FANPAYA
Knowledge Based Company
(PUBLISHERS)

Journal of Environmental Sciences Studies (JESS)
Volume 10, Number 2, Summer, (2025)

Journal Homepage: www.jess.ir
Print ISSN: 2588-6851 Online ISSN: 2645-520X

The effect of iron nanoparticle coated with citrate on the proliferation and growth stage of apple cultivar Malling Merton 106

Forough Eskandari Shabestri[1], Alireza Motallebi Azar[1]*, Gholamreza Gohari[2], Gholamreza Mahdavinia[3], Mohammad Adlipour[1]

[*]1. Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
3. Polymer Research Laboratory, Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Maragheh, Maragheh, Iran

[*]Email Address: motallebiazar@gmail.com

Article Info

Article Type:
Research Paper

Article History:

Received Date:
2025/01/11
Revised Date:
2025/03/09
Accepted Date:
2025/04/26
Published Date:
2025/08/10

Keywords:
Iron nanoparticles,
micropropagation,
optimal culture medium,
single-node explants,
vegetative rootstock.

ABSTRACT

The MM106 rootstock is a semi-shortening apple rootstock that is widely accepted due to its desirable characteristics. Propagation of this rootstock through tissue culture and optimization of the culture medium can increase the micropropagation efficiency of this plant. Therefore, in order to investigate the effect of iron source on multiplication, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design. The factors studied included different concentrations of citrate-coated iron oxide nanoparticles (0, 25, 50 and 75 mg/L) along with the iron concentration of the culture medium (without iron, one-quarter, one-half and complete iron MS or control). Single nodes (as explant) of Malling Merton rootstocks were cultured on these media and growth indices such as fresh weight, dry weight, number of leaves, shoot length and root length were investigated. The results of analysis of variance showed that the growth traits of seedlings and leaf iron content were significantly affected by the interaction effect of the iron source of the MS culture medium with iron nanoparticles. The use of high concentrations of iron nanoparticles (75 mg/L) and complete MS iron source improved the growth and physiological parameters of seedlings. However, rooting and shoot growth were observed at low concentrations of iron nanoparticles (25 mg/L) and low iron concentrations in the culture medium. In general, a concentration of 75 mg/L of iron nanoparticles and complete or half MS iron source can be introduced to improve both growth indices and iron uptake for this rootstock.

Cite this article: Forough Eskandari Shabestri, Alireza Motallebi Azar, Gholamreza Gohari, Gholamreza Mahdavinia ,Mohammad Adlipour1 (2025). The effect of iron nanoparticle coated with citrate on the proliferation and growth stage of apple cultivar Malling Merton 106, Journal of Environmental Sciences Studies, 10(2), Pages 10422 – 10436.

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

MM106 rootstock is a semi-shortening apple rootstock which is currently being used due to its characteristics of shortening, early fruiting, low suckering, resistance to diseases and wax aphids. Nanoparticles (NPs), due to their unique physicochemical properties, can be used as a stimulus in plant tissue culture . Fe_3O_4 iron nanoparticles show outstanding properties such as chemical stability, electromagnetic behavior, anti-pollution properties and low toxicity. It also opens water channels in root cells, which leads to greater absorption of water and minerals . Considering that iron nanoparticles have been used in in vitro culture of plants and their positive effects have been proven, and also the in vitro technique is of high economic importance in increasing of the propagation efficiency of the MM106 rootstock.

Materials and methods

Single-node explants from in vitro seedlings of apple cultivar MM106 were used. Iron oxide nanoparticles were prepared by co-precipitation with 2- and 3-valent iron chloride (with a molar ratio of 2:1) in an alkaline solution. . Explants were cultured on MS culture medium containing different concentrations of citrate-coated iron oxide nanoparticles (0, 25, 50, and 75 mg/L) along with different concentrations of medium iron (FeSO4 + Na2 EDTA) (0, 1.2, 1.4, MS iron concentration, and control). The cultures were placed in a growth chamber at 25±2°C and a photoperiod 16/8 light and darkness.

Results and discussion

The results of the analysis of variance showed that the type of iron composition in the culture medium had a significant effect on the vegetative traits of plantlets obtained from the growth of explants in MS medium, and the interaction effect of different concentrations of MS iron source and iron nanoparticles was significant. At 25, 50 and 75 mg/L of iron nanoparticles and in complete MS iron, the root length reached a maximum. The highest rooting percentage was observed at a 25 mg/L of iron nanoparticles in combination with different concentrations of iron source. With increasing iron nanoparticles concentration and iron content in the culture medium, the number of leaves increased, such that the highest number of leaves was observed at a 75 mg/L of iron nanoparticles and complete iron. The maximum leaf area was observed at 75% of MS iron and in the absence of iron nanoparticles. The results showed that the longest and shortest shoot lengths were associated with 75 mg/L of iron nanoparticles and 25% MS iron as well as with iron or iron nanoparticles free medium, respectively. complete iron and 50% MS iron along with 50 and 75 mg/L of iron nanoparticles are probably the optimal concentrations for increasing total iron.

Conclusion

In general, the effects of citrate-coated iron oxide nanoparticles on the characteristics of MM106 seedlings were investigated and the results showed that the use of nanoparticles at high concentrations and complete MS iron source improved the growth and physiological parameters in MM106 seedlings. The concentration of 75 mg/L of iron nanoparticles and complete MS iron source can be introduced to improve both growth and biochemical indices with value for this base. The best treatment to increase the iron content of MM106 seedlings is complete MS iron source without iron nanoparticles, and in the absence of complete MS iron, the use of iron nanoparticles at a concentration of 75 mg/L or higher concentrations is effective. This study is not only important in terms of the beneficial use of nanoparticles in agricultural sciences, but also provides new insights into the understanding of the mechanism between nanomaterials and plants regarding the increase in growth and biochemical parameters.

مجله مطالعات علوم محیط زیست
جلد ۱۰، شماره ۲

Journal Homepage:www.jess.ir
شاپای چاپی: 2588-6851 شاپای الکترونیکی: 2645-520X

FANPAYA
Knowledge Based Company
(PUBLISHERS)

تأثیر نانوذره آهن (پوشش دار شده با سیترات) بر مرحله پر آوری و رشد شاخساره های سیب رقم مالینگ مرتون ۱۰۶

فروغ اسکندری شبستری[۱] ، علیرضا مطلبی آذر*[۱] ، غلامرضا گوهری[۲] ، غلامرضا مهدوی نیا[۳] و محمد عدلی پور[۱]

*۱-گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲- گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه
۳- گروه علوم پایه، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران
*ایمیل نویسنده مسئول: motallebiazar@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله علمی پژوهشی

تاریخ دریافت:
۱۴۰۳/۱۰/۲۲
تاریخ بازنگری:
۱۴۰۳/۱۲/۱۹
تاریخ پذیرش:
۱۴۰۴/۰۲/۰۶
تاریخ انتشار:
۱۴۰۴/۰۵/۱۹

کلید واژه ها:
پایه رویشی،
محیط کشت بهینه،
نانو ذرات آهن،
ریز ازدیادی.

چکیده

پایه MM106 از پایه‌های نیمه پاکوتاه کننده سیب است که به سبب ویژگی‌های مطلوب مورد استقبال گسترده است، تکثیر این پایه از طریق کشت بافت و بهینه سازی محیط کشت میتواند کارایی ریزازدیادی این گیاه را افزایش دهد. لذا به منظور بررسی تاثیر منبع آهن بر پرآوری، از آزمایش فاکتوریل با استفاده از طرح پایه کاملا تصافی استفاده شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل غلظتهای مختلف نانو ذره اکسید آهن پوشش دار شده با سیترات (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی گرم در لیتر) به همراه غلظت آهن محیط کشت) بدون آهن، یک چهارم، یک دوم و آهن کامل MS یا شاهد (بود شاخصهای رشدی مانند وزن‌تر، وزن خشک، تعداد برگ، طول شاخساره و طول ریشه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که صفات رشدی گیاهچه ها و محتوای آهن برگ بطور معنی داری از اثر متقابل منبع آهن محیط کشت MS با نانو ذرات آهن متاثر شد. نتایج نشان داد که استفاده از نانو ذرات آهن در غلظت¬های بالا (۷۵ میلی گرم بر لیتر) و منبع آهن MS کامل باعث بهبود پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی مانند طول ریشه، تعداد برگ، سطح برگ و وزن تر و خشک گیاهچه ها می شود. این در حالی است که ریشه زایی و رشد شاخه در غلظتهای پایین نانو ذرات آهن (۲۵ میلی گرم بر لیتر) و غظلتهای پایین آهن محیط کشت مشاهده شد. در کل، غلظت ۷۵ میلی¬گرم بر لیتر نانو ذرات آهن و منبع آهن کامل یا نصفMS میتواند برای بهبود هر دو شاخص رشدی و جذب آهن برای این پایه معرفی گردد. این مطالعه بوضوح نشان داد که می توان از پتانسیل نانو آهن برای افزایش صفات رشدی و بهبود پارامترهای بیوشیمیایی استفاده نمود.

