

تأثیر آهن و نانو آهن بر رشد ریز قلمه‌های زیتون رقم دزفول در شیشه

مریم پیوندی^۱، هانیه حمزه زاده^۲، سید مهدی حسینی مزینانی^۳

۱. دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران- شمال، تهران، ایران

۲. کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران- شمال، تهران، ایران

۳. دانشیار، پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی، ایران، تهران

چکیده

سابقه و هدف: زیتون گیاهی با ارزش اقتصادی بالایی است که از روغن و کنسرو میوه آن استفاده می‌شود. روش‌های سنتی ازدیاد زمان بر می‌باشد. با استفاده از تکنیک کشت بافت می‌توان گیاهانی با کیفیت بالا و سرعت رشد بیشتر به دست آورد. هدف از پژوهش حاضر، بررسی و مقایسه تأثیر نانو کلات آهن و کلات آهن بر سرعت رشد ریز قلمه‌های زیتون رقم دزفول بود.

مواد و روش‌ها: جدا کشت‌های تک گره‌های سر شاخه‌های جوان گیاه ۵ ساله زیتون رقم دزفول سترون شده، در محیط کشت Dkw دارای هورمون (4 mg l^{-1}) ip ۲ کشت شد. ریز قلمه‌های سترون حاصل برای واكشت در محیط‌های کشت دارای غلظت‌های مختلف نانو آهن و آهن (180 ، 60 ، 120 μM) استفاده شد. ۴۵ روز پس از واكشت شاخص‌های رشد بررسی شد.

یافته‌ها: بررسی‌ها نشان داد که شاخص‌های رشد نانو آهن باعث کاهش تعداد گره‌ها، شاخساره‌ها، تعداد برگ‌ها و طول ساقه شد. در غلظت بالای سولفات آهن رشد ساقه و تعداد برگ‌ها افزایش معنی‌داری را نشان داد. شاخه‌زائی در غلظت متوسط به حداکثر خود رسید. میزان کلروفیل b و کاروتنوئیدها نیز با افزایش غلظت آهن و نانو آهن در محیط کشت افزایش یافت. سولفات آهن بیش از نانو آهن موجب افزایش این رنگیزه‌ها شد.

نتیجه‌گیری: در بین ۸ تیمار به کار برده شده بالاترین غلظت آهن و نانو آهن در هفته اول باعث از بین رفتن نمونه‌ها شد. برای ریز ازدیادی زیتون رقم دزفول، کلات آهن ($180 \mu\text{M}$) F_{1.5}، در محیط کشت DKW مناسب‌تر از سایر غلظت‌ها می‌باشد.

کلمات کلیدی: زیتون، نانو آهن، ریز قلمه، رنگیزه

مقدمه

درخت زیتون (*Olea europaea* L.) متعلق به تیره Oleaceae و دارای ۳۰ سرده و ۶۰۰ گونه می‌باشد (۲۸). فراوانی و تنوع نام

حتی برای یک گونه زیتون نشان می‌دهد که چند شکلی (پلی مورفیسم) در این جنس بسیار فراوان است که این امر می‌تواند عامل اصلی این تنوع باشد (۲۰). کشت بافت گیاهی به عنوان یکی از شاخه‌های بیوتکنولوژی، کاربرد گسترده‌ای در کشاورزی دارد و ابزار مناسبی برای نیل به اهدافی است که در شرایط کشت در محیط طبیعی دستیابی به آنها دشوار است. این روش برای تکثیر و یا اصلاح ژنوتیپ‌ها برای تولید توده زیستی و محصولات بیو شیمیایی و محافظت ژرم پلاسما به کار

نویسنده مسئول: مریم پیوندی

پست الکترونیکی: maryampeyvandi@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹۲/۰۳/۲۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۹۲/۰۵/۲۶

گردید. دو هفته قبل از شروع برداشت توسط محلول غذایی پیش تیمار شد. سر شاخه‌های جوان به طول ۱۵ تا ۲۰ سانتیمتر جمع‌آوری شدند و برای مراحل بعد استفاده شدند. سرشاخه‌ها با وایتکس تجارتي ۲۰٪ (۲۰ دقیقه) سترون شد. سپس سه بار با آب مقطر سترون شستشو گردید. جداکشت-های تک‌گره‌ای در محیط کشت DKW (۱۷) سترون دارای $ip\ 2\ mg\ l^{-1}$ کشت گردید. ریزقلمه‌های دارای ۳ تا ۴ گره برای مرحله بعد استفاده شد.

