

بررسی اثرات نانوکود آهن بر رشد برگ، مقدار کربوهیدرات و آنتیاکسیدان‌های پریوش

Catharanthus roseus

مهری عسکری^{*}، محمد رضا امیر جانی و طاهره صابری

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۶/۱۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۲۴)

چکیده:

نانومواد به عنوان یکی از مهم‌ترین ابتکارات علم جدید در نظر گرفته می‌شوند. نانوذرات خیلی واکنش‌پذیر هستند. این خاصیت به میزان زیادی به اندازه (۱ تا ۱۰۰ نانومتر)، سطح بزرگ و محلولیت بالای آنها وابسته است. در بین همه ریزمغذی‌ها، آهن بیشترین مقدار را در گیاهان دارد. آهن بخش کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیا است و برای ستر کلروفیل مورد نیاز است. در این مطالعه، نانو اکسیدآهن در ۶ سطح مختلف (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرولیتر) و محیط غذایی هوگلنده کامل (محتوی کلات آهن) به عنوان شاهد به مدت ۷۰ روز به گیاه پریوش داده شد. نتایج نشان می‌دهد نانوذرات اکسیدآهن باعث افزایش معنی‌دار تمامی پارامترهای رشد برگ و مقدار کربوهیدرات برگ در مقایسه با گیاهان کنترل شده است ولی هیچ اثری بر مقدار پرولین و مقدار آنتیاکسیدان‌ها و تراکم روزنه برگ نداشته است. بیشترین مقدار پارامترهای رشد برگ در سطح ۳۰ نانوذرات اکسیدآهن بدست آمد و کمترین مقدار این پارامترها در سطح ۰ نانوذرات اکسیدآهن بدست آمد. بیشترین مقدار پرولین و فعالیت آنتیاکسیدانتی در سطح صفر ۰ آهن سنجش گردید، از این جهت غلظت صفر ۰ آهن برای گیاه تنفس محسوب می‌شود. بنابراین استفاده از کود نانوذرات اکسیدآهن به دلیل کاهش اثرات مضری که کودهای شیمیایی در محیط دارند پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: آنتیاکسیدان، پارامترهای رشد، پریوش، نانوذرات اکسیدآهن

۶/۳ کمبود شدید ریزمغذی‌ها مثل آهن را نشان می‌دهد
(Thomas *et al.*, 2012)

انتخاب گیاه مناسب با تحمل بالا در خاک‌های قلیایی یکی از راه‌های کاهش کلروفی ناشی از کمبود آهن است. راه‌های دیگر شامل اسیدی کردن خاک (Whiting *et al.*, 2011)، افزودن سولفات‌آهن II به خاک که سبب اسیدی‌شدن خاک شده و حلالیت آهن را افزایش می‌دهد، استفاده از کلات‌آهن (مثل کمپلکس آهن-اتیلن‌دی‌آمین‌تتراستات (Fe-EDTA) می‌باشد. استفاده

مقدمه:

پریوش یا پروانش *Catharanthus roseus* با نام انگلیسی Periwinkle or Vinca یکی از گیاهان زیستی و دارویی مهم مناطق معتدل و گرمسیری، متعلق به خانواده خرزهره، حاوی ۱۳۰ نوع آلکالوئید ایندولی ترپنئوئیدی (TIA) alkaloids indole Terpenoid سرپتین، وین‌بلاستین و وین‌کریستین در برگ است (Aslam *et al.*, 2010; Jaleel *et al.*, 2006). گیاه پریوش به PH خاک بسیار حساس بوده و در PH های بالاتر از

*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: m-askary@araku.ac.ir

(Mazaherinia *et al.*, 2010; Ranjbar and shams 2009) استفاده از نانوذرات اکسید آهن در افزایش غلظت آهن در گیاهان کارآمدتر از کودهای معمولی است. علت این امر، خصوصیات ذرات نانو، یعنی حلالیت بیشتر و سطح تماس بیشتر ذرات نانو با ریشه گیاهان است (Ranjbar and Shams, 2009).

یکی از مشکلات عمدی خاک‌های قلیابی که بخشن عدهای از خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران را تشکیل می‌دهد، کمبود آهن قابل استفاده گیاه به دلیل pH بالای این خاک‌ها می‌باشد (Ksouri *et al.*, 2007; Whiting *et al.*, 2011). با افزایش یک واحد pH، حلایت آهن ۱۰۰۰ برابر کاهش می‌یابد. در این خاک‌ها، کودهای معدنی مشکل کمبود آهن خاک را حل نمی‌کنند (Mazaherinia *et al.*, 2010). از طرفی با توجه به نوظهور بودن فناوری نانو و روند رو به رشد تحقیقات در زمینه نانو کودها، گزارش‌های کمی درباره اثر این نانو کودها در افزایش کمی و کیفی رشد گیاهان موجود می‌باشد. این تحقیق اثرات نانو اکسید آهن بر رشد برگ و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه پریوش که گیاهی دارویی و بسیار حساس به pH خاک و کمبود آهن می‌باشد، را به منظور جایگزینی نانوکود آهن به جای کودهای معمول جهت رفع مشکل کمبود آهن پریوش کشت شده در خاک‌های ایران بررسی می‌کند.

مواد و روش‌ها:

کاشت بذر و نگهداری گیاه: گیاهک‌های ۳ روزه حاصل از جوانه‌زنی بذرهای ضدعفونی شده پریوش به ۲۱ گلدان محتوی خاک و پرلیت (۱:۱) منتقل شدند. خاک استفاده شده، لومی-رسی با $\text{pH}=7/6$ ، میزان نیتروژن 0.03% ، میزان فسفر قابل جذب ppm ۴، میزان پتاسیم قابل جذب ppm ۱۰۰ و ریزمغذی‌های قابل دسترس آهن ppm ۰/۶، روی ppm ۱، مس ppm ۰/۲ و منگنز ppm ۰/۶ اندازه‌گیری شد. پس از پوشاندن روی دانه‌رست‌ها توسط خاک همان

گسترده از کودهای عمومی به خاک، سلامت انسان را به مخاطره می‌اندازد و تغییرات ناخواسته‌ای در اکوسیستم ایجاد می‌کند. در بین تمامی روش‌های استفاده شده، کلات آهن مصنوعی کارآمدتر است ولی اغلب این کلات‌ها هزینه زیادی دارند و از نظر اقتصادی مقرر به صرفه نیستند، بنابراین احتیاج است که این کلات‌ها را با منابع ارزان که از نظر اقتصادی مهم باشند جایگزین شوند (Mazaherinia *et al.*, 2010; Ranjbar and shams 2009) در ضمن افزودن آهن در فرم‌های غیرکلات به خاک‌ها مخصوصاً در خاک‌های آهکی تاثیر زیادی در فراهم آوردن آهن برای گیاه و میکروارگانیسم‌های خاک ندارد. چرا که آهن به سرعت هیدراته شده و به صورت هیدروکسیدهای آهن رسوب می‌کند و قابل استفاده نیست (Banaei *et al.*, 2005).