ناشر: انتشارات فن پایا

DOI: 10.22034/JESS.2025.499340.2340

۱- مقدمه

سیب (Malus domestica Borkh) از تیره Rosaceae و از زیر تیره Pomioidae ا ست . پایه MM106 یکی از پایه‌های نیمه پاکوتاه کننده ســـیب بوده که از لحاظ زودباردهی، مقاومت به بیماری‌ها، مقاومت به خاکهای آهکی، مقتومت به آفت شـــته مومی و بخصـــوص از نظر تولید پاجوش کم و کاهش هزینه ها مشـــهور بوده و از طرف بخاطر کاهش هزینه‌های برداشـــت میوه و ســـایر عملیات باغبانی کشت آن در حال گسترش می‌باشد . کشت بافت گیاهی عبارت است از کشت هر قسمت از گیاه که از گیاه مادری جدا شده و روی محیط کشت های مصنوعی ا ستریل کشت شود و جزء ا سا سی و بنیادی بیوتکنولوژی گیاهی محسوب می شود و پیشرفت در زمینه‌های مختلف بیوتکنولوژی تا حد زیادی به بهبود این تکنیک بستگی دارد. کشت بافت به‌طور گسترده برای ریزازدیادی پایه و ارقام سیب استفاده می‌شود همچنین این روش برای تولید گیاهان عاری از ویروس، حفظ ذخایر ژنتیکی و توسعه بذرهای مصنوعی مفید می‌باشد . بهینه سازی ترکیبات محیط غذایی باعث بهبود رشـــد و مورفوژنز اندامهای گیاه شـــده و منجر به افزایش تکثیر ســـلول ها، بهبود اندام زایی، جنین زایی، کیفیت ساقه و تولید متابولیت های زیست فعال در کشت سلولی و بافتی می شود . نانو تکنولوژی به عنوان یکی از شاخه‌های پیشرفته علم، به برر سی، طراحی و ساخت مواد و سی ستم‌ها در مقیاس نانومتر (یک میلیاردیم متر) می‌پردازد. این فناوری به دا شمندان امکان می‌دهد ساختار اتمی یا مولکولی مواد را با دقت بسیار بالا دستکاری کرده و ریز ذراتی با خواص کاملاً جدید و نوظهور ایجاد کنند. نانوذرات (NPs)، به دلیل خواص فیزیکو شیمیایی منح صر به فرد خود، می توانند به عنوان محرک در پاک سازی آلاینده ها از محیط زی ست مثلا جدا سازی کادمیم از محیط زیست بوسیله نانو ذرات آهن و نیز در کشت بافت گیاهی مورد استفاده قرار گیرند. پس از قرار گرفتن نانوذرات در سیستم گیاهی، نانوذرات ابتدا به سطح ری شه می‌چ سبند، سپس نانوذرات با اندازه کوچک نفوذ کرده و از طریق دیواره سلولی متخلخل وارد دیواره سلولی و غشای پلاسمایی لایه اپیدرمی ریشه‌ها می‌شوند. علاوه بر این، نانوذرات باعث ایجاد منافذ بزرگ در دیواره سلولی می‌شوند که به انتقال نانوذرات با اندازه بزرگ در ریشه کمک می‌کند. سپس این NP ها از طریق آپوپلاست یا پلاسمودسماتا به سلول های مجاور منتقل می شوند. نانوتیوب کربن و گرافن اکسید اثر مثبتی بر پرآوری درون شی شه ای سیب دا شته ا ست و با افزایش تعداد برگ و طول میانگره موجب بهبود پرآوری ریزنمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد گردیدند. تیمار نانوذرات با کاهش پلا ستوکرون، سرعت ر شد و تولید برگ را افزایش دادند. در این بررســـی نفوذ هر دو ترکیب نانوذرات در بافت‌های گیاهان مورد مطالعه مشـــاهده گردید. مقایســـه اثرات تیمارهای نانو ذرات، بیانگر این است که اثر مثبت گرافن اکسید بر پرآوری ریزنمونه‌های هر دو ژنوتیپ سیب بیشتر از نانوتیوب کربن بود. آهن یک عنصر ضروری بوده که بخش بزرگی از کل محتوای عناصر ریزمغذی در سلول‌های گیاهی را شامل می‌شود. کمبود آهن در گیاه منجر به اختلال در سنتز کلروفیل می‌شود که نتیجه آن زرد شدن برگ‌های جوان، وضعیتی به نام کلروز آهن است. زرد شدن برگ‌ها به دلیل کاهش سطح کلروفیل، تأثیر م ستقیم بر کارایی فتو سنتز گیاه می‌گذارد. با کاهش فعالیت فتو سنتز، تولید مواد آلی و انرژی لازم برای ر شد و تو سعه گیاه کاهش می‌یابد، که این امر منجر به کاهش قابل توجه بیوماس (وزن خشـــک) گیاه می‌شـــود. کمبود آهن در گیاهان تأثیرات عمیقی بر فرایندهای متابولیک و ر شد آن‌ها دارد، زیرا آهن یکی از عناصر ضروری در تولید کلروفیل، تنفس سلولی و پروتئین‌سازی است. این عنصر نقش مهمی در عملکرد آنزیم‌ها و تشکیل ریبوزوم‌ها ایفا می‌کند. کاهش آهن می‌تواند باعث افزایش تارهای کشنده ریشه شود زیرا تارهای کشـنده به گیاه کمک می‌کنند تا سـطح جذب خود را افزایش دهد، که یکی از واکنش‌های سـازشـی به کمبود آهن اسـت . کمبود آهن در محیط‌های درون شیشه‌ای (in vitro)یک مشکل رایج است که به‌ویژه در کشت بافت گیاهان حساسیت بیشتری دارد. این مسئله اغلب به دلیل ماهیت محیط‌های مصنوعی کشت بافت رخ می‌دهد، زیرا شرایط درون شیشه‌ای محدودیت‌هایی در جذب آهن تو سط ری شه‌ها یا ســـلول‌های گیاهی ایجاد می‌کند. بعلاوه مصـــرف آهن از بقیه اجزاء محیط کشـــت، ســـریعتر اســـت .نانو ذرات آهن Fe_3O_4 ویژگی‌های برجسته‌ای ازجمله پایداری شیمیایی، رفتار الکترومغناطیسی، ویژگی‌های ضد آلودگی و سمیت پایین را نشان می‌دهند. همچنین باعث باز شدن کانال های آبی در سلول های ری شه می شود که باعث جذب بی شتر آب و مواد معدنی می‌گردد . نانو ذرات اک سید آهن بر محتوای کلروفیل تأثیر می‌گذارد و در مراحل مختلف واکنش فتو سنتز بر کارایی بیو شیمیایی و آنزیمی اثر دا شته ا ست. ا ستفاده از نانو ذرات اک سید آهن به‌عنوان ترکیب جدیدی از عناصـــر ریزمغذی، شـــیوه‌ی جدیدی از تأمین عناصـــر مورد نیاز گیاه اســـت. متأســـفانه مطالعات اندکی در موردکاربرد نانو مواد درک شاورزی انجام‌گرفته ا ست که اجرای تحقیقات دراین زمینه را ضرورت می سازد. پاندر و همکاران (۲۰۰۰) در این زمینه گزارش کردند که زمانی که اندازه ذرات آهن به مقیاس نانو کاهش می‌یابد، تعداد اتم‌هایی که می‌توانند در واکنش درگیر شـــوند،