واکشت ریز قلمه‌ها: جدا کشت‌های تک گره‌ای در محیط کشت DKW دارای غلظت‌های مختلف سولفات آهن $(F_{0.5}, F, (16/9, 33/8, 50/67, 7/6\ mg\ l^{-1}) FeSO_4, 7H_2O$ ($F_{1.5}, F_2$) و کود نانو آهن $(150/11\ mg\ l^{-1}, 113/2, 75/44, 37/72)$ ($nF_{0.5}, nF, nF_{1.5}, nF_2$) کشت شد. نانو آهن از شرکت خضرا تهیه گردید. این ترکیب دارای تأییدیه سازمان انرژی اتمی ایران و هم‌چنین دانشگاه تهران بود.

تجزیه و تحلیل آماری:

هر آزمایش با چهار تکرار و هر تکرار با چهار نمونه انجام گرفت. آنالیز واریانس بر اساس برنامه ANOVA(ver. 16) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال $P \leq 0.05$ انجام شد.

یافته‌ها:

گیاهان کشت شده در تیمارهای F_2 و nF_2 در بدو هفته بعد از کشت از بین رفتند. نتایج ارائه شده برای شش تیمار باقی مانده به شرح زیر است:

شاخص‌های رشد: آنالیز واریانس نتایج نشان می‌دهد، تفاوت در میانگین شاخساره، تعداد گره، تعداد برگ، طول ساقه و کالوس‌زایی در تیمارهای مختلف کلات آهن و نانو کلات آهن در سطح 0.05 معنی‌دار است. شاخص‌های رشد در همه تیمارهای نانو آهن کمتر از تیمارهای آهن بود. بیشترین میانگین شاخه زائی در تیمار F، تعداد گره‌ها و تعداد برگ‌ها در تیمار $F_{1.5}$ دیده شد (جدول ۱) (شکل ۱).

جدول ۱- میانگین تعداد شاخساره، تعداد گره، تعداد برگ، (میانگین $\pm SE$)، گروه‌بندی بر اساس آزمون دانکن در سطح $P \leq 0.05$ حروف مشترک نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن تفاوت بین میانگین‌ها است.

برده می‌شود (۲۳). به عبارت دیگر نگهداری و حفظ ژرم پلاسماهای ارزشمند (۲۲)، کشت درون شیشه قلمه‌ها و جوانه‌های جانبی امکان باز زایی گیاه را در طی ۴ ماه به وجود می‌آورد. ازدیاد جنسی زیتون از طریق بذر به دلیل بالا بودن تفرق صفات و طولانی شدن دوره‌ی نو نهالی نتایج حاصله، متداول نمی‌باشد. جوانه زنی بذور زیتون کند و درصد جوانه زنی آنها به دلیل وجود درون بر اسکلروئیدی و وجود بازدارنده در آندوسپرم، پوسته‌های دانه و رویان پایین است. اخیراً باز زایی درون شیشه زیتون با تکنیک‌هایی مانند کشت پروتوپلاست (۲۹)، رویان زایی بدنی (۲۳، ۲۴، ۳۱)، جوانه جانبی (۱۸، ۱۹، ۲۶، ۲۷) انجام شده است. در حال حاضر تکنیک ریز ازدیادی درون شیشه گونه‌های گیاهی منتخب دارای اهمیت به‌سزایی است و ابزار مناسبی برای رسیدن به اهدافی است که در شرایط کشت در محیطی طبیعی دستیابی به آنها دشوار است (۳۰).