انجمن رویال انگلستان، فناوری نانو را تحت عنوان طراحی، توصیف، تولید و کاربرد ساختارها، وسائل و سیستم‌هایی که دارای شکل و اندازه‌ای در مقیاس نانو (۱۰۰ نانومتر) هستند، تعریف نموده است. در چنین مقیاسی قوانین طبیعی حاکم بر پدیده‌های فیزیکی و شیمیایی صدق نمی‌کنند (Chinnamuthu and murugesa Boopathi, 2009) یکی از مهمترین کاربردهای فناوری نانو، استفاده از نانوکودها (Nano-fertilizer) برای تغذیه گیاهان می‌باشد. با استفاده از نانوذرات (nanoparticles)، ذراتی که در سه بعد در مقیاس نانو یعنی کوچکتر از 100 nm باشند، می‌توان کودهای کترول شده یا کودهایی با تأخیر در انتشار تولید کرد. نانوذرات به علت سطوح ویژه و بیشتر، چگالی بیشتر، نواحی واکنشی زیاد بر سطوح ذره از واکنش‌پذیری زیادی برخوردار هستند. این ویژگی‌ها، جذب کودها و آفت‌کش‌هایی که در مقیاس نانو تولید شده را آسان می‌سازد (Wiswanathan, 2009). نانوکودها آسان جذب گیاهان می‌شوند و از کودهای شیمیایی کارآمدتر هستند، دوست محیط زیست هستند، آلدگی ندارند، شوری خاک را افزایش نمی‌دهند و کیفیت خاک را افزایش می‌دهند

(GPOX) به روش (Polle *et al.*, 1994) انجام شد. تراکم (adaxial) و زیرین (abaxial) روزندها در دو سطح زیرین (abaxial) و زیرین (adaxial) اپiderم برگ در مساحت mm^2 اشمارش گردید. همچنین اندازه گشودگی دهانه روزنه (برحسب میکرومتر) به وسیله گراتی کیول اندازه گیری گردید (Noori, 2002). کل آزمایشات در سه تکرار و در طرح کاملاً تصادفی انجام شد. جهت آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS16 و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و برای رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده گردید.

نتایج:

نتایج آنالیز واریانس نشان می‌دهد که کاربرد نانوذرات اکسیدآهن بر تمامی شاخص‌های مورد بررسی گیاهان ۷۰ روزه به استثنای تعداد برگ و تراکم روزنه اثر معنی‌داری داشته است (جدول ۱ و ۲). با افزایش میزان نانوذرات اکسید آهن سطح برگ گیاهان تحت تیمار نسبت به شاهد (هوگلنند کامل محتوی کلات آهن) در همه دوره‌های مورد بررسی افزایش یافت. بیشترین میزان سطح برگ (۱۲Cm²) متعلق به گیاهان پریوش ۷۰ روزه تحت تیمار غلظت μl ۳۰ نانوذرات اکسید آهن با ۳۰/۵۲٪ افزایش نسبت به شاهد و کمترین میزان سطح برگ (۸/۵VCm²) در گیاهان پریوش تحت غلظت صفر μl نانوذرات اکسید آهن با ۱۳/۹۵٪ کاهش نسبت به شاهد مشاهده شد. در گیاهان پریوش ۷۰ روزه به ترتیب افزایش ۹/۴۳، ۱۲/۱۵، ۱۲/۳۷ و ۲۹/۵۱ درصدی سطح برگ در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰ و μl ۴۰ نانوذرات اکسید آهن نسبت به شاهد مشاهده شد. سطح برگ در گیاهان ۳۶ روزه (وسط دوره رشد) تحت غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و μl ۴۰ نانوذرات اکسید آهن به ترتیب افزایش ۲۶/۴۱، ۳۱/۶۰، ۳۱/۸۷، ۳۳/۸۷ و ۵۳/۹۷ و ۵۲/۵۱ درصدی را نسبت به شاهد نشان دادند. شکل ۱ روند تغییرات سطح برگ گیاهان پریوش تحت تیمار غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسید آهن (صفر، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و μl ۴۰) نسبت به

گلدان، آبیاری با ۱۰۰ ml محلول هوگلنند کامل (محتوی کلات آهن برای گلدان‌های شاهد) و یا ۱۰۰ ml محلول هوگلنند فاقد کلات آهن و محتوی سطوح مختلف نانوذرات اکسید آهن (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرومولار) (Adamski *et al.*, 2012; Dokhe *et al.*, 2013) گلدان‌ها در شرایط گلخانه در درجه حرارت ۲۵°C در ۲۰°C در شب و دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتند. آبیاری هر هفته تا ۷۰ روز به میزان ۱۰۰ml محلول هوگلنند کامل (شاهد) یا محلول هوگلنند فاقد کلات آهن و محتوی سطوح مختلف نانوذرات اکسید آهن صورت گرفت. در صورت نیاز در طول هفته ۵۰ml از همان محلول‌ها به هر گلدان به طور یکسان افزوده گردید. صفر نانو در واقع هیچ آهنی (نه نانو و نه کلات آهن) در کل دوره ۷۰ روز دریافت نکرده است. تهیه و نحوه اعمال تیمار نانوذرات اکسید آهن: نانوذرات اکسید آهن (Fe_2O_3) که رنگ آن قرمز مایل به قهوه‌ای است، از شرکت پیشگامان نانو مواد مشهد تهیه شد. سطوح مختلف نانوذرات اکسید آهن طبق روش (Prasad *et al.*, 2012) آماده شدند.

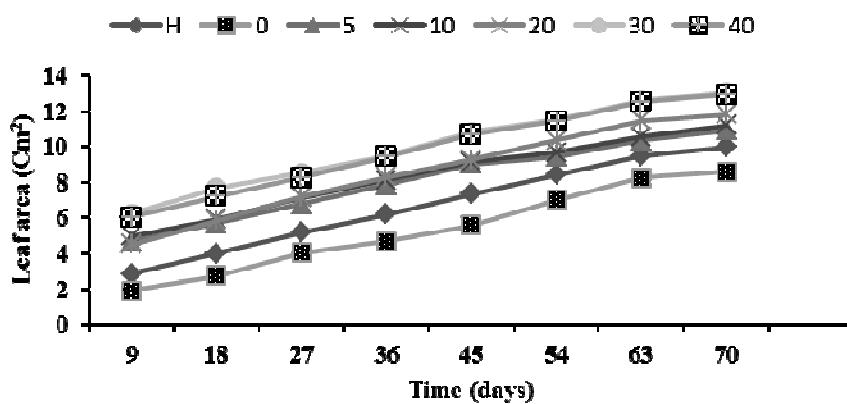
شاخص‌های مورد بررسی: از ابتدای کشت گیاهان، هر نه روز یکبار (روزهای ۱۸، ۲۷، ۳۶، ۴۵، ۵۴، ۶۳ و ۷۰)، سطح و تعداد برگ برای سه گیاه از هر تیمار اندازه گیری شد. در روز برداشت (روز ۷۰) وزن تر و خشک برگ سه گیاه از هر تیمار نیز اندازه گیری شد. برای اندازه گیری پرولین از روش (Bates *et al.*, 1973)، مقدار کربوهیدرات کل از روش فنل سولفوریک اسید (Dubois *et al.*, 1956) مقدار کمی آنتی اکسیدانت‌های کل ۱٪ با آزمون مهار رادیکال آزاد ۱ و ادی فنیل-۲-پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) توسط عصاره آنزیمی و IC₅₀ به روش Abe و همکاران (۱۹۹۸) استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دی‌سیموتاژ SOD به روش (Giannopolitis and Ries, 1977) کاتالاز CAT به روش (Cakmak and Marschner, 1992) و گایاکول پراکسیداز

جدول ۱- آنالیز واریانس اثر سطوح مختلف نانوذرات اکسید آهن (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرولیتر) و هوگلنده کامل (محتوی کلات آهن) به عنوان شاهد بر شاخص‌های رشد برگ، تراکم و دهانه روزنه در اپیدرم فوکانی (ad) و تحاتانی (ab) برگ گیاه پریوش ۷۰ روزه. مقایسه برای هر شاخص جداگانه انجام شده است.