افزایش و درنتیجه سرعت واکنش‌پذیری بیشتر می شود. این امر موجب می شود که نانو ذرات قدرت انتخاب پذیری بیشتری داشته باشند. تحقیقات نشان داده است که نانو ذرات آهن به‌طورمعنی داری رشد بادام‌زمینی و فتو سنتز آن را افزایش می‌دهد.در گیاه سویا گزارش شده است که نانو ذرات اکسید آهن بر محتوای کلروفیل تأثیر می‌گذارد و در مراحل مختلف واکنش فتوسنتز بر کارایی بیوشیمیایی و آنزیمی اثر داشته است. بنابراین نانو ذرات حاوی آهن می‌توانند با ایجاد فرآیند متابولیک، جوانه‌زنی بذر را تسریع کنند . مشخص شده است که تعامل بین ترکیبات مغناطیسی، نانو ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 و آنزیم‌ها در سلول باعث تحریک جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه می شود . از سوی دیگر اثرات مثبت و منفی غلظت این مواد به گونه گیاهی بستگی دارد، به‌عنوان‌مثال غلظت‌های پایین نانو ذرات اکسید آهن مانع جوانه‌زنی بذر لوبیا چیتی شده است درحالی‌که در غلظت‌های بالاتر جوانه‌زنی آن‌ها را تحریک می‌کنند. جوانه‌زنی بذر کاهو، خیار و بلوط پس از تیمار با غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید آهن افزایش یافت . در تحقیق دیگری غلظت مختلف نانو ذرات اکسید آهن رشد نهال‌های گوجه‌فرنگی را افزایش داده است. برعکس، استفاده از غلظت‌های بالای نانو ذرات آهن جوانه‌زنی بذر در برخی از گونه‌های گیاهی را مهار می‌کند . نانو ذرات آهن در مقایسه باتیمارهایی مانندکودآلی وسیترات آهن، انتقال مواد را تسهیل کرد و انتقال آهن به برگ‌ها را افزایش داد. نانو ذرات آهن به دلیل انرژی بالا سطوح، تمایل به تجمع و انباشتگی دارند. بنابراین ایجاد پوششی مناسب بر روی این نانوذرات، علاوه بر جلوگیری از تجمع آن‌ها، ویژگی‌هایی مانند پایداری بیشتر و سازگاری زیستی مطلوب را فراهم می‌کند. پوشش سطوح یک جزء جدایی‌ناپذیر نانوذرات مغناطیسی است . مهمترین مشکلاتی که در سنتز نانو ذرات آهن وجود دارد تجمع پذیری ذرات در کنار هم و اکسید شدن ذرات در مجاورت هوا می‌باشد؛ که برای رفع این مشکلات و برای بهبود خواص زیست سازگاری و امکان استفاده زیستی از این نانوذرات، پوشش‌های عامل‌دار شده، شامل ترکیبات آلی و معدنی، بر روی آن‌ها اعمال می‌شوند که این امر به ایجاد ویژگی‌های کاربردی‌تر کمک می‌کند که این پوشش‌ها اطراف نانو ذرات را احاطه کرده و در مقابل اکسید شدن و تجمع محافظت می‌شوند . با توجه به این‌که نانوذرات آهن در شرایط کشت درون شیشه‌ای گیاهان به کار رفته و اثرات مثبت آن به اثبات رسیده است و همچنین تکنیک درون شیشه‌ای در پرآوری و افزایش راندمان تکثیر پایه MM106 از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است در این راستا بهینه سازی محیط کشت ازنظر منبع آهن می‌تواند کارایی ریز ازدیادی این گیاه را افزایش دهد از طرفی دیگر هم اطلاعاتی در مورد تأثیر نانو ذرات پوشش‌دار شده با سیترات روی صفات رشدی سیب MM106 در شرایط درون شیشه‌ای وجود ندارد. بنابراین این مطالعه با هدف ارزیابی صفات رشدی شاخساره‌های درون شیشه‌ای تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات آهن پوشش دار شده با سیترات طراحی و اجرا و نتایج حاصل با گیاهان شاهد مورد مقایسه قرارگرفت.

۲- روش انجام تحقیق

این آزمایش در آزمایشگاه کشت بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد. برای انجام این آزمایش از ریزنمونه های تک گره حاصل از گیاهچه های درون شیشه ای سیب رقم MM106 استفاده شد.

* سنتز نانو ذرات آهن

نانو ذرات اکسید آهن توسط هم رسوبی با آهن ۲ و ۳ ظرفیتی کلراید (با نسبت مولی ۱:۲) در یک محلول قلیایی تهیه گردید. به‌طور خلاصه برای هیدرولیز کردن کلریدهای آهن، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول کلرید آهن ($FeCl_2$) ۰/۰۵ مولار و کلریت آهن ($FeCl_3$) ۰/۱ مولار را در ۴۰ میلی‌لیتر محلول سود ($NaOH$) ۱ مولار به‌صورت قطره‌قطره اضافه شد ؛ و با استفاده از همزن شدید و یک آهنربا به مدت ۳۰ دقیقه استیرر می‌گردد و رسوب سیاه‌رنگ ژل‌مانند حاصل بر روی آهنربا جمع شد سپس دو بار با آب دیونیزه و دو بار با محلول تترا متیل آمونیوم هیدروکسید($TMAOH$)۰/۱ مولار شسته می‌شوند . ذرات تشکیل یافته داخل محلول جمع و ته‌نشین گردید سپس ذرات با سرعت ۶۰۰۰ دور در ۵ دقیقه سانتریوفیوژ شدند.

* تهیه محیط کشت و اعمال تیمار

در این پژوهش از محیط کشت MS (موراشیگ و اسکوک، ۱۹۶۵) جهت پرآوری ریزنمونه های MM106 و اعمال تیمارهای مورد بررسی استفاده گردید. ریزنمونه ها روی محیط کشت حاوی غلظتهای مختلف نانو ذره اکسید آهن پوشش دار شده با سیترات (صفر، ۲۵،

۵۰ و ۷۵ میلی گرم در لیتر) به همراه غلظتهای مختلف آهن محیط کشت ($FeSO_4 + Na_2 EDTA$) (صفر،۱/۱،۴/۲، غلظت آهن MS و شاهد) کشت شدند. برای آماده‌سازی یک لیتر محیط کشت نهایی، ابتدا در یک ارلن یک لیتری مقدار معینی آب مقطر ریخته شد. سپس، مقادیر مورد نیاز از نمک‌ها و ۳۰ گرم ساکارز به آن افزوده گردید. غلظت‌های متنوع نانوذرات اکسید آهن با پوشش سیترات به محیط کشت اضافه شد. حجم محلول با آب مقطر به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از تنظیم pH محیط کشت در مقدار ۷,۵ با استفاده از چند قطره هیدروکسید سدیم (NaOH) یا اسید کلریدریک (HCl) یک نرمال، ۸ گرم آگار به محلول اضافه شد. شیشه‌های حاوی نمونه‌های کشت‌شده در محیط کشت MS، در اتاقک کشت با دمای ۲۵±۲ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی برای مدت ۲ ماه نگهداری شدند.

* شاخص های اندازه گیری شده

طول شاخساره و ریشه‌ها بر حسب سانتی‌متر با استفاده از خط‌کش سانتی‌متری اندازه‌گیری شد. سطح برگ‌ها بر حسب سانتی‌متر مربع با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Leaf Area Meterمدل Li-Cor، شماره مدل Li-1300، ساخت آمریکا) اندازه‌گیری گردید. وزن تر گیاهچه‌ها و برگ‌ها به‌طور مستقیم با استفاده از ترازو اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از خشک شدن کامل، وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد.

* اندازه‌گیری آهن

۰/۵گرم ماده خشک گیاهی در لوله‌های هضم قرار گرفت و به آن حدود ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ (۶۵ درصد) اضافه شد. لوله‌ها به اجاق هضم منتقل شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس دما به‌تدریج افزایش داده شد تا به ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد برسد و فرآیند هضم برای ۶ ساعت ادامه یافت. نشانه اتمام هضم، بدست آمدن مایع زلال و زرد رنگ بود. عصاره حاصل از هضم از طریق کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف شد. عصاره صاف‌شده با استفاده از آب مقطر در بالن ژوژه به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. برای تحلیل عناصر موجود در نمونه‌های گیاهی، از دستگاه جذب اتمی (Shimadzu, AA6300, Japan) استفاده شد.