آهن یکی از این عناصر ضروری و کم مصرف مورد نیاز گیاهان بوده و از فراوان‌ترین عناصر پوسته‌ی زمین به‌شمار می‌رود. pH خاک مهم‌ترین عامل مؤثر بر قابلیت جذب آهن می‌باشد (۲). گیاهان در بین همه ریز مغذی‌ها، بیشترین نیاز را به آهن دارند. آهن بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیاء است و برای سنتز کلروفیل مورد نیاز است (۷). نقش این عنصر در تثبیت ازت و فعالیت برخی آنزیم‌های نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سیتو کروم اکسیداز به خوبی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۴). نانو کلات آهن کمپلکس منحصر به فردی است که دارای ۹ درصد آهن محلول در آب در بازه PH ۳ تا ۱۱ می‌باشد (۴). فناوری نانو همه عرصه‌های دانش را تحت تأثیر قرار می‌دهد و علم کشاورزی از این قاعده مستثنی نیست. نانو پودرها مخلوطی از ذره‌ها با ابعادی بین ۱ تا ۱۰۰ نانو متر هستند. ادعا شده است فناوری نانو به عنوان عامل جلو برنده یک انقلاب صنعتی دیگر، از پتانسیل اقتصادی و فناوری بالایی برخوردار است (۱۰).

مواد و روش‌ها:

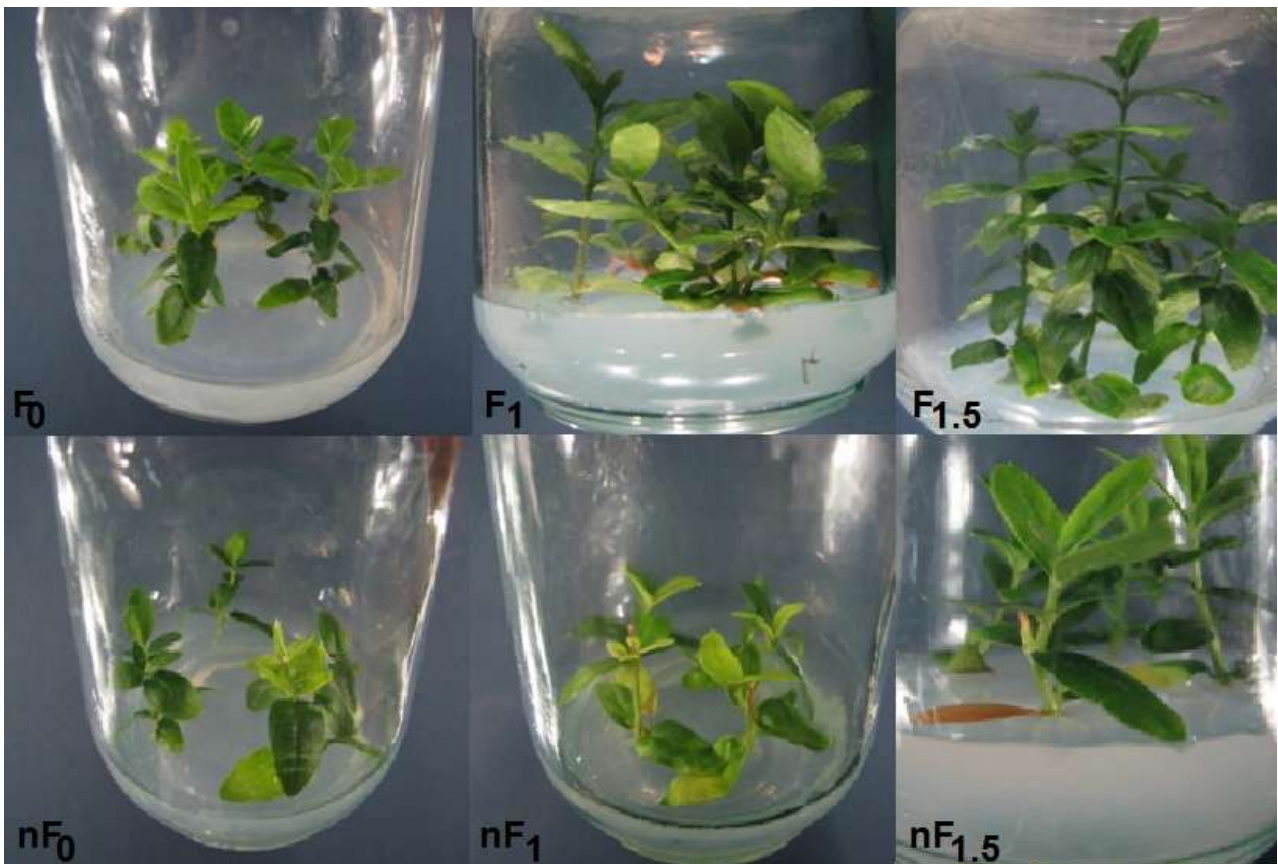
برای تهیه نمونه‌ها (ریزقلمه‌ها) از یک گیاه ۵ ساله زیتون که در گل‌خانه پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری قرار داشت به عنوان پایه مادری استفاده شد. یک ماه قبل از شروع برداشت، نمونه‌ها توسط قارچ‌کش بنومیل سمپاشی