منع تغییر	نانوذرات	تعداد برگ	سطح برگ Cm ²	وزن برگ	دهانه روزنه	تراکم روزنه	(ab)	(ad)	(ab)	(ad)	خشک	تر	
** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست		** : معنی دار در سطح ۰.۵ ns : معنی دار نیست		** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست		** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست		** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست		** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست		** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست	

جدول ۲- آنالیز واریانس اثر سطوح مختلف نانوذرات اکسید آهن (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرولیتر) و هوگلنده کامل (محتوی کلات آهن) به عنوان شاهد بر میزان پرولین، کربوهیدرات، JC50 درصد مهار رادیکال آزاد % و فعالیت سوپراکسیدیسموتاز SOD، گایاکولپراکسیداز GPX و کاتالاز CAT پریوش ۷۰ روزه. مقایسه برای هر شاخص جداگانه انجام شده است.

منع تغییر	نانوذرات	کربوهیدرات	پرولین	JC50	I%	SOD	GPX	Catalase	
** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست		** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست		** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست		** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست		** : معنی دار در سطح ۰.۱ ns : معنی دار نیست	



شکل ۱- تاثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید آهن (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرولیتر) و محیط غذایی هوگلنده کامل H به عنوان شاهد (محتوی کلات آهن Fe-EDTA بدون نانوذرات اکسید آهن) بر سطح برگ گیاهان پریوش ۹ تا ۷۰ روزه نسبت به زمان. هر منحنی نشان‌دهنده تغییرات سطح برگ در یک غلظت خاص نانوذرات اکسید آهن یا هوگلنده می‌باشد.

گرفته‌اند. در تمامی دوره‌های رشدی مورد بررسی کمترین مقدار سطح برگ مربوط به غلظت صفر μl نانوذرات اکسید آهن می‌باشد که هیچگونه ریزمغذی آهنه‌ی دریافت نکرده است. در تمامی دوره‌های رشدی، میزان سطح برگ گیاهان شاهد از تمامی تیمارهایی که نانوذرات اکسید آهن دریافت کرده‌اند کمتر است. یعنی حتی غلظت $5 \mu\text{l}$

گیاهان شاهد و طی دوره‌های مختلف رشدی (۹، ۱۸، ۲۷، ۳۶، ۴۵، ۵۴، ۶۳ و ۷۰ روزه) را نشان می‌دهد. سطح برگ در تمامی دوره‌های رشد در تمامی غلظت‌های نانوذرات و کلات آهن سیر صعودی دارد. بیشترین میزان سطح برگ در تمامی دوره‌ها به ترتیب مریبوط به گیاهانی است که تحت تیمار غلظت $30 \mu\text{l}$ نانوذرات اکسید آهن قرار

غلظت $30\text{ }\mu\text{l}$ نانوذرات اکسیدآهن و کمترین میزان کربوهیدرات ($6\text{ }\mu\text{g/ml}$ وزن تر برگ) در گیاهانی که هیچ آهنه دریافت نکرده‌اند $30\text{ }\mu\text{l}$ مشاهده شد. در این گیاهان، مقدار کربوهیدرات برگ تنها 0.93 g مقدار کربوهیدرات برگ گیاه شاهد است. در گیاهان تحت غلظت‌های $5\text{ }\mu\text{l}$, $10\text{ }\mu\text{l}$, $20\text{ }\mu\text{l}$ و $40\text{ }\mu\text{l}$ نانوذرات اکسیدآهن به ترتیب افزایش 1.08 g , 1.11 g , 1.18 g و 1.19 g برابری کربوهیدرات نسبت به شاهد ($6\text{ }\mu\text{g/ml}$ وزن تر برگ) مشاهده شد (شکل ۳).

بیشترین میزان توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH در گیاهانی که هیچ آهنه دریافت نکرده‌اند (غلظت صفر μl) با 6% افزایش نسبت به شاهد مشاهده شد. در بررسی خاصیت آنتیاکسیدانی با استفاده از آزمون DPPH میزان IC_{50} (غلاظتی از عصاره که 50% رادیکال‌های DPPH را مهار و تخریب می‌کند) هم مورد بررسی واقع شد. مقایسه میانگین‌های اثر نانوذرات اکسیدآهن بر میزان IC_{50} بیانگر این است که کمترین میزان IC_{50} (12.34 mg/ml) در گیاهانی که هیچ نوع ریزمندی آهنه دریافت نکرده‌اند (غلظت صفر μl) با کاهش $31/11$ درصدی نسبت به شاهد وجود دارد. اما در گیاهانی که تحت غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدآهن قرار گرفته‌اند هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری در میزان IC_{50} و IC_{50} نسبت به گیاهان شاهد مشاهده نشد (جدول ۲). بیشترین میزان فعالیت GPOX ($12.54\text{ unit mg}^{-1}$ protein) SOD ($20.29\text{ unit mg}^{-1}$ protein) و فعالیت CAT ($9.68\text{ }\mu\text{mol mg}^{-1}$ protein min^{-1}) و فعالیت $SOD(\text{صفر }\mu\text{l})$ فعالیت سوپراکسیدیسموتاز (GPOX و کاتالاز CAT) نسبت به گایاکول‌پراکسیداز گیاهان شاهد به ترتیب افزایش $35/63$, $42/32$ و $42/32$ درصدی یافتند، اما در گیاهان تحت غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدآهن تغییر معنی‌داری در فعالیت این.

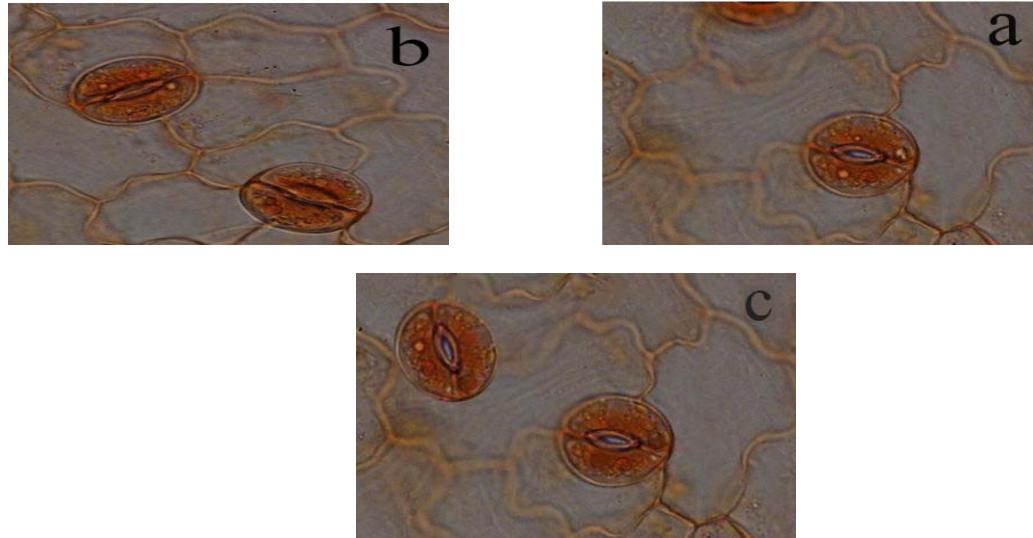
نانوذرات اکسیدآهن از شاهد که کلات‌آهن دریافت نموده رشد بیشتری در تمام دوره مورد بررسی نشان داده است. بین غلظت $30\text{ }\mu\text{l}$ و $40\text{ }\mu\text{l}$ نانوذرات اکسیدآهن اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