* تجزیه و تحلیل داده‌ها

این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و چهار ریزنمونه در هر تکرار انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ استفاده گردید. پس از انجام تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. همچنین برای ترسیم نمودارها و گراف‌ها از نرم‌افزار Excel بهره‌برداری شد.

۳- نتایج

* اثرات نوع ترکیب آهن محیط کشت بر روی صفات رویشی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که نوع ترکیب آهن در محیط کشت تأثیر معنی‌داری بر روی صفات رویشی گیاهچه‌های حاصل از رشد ریزنمونه‌ها در محیط MS داشته است و اثر متقابل غلظت‌های مختلف منبع آهن و نانو ذرات آهن در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۱). بطوریکه میانگین طول ریشه گیاهچه‌ها (شکل ۱ و ۲) به طور معنی‌داری از غلظت‌های مختلف نانو آهن متاثر شد و در غلظت‌های ۲۵ ،۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر لیتر نانو ذرات آهن و در آهن کامل MS طول ریشه به حداکثر رسید و کوتاهترین طول ریشه گیاهچه‌ها در محیط کشت بدون آهن بود (شکل ۳). رومهلدومارچنر (۱۹۸۱) و شیکورواسمیت (۲۰۰۱) نیز گزارش کردند که تشکیل و طویل شدن ریشه به غلظت آهن در محیط ریشه وابسته است. نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق با این یافته‌ها مطابقت دارد، به‌طوری‌که مشاهده شد افزایش یا کاهش غلظت آهن در محیط کشت تأثیر مستقیم و قابل توجهی بر رشد و توسعه ریشه‌ها داشت. این تطابق نتایج نشان‌دهنده اهمیت عنصر آهن در فرآیندهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان است. مقایسه میانگین نتایج نشان داد که بیشترین میزان ریشه‌زایی در غلظت ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات آهن پوشش‌دار شده با سیترات در ترکیب با غلظت‌های مختلف منبع آهن محیط کشت مشاهده گردید همچنین ریشه‌زایی با افزایش میزان آهن محیط کشت افزایش یافت (شکل ۴). مقایسه میانگین تعداد برگ گیاهچه‌ها نشان داد که با افزایش غلظت نانو آهن و میزان آهن محیط کشت تعداد برگ افزایش نشان داد بطوریکه بیشترین تعداد برگ در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو ذرات آهن و آهن کامل محیط کشت دیده شد و کمترین میزان در محیط کشت نانو ذره آهن مشاهده گردید (شکل ۵). بر اساس نتایج

بدست آمده از این آزمایش، مشخص شد که حداکثر میزان سطح برگ در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر آهن کامل MS مشاهده گردید و در صورت فقدان آهن محیط کشت MS و غلظت پایین نانو آهن میانگین سطح برگ حداقل بود (شکل ۶). نتایج تجزیه داده‌ها نشان داد که طول شاخساره بلندترین و کوتاه‌ترین به ترتیب مربوط به غلظت‌های ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانو آهن و غلظت ۱/۴ آهن محیط MS و همچنین محیط کشت بدون آهن و نانو آهن بودند. در گزارش جم‌زادفرد و همکاران (۱۳۹۵) نیز اشاره شده است که استفاده از کلات آهن FeEDDHA و نانوذرات اکسید آهن بدون پوشش در محیط MS موجب افزایش معنی‌داری در طول شاخه، تعداد شاخساره و تعداد برگ‌ها شد. علاوه بر این، استفاده از این محیط کشت‌ها درصد ریشه‌زایی را در مقایسه با محیط MS بدون آهن و محیط MS حاوی FeEDTA افزایش داد.

جدول ۱-تجزیه واریانس صفات رشدی از نظر نانو ذرات آهن پوشش‌دار شده با سیترات و منبع آهن MS در سیب رقم MM106

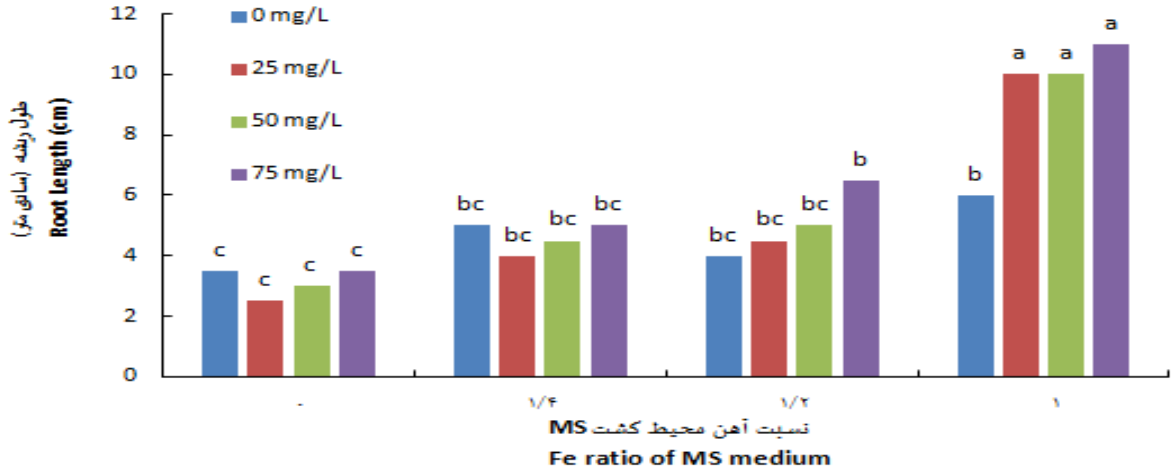
		میانگین مربعات			
منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد برگ	ریشه زایی	طول ریشه	طول شاخساره
FeMS	۳	۱۱/۳۷**	۰/۶۳۷^{ns}	۱۲/۰۹۶^{ns}	۰/۲۷۸^{ns}
Nfe	۳	۳۷/۴۴**	۰/۴۶۱^{ns}	۶۷/۵۴۶**	۲/۷۹**
MS*Nfe	۹	۲/۷۵۷*	۱/۱۴۶**	۱۵/۶۰۳*	۱/۰۶۴**
خطا	۲۷	۰/۸۱۶	۰/۴۵۱	۶/۸۹۶	۰/۱۵۳

FeMS: منبع آهن MS، NFe: نانو ذره آهن پوششدار شده با سیترات

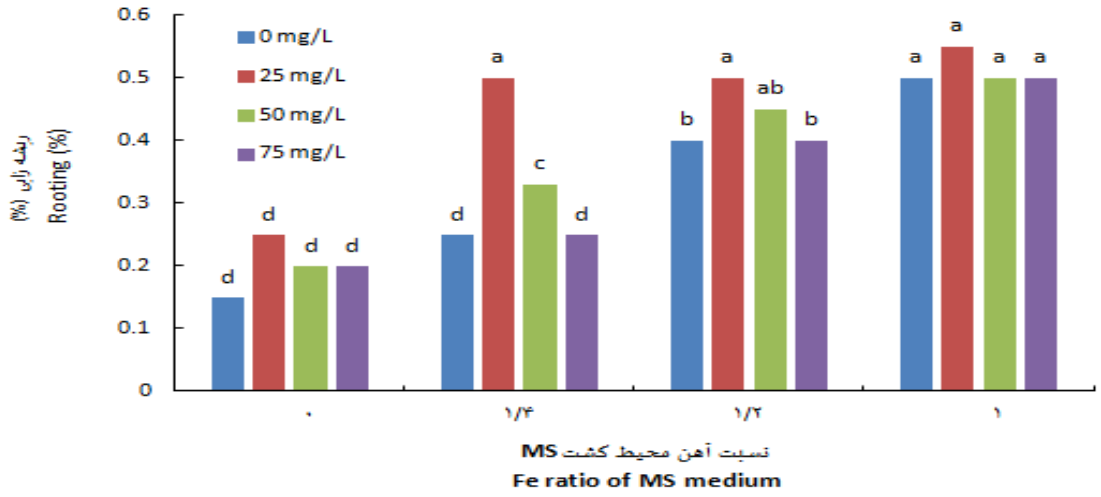
ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

شکل ۱- ریشه و برگ تشکیل شده از شاخه رشد کرده در شرایط درون شیشه ای در سیب رقم MM106