کالوس	طول ساقه (cm)	تعداد برگ	تعداد گره	تعداد شاخساره	تیمار
-------	---------------	-----------	-----------	---------------	-------

$F_{0.5}$	(c) $1/10 \pm 0/07$	(cd) $2/05 \pm 0/11$	(c) $4/70 \pm 0/25$	(cd) $2/90 \pm 0/25$	(a) $1/70 \pm 0/12$
F	(a) $1/90 \pm 0/16$	(b) $3/45 \pm 0/22$	(b) $0/49$ $8/35 \pm$	(b) $4/20 \pm 0/21$	(b) $0/60 \pm 0/15$
$F_{1.5}$	(b) $1/55 \pm 0/15$	(a) $4/15 \pm 0/29$	(a) $11/80 \pm 0/90$	(a) $5/55 \pm 0/39$	(a) $1/70 \pm 0/13$
$nF_{0.5}$	(c) $1/05 \pm 0/05$	(c) $2/45 \pm 0/34$	(d) $3/00 \pm 0/23$	(e) $2/10 \pm 0/07$	(c) 0 ± 0
nF	(c) $1/12 \pm 0/09$	(d) $1/56 \pm 0/13$	(d) $3/06 \pm 0/32$	(ed) $2/56 \pm 0/13$	(c) 0 ± 0
$nF_{1.5}$	(c) $1/06 \pm 0/06$	(c) $2/75 \pm 0/19$	(c) $5/69 \pm 0/44$	(cd) $3/56 \pm 0/20$	(b) $0/44 \pm 0/13$

علامه اختصاری: $F_{0.5} = 16/9 \text{mg.L}^{-1}$ $F_{0.5} = 33/1 \text{mg.L}^{-1}$ $F_{1.5} = 50/7 \text{mg.L}^{-1}$

$nF_{0.5} = 37/72 \text{mg.L}^{-1}$ ، $nF = 74/44 \text{mg.L}^{-1}$ $nF_{1.5} = 113/21 \text{mg.L}^{-1}$



شکل ۱: رشد ریز قلمه‌ها در محیط کشت‌های دارای تراکم‌های مختلف آهن و نانو آهن

کالوس‌زایی در تیمار $nF_{0.5} = 37/72 \text{mg.L}^{-1}$ مشاهده شد. از سوی دیگر این تیمار دارای نامناسب‌ترین وضعیت برگ با رنگ زرد تا قهوه‌ایی است. به طور کلی افزایش سولفات آهن باعث افزایش تعداد گره، تعداد برگ‌ها، طول ساقه و کالوس‌زایی شد. تحقیقات نشان می‌دهد رشد و پرآوری ارقام مختلف زیتون تحت تأثیر سیتوکینین‌های مختلف وابسته به نوع رقم می‌باشد (۲۳). بررسی پایداری مرفولوژیکی در گیاهان ریز ازدیاد شده زیتون نشان داد که پایداری مرفولوژیکی وابسته به روش‌های کشت درون شیشه‌ای است (۲۳ و ۲۴). ذبیحی و سبحانی

بحث

نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر تأثیر غلظت‌های مصرفی کلات آهن و نانو کلات آهن بر شاخص‌های رشد گیاه زیتون رقم دزفول بود.