وزن تر و خشک برگ با افزایش غلظت نانوذرات اکسیدآهن (از $5\text{ }\mu\text{l}$ تا $30\text{ }\mu\text{l}$) افزایش معنی‌داری را نسبت به گیاهان شاهد نشان داد، به طوری که بیشترین وزن تر و خشک برگ در غلظت $30\text{ }\mu\text{l}$ نانوذرات اکسیدآهن مشاهده گردید. بین وزن تر و خشک برگ گیاهان تحت تیمار $30\text{ }\mu\text{l}$ و $40\text{ }\mu\text{l}$ نانوذرات اکسیدآهن تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود. وزن تر برگ گیاهان تحت تیمار غلظت‌های $20\text{ }\mu\text{l}$ و $30\text{ }\mu\text{l}$ اکسیدآهن به ترتیب $48/64\%$ و $10.8/11\%$ افزایش و وزن خشک برگ $8/80\%$ و $13.7/14\%$ افزایش را نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند. کاهش وزن تر و خشک برگ گیاهان صفر μl به ترتیب $37/83\%$ و $31/42\%$ نسبت به گیاهان شاهد محاسبه شده است. گشودگی دهانه روزنه هم در اپیدرم فوکانی و هم در اپیدرم تحتانی گیاهانی که هیچ گونه ریزمندی آهنه دریافت نکرده‌اند (صفر μl) نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی‌داری یافته است، به طوری که این کاهش در اپیدرم فوکانی $21/55$ درصد و در اپیدرم تحتانی $20/29$ درصد محاسبه شده است. اما گیاهان تحت غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدآهن تغییر معنی‌داری در گشودگی دهانه روزنه نسبت به گیاهان شاهد نشان نمی‌دهند (جدول ۳ و شکل ۲).

در برگ گیاهان تحت غلظت $30\text{ }\mu\text{l}$ آهن افزایش معنی‌دار $5/3$ برابری، در میزان پرولین نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. بین میزان پرولین برگ گیاهان تحت سطوح مختلف نانوذرات اکسیدآهن نسبت به گیاهان شاهد تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳). با افزایش غلظت نانوذرات اکسیدآهن (از $5\text{ }\mu\text{l}$ تا $30\text{ }\mu\text{l}$) میزان کربوهیدرات گیاه افزایش پیدا کرد. بیشترین میزان کربوهیدرات ($19.35\text{ }\mu\text{g/ml}$ وزن تر برگ) در گیاهان تحت

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های تاثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید آهن (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرومتر) و محیط هوگلنند کامل (محتوی کلات آهن) به عنوان شاهد بر وزن تر برگ LFW و وزن خشک برگ LDW (گرم)، گشودگی دهانه روزنه SO (μm) در اپیدرم فوکانی ab و تحتانی ad برگ، توانایی مهار رادیکال آزاد I% و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی کل (IC₅₀ (mg/ml) گیاهان پریوش ۷۰ روزه. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها مطابق آزمون دانکن است. هر عدد جدول میانگین ۳ تکرار \pm SE است. مقایسه برای هر ردیف جداگانه انجام شده است.

غلهای مختلف نانوذرات اکسید آهن (میکرومتر)							شاهد	شاخص
۴۰	۳۰	۲۰	۱۰	۵	۰			
۰/۷۲ ^a \pm ۰/۰۴	۰/۷۷ ^a \pm ۰/۰۶	۰/۵۶ ^b \pm ۰/۰۲	۰/۰۵ ^b \pm ۰/۰۱	۰/۴۶ ^{bc} \pm ۰/۰۴	۰/۲۳ ^d \pm ۰/۰۲	۰/۳۷ ^c \pm ۰/۰۵	LFW	
۰/۰۸۱ ^a \pm ۰/۰۰۱	۰/۰۸۳ ^a \pm ۰/۰۰۴	۰/۰۶۵ ^b \pm ۰/۰۰۲	۰/۰۶۳ ^b \pm ۰/۰۰۱	۰/۰۵۱ ^c \pm ۰/۰۰۵	۰/۰۲۴ ^e \pm ۰/۰۰۲	۰/۰۳۵ ^d \pm ۰/۰۰۱	LDW	
۱۰/۰۷ ^a \pm ۰/۲۸	۱۰/۰۳۸ ^a \pm ۰/۶۸	۱۰/۰۳۵ ^a \pm ۰/۴۶	۱۰/۰۲۴ ^a \pm ۰/۶۴	۱۰/۰۳۹ ^a \pm ۰/۶۲	۷/۰۹۷ ^b \pm ۰/۲۳	۱۰/۱۶ ^a \pm ۰/۰۴	SO (ab)	
۱۲/۰۸ ^a \pm ۰/۱۱	۱۱/۰۹۱ ^a \pm ۰/۳۱	۱۲/۰۰ ^a \pm ۰/۲۱	۱۱/۰۵۸ ^a \pm ۰/۱۶	۱۱/۰۷۸ ^a \pm ۰/۳۰	۹/۰۲۳ ^b \pm ۰/۱۰	۱۱/۰۸۶ ^a \pm ۰/۲۸	SO (ab)	
۶/۰۸۱ ^b \pm ۰/۴۳	۶/۰۶۹ ^b \pm ۰/۳۹	۶/۰۷۷ ^b \pm ۰/۲۴	۶/۰۶۶ ^b \pm ۰/۱۴	۶/۰۷۳ ^b \pm ۰/۳۲	۱۰/۰۱۵ ^a \pm ۰/۱۹	۶/۰۵۶ ^b \pm ۰/۲۹	I%	
۱۶/۰۸۰ ^a \pm ۰/۸۳	۱۶/۰۵۲ ^a \pm ۰/۲۹	۱۶/۰۷۱ ^a \pm ۰/۳۵	۱۶/۰۴۲ ^a \pm ۰/۶۱	۱۶/۰۹۱ ^a \pm ۰/۹۲	۱۲/۰۳۴ ^b \pm ۰/۸۰	۱۶/۰۱۸ ^a \pm ۰/۷۵	IC ₅₀	

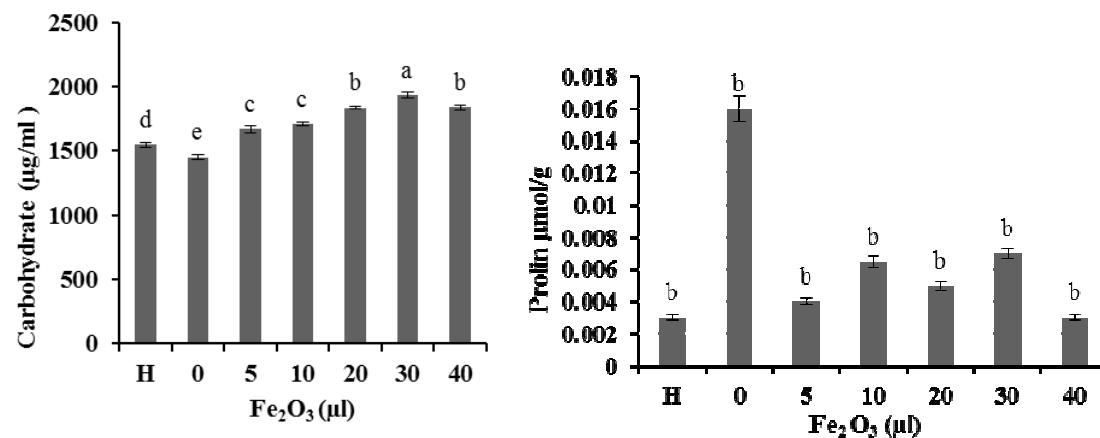


شکل ۲- تغییرات میزان گشودگی دهانه روزنه (100: ob) در اپیدرم فوکانی در گیاه پریوش ۷۰ روزه. a) میزان گشودگی دهانه روزنه گیاه شاهد (هوگلنند کامل محتوی کلات آهن)، b) میزان گشودگی دهانه روزنه گیاه تحت غله ۰ نانوذرات اکسید آهن و c) میزان گشودگی دهانه روزنه گیاه تحت غله ۳۰ نانوذرات اکسید آهن.

