لیتر و بذور رقم کاماروزا در محیط B5 حاوی پنج میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب با مقادیر ۸/۴۶ و ۸/۳۳ میلی‌متر به‌دست آمده است که اختلاف بین دو تیمار با هم غیرمعنی‌دار، اما با باقی تیمارها در سطح ۵ درصد معنی‌دار بوده است (جدول ۴). محیط B5 نسبت به محیط MS و رقم کاماروزا نسبت به رقم پاروس دارای طول ریشه‌چه بیشتر و با اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۲). بین غلظت صفر و پنج میکروگرم در میلی‌لیتر تفاوت معنی‌دار نبوده است (جدول ۲).

بحث

در این آزمایش ملاحظه گردید که کاربرد نانوتیوب‌های کربنی در غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اثرات منفی بر جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای بذور توت‌فرنگی داشته است، به گونه‌ای که در غلظت‌های مذکور در هیچ یک از ارقام و در هیچ محیط کشتی، نشانه‌ای از جوانه‌زنی بذور دیده نشد. بنابراین در خصوص جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی کاربرد غلظت‌های مذکور با استناد به نتایج به‌دست آمده از این آزمایش، با اطمینان رد و به هیچ‌وجه توصیه نمی‌گردد. تنها در غلظت‌های صفر (شاهد) و پنج میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب‌های کربنی بذور جوانه زدند که با نتایج به‌دست آمده مشاهده گردید که در شاخص‌های درصد و سرعت جوانه‌زنی بذور و نیز زمان لازم برای رسیدن به ۵۰٪ جوانه‌زنی نهایی بذور تیمارهای شاهد (صفر میلی‌گرم در میلی‌لیتر) نسبت به غلظت پنج میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب‌های کربنی نتایج بهتر و با اختلاف معنی‌داری داشته است. در مورد طول ساقه‌چه غلظت پنج میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب کربنی نسبت به شاهد نتایج بهتر و با اختلاف معنی‌داری داشته است، اما در خصوص طول ریشه‌چه بین تیمار شاهد و پنج میکروگرم در میلی‌لیتر تفاوت معنی‌دار نبود، هرچند که کاربرد غلظت پنج میکروگرم