بیشترین میزان تعداد گره، تعداد برگ‌ها، طول ساقه (Cm)، کالوس‌زایی و بهترین حالت و وضعیت برگ در تیمار با غلظت $F_{1.5} = 50/7 \text{mg.L}^{-1}$ مشاهده شد، از طرف دیگر بیشترین میزان تعداد شاخساره در تیمار $F = 33/1 \text{mg.L}^{-1}$ دیده شد. کمترین میزان تعداد گره، تعداد برگ، طول ساقه و

زراعی متمرکز شده است (۶). اعمال تیمارهای مختلف کلات آهن و نانو کلات آهن بر روی شاخص‌های رشد گیاه مرزه به استثنای طول ساقه معنی‌دار نبوده است (۵).

در بررسی رجب بیگی و همکاران (۱۳۸۶)، تغییر مرفولوژیکی بارزی بین رشد گیاهان تیمار شده با آهن و شاهد مشاهده نشد. اما اندازه‌گیری طول ساقه نشان داد که در تمامی گروه‌های تیمار شده، رشد گیاهان نسبت به گروه شاهد $1/5\%$ کاهش یافته بود.

اگر چه آهن در ساختار کلروفیل نقش مستقیمی ندارد ولی وجود آهن کافی، سبب بهبود کلروفیل‌سازی در گیاه می‌شود (۱۲) و وضعیت کلروفیل گیاه نیز می‌تواند در میزان فتوسنتز آن تأثیر بگذارد (۳).

افزایش کلات آهن به‌کار برده شده در گیاهان زیتون در این آزمایش باعث افزایش محتوای کلروفیل a و b و $(a+b)$ و کارتنوئید شده است. کمترین محتوای رنگیزه‌ها در تیمار $nF_{0.5}$ دیده شد در این تیمار $nF_{0.5}$ کلروز برگی به خوبی قابل تشخیص است. از دست دادن رنگ سبز برگ به علت فتوسنتز کم می‌باشد و کاهش رنگ سبز و کاهش فتوسنتز به دلیل کمبود محتوای کلروفیل a ، کلروفیل b ، کلروفیل $a+b$ و کارتنوئید می‌باشد. می‌توان گفت که آهن و نانو آهن با غلظت بالا در سنتز کلروفیل نقش دارد اما نقش آهن بیشتر است. اگر چه آهن در ساختمان کلروفیل شرکت ندارد، کمبود آن موجب کاهش میزان کلروفیل شده، نهایتاً رنگ سبز برگ‌ها به زردی متمایل می‌شود که این پدیده کلروز نامیده می‌شود. اولین علائم کمبود آهن در برگ‌های جوان ایجاد می‌شود آهن عنصری کم تحرک است بنابراین در برگ‌های پایینی تجمع پیدا می‌کند لذا برگ‌های پایینی سبز و براق هستند. افزایش آهن ممکن است با کاهش محتوای کلروفیل و یا فتوسنتز همراه شده باشد و بدین ترتیب به کاهش رشد منتهی گردد (۷). این نظریه همسو با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد به طوری که تیمارهای F_2 و nF_2 بعد از چند روز با کاهش رشد مواجه شدند و سپس به‌طور کامل از بین رفتند. کارتنوئیدها نیز نقش مهمی در حفاظت نوری کلروفیل و غشاهای فتوسنتز کننده کلروپلاست‌ها در مقابل آسیب‌های فتواکسیداتیو دارند (۱۶،۲۵)، در بررسی اثر آهن بر روی رشد و فتوسیستم II در گیاه نخود گزارش شده است که کاهش رشد در اثر کمبود و زیادی آهن مشاهده شده است. در زمانی که کلروز در گیاه قابل مشاهده بود، میزان کاهش آهن از میزان کم رنگدانه‌ها و میزان بالای کلروفیل b و a و سهم‌های کارتنوئید و کلروفیل