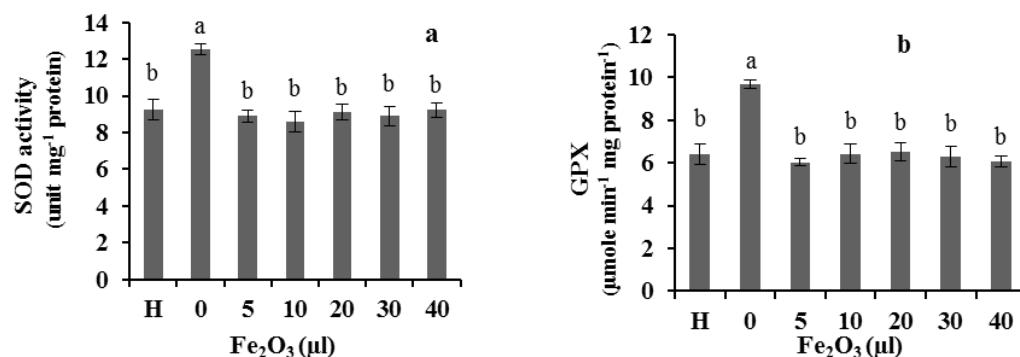
آنژیم‌ها نسبت به گیاهان شاهد مشاهده نشده است با افزایش غله ۵ تا ۴۰ μm (شکل ۴)

افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد برگ مشاهده گردید. بیشترین میزان افزایش متعلق به گیاهان تحت تیمار غله ۳۰ μm نانواکسید آهن بود. نتایج مشابه توسط محققین مختلف گزارش شده است. در مطالعه‌ای که گیاه ریحان مختلط گزارش شده است. در مطالعه‌ای که گیاه ریحان ۳۰ μm نانواکسید آهن بود. نتایج مشابه توسط محققین

بحث: در این تحقیق کاربرد نانوذرات اکسید آهن تغییرات معنی‌داری بر شاخص‌های رشدی گیاه پریوش ایجاد کرد.



شکل ۳- تاثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید آهن (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرولیتر) و محیط غذایی هوگلنده H کامل به عنوان شاهد (محتوی کلات آهن Fe-EDTA بدون نانوذرات اکسید آهن) بر میزان پرولین و کربوهیدرات گیاه پریوش ۷۰ روزه. خطوط نشان‌دهنده خطا استاندارد (SE) و حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی دار بودن براساس آزمون دانکن (سطح ۰/۰۱) می‌باشد.



شکل ۴- تاثیر سطوح مختلف نانوذرات اکسید آهن (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میکرولیتر) و محیط غذایی هوگلنده H کامل به عنوان شاهد (محتوی کلات آهن بدون نانوذرات اکسید آهن) بر میزان فعالیت آنتی اکسیدان های گیاه پریوش ۷۰ روزه. (a) سوپراکسید دیسموتاز، (b) گایاکول پراکسیداز و (c) کاتالاز. خطوط نشان‌دهنده خطا استاندارد (SE) و حروف غیر مشابه نشان‌دهنده معنی دار بودن براساس آزمون دانکن می‌باشد.

از غشاهای سلولی عبور می‌کنند (Krystofova *et al.*, 2013). بنابراین ترکیبات نانوآهن به علت کوچک بودن و حلالیت بالا سریعتر توسط گیاهان جذب می‌شوند و کمبود مواد غذایی و نیازهای گیاهان را رفع می‌کنند. بنابراین در کاربرد این مواد معمولاً افزایش رشد گیاه رخ می‌دهد (Mohamadipoor *et al.*, 2013). بررسی نتایج مطالعه حاضر همچنین نشان داد که با افزایش غلظت نانوآهن از ۵ تا ۳۰ μM میزان جذب آهن توسط گیاه تا ۷۰٪ افزایش نسبت به شاهد صفر μM پیدا کرد و بیشترین میزان جذب آهن در غلظت $30 \mu\text{M}$ نانوآهن مشاهده شد (صابری، ۱۳۹۲). استفاده از کودهای نانو منجر به افزایش کارایی عناصر، کاهش سمیت خاک، به حداقل رسیدن اثرات منفی ناشی از مصرف بیش از حد کودهای شیمیایی و (Mohamadipoor *et al.*, 2013). محققین مطرح نمودند که کود نانوآهن به خاطر ثبات بالای آن و آزادسازی تدریجی آهن در یک محدوده وسیع pH (۳ تا ۱۱) می‌تواند به عنوان یک منبع غنی و قابل اعتماد از آهن دو ظرفیتی برای گیاه در نظر گرفته شود (Moghadam *et al.*, 2012).

در این تحقیق، در گیاهانی که هیچ نوع ریزمغذی آهنی (صفر μM) دریافت نکردنده کاهش معنی‌دار میزان پارامترهای رشد از جمله سطح برگ، وزن تر و خشک برگ مشاهده شد. کمبود آهن یک تنفس غیرزیستی محسوب می‌شود که بسیاری از گیاهان را در مناطق جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد. این تنفس اغلب در گیاهانی که در خاک‌های قلیابی و یا آهکی رشد می‌کنند، مشاهده می‌شود (Fernandez *et al.*, 2008). کمبود آهن باعث می‌شود که کلروفیل در مقادیر کافی تولید نشود. کاهش کلروفیل در نتیجه فتوستتر و کاهش تولید فتوسترات‌های منجر به کاهش فتوستتر و نمو گیاه مثل کاهش رشد برگ می‌شود (Mohamadipoor *et al.*, 2013).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که گشودگی دهانه روزنه در هر دو سطح برگ گیاهان پریوش که آهن

مختلف گزارش شده است. در مطالعه‌ای که گیاه ریحان *Ocimum basilicum* کود کلات‌آهن (۱/۵، ۴/۵ و ۷/۵ Kg.ha^{-1}) و نانوکود کلات‌آهن (۱، ۳ و ۵ Kg.ha^{-1}) قرار گرفت، بررسی‌ها نشان داد که پارامترهای رشد گیاه در معرض کلات‌آهن نشان داد که پارامترهای رشد گیاه در معرض کلات‌آهن $7/5\text{Kg.ha}^{-1}$ و نانوکود آهن 1Kg.ha^{-1} نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافته است. بیشترین میانگین وزن تر و خشک برگ‌ها در تیمار نانوکود کلات‌آهن مشاهده شد. نتایج فوق نشان داد که جایگزینی کود آهن تهیه شده با فناوری نانو در مقایسه با کودهای آهن رایج در غلظت مناسب یا کمتر نسبت به کود آهن می‌تواند سبب افزایش رشد گیاه ریحان شود (Peyvandi *et al.*, 2011b). بررسی اثرات نانو اکسید آهن (Fe_2O_3) بر روی شاخص‌های رشد گیاه بادام زمینی، افزایش تمامی شاخص‌های رشد در اثر کاربرد نانوکسید آهن را نشان دادند (Xiu-mei *et al.*, 2005). در مطالعه‌ی اثر نانوکود آهن بر گیاه برنج، نتایج نشان داد که نانو آهن بر تمامی شاخص‌های رشدی گیاه به استثنای وزن هزار دانه اثر مثبت معنی‌داری داشته است (Baghaie *et al.*, 2011). همچنین سطح برگ در گیاه اسفناج *Spinacia oleracea* در اثر به کارگیری کود نانوآهن نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد (Moghadam *et al.*, 2012). اسپری نانوآهن بر روی برگ‌های گیاه چند رند سبب افزایش وزن، طول و عرض برگ در تمامی مراحل رشد گیاه شد (Mazlomi-Mamyandi *et al.*, 2012a,b). فیزیکی ثابت و پایدار نانوذرات به اندازه‌ی آن‌ها (۱ nm تا ۱۰۰ nm)، سطح بزرگ و محلولیت بالای آن‌ها وابسته است (Krystofova *et al.*, 2013; Sheykhbaglou *et al.*, 2010). مواد نانو مخصوصاً نانوذرات می‌توانند به مولکول‌های فعال بیولوژیکی مختلف متصل شوند که این اتصال می‌تواند به طور مستقیم به مکان‌های خاص درون بیومولکول‌ها شامل پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و ساختارهای زیرسلولی صورت بگیرد و بدین طریق نانوذرات