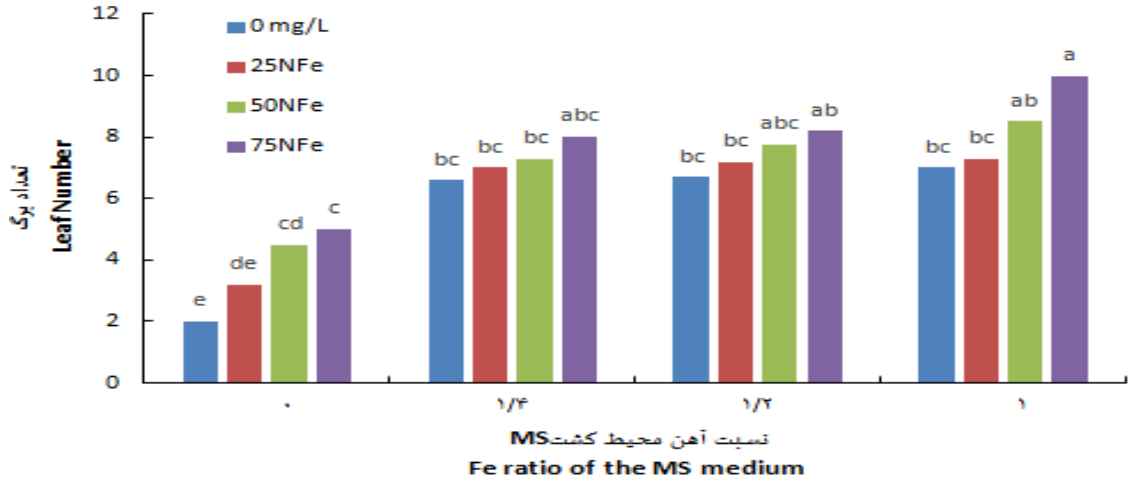
شکل ۲- ریشه و شاخه رشد کرده از ریز نمونه کشت در شرایط درون شیشه ای در سیب رقم MM106



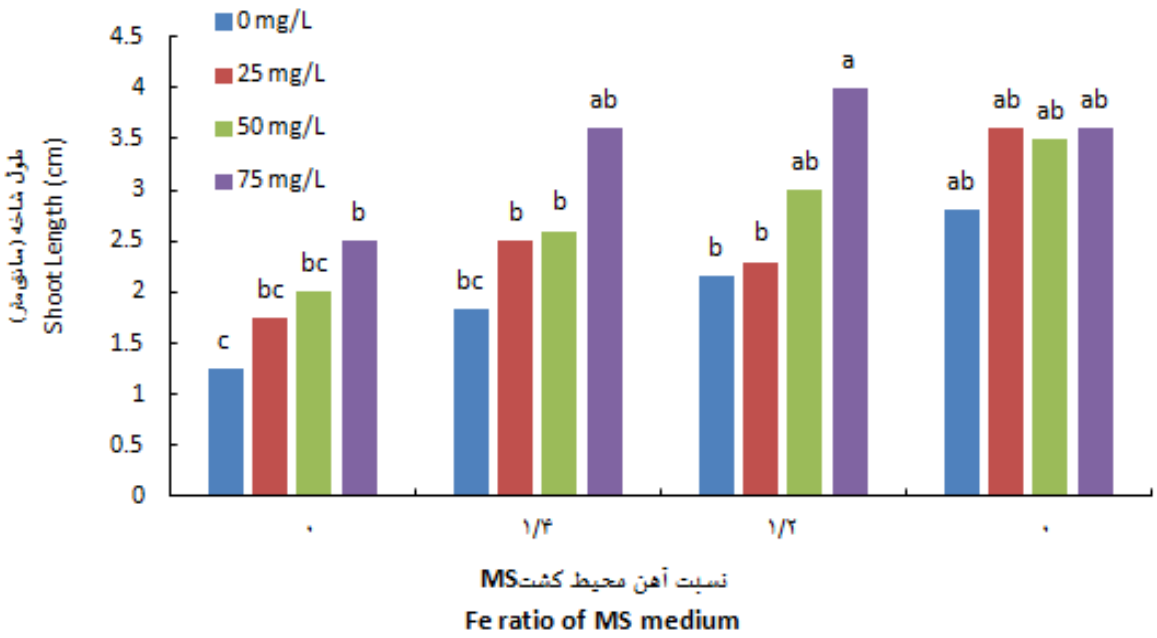
شکل ۳- میانگین طول ریشه گیاهچه‌های سیب پایه MM106 در دو منبع مختلف آهن محیط کشت MS و نانو ذرات آهن (حروف مشابه روی ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).



شکل ۴- مقایسه میانگین ریشه‌زایی گیاهچه‌های MM106 در دو منبع مختلف آهن محیط کشت MS و نانو ذرات آهن (حروف مشابه روی ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).



شکل ۵- مقایسه میانگین تعداد برگ گیاهچه‌های MM106 دردو منبع مختلف آهن محیط کشت MS و نانو ذرات آهن (حروف مشابه روی ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).



شکل ۶- میانگین طول شاخساره گیاهچه‌های MM106 در غلظت‌های مختلف نانوآهن پوشش دار شده با سیترات (حروف مشابه روی ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

* تاثیر منبع آهن روی وزن تر و خشک برگ و سطح برگ

وزن خشک و تر گیاهچه ها و نیز سطح برگ تحت تاثیر معنی دار غلظتهای FeMs و اثر متقابل FeMS در NFe قرار گرفت (جدول ۲).

جدول ۲-تجزیه واریانس صفات رشدی برگ ازن ظر نانو ذرات آهن پوشش‌دارشده و منبع آهن MS در گیاهچه‌هایMM106

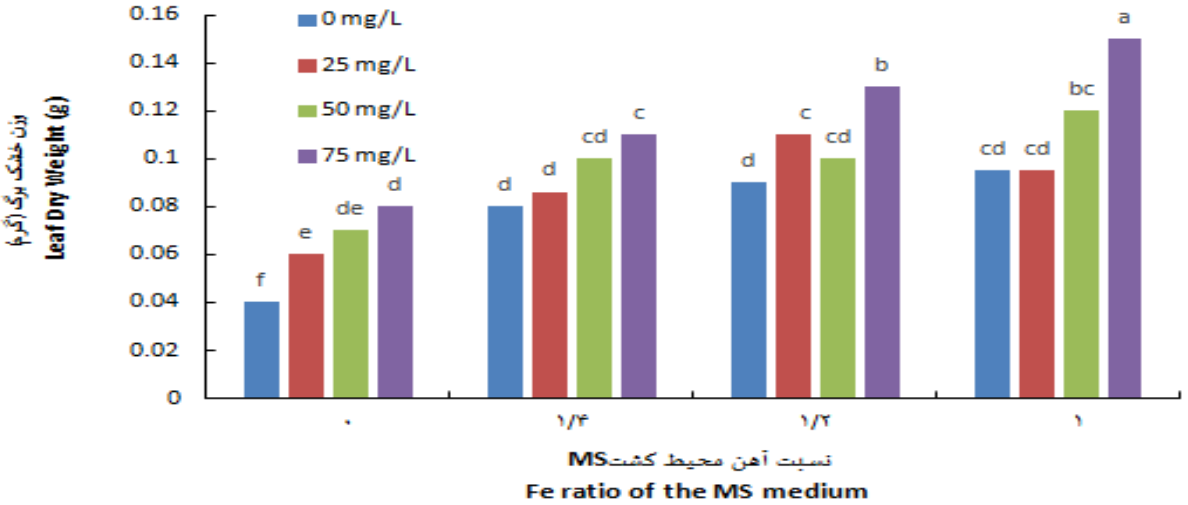
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		وزن‌تر برگ	وزن خشک برگ	سطح برگ
FeMS	۳	۰/۰۷۵**	۳/۳۱۶*	۹۹/۳۸۳*
NFe	۱	۰/۰۰۲ns	۰/۰۱ns	۶۶/۹۱۲**
FeMS*NFe	۳	۰/۰۲**	۴/۲۵۳*	۵۷/۶۶۷*
خطا	۸	۰/۰۰۳	۱	۱۲/۰۱۱