(۱۳۸۴) و ساجدی و اردکانی (۱۳۸۷)، نشان داده‌اند که کودهای عناصر کم مصرف بیشتر در فعالیتهای متابولیکی در محیط کشت تأثیرگذار بوده (۱۵) و به طور مستقیم با افزایش سرعت رشد گیاه، سطح جذب، دوام برگ و فتوسنتز باعث افزایش وزن خشک گیاه می‌گردد. این نتایج همسو با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. در نمونه‌های تیمار شده با نانو کلات آهن کالوس‌زایی فقط در تیمار $nF_{1.5} = 113/2 \text{mg.L}^{-1}$ دیده شد. یکی از فاکتورهایی که در زیر ازدیادی نقش مهمی دارد، پیش تیمار تغذیه‌ای گیاه مادری و انتخاب ریز قلمه مناسب است. همان‌طور که می‌دانیم ریز قلمه‌های تهیه شده از گیاهان سالم و قوی احتمالاً کشت‌های موفق‌تری در پی خواهند داشت. همچنین نشان داده شده است که در کشت زیرقلمه‌های پایه‌های مادری پیش تیمار شده با کود کلات آهن FeEDDHA رشد بهتری نسبت به ریزقلمه‌های تیمار نشده داشتند (۱۳). گیاهانی که با پایه مادری قوی کشت شدند در مراحل ۴۵ روز موفق‌تر عمل می‌کنند و از آنجایی که در ریز ازدیادی هدف تکثیر تجاری گیاهان است. تهیه کود کلات آهن ارزان تمام می‌شود، لذا مقرون به صرفه خواهد بود که ریز ازدیادی با پایه مادری قوی شروع گردد که قبلاً این محلول غذایی را به آن اضافه شده است.

تحقیقاتی که برای تأثیر کلات آهن بر میزان ریزازدیادی تمشک انجام گرفته است نشان می‌دهد که افزایش FeEDDHA به محیط کشت باعث افزایش درصد باززایی برگ‌ها و افزایش تعداد اندام هوایی نابه‌جا در ۵ کولتیوار تمشک سرخ می‌شود (۳۳). مطالعات دیگر تأثیر مفید FeEDDHA در کشت گیاهان درون شیشه در گیاه رز مورد توجه قرار گرفت به طوری که مصرف آهن موجب افزایش میزان طول اندام هوایی و افزایش باززایی گیاهان از رویان‌های بدنی شد (۲۱). افزودن $200 \text{FeEDDHA mg.L}^{-1}$ به محیط کشت دوم برگ‌های توت سیاه موجب افزایش تواتر باززایی شد با به‌کار بردن غلظت مشابه FeEDDHA افزایش در تعداد اندام هوایی جانبی به دست آورد (۳۳). استفاده از کود آهن در محیط کشت قبلاً توسط پژوهشگران انجام شده است اما با توجه به نو ظهور بودن فناوری نانو و رو به رشد تحقیقات در زمینه‌های نانو کودها، گزارش‌های کمی درباره‌ی اثر این نانو کودها در افزایش کمی و کیفی رشد گیاهان موجود می‌باشند (۱). با تولید نانو کودها Nano Fertilizers این ترکیبیات نانویی به سرعت و به‌صورت کامل جذب گیاه شده و به خوبی نیازها و کمبودهای غذایی آن را مرتفع می‌سازد (۱). این طرح همراه با چند طرح دیگر بر روی استفاده از نانو ذرات بر روی محیط کشت و زمین

سیاسگزاری

نویسندگان از سرکار خانم دکتر فرح فراهانی که در تهیه ریز قلمه‌های زیتون نهایت همکاری را داشته‌اند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تشخیص داده شد. هم‌چنین این بیان به طور کامل همسو با نتایج پژوهش حاضر می‌باشد (۲۵). نتایج حاضر نشان می‌دهد برای ریز ازدیادی زیتون، استفاده از کلات آهن بهتر از نانو آهن است. هم‌چنین رشد ریزقلمه‌ها در محیط دارای غلظت پیشنهاد شده در محیط کشت DKW و غلظت ۱/۵ برابر آن ($120, 180 \mu\text{M}$) در مقایسه با سایر تیمارها موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد شد.