در میلی‌لیتر نانوتیوب‌های کربنی باعث افزایش جزئی و غیرمعنی‌دار و در موردی معنی‌دار طول ریشه‌چه نسبت به شاهد گردید. یافته‌های این آزمایش با نتایج *سرینیواسان* و همکاران (2010) که گزارش دادند نانوتیوب‌های کربنی باعث افزایش جوانه‌زنی بذور گوجه‌فرنگی شده است مطابقت ندارد، اما با نتایج *حقیقی* و همکاران (2014) در مورد تربچه که بیان نمودند تیمار شاهد نسبت به کاربرد نانوتیوب‌های کربنی بیش‌ترین جوانه‌زنی را در شرایط آزمایشگاهی نشان داده است و نانوتیوب‌های کربنی در غلظت ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اثرات سمیتی و مخربی بر جوانه‌زنی بذر تربچه داشته‌اند، مطابقت دارد. در خصوص اثرات منفی غلظت‌های بالای نانوتیوب‌های کربنی در مورد جوانه‌زنی بذور، نتایج این آزمایش با نتایج *پورخالویی* و همکاران (2011) در یک راستا می‌باشد. در بیان علت عدم جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی در غلظت‌های بالا می‌توان گفت که شاید نانوتیوب‌های کربنی در این غلظت‌ها باعث ایجاد سمیت در بذر و از بین رفتن جنین آن و عدم جوانه‌زنی شوند و شاید هم علل دیگری در این امر دخیل باشند که به علت کمی مطالعات انجام‌شده در این زمینه علت اصلی این امر به‌طور واضح مشخص نیست و نیاز به مطالعات گسترده‌تر فیزیولوژیکی و مولکولی در این زمینه می‌باشد. نتایج این آزمایش با نتایج *دونالدسون*[1] و همکاران (2006) در مورد خصوصیات نانوتیوب‌های کربنی که بیان کردند نانوتیوب‌های کربنی ممکن است ویژگی‌های سمیتی غیرمعمول و نیز بعضی اثرات التهابی و تنش‌های اکسیداتیوی را به دنبال داشته باشند، مطابقت دارد. در بیان علت افزایش طول ساقه‌چه و نیز افزایش جزئی طول ریشه‌چه در کاربرد غلظت پنج میکروگرم در میلی‌لیتر می‌توان گفت که نانوتیوب‌های کربنی باعث افزایش نفوذپذیری مواد غذایی موجود در محیط‌کشت به درون ریشه‌چه و افزایش رشد گیاهچه می‌شود که این یافته با نتایج تحقیق *کیائولینگ*[2] و همکاران (2009) که بیان کردند نانوتیوب‌های کربنی تک‌دیواره منافذ بزرگی را به‌عنوان انتقال‌دهندگان برای دیواره سلول‌های گیاهی در دست نگه می‌دارند، مطابقت دارد. نتایج این آزمایش نشان داد که محیط B5 نسبت به محیط MS تأثیر مثبت‌تر و با اختلاف معنی‌دار داشته است. تفاوت جوانه‌زنی بذور در محیط‌های کشت درون‌شیشه‌ای متفاوت به اختلاف در عناصر و موادغذایی تشکیل‌دهنده محیط‌های کشت برمی‌گردد، چنانچه مشاهده شد محیط B5 نسبت به محیط MS نتایج بهتری داشته است. دلیل جوانه‌زنی بهتر بذور بر روی محیط B5 نسبت به محیط MS را می‌توان به غلظت یون‌های موجود در این محیط نسبت داد. محیط MS دارای غلظت بالای املاح بوده به‌طوری‌که باعث ایجاد فشار اسمزی بیشتری در محیط می‌گردد، بنابراین جذب آب توسط بذور در چنین محیطی سخت‌تر از محیط B5 که املاح کمتری دارد، می‌باشد (*کوزای*[3] و همکاران، 2005). در این آزمایش مشخص گردید که رقم کاماروزا نسبت به رقم پاروس نتایج بهتر و با اختلاف معنی‌داری داشته است. علت این امر را می‌توان به تفاوت‌های ژنتیکی در توانایی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه دانست که یک تفاوت ذاتی می‌باشد و در راستای نتایج *ریاضی* (2004) می‌باشد که نشان داد جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی از صفر تا ۱۰۰ درصد بسته به نوع ژنوتیپ و تیمار به کار برده شده متغیر است.

نتیجه‌گیری کلی

در یک نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که نانوذرات در کنار همه اثرات مفیدی که بر روی جوانه‌زنی و رشد دانهال می‌توانند داشته باشند، در برخی گیاهان به تناسب اندازه و غلظت نانوذرات می‌توانند اثرات سمیتی و ممانعت‌کننده رشد نیز داشته باشند. همان‌طورکه در نتایج این بررسی دیده شد نانوتیوب‌های کربنی چنددیواره در غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اثر بازدارنده بر روی جوانه‌زنی بذور توت‌فرنگی داشته‌اند و کاربرد این غلظت‌ها به هیچ عنوان توصیه نمی‌گردد. در مورد محیط‌کشت مطلوب برای جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای نیز محیط B5 را با توجه به نتایج آین آزمایش می‌توان توصیه نمود. رقم کاماروزا نیز جوانه‌زنی بهتری نسبت به رقم پاروس داشته است که می‌تواند برای استفاده در تحقیقات به‌نژادی مدنظر باشد. البته مطالعه بر روی دیگر ارقام توت‌فرنگی و در سایر محیط‌های کشت درون‌شیشه‌ای و بررسی غلظت‌های بین صفر تا پنج میکروگرم در میلی‌لیتر نانوتیوب‌های کربنی در تحقیقات آتی نیز پیشنهاد می‌گردد.

1. Donaldson
2. Qiaoling
3. Kozai

منابع

جلیلی‌مرندی، ر. ۱۳۸۶. میوه‌های ریز. چاپ دوم. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه. ۲۹۷ صفحه.