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

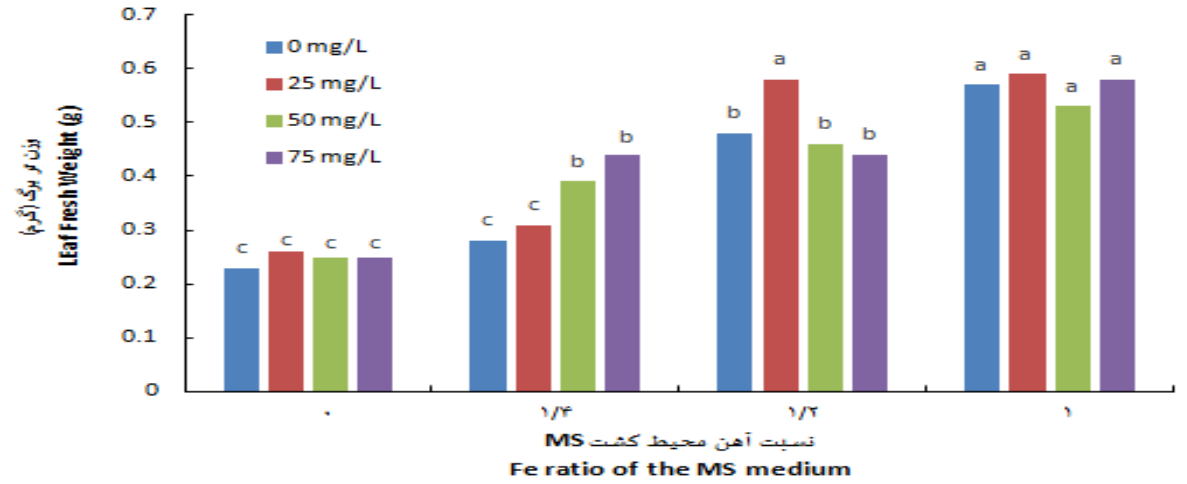
FeMS: منبع آهن MS، NFe: نانو ذره آهن پوششدار شده با سیترات

نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانوذره آهن و آهن کامل MS گیاهچه‌ها بیشترین میزان وزن خشک را دار بودند و در محیط کشت بدون آهن و نانو ذرات آهن حداقل می باشد (شکل ۷). همچنین مقایسه میانگین نشان داد، بیشترین میزان وزن‌تر برگ در محیط‌های کشت آهن کامل MS و ۱/۲ آهن در هر چهار غلظت نانو آهن دیده شد این در حالی است که در فقدان آهن و حتی در حضور نانو آهن، مقدار وزن‌تر برگ گیاهچه‌ها در حداقل مقدار می‌باشد از طرف دیگر اضافه کردن ۱/۴ آهن MS به محیط کشت باعث افزایش معنی‌داری نسبت به محیط کشت فاقد آهن می‌گردد (شکل ۸). این امر نشان می‌دهد که اضافه کردن آهن به محیط کشت

ضروری به نظر می‌رسد به‌طوری‌که با افزایش مقدار آهن محیط کشت، افزایش معنی‌داری در مقدار وزن خشک برگ گیاهچه‌ها مشاهده می‌گردد با این‌حال ممکن است آهن کامل MS غلظت بهینه ازنظر وزن‌تر برگ باشد.

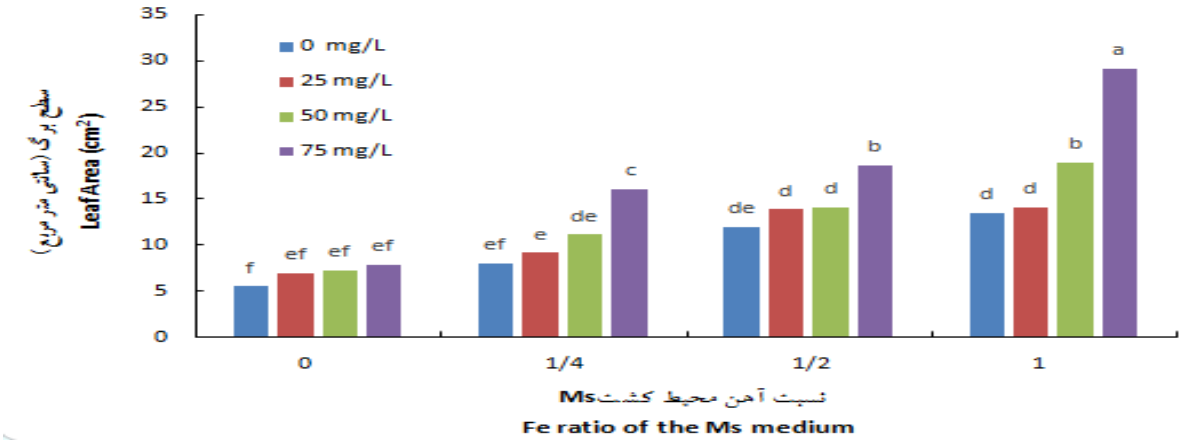


شکل ۷- میانگین وزن خشک گیاهچه‌های MM106 در غلظت‌های مختلف نانو آهن پوشش‌دار شده با سیترات و منبع آهن MS (حروف مشابه روی ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).



شکل ۸- میانگین وزن تر گیاهچه‌های MM106 در غلظت‌های مختلف نانو آهن پوشش‌دار شده با سیترات و منبع آهنMS (حروف مشابه روی ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

مقایسه میانگین سطح برگ گیاهچه‌ها (شکل ۹) نشان داد که حداکثر میزان سطح برگ در محیط کشت آهن کامل MS دیده می‌شود و در صورت فقدان آهن میانگین سطح برگ حداقل می‌باشد از طرف دیگر اضافه کردن ۱/۴ مقدار آهن MS به محیط کشت باعث افزایش معنی‌دار نسبت به محیط کشت فاقد آهن می‌گردد و همچنین در صورت استفاده از ۱/۲ آهن MS افزایش معنی‌داری در سطح برگ گیاهچه‌ها می‌گردد که این نشان می‌دهد با افزایش مقدار آهن MS میانگین سطح برگ به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافته استهمچنین افزودن نانو ذرات آهن با غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر به محیط کشت افزایش معنی‌داری در مقایسه با عدم استفاده از نانو ذرات در میانگین سطح برگ شاهده گردید و با توجه به اینکه اثر متقابل دو نوع منبع آهن در مورد میانگین سطح برگمعنی‌دار نمی‌باشد این امر نشان می‌دهد که تداخل منفی در مورد این دو نوع منبع آهن مشاهده نمی‌گردد پس به نظر می‌رسد استفاده نانو ذره آهن و منبع آهن کامل MS در افزایش سطح برگ گیاهچه‌ها مؤثر باشد.



شکل ۹- میانگین سطح برگ گیاهچه‌های MM106 در غلظت‌های مختلف نانو آهن پوشش‌دار شده با سیترات و منبع آهن MS (حروف مشابه روی ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

* میزان جذب آهن در برگ

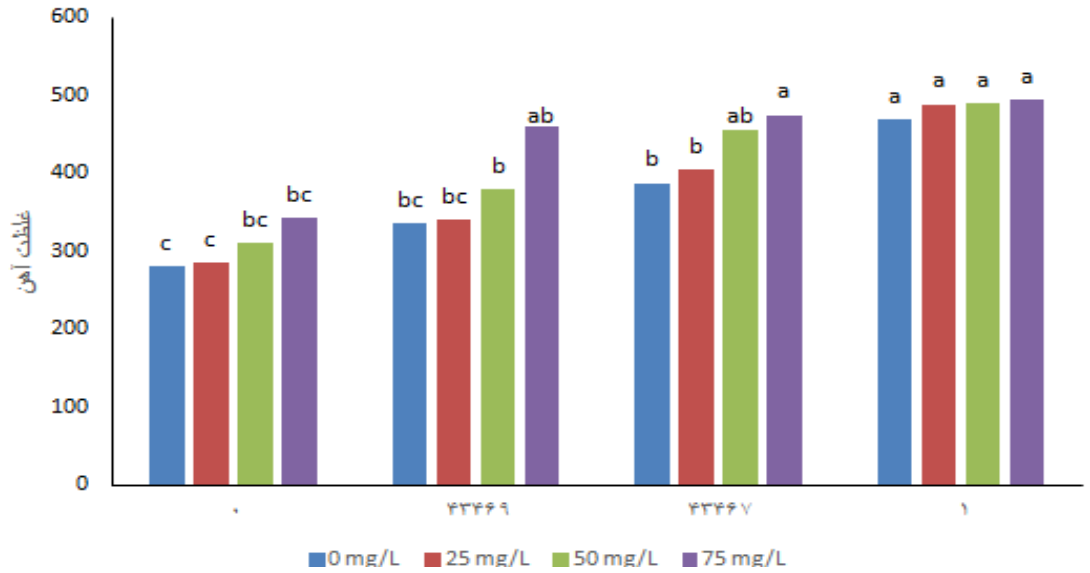
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر آهن MS و اثر متقابل دو منبع آهن بر غلظت آهن برگ معنی دار بود (جدول ۳). بطوریکه در صورت عدم وجود منبع آهن MS و عدم استفاده از نانو ذرات آهن کمترین میزان غلظت آهن در برگ مشاهده شد و همچنین استفاده ازآهن کامل MS در تمامی غلظت های بکاربرده شده نانو ذرات آهن، میزان غلظت آهن کل را بطور معنی داری افزایش داد. بنابراین احتمالا آهن کامل و ۱/۲ MS به همراه ۵۰ و ۷۵ میلی گرم در لیتر نانو ذرات آهن، غلظت های بهینه برای افزایش میزان آهن کل باشد. علاوه براین، در محیط کشت ۱/۴ آهن بهمراه ۷۵ میلی گرم در لیتر نانو ذرات آهن در مقایسه با تیمارهای فاقد آهن، افزایش در میزان غلظت آهن کل مشاهده گردید. بنابراین وجود منبع آهن محیط کشت MS، به منظور افزایش میزان آهن کل ضروری باشد (شکل ۱۰).