معنی دار میزان پرولین گیاه را در اثر کمبود آهن نشان داد (Fisichella *et al.*, 1998). در اکثر گیاهان میزان پرولین در تش‌های زیستی و غیرزیستی افزایش می‌یابد (Tan *et al.*, 2008). بنابراین کمبود آهن به عنوان یک تش عمل کرده و سبب افزایش محتوای پرولین در گیاه شده است (Fisichella *et al.*, 1998). در این مطالعه میزان پرولین در گیاهان تحت غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدآهن تغییر معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد نداشت، از آنجا که گیاهان در مقابل تش‌های اکسیداتیو، انواع آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی مثل پرولین را تولید می‌کنند (Kosova *et al.*, 2011)، بنابراین هیچ یک از سطوح نانو اکسیدآهن که در این مطالعه استفاده شده برای پریوش تش نبوده است.

نتایج بررسی حاضر نشان داد که با افزایش غلظت نانو اکسید آهن (از ۵ تا $30 \mu\text{M}$) میزان کربوهیدرات گیاه نیز افزایش پیدا کرد و بیشترین میزان کربوهیدرات در غلظت $30 \mu\text{M}$ نانو اکسید آهن و کمترین میزان در گیاهانی که هیچ نوع آهنه دریافت نکردنده مشاهده شد. در بررسی محتوای قندی گیاه چغندرقند در معرض کمبود آهن نیز کاهش $4/6$ برابری مقدار سوکروز مشاهده شد (Lo pez-Millan *et al.*, 2001) *Vitis labruscan* در معرض کمبود آهن، کاهش محتوای کربوهیدراتات کل گزارش شد. کاهش محتوای کربوهیدراتات در این گیاه می‌تواند به کاهش میزان نشاسته و سوکروز برگرددد. در شرایط کمبود آهن دیده شده که میزان سترز نشاسته و سوکروز به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. کاهش در میزان این ترکیبات می‌تواند به علت کاهش محتوای کلروفیل و به دنبال آن کاهش میزان فتوستتر باشد. همچنین نتایج بررسی میزان کربوهیدراتات کل در گیاه انگور تحت غلظت‌های مختلف آهن ($1, 10, 20, 50$ و $100 \mu\text{M}$) نشان داد که با افزایش غلظت آهن، مقدار کربوهیدراتات افزایش معنی‌داری یافت (Chen *et al.*, 2004). مطالعات مختلف نشان داده که کمبود آهن سبب برهم

دریافت نکرده‌اند (صفر μM) نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی‌داری یافت. اما گیاهان تحت غلظت‌های مختلف نانوذرات اکسیدآهن تغییر معنی‌داری در گشودگی دهانه روزنه نسبت به گیاهان شاهد نشان ندادند. یعنی تنها غلظت صفر μM آهن برای گیاه پریوش تش بوده است و سایر غلظت‌های نانوآهن برای گیاه تش نبوده است. در مطالعه گیاه هلو (*Prunus persica*) تحت کمبود آهن نیز گشودگی دهانه روزنها نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی‌داری یافت (Fernandez *et al.*, 2008). براساس گزارش Shimshi (۱۹۶۷) کمبود آهن القا شده در گیاه بادامزمینی سبب کاهش قابل توجه میزان گشودگی روزن‌های برگ شد ولی تراکم روزنه تغییری نیافت. در کمبود آهن علاوه بر کاهش کلروفیل، میزان نفوذپذیری برگ نیز کاهش می‌یابد که این موارد سبب ایجاد کلروز در برگ می‌شود. کلروز ناشی از کمبود آهن، نوعی تش غیرزیستی برای گیاه محسوب می‌شود و سبب کاهش میزان گشودگی روزنها می‌شود. ولی مطالعات نشان داده که کاهش نفوذپذیری برگ در تراکم روزنه اثری ندارد، به طوری که برگ‌های کلروزه عموماً تراکم روزن‌های یکسانی نسبت به برگ‌های شاهد دارند (Eichert *et al.*, 2009; Shimshi, 1967) با اغلب تش‌ها، در گیاهان با ترشح ترکیباتی مانند هورمون آبسیزیک‌اسید، کاهش گشودگی دهانه روزنها رخ می‌دهد. آبسیزیک‌اسید با اثر بر روی پمپ H^+ ATPase پلاسمالی تبادلات H^+/K^+ را تضعیف می‌کند و باعث کاهش فعالیت آنزیم سفوانولپیروات می‌شود و در نتیجه باعث کاهش فشار تورگور سلول‌های نگهبان روزن، کاهش گشودگی دهانه روزنه و در نهایت بسته شدن دهانه روزنها می‌گردد (Zhang *et al.*, 2001).

نتایج مطالعه حاضر افزایش معنی‌دار ($4 \mu\text{M}$ برابری) میزان پرولین گیاهان تحت غلظت صفر μM نانو اکسیدآهن را نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. در مطالعه‌ی اثر کمبود آهن بر روی گیاه نارنج (*Citrus aurantium*، نتایج افزایش

پروتئین‌ها و پراکسیداسیون لیپیدها، روی بسیاری از جنبه‌های عملکردی سلول‌ها اثر می‌گذارند (Foyer and Noctor, 2005).

گیاهان در مقابل تنفس‌های محیطی، سازوکارهای متعدد دفاعی دارند. تولید انواع مختلف متابولیت‌های ثانویه ابزاری جهت غلبه به تنفس، تحمل تنفس و سازش به شرایط تنفسی محیط و بنابراین بقاء گیاه در برابر تنفس است (Vasconsuelo and Boland 2007). متابولیت‌های ثانویه مثل انواع آنتی‌اکسیدانت‌ها نقش اصلی را در سازش گیاهان به تغییرات محیطی و تنفس‌ها فراهم می‌کنند. سیستم دفاعی گیاهان در برابر ROS ها تولید انواع آنتی‌اکسیدانت‌ها می‌باشد (Liu, et al., 2006; Kosova et al., 2011). در این مطالعه بیشترین مقدار فعالیت سه آنزیم آنتی‌اکسیدانت یعنی سوپراکسید دیسموتاز، کایاکول پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان پریوشی که هیچ آهنی دریافت نکردن (غلظت صفر) مشاهده شد و مقدار فعالیت هر سه آنزیم فوق در گیاهانی که تحت غلظت‌های مختلف نانواکسید آهن قرار گرفتند کمتر از غلظت صفر اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف کود کلات-آهن (۱/۵، ۴/۵ و ۵ Kg.ha^{-۱}) و نانوكود کلات-آهن (۱، ۳ و ۷/۵ Kg.ha^{-۱}) بر ریحان *Ocimum basilicum* نیز کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله کاتالاز و پراکسیداز را در گیاهانی که تحت تیمار نانوكود آهن قرار گرفتند در مقایسه با شاهد نشان داد (Peyvandi et al., 2011 b). در همین سطوح کلات آهن و نانوكود آهن، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نسبت به شاهد در گیاه *Satureja hortensis* گزارش شده است که با افزایش غلظت کود آهن و نانوآهن از میزان فعالیت آنزیم‌ها کاسته شده است (Peyvandi et al., 2011 a). محققین معتقدند که ترکیبات نانوآهن به علت کوچک بودن و حلالیت بالا سریعتر توسط گیاهان جذب می‌شوند و کمبودهای مواد غذایی و نیازهای گیاهان را برطرف می‌کنند. بنابراین با کاربرد این مواد شرایط بهینه برای رشد گیاه ایجاد می‌شود و از ایجاد