خیام نکویی، م.، بی‌آزار، ا. و صالحی‌جوزانی، غ. ۱۳۸۹. فناوری نانو در علوم کشاورزی. چاپ اول. انتشارات پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی. ۲۴۱ صفحه.

یوسفی، ر.، موسوی، م.، معلمی، ن. و غفاریان‌مقرب، م. ه. ۱۳۹۰. بررسی اثر نوع محیط‌کشت و هورمون جیبرلین (GA_3) بر روی جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای بذور توت‌فرنگی رقم پاروس (*Fragaria ananassa* cv. Paros). ۱۳۹۰. خلاصه مقالات دومین همایش ملی علوم و تکنولوژی بذر. صفحه ۶۷.

یوسفی، ر.، موسوی، م.، معلمی، ن. و غفاریان‌مقرب، م. ه. ۱۳۹۲. بررسی جوانه‌زنی بذور دو رقم توت‌فرنگی کاماروزا و پاروس (*Fragaria ananassa* cv. Paros and Camarosa) تحت تأثیر خراش‌دهی با اسیدسولفوریک و نوع محیط‌کشت در شرایط درون‌شیشه‌ای. تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی)، ۳۶ (۳): ۳۵-۴۴.

Camberato, J. and Mccarty, B. 1999. Irrigation Water Quality: part I. Salinity. South Carolina Turfgrass Foundation New, 6 (2): 6-8.

Debnath, S. C. and Teixeira da Silva, J. A. 2007. Strawberry culture *in vitro*: applications in genetic transformation and biotechnology. Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology, 1 (1): 1-12.

Donaldson, K., Aitken, R., Tran, L., Stone, V., Duffin, R., Forrest, G. and Alexander, A. 2006. Carbon nanotubes: a review of their properties in relation to pulmonary toxicology and workplace safety. Toxicological Sciences, 92 (1): 5-22.

Esechie, H. 1994. Interaction of salinity and temperature on the germination of sorghum. Journal of Agronomy and Crop Science, 172: 194-199.

Gerdakaneh, M., Mozafarin, A. A., Khalighi, A. and Sioseh-mardah, A. 2009. The effects of carbohydrate source and concentration on somatic embryogenesis of strawberry (*Fragaria* × *ananasa* Duch.). American-Eurasian Jornal of Agriculture Environmental Science, 6 (1): 76-80.

Haghighi, M. and Teixeira da Silva, J. A. 2014. The effect of carbon nanotubes on the seed germination and seedling growth of four vegetable species. Journal of Crop Science and Biotechnology, 17 (4): 201-208.

Iyer, C. P. A., Chacko, E. K. and Subramaniam, M. D. 1979. Ethrel for breaking dormancy of strawberry seeds. Current Science, 39: 271-272.

Jiang, Y., Zhao, Y., Liu, Q., Wang, F. and Zhang, Q. 2013. The effect of carbon nanotubes on rice seed germination and root growth. Proceedings of the International Conference on Applied Biotechnology (ICAB), 250: 1207-1212.

Kozai, T., Afreen, F. and Zobayedzobayed, S. M. A. 2005. Photoautotrophic (Sugar-free medium) micropropagation as a new micropropagation and transplant production system. Published by Springer, Netherlands, 316 pp.

Lahiani, M. H., Dervishi, E., Chen, J., Nima, Z., Gaume, A., Biris, A. S. and Khodakovskaya, M. V. 2013. Impact of carbon nanotube exposure to seeds of valuable crops. ACS Applied Materials and Interfaces, 5 (16): 7965-73.

Lee, W., An, Y., Yoon, H. and Kweon, H. 2008. Toxicity and bioavailability of copper nanoparticles to the terrestrial plants mung bean (*Phaseolus radiatus*) and wheat (*Triticum sativum*): plant uptake for water insoluble nanoparticles. Environmental Toxicological Chemistry, 27 (9): 1915-21.

Lin, D. and Xing, B. 2007. Phytotoxicity of nanoparticles: inhibition of seed germination and root growth. Environmental Pollution, 150: 243-50.