جدول ۳-تجزیه واریانس غلظت آهن ازنظر نانو ذرات آهن پوشش‌دار شده و منبع آهن MS در گیاهچه‌های MM106

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
		غلظت آهن
FeMS	۳	۴/۰۲۷*
NFe	۱	۱/۹۴ns
MS*NFe	۳	۳/۲۵*
خطا	۸	۰/۸۹

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

FeMS: منبع آهن MS، NFe: نانو ذره آهن پوششدار شده با سیترات



شکل ۱۰- میانگین غلظت آهن گیاهچه‌های MM106 در غلظت‌های مختلف نانو آهن پوشش‌دار شده با سیترات و منبع آهنMS (حروف مشابه روی ستون‌ها نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد).

۴- بحث

بر اساس نتایج حاضر چنین می‌توان گفت که کاربرد نانو ذرات آهن پوشش‌دار شده باسیترات باعث افزایش در شاخص‌های رشدی اندازه‌گیری شده و در نهایت بهبود رشد گیاهچه‌ها گردید. رویشی رشد و به دنبال آن استفاده از نانوذرات آهن به عنوان یک ترکیب جدید از عناصر ریزمغذی، یک روش نوین برای تأمین عناصر مورد نیاز گیاهان است. پاندر و همکاران (۲۰۰۰) در این زمینه گزارش کردند که با کاهش اندازه ذرات آهن به مقیاس نانو، تعداد اتم‌هایی که می‌توانند در واکنش‌ها شرکت کنند افزایش می‌یابد و در نتیجه سرعت واکنش‌پذیری بیشتر می‌شود. این ویژگی باعث می‌شود که نانوذرات آهن قدرت انتخاب‌پذیری بیشتری از خود نشان دهند. اولین مطالعه در مورد استفاده از نانو ذرات آهن درگیاهان توسط ژو و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد که نشان دهنده جذب قابل توجهی از این نانو ذرات توسط گیاه کدو تنبل و انتقال و انباشت آن‌ها در بافت‌های مختلف است. آهن نقش مهمی در ساختار و عملکرد چندین آنزیم دارد بنابراین نانو ذرات آهن می‌توانند با ایجاد فرآیند متابولیک جوانه‌زنی بذر را تسریع کنند. مشخص شده است که تعامل بین ترکیبات مغناطیسی، نانو ذرات مغناطیسی Fe_3O_4 و آنزیم‌ها در سلول باعث تحریک جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه می‌شود . جوانه‌زنی بذر کاهو، خیار و بلوط پس از تیمار با غلظت‌های مختلف نانو ذرات اکسید آهن افزایش یافت . در تحقیق دیگری غلظت مختلف نانو ذرات اکسید آهن رشد نهال‌های گوجه‌فرنگی را افزایش داده است. خاطر (۲۰۱۵) اثر محلول‌پاشی نانوذرات مغناطیسی را بر رشد و ترکیب اسانس گیاه نعناع بررسی کرد. نتایج نشان داد که استفاده از نانوذرات مغناطیسی تأثیر قابل‌توجهی بر افزایش رشد گیاه و مقدار اسانس گیاهان نعناع داشت، به‌طوری‌که این افزایش در غلظت ۱۵ میلی‌گرم در لیتر بیشترین مقدار را نشان داد. استفاده از نانو ذرات اکسید آهن پوشش دار شده با کیتوسان بر جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه فلفل مشخص شد که با به کار بردن ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانو ذرات اکسید آهن پوشش‌دار شده با کیتوسان برای رشد نهال فلفل بهینه و در غلظت پایین بر جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه اثر مثبت دارد . محیط MS بدون هورمون این امکان را به گیاه می‌دهد که خود تنظیم‌کننده‌های رشدی مورد نیاز برای ریشه‌زایی را تولید کند. به همین دلیل، این محیط می‌تواند به عنوان یک گزینه مناسب و مقرون به صرفه برای تحریک ریشه‌زایی گیاهان به کار رود.نورول و آدامز (۲۰۰۶) در یک مطالعه بر روی سویا گزارش کردند که تحت شرایط کمبود آهن، برگ‌های جوان به ویژه در ارقام حساس به کمبود آهن قادر به توسعه نبوده‌اند.

۵- نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، تأثیر نانوذرات اکسید آهن پوشش‌دار شده با سیترات بر خصوصیات گیاهچه‌های MM106 مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از نانوذرات در غلظت‌های بالاتر و منبع آهن کامل محیط MS موجب بهبود پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی گیاهچه‌ها گردید. غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر نانوذرات آهن و منبع آهن کامل MS می‌تواند به عنوان یک راهکار مناسب برای بهبود هر دو شاخص رشدی و بیوشیمیایی در این پایه گیاهی معرفی شود. در میان تیمارها، بهترین نتیجه برای افزایش میزان آهن در گیاهچه‌های MM106 از منبع آهن کامل MS بدون نانوذرات آهن به‌دست آمد. با این حال، در شرایط کمبود آهن کامل در محیط MS، استفاده از نانوذرات آهن در غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر یا غلظت‌های بالاتر نیز تأثیرگذار بود. این مطالعه علاوه بر کاربرد مفید نانوذرات در علوم کشاورزی، دیدگاه‌های جدیدی برای درک مکانیسم‌های تعامل بین نانو مواد و گیاهان در زمینه افزایش رشد و بهبود ویژگی‌های بیوشیمیایی فراهم می‌کند.