خوردن تعادل غذایی و تغییر میزان عناصر موجود در گیاه می‌شود و اختلال در رشد گیاه را ایجاد می‌کند (Pestana et al., 2004; 2005). این اثرات در نهایت سبب تخلیه کربوهیدرات و ذخایر آهن و ایجاد تنفس برای گیاه می‌شوند (Alvarez-Fernandez et al. 2006). محتوای کربوهیدرات در گیاه چغتارقدن ۸۰ روزه که تحت تیمار اسپری غلظت‌های مختلف نانوآهن (۱، ۲، و ۳ g/l) قرار گرفتند، نشان داد که میزان کربوهیدرات در غلظت‌های ۱ و ۲ g/l نانوآهن افزایش یافت ولی در غلظت ۳ g/l کاهش معنی‌داری را نشان داد (Mazlomi-Mamyandi et al., 2012a). محققین مطرح نمودند که مقادیر بالا و سمی آهن با افزایش تنفس نوری و متابولیسم گیاه برای مقابله با تولید رادیکال‌های آزاد همراه است که همین علت کاهش قندها در هنگام تنفس سمیت آهن است (Kampfenkel and Montagu 1995). یتابراین هیچ یک از سطوح نانواکسید آهن استفاده شده در این تحقیق در حد سمیت نبوده است زیرا در هیچ یک از سطوح نانو اکسید آهن مورد استفاده، مقدار کربوهیدرات‌های گیاه پریوش کاهش را نشان نمی‌دهد. نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین میزان توانایی مهار رادیکال آزاد I% و کمترین میزان IC₅₀ غلظتی از عصاره که ۱۵۰ μM رادیکال‌های DPPH را مهار و تخریب کند، مربوط به گیاهانی است که هیچ آهنی (غلظت صفر ۱μM) دریافت نکرده‌اند. این نشان‌دهنده‌ی این است که گیاهانی که هیچ آهنی (کلات‌آهن یا نانوآهن) دریافت نکرده‌اند (غلظت صفر ۱μM) تحت شرایط تنفسی قرار گرفته‌اند. بررسی فعالیت تخریب رادیکال‌های آزاد در گیاه توت‌فرنگی در معرض کمبود آهن نیز کاهش معنی‌دار میزان IC₅₀ را نسبت به شاهد نشان داد. کاهش در میزان IC₅₀ نشان‌دهنده‌ی افزایش مقدار و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در این گیاه می‌باشد (Pestana et al., 2010). به طور کلی میزان تولید گونه‌های فعال و واکنش‌گر اکسیژن ROS تحت شرایط نامساعد محیطی و تنفس‌های مختلف افزایش می‌یابد. ROS ها با تخریب نوکلئیک اسیدها، اکسیداسیون

(Adamski *et al.*, 2012; Walker and Connolly, 2008) بنابراین هیچ یک از غلظت‌های مورداستفاده نانوآهن در این تحقیق برای پریوش سمی نیست.

نتیجه‌گیری کلی:

این نتایج نشان می‌دهد که کود آهن تهیه شده با فناوری نانو حتی در غلظت‌های کم ($5\mu\text{l}$) هم می‌تواند سبب افزایش رشد گیاه پریوش شود و هیچ یک از غلظت‌های نانو اکسیدآهن استفاده شده در این تحقیق (۵ تا ۴۰ میکرولیتر) برای گیاه پریوش سمی نیست.

هرگونه شرایط تنشی در گیاه جلوگیری می‌شود (Mohamadipoor *et al.*, 2013) که تحت غلظت‌های مختلف نانوکسید آهن قرار گرفته تغییر معنی‌داری در میزان $\text{IC}_{50}\%$ و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و کاتالاز نسبت به گیاهان شاهد نشان ندادند. با توجه به اینکه هم کمبود و هم تجمع و انباشت زیاد آهن (سمیت آهن) با بالا رفتن واکنش‌های فتوون همراه است که منجر به تولید مقادیر بالایی از رادیکال سمی هیدروکسیل و دیگر اشکال گونه‌های واکشگر اکسیژن آزاد می‌شود، یعنی غلظت‌های سمی آهن نیز مانند کمبود آن در گیاهان تشن اکسیداتیو ایجاد می‌کند

منابع:

- Chabri, ط. (۱۳۹۲) مطالعه تاثیر نانو ذرات اکسیدآهن بر رشد و فیزیولوژی گیاه پریوش *Catharanthus roseus*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه اراک، اراک، ایران.
- Abe, N., Murata, T. and Hirota, A. (1998) Novel 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 62: 61-662.
- Adamski, J. M., Danieloski, R., Deuner, S., Braga, E. J. B., De Castro, L. A. S. and Peters, J. A. (2012) Responses to excess iron in sweet potato: impacts on growth, enzyme activities, mineral concentrations, and anatomy. *Acta Physiologiae Plantarum* 34: 1827-1836.
- Alvarez-Fernandez, A., Abadia, J., Abadia, A. (2006) Iron deficiency, fruit yield and fruit quality. In: Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Developments in plant and soil sciences. (eds. Barton, L. L. and Abadia, J.) Pp. 437-448. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Aslam, J., Haque Khan, S. and Siddiqui, ZH. (2010) *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. An important drug: its applications and production, *Pharmacie Globale*, India. 4: 1-16.
- Baghaie, N., Keshavarz, N., Nazaran, M. H. (2011) 1th National Conference on new topics in agriculture, 8-10 November, University of Saveh, Iran, Saveh.
- Banaei, M. H., Moameni, A., Baybordi, M. and Malakouti, M. I (2005) The Soils of Iran, new achievements in perception. Managements and use. Sana publication, Tehran, Iran.
- Bates, L. S., Waldron, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studied. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Cakmak, I. and Marschner, H. (1992); Manesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, USA. 98:1222-1227.
- Chen, L., Smith, B. R. and Cheng, L. (2004) CO_2 assimilation, photosynthetic enzymes and carbohydrates of 'Concord' Grap Leaves in response to Iron Supply. *American Society for Horticulture Science* 129: 738-744.
- Chinnamuthu, C. R. and Murugesa Boopathi, P. (2009) Nanotechnology and Agroecosystem. *Madras Agricultural journal* 96: 17-31.
- Dokhe, S. A., Mahajan, P., Kamble, R. and Khanna, A. (2013) Effect of nanoparticles suspension on the growth of mung (*Vigna radiata*) seedlings by foliar spray method. *Nanotechnology Development* 3: 1-5.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical chemistry* 28: 350-356.
- Eichert, T., Peguero-Pina, J. J., Gil-Pelegrin, E. and Fernandez, V. (2009) Effects of Fe-chlorosis on the stomatal behaviour and water relations of field-grown peach leaves. The Proceedings of the International Plant Nutrition Colloquium XVI. paper 1335 (XVI International Plant Nutrition Colloquium, Sacramento.