Lin, D. and Xing, B. 2008. Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. Environmental Science Technology, 42: 5580-5.

Maguirw, I. D. 1962. Speed germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop Science, 2: 176-177.

Miller, A. R., Scheerens, J. C., Erb, P. S. and chandler, C. D. 1992. Enhanced strawberry seed germination trough *in vitro* culture of cut achenes. Journal of American Society of Horticultural Sciences, 117 (2): 313-316.

Pourkhaloee, A., Haghighi, M., Saharkhiz, M. J., Jouzi, H. and Doroodmand, M. M. 2011. Carbon nanotubes can promote seed germination via seed coat penetration. Journal of Seed Technology, 33 (2): 155-169.

Qiaoling, L., Bo, Ch., Qinli, W., Xiaoli, Sh., Zeyu, X., Jinxin, L. and Xiaohong, F. 2009. Carbon Nanotubes as Molecular Transporters for walled plant cells. Nano Letters is published by the American Chemical Society, 9 (3): 1007-1010.

Riazi, Gh. 2004. Study of achenes germination of different strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) under mist and *in vitro* conditions. Journal of Science and Technology of Agricultural and Natural Resources Spring, 8 (1): 60-70.

Srinivasan, C. and Saraswathi, R. 2010. Nano-agriculture-carbon nanotubes enhance tomato seed germination and plant growth. Current Science, 99 (3): 274-275.

Thompson, P. A. 1969. The use of chillig chemical treatments to promote rapid germination of strawberry achenes. Journal of Horticultural Science, 44: 201-210.

Tripathi, S., Sonkar, S. K. and Sarker, S. 2011. Growth stimulation of gram (*Cicer arietinum*) plant by water soluble carbon nanotubes. Cite this: Doi: 10. 1039/c0nr00722f. WWW.rsc.org/nanoscale.

Wilson, D., Goodall, A. and Reeves, J. 1973. An improved technique for the germination of strawberry seeds. Euphytica, 12: 362-366.

Xingma, M., Jane, G. L., Yang, D. and Andrei, K. 2010. Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. Science of the Total Environment, 408: 3053-3061.

Yang, L. and Watts, D. J. 2005. Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. Toxicological Letters, 158: 122-32.

Effect of Carbon Nanotubes on *In Vitro* Germination of Seeds of Two Strawberry Cultivars

Yousefi[1], R., Mousavi[2*], M., Moalemi[3], N. and Ghafarian Mogharab[4], M. H.

Abstract

Strawberry seed germination is long and non-uniform and variable, which can cause problems for the plant breeding programs. Reducing the time of germination for strawberry seeds and achieving a high percentage of germination, will allow breeders to easily assess the strawberry germ plasm. Recently, carbon nanotubes have been used to improve seeds germination of plants. Therefore, this experiment was conducted to evaluate the effect of carbon nanotubes on *in vitro* germination of strawberry seeds. The test was carried out through a factorial experiment based on a completely randomized design with 5 replicates. Factors included two *in vitro* culture media (B5 and MS), different concentrations of carbon nanotubes (0 (control), 5, 10, 20 and 40 µg/ml) and two cultivars of strawberries (Paros and Camarosa). At the end of experiment (40 days) germination indexes including germination percentage, germination rate, time to 50% of final germination, means of radicle and plumule length (two weeks after germination) were evaluated. The results showed that seeds of the two cultivars cultured on MS and B5 media containing 10, 20 and 40 µg/ml nanotube had no sign of germination. In 0 (control) and 5 µg/ml, seeds on both culture media germinated significantly compared to the other treatments. In most indexes, control treatment was better and significantly different among treatments. The results showed that carbon nanotubes in high concentrations restricted the strawberry seed germination possibly because of toxicity induction for the seed embryo.

Keywords: Seed embryo, Toxicity, Concentration, Culture medium

1, 2 and 3. MSc Graduated, Assistant Professor and Professor, Respectively, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz

4. Assistant Professor, Zanjan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Zanjan

※: Corresponding author Email: m.mousavi@scu.ac.ir