منابع

- ۱- برمکی س. مدرس ثانوی ع و مهدی زاده. کاربرد فناوری نانو در راستای مصرف بهینه کود های شیمیایی با تاکید بر نانو کود ها. اولین کنگره چالش های کود در ایران. ۱۳۸۹.
- ۲- بشارتی ح، صالح راستین ن، فلاح ع. بررسی کارایی کود بیولوژیک حاوی میکرو ارگانسیم های اکسید کننده گوگرد در تامین آهن مورد نیاز ذرت. همایش خاک، محیط زیست و توسعه پایدار. ۱۳۸۵.
- ۳- بهاری م، پهلوانی ر، اکبری ن، احسان زاده پ. تاثیر مقادیر مختلف کودهای کم مصرف آهن و مس بر رشد و عملکرد ژنوتیپ های نخود تحت شرایط دیم منطقه علی گودرز-ازنا در استان لرستان. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ویژه نامه زراعت اصلاح نباتات. ۱۳۸۴؛ ۱۹۰-۲۰۱.
- ۴- پرداختی ع ر، نظران م ح، حکم آبادی ح، آشتیانی م. نقش فضای سبز در کاهش آلودگی هوا و اثر کود جدید کلات آهن خضراء در افزایش کارایی گیاهان و تلطیف هوا، اولین همایش تخصصی مهندسی محیط زیست، ۱۳۸۵.
- ۵- پیوندی م، کمالی ز و میرزا م. تاثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان مرزه. مجله تازه های بیو تکنولوژی سلولی -مولکولی. (a) زمستان ۱۳۹۰؛ ۱ (۵): ۳۱-۲۵.
- ۶- پیوندی م، پرده ه، میرزا م. تاثیر نانو کلات آهن با کلات آهن بر رشد و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان ریحان. مجله تازه های بیو تکنولوژی سلولی -مولکولی. (b) پاییز ۱۳۹۰؛ ۱ (۴): ۹۸-۸۹.
- ۷- تازیل ل، زایگر ا. فیزیولوژی گیاهی، ترجمه هیئت مولفان زیست شناسی، خانه زیست شناسی (ویرایش سوم)، تهران، ۲۰۰۲؛ ۷۸۰.
- ۸- ذبیحی ح ر و سبحانی ع ر. اثر منابع مختلف پتاسیم و مقدار آهن بر عملکرد دو رقم گوجه فرنگی. نهمین کنگره ی علوم خاک ایران. ۱۳۸۴.
- ۹- رجب بیگی ا، قناتی ف، سفید کن ف. بررسی تاثیر آهن بر محتوای اسانس گیاه ریحان. مجله علوم دانشگاه تهران. ۱۳۸۶؛ ۳۳(۴): ۵۳-۴۹.
- ۱۰- رضایی ر، حسینی س م، شعبانعلی فمی ح، صفا ل. شناسایی و تحلیل موانع توسعه ی فناوری نانو در بخش کشاورزی ایران از دیدگاه محققان. فصلنامه علمی-پژوهشی سیاست علم و فناوری. ۱۳۸۸؛ ۲(۱): ۱۷-۲۶.
- ۱۱- ساجدی ن ع، اردکانی م ر. اثر مقادیر مختلف کود نیتروژن، روی و آهن بر شاخص های فیزیولوژیک ذرت علوفه ای در استان مرکزی. مجله ی پژوهش های زراعی ایران. ۱۳۸۷؛ ۶(۱): ۹۹-۱۰۹.
- ۱۲- ملکوتی م ج، و نفیسی م. مصرف کود در ارزی زراعی فاریاب و دیم، مرکز انتشارات دانشگاه تربیت مدرس، تهران ۱۳۶۷؛ ۲۶۷.
- ۱۳- منصف م. ۱۳۸۸، تاثیر هورمون BAP , 2ip بر میزان تنوع سوماکلونال گیاهان ریز ازدیاد شده زیتون، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال.

14- Blakrishman K, Peroxidase Activity as an Indicator of the Iron Deficiency Banana. *Ind J Plant Physiol*, 2000; 5: 389-391.

15- Chatterjee C, Gopal R, Dube BK. Impact of Iron Stress on Biomass, Yield, Metabolism and Quality of Potato (*Solanum tuberosum* L.). *Sci Hort*, 2006; 108: 1-6.

16- Drazkiewicz M, Baszynski T. Growth Parameters and Photosynthetic Pigments in Leaf Segments of *Zea mays* Exposed to Cadmium, as Related to Protection Mechanisms. *J. Plant Physiol*, 2007; 20: 330.