منابع

- Abdolalipour, M., Dadpour, M. R., Eftekhari Sis, B., & Motallebi Azar, A. R. 2022. The effect of carbon nanoparticles on physiological characteristics of Red fleshed apples and Malling Merton 106. Journal of Environmental Science Studies, 7(1), 4688-4696.
- Bahrami, M.K., Movafeghi, A., Mahdavinia, G.R., Hassanpouraghdam, M.B. and Gohari, G.R. 2018. Effects of bare and chitosan-coated Fe3O4 magnetic nanoparticles on seed germination and seedling growth of Capsicum annuum L. Open Access Journal, 3552 – 3559.
- Barrena, R., Casals, E., Colón, J. and Font, X. 2009. Evaluation of the ecotoxicity of model nanoparticles, Chemosphere, 75, 7, 850-857
- Bastow E.L., de la Torre V.S.G., Maclean A.E., Green R.T. and Merlot S. 2018. Vacuolar iron stores gated by NRAMP3 and NRAMP4 are the primary source of iron in germinating seeds, Plant Physiology, 00478. doi.org/10.1104/pp.18.00478
- Bhatti, SH. Jha, G. 2010. Current trends and future prospects of biotechnological interventions through tissue culture in apple. 29:1215–1225. doi: 10.1007/s00299-010-0907-8
- Briat, J.F., Curie, C. and Gaymard, F. 2007. Iron utilization and metabolism in plants. Curr. Opin. Plant Biol 10: 276-282. doi:10.7831/ras.3.1
- Eisvand, H. R. and Ashouri, P. 2010. Stress physiology. Lorestan University publications. (In Persian).
- Eldin, A.S. 2015. Effect of Magnetite Nanoparticles (Fe3O4) as Nutritive Supplement on Pear Saplings. Sciences, 5, 3, 777-785.
- George, S., Hall, M. A. and De Klerk, G.j. 2008. Plant tissue culture procedure-background. Plant propagation by tissue culture, Springer, 1-28.
- Ghafariyan, M.H., Malakouti, M.J., Dadpour, M.R., Stroeve, P. and Mahmoudi, M. 2013. Effects of magnetite nanoparticles on soybean chlorophyll. Environ. Sci.Technol. 47, 10645–10652. doi: 10.1021/es402249b
- Giordani T., Fabrizi A., Guidi L., Natali L. and Giunti G. 2012. Response of tomato plants exposed to treatment with nanoparticles, EQA-International Journal of EnvironmentalQuality, 8, 8: 27-38. doi.org/10.6092/issn.2281-4485/3748
- Haidary, F. and Saeidian, S., 2019. Gundelia. Tournefortii as biomagnetic absorbent modified with magnetic nanoparticles for the removal of cadmium from industrial waste water. Journal of Environmental Science Studies, 4(2), pp.1271-1281.
- Huber, D. L. 2005. Synthesis, properties, and applications of iron nanoparticles, 1 (5): 482-501. doi.org/10.1002/smll.200500006
- Jadczak,P. Kulpa, D . Bihun, M. Przewodowski, W.2019. Positive effect of AgNPs and AuNPs in in vitro cultures of Lavandulaangustifolia Mill.Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) Pub Date : 2019-7-31, doi: 10.1007/s11240-019-01656-w

- Jahanian, A., Motallebiazar, A., Panahandeh, J. and Dadpour, M.R., 2023. The Effect of Different Hormonal Treatments on Callus Formation and Bulblet Regeneration from Endosperm Tissue of Persian Shallot Plant. Journal of Environmental Science Studies, 8(2), pp.6447-6455.
- Jamzadfard, M., Mousavi, M. and Ghaffarian-Mogharb, M.E. 2016. Studying the effect of iron oxide nanoparticles on shoot proliferation and rooting of miniature rose in tissue culture conditions. First National Conference on Strategies for Achieving Sustainable Development in the Agricultural, Natural Resources and Environmental Sectors.
- Khater, M.S. 2015. Magnetite- Nanoparticles Effects on Growth and essential oil of Peppermint. Current Science International 4(2): 2077-4435.
- Liu, X. M., Zhang, F. R., Feng, Z. B., Zhang, Sh. Q., He, X. Sh., Wang, R. and Wang, Y. 2005. Effect of nano-ferric oxide on the growth and nutrients absorption of peanut. Plant nutrition and fertilizer science, 11, 14-18. doi: 10.11674/zwyf.2005.0421
- Lyon, J. L., Fleming, D. A., Stone, M. B., Schiffer, P. and Williams, M. E .2004. Synthesis of Fe oxide core/Au shell nanoparticles by iterative hydroxylamine seeding.Nano Lett. 4, 719–723. doi.org/10.1021/nl035253f
- Madani, G., Ghobadi, S., Seyed-Tabatabaei, B.E., Talebi, M. and Yamchi, V. 2013. Effect of plant growth regulators and explant types on regeneration and micropropagation of a commercial strawberry cultivar (Fragaria×ananassa cv. Selva). Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 15: 111-122.
- Mahdoyan, M., Bouzari, N. and Abdollahi, H. 2010. The effect of culture medium and growth regulators on the proliferation and rooting of rootstocks Journal of Seedling and Seed Breeding, 26(1): 26-15.
- Mingu, M., Liu, C., Chunxiang, C., Zheng, L., Chen, L., Huang, H., Xiaoqing, L., Xiao, W. and Fashui, H. 2008. Nano anatase relieves the inhibition of electron transport caused by linolenic acid chloroplast of Spinach. Biol trace Elem Res, 122(1), 73-81. doi: 10.1007/s12011-007-8055-x
- Mohseni Azar, M., Nazeri, S., Ghamidzadeh, M. and Malboubi, M.A. 2009. The effect of culture medium and some biochemical compounds on the proliferation of short rootstock of Malus domestica Borkh. Journal of Plant Production Technology, 1(2): 44-33
- Pariona, N., Martínez, A.I., Hernandez-Flores, H. and Clark-Tapia, R. 2017. Effect of magnetite nanoparticles on the germination and early growth of Quercus macdougallii, Science of the Total Environment, 575, 869-875 .doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.128
- Park, J.Y., Daksha, P., Lee, G. H., Woo, S. and Chang, Y. 2008. Highly water-dispersible PEG surface modified ultra small superparamagnetic iron oxide nanoparticles useful for target-specific biomedical applications. Nanotechnology 19: 365-603. doi:10.1088/0957-4484/19/36/365603
- Pham, T. T. H., Cao, C. and Sim, S. J. 2008. Application of citrate-stabilized gold-coated ferric oxide composite nanoparticles for biological separations. J. Magn. Magn. Mater. 320, 2049–2055. doi:10.1016/J.JMMM.2008.03.015
- Philipse, A. P., van Bruggen, M. P. B. andPathmamanoharan, C. 1994. Magnetic silica dispersions: preparation and stability of surface-modifiedsilica particles with a magnetic core. Langmuir, 10, 92–99. doi.org/10.1021/la00013a014
- Ramage, C.M. and Williams, R.R. 2003. Mineral uptake in tobacco leaf discs during different developmental stages of shoot organogenesis. Plant Cell Rep, 21:1047-1053. doi: 10.1007/s00299-003-0628-3
- Reddy, K.R., Khodadoust, A.P. and Darko-Kagya, K. 2008. “Transport and reactivity of lactate-modified nanoscale iron particles in PCP-contaminated fieldsand, in: Proceedings of the International Environmental Nanotechnology Conference”, USEPA, Chicago, USA. doi:10.1007/s00299-003-0628-3.

- Ren, H-X., Liu, L., Liu, C., He, S.Y., Huang, J., Li, J.L., Zhang, Y., Huang, X.J. and GU, N. 2011. Physiological investigation of magnetic iron oxide nanoparticles towards Chinese mung bean, Journal of Biomedical Nanotechnology, 7, 5, 677-684. doi: 10.1166/jbn.2011.1338
- Ren, H-X., Liu, L., Liu, C., He, S.Y., Huang, J., Li, J.L., Zhang, Y., Huang, X.J. and GU, N. 2011. Physiological investigation of magnetic iron oxide nanoparticles towards Chinese mung bean, Journal of Biomedical Nanotechnology, 7, 5, 677-684. doi: 10.1166/jbn.2011.1338
- Römheld, V and H. Marschner. 1981. Rhythmic iron stress reactions in sunflower at suboptimal iron supply. Physiol. Plant.53:347-353. doi.org/10.1111/j.1399-3054.1981.tb04511.x
- Rout G.R. and Sahoo S .2015. Role of iron in plant growth and metabolism, Reviews in Agricultural Science, 3:1-24. doi:10.7831/ras.3.1
- Schikora, A and W. Schmidt. 2001. Iron stress- induced changes in root cell regulated independently from physiological responses to low iron availability. Plant Physiol. 125:1679-1687. doi: 10.1104/pp.125.4.1679
- Seabra, A.B. and Durán, N. 2015. Nanotoxicology of metal oxide nanoparticles, Metals, 5, 2, 934-975. doi.org/10.3390/met5020934
- Sivanesan, 2015. Identification of somaclonal variants in proliferating shoot cultures of Seneciocruentus cv. Tokyo DarumaPlant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC) Pub Date 012-0186-x. doi:10.1007/s11240-012-0186-x
- Yan, AandChen, Z. 2019. Impacts of Silver Nanoparticles on Plants: A Focus on the Phytotoxicity and Underlying Mechanism. International Journal of Molecular Sciences Pub Date : 2019-2-26, doi: 10.3390/ijms20051003
- Zhu, H., Han, J., Xiao, J.Q. and Jin, Y. 2008. Uptake, translocation, and accumulation of manufactured iron oxide nanoparticles by pumpkin plants. J. Environ. Monit.10:713–717. doi.org/10.1039/B805998E