- efficiency on Fe, Mn, Zn and Cu concentrations in wheat plant. World Applied Sciences 7: 36-40.
- Mazlomi-Mamyandi, M., Pirzad, A. and Zardoshti, M. R. (2012a) Allocation ratio of photosynthate to different parts of sugar beet plant affected by nano-iron foliar application at varying growth stages. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences 2: 121-130.
- Mazlomi-Mamyandi, M., Pirzad, A. and Zardoshti, M. R. (2012b) Effect of Nano-iron spraying at varying growth stage of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) on the size of different plant parts. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 4: 740-745.
- Moghadam, A., Vattani, H. Baghaei, N. and Keshavarz, N. (2012) Effect of different levels of fertilizer nano_iron chelates on growth and yield characteristics of two varieties of spinach (*Spinacia oleracea* L.): Varamin 88 and Viroflay. Research Journal of Applied Sciences, Engineering and Technology 4: 4813-4818.
- Mohamadipoor, R., Sedaghathoor, S. Mahboub-Khomami, A. (2013) Effect of application of iron fertilizers in two methods 'foliar and soil application' on growth characteristics of *Spathiphyllum illusion*. European Journal of Experimental Biology 3: 232-240.
- Noori, M. (2002) Characterization of the iranian species of Shophorea and Ammodendron (Leguminosea: Sophoreae). PhD thesis, University of London and Royal Botanic Gurden, Kew, UK.
- Pestana, M., Gama, F., Saavedra, T., Correia P. J., Dandlen, S. and Miguel, M. G. (2010) Evaluation of Fe deficiency on strawberry fruit quality. Acta Horticulturae 868: 423-8.
- Pestana, M., Beja, P., Correia, P. J., de Varennes, A. and Faria, E. A. (2005) Relationships between floral nutrients and fruit quality in orange trees grown in a calcareous soil. Tree Physiology 24:761-7.
- Pestana, M., de Varennes, A., Goss, M. J., Abadía, J., Faria, E. A. (2004) Floral analysis as a tool to diagnose iron chlorosis in orange trees. Plant and Soil 259:287-95.
- Peyvandi, M., Mirza, M., Kamali Jamakani, Z. (2011a) The effect of nano Fe chelate and Fe chelate on the growth and activity of some antioxidant. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal 2: 25-32.
- Peyvandi, M., Parande, H. and Mirza, M. (2011b) Comparison of nano Fe chelate with Fe chelate effect on growth parameters and antioxidant enzymes activity of *Ocimum basilicum*. New Cellular and Molecular Biotechnology Journal 1: 89-98.
- Fernandez, V., Eichert, T., Del Rio, V., Lopez-Casado, G., Heredia-Guerrero, J. A., Abadía, A., Heredia, A. and Abadia, J. (2008) Leaf structural changes associated with iron deficiency chlorosis in field-grown pear and peach: physiological implications. Plant and Soil 311: 161–172.
- Fisichella, G., Santoro, A., Benintende, P. G., Longo, A. and Ruscica, S. (1998) Effects of single and associated deficiencies on free proline content in citrus leaves. Tecnica Agricola 51: 3-8.
- Foyer, C. H. and Noctor, G. (2005) Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. Plant Cell 17: 1866-1875.
- Giannopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutases: I. occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.
- Jaleel, C. A., Gopi, R., Alagu Lakshmanan, G. M. and Panneerselvam, R. (2006) Triadimefon induced changes in the antioxidant metabolism and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Plant Science. 171: 271–276.
- Kampfenkel, K. and Van Montagu, M. and Inze, D. (1995) Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue. Analytical Biochemistry 225:165-7.
- Kosovaa, K., Vitamvasa, P., Prasila, I. T. and Renautb, J. (2011) Plant proteome changes under abiotic stress — contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. Proteomics 74: 1301–1322.
- Krystofova, O., Sochor, J., Zitka, O., Babula, P., Kudrle, V., Adam, V. and Kizek, R. (2013) Effect of Magnetic Nanoparticles on Tobacco BY-2 Cell Suspension Culture. International Journal of Environmental Research and Public Health 10: 47-71.
- Ksouri, R., Debez, A., Mahmoudi, H., Ouerghi, Z., Gharsalli, M. and Lachaa, M. (2007) Genotypic variability within Tunisian grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) facing bicarbonate-induced iron deficiency. Plant Physiology and Biochemistry 45: 315-322.
- Liu, N., Peng, C., Lin, Z., Lin, G., Zhang, L. and Pan, X. (2006) Changes in photosystem ii activity and leaf reflectance features of several subtropical woody plants under simulated SO₂ treatment. Journal of Integrative Plant Biology 48: 1274–1286.
- Lopez-Millan, A. F., Morales, F., Abadia, A. and Abadia, J. (2001) Changes induced by Fe deficiency and Fe resupply in the organic acid metabolism of sugar beet (*Beta vulgaris*) leaves. Physiologia Plantarum 112: 31–38.
- Mazaherinia, S., Astaraei, A. R., Fotovat, A. and Monshi, A. (2010) Nano Iron Oxide particles

- production of Vinca. The university of Georgia cooperative extension service. 1-30. Available on line in: http://www.caes.uga.edu/applications/publications/files/pdf/B%201219_3. Accessed 29 February.
- Vasconsuelo, A. and Boland, R. (2007) Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. Plant Science 172: 861-875.
- Walker, E. and Connolly, E. (2008) Time to pump iron: iron -deficiency-signaling mechanisms of higher plants. plant biology 11:530-535
- Whiting, D., Card, A. Wilson, C., and Reeder, J. (2011) Soil pH. Colorado Master Gardener notes.222:1-4.retrieved from <http://www.cmg.colostate.edu/gardennotes/222.pdf>.
- Wiswanathan, B. (2009) Nanomaterials. Alpha science international limited. London. 250pP
- Xiu-Mei, L. Fu-Dao, Z., Zhao-Bin, F., Shu-qing, Z., Xu-sheng, H., Ru-Fang, W. and Yu-Jun, W. (2005) Effects of nano-ferric oxide on the growth and nutrients absorption of peanut. Plant nutrition and Fertilizer Science 11: 551-555.
- Zhang, X., Zhang, L., Dong, F., Gao, J., Galbraith, D. W., Song, C. P. (2001) Hydrogen peroxide is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. Plant Physiology 126: 1438-1448.
- Polle, A., Otter, T. and Seifert, F. (1994). Apoplastic peroxidases and lignification in needles of norway spruce (*Piceaabies* L.). Plant Physiology, 106, USA: 53-56.
- Prasad, T., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Rajareddy, k., Sreeprasad, T. S., Sajanla, P. R. and Pradeep, T. (2012) Effect of nano scalezink oxid particle on the germination growth and yield of peanut. journal of plant Nutrition.35:905-927
- Ranjbar, M. and shams G.A. 2009. Using of nanotechnology. Journal Environment Green 3: 29-34. Brumbarova, T.and Bauer, P. (2005) Iron-mediated control of the basic helix-loop-helix protein FER, a regulator of iron uptake in tomato. Plant Physiology 137: 1018-1026.
- Sheykhabaglou, R., Sedghi, M., Tajbaksh-Shishevan, M. Seyed-Sharifi, R. (2010) Effects of Nano-Iron Oxide Particles on Agronomic Traits of Soybean. Notulae Scientia Biologicae 2: 112-113.
- Shimshi, D. (1967) Leaf chlorosis and stomatal aperture. New Phytologist 66: 455-461.
- Tan, J., Zhao, H., Hoang, J., Han, Y., Li, H. and Zhao, W. (2008) Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat Seedlings subjected to osmotic stress. Agricultural Sciences 4: 307-313.
- Thomas, P., Woodward, J., Stegelin, F., and Pennisi, B. (2012) A guide for commercial