17- Driver D, Kuniyuki A. *In vitro* Propagation of Paradox walnut Rootstock. *Hort Sci*, 1984; 19: 506-507

18- Farahani F, Peyvandi M, Hosseini Mazinani M. Effect of Sucrose and Mannitol on *In Vitro* Regeneration of *Olea europaea* L. "cv. Rowghan". *Acta Hort*, 2008; 2: 209-213

- 19- Farahani F, Razeghi S, Peyvandi M, Attaii S, Hosseini Mazinan M. Micrografting and Micropropagation of olive (*Olea europea* L.) Iranian Cultivar: Zard. Afr J Plant Sci, 2011; 5(11): 671-675.
- 20- Hosseini Mazinani M, Samaee SM, Sadeghi H, Caballero JM. Evaluation of olive Germplasm in IRAN on the Basis of Morphological Traits: Assessment of Zard and Rowghani Cultivars. Acta Hort, 2004; 634.
- 21- Kim SW, Oh SC, In DS, Liu JR. Plant Regeneration of rose(rosahybrida) from Embryogenic Cell-Derived Protoplasts, Plant Cell Tiss Org Cult, .2003; 73:15-19
- 22-Lambardi M, Rugini E. Micropropagation of olive(*Olea europea* L.). In: Micropropagation of Woody Trees and Frutis. Kluwer Academic Publisher Netherland, Editor Danielmohanbienstock, Katusuakiishii, 2003; 13:97814011351: 621-646.
- 23-Leva A.R, Petruccelli R, Polsinelli L . *In Vitro* Propagation: From the Laboratory to the Production Line olive. 2004; 101:18- 24
- 24- Leva A. Morphological Evaluation of olive Plants Propagate *In Vitro* Culture Through Axillary Buds and Somatic Embryogenesis Methods, Afr J of Plant Sci, 2009;.3(3): 037-043.
- 25- Nenova N. Effect of Iron Supply on Ggrowth and Photosystem II Efficiency of Pea Plants. Gen Appl .Plant Physiol, Special Issue, 2006; 81-90.
- 26- Peyvandi M, Farahani F, Noormohamadi Z, Banihashemi O, Hosseini Mazinani M, Atae S. Mass Production of *Olea europea* L. (cv. Rowghani) Through Micropropagation, Gen and Appl plant physiol, 35 (1-2): 35-43
- 27- Peyvandi M, Noormohammadi Z, Banihashemi O, Farahani F, Majd A, Hosseini Mazinani M, Sheidai M. Molecular Analysis of Genetic Stability in Long-Term Micropropagated Shoots of *Olea europaea* L. (cv. Dezful). Asian J Plant Sci, 2010; 8: 146-152.
- 28- Raman khan M, Raced H, Carwash A. Development of Aseptic Protocols in olive (*Olea europaea* L.) cv. Pantaloon. Asian J Plant Scie,2002; 1(3): 20-221.
- 29- Rugini E., Olive (*Olea europaea* L.) In: Tree, Biotechnology in Agriculture and Forestry. Bajaj, Y.P.S.(eds). Springer,Berlinheidelberg New York, 1984; 1: 253-276.
- 30- Rugini E , Jacoboni A , Luppino M. Role of Basal Shoot Darkening and Exogenous Putrescine Treatment on *In Vitro* Rooting and on Endogenous Polyamine Changes in Difficult-to-Root Woody Species. Sci.Hortic,2000; 53: 63-72.
- 31-Rugini E ,Caricato G. Somatic Embryogenesis and Plant Recovery from Mature Tissues of olive Cultivars (*Olea europaea* L.) 'Canino' and 'Moraiolo', Plant Cell.Rep,1995; 14: 257-260.
- 32- Ruiz JM , Baghour M , Romers L. Efficiency of the Different Genotypes of Tomato in Relation to Foliar Content of Fe and The response of Some Bioindicators, J. Plant Nutr, 2000; 23: 1777-1786.
- 33- Zawadzka M , Orlikawska T. The Influence of FeEDDHA in Red Raspberry Cutures During Shoot Multiplication and Adventitious Regeneration from Leaf Explants, Plant Cell Tiss and Org Cult, 2006; 85:145-149