



Razi University



Cereal Biotechnology and Biochemistry

## Synthesis of Nano-Fertilizer Based on Hydrochar Derived from Plant Waste and Its Effect on Wheat

Zahra Souri<sup>1</sup> & Leyla Norouzi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, Iran.

<sup>2</sup> Researcher, Research Center for Environmental Determinants of Health, Health Institute, University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

Corresponding author. E-mail: [z.souri@razi.ac.ir](mailto:z.souri@razi.ac.ir)

### ABSTRACT

**Introduction:** Climate change, the spread of pollutants, and declining agricultural productivity, coupled with the excessive use of chemical fertilizers, pose serious challenges to the environment and human health. Therefore, the production of efficient, low-risk fertilizers with lower environmental impact has become a necessity. In this regard, nanotechnology, through the provision of nano-fertilizers, holds high potential for enhancing plant growth and yield. Hydrochar, as a non-toxic carbonaceous material compatible with the environment, can serve as a suitable platform for the controlled release of nutrients. Furthermore, the use of plant waste, such as fruit peels, for hydrochar synthesis represents an approach based on the circular economy and sustainable development. This research aimed to synthesize a nano-fertilizer based on hydrochar derived from plant waste and modified with zinc oxide nanoparticles (ZnO), and to evaluate its effects on the growth and physiological responses of wheat plants.

**Materials and methods:** The ZnO-modified hydrochar nano-fertilizer was synthesized using tangerine peel waste and zinc oxide nanoparticles via the hydrothermal method. The nanostructural characteristics of the nano-fertilizer were investigated using FESEM, FTIR, XRD, and UV-Vis techniques. The synthesis of nanoparticles and investigation of their effect on the initial responses of wheat were conducted in a completely randomized design with three replications in 2023 at the Plant Physiology Laboratory of Razi University, Kermanshah. The effects of different concentrations of the nano-fertilizer (0, 20, and 40 mg L<sup>-1</sup>) on wheat plants (Pishgam cultivar) were studied under hydroponic conditions for 21 days. Growth parameters (length and fresh weight of roots and shoots), photosynthetic pigment content (chlorophyll a, b, total chlorophyll, and carotenoids), hydrogen peroxide content, and the activity of antioxidant enzymes (catalase and peroxidase) were measured.

**Results:** FESEM, FTIR, XRD, and UV-Vis analyses confirmed the successful synthesis of a hydrochar-based nanofertilizer modified with ZnO nanoparticles. FESEM images showed the uniform distribution of spherical ZnO nanoparticles, approximately 20 nm in size, on the nanofibrous hydrochar substrate. FTIR spectra confirmed the presence of various functional groups, such as hydroxyl and carboxyl, as well as the Zn-O bond. The XRD pattern indicated the presence of the crystalline phase of ZnO nanoparticles and the amorphous structure of hydrochar. The 40 mg L<sup>-1</sup> Zn-based nanofertilizer concentration had the greatest effect on plant growth, while the 20 mg L<sup>-1</sup> treatment produced the greatest increase in photosynthetic pigments. This dual and concentration-dependent response indicates a dynamic physiological adjustment, where the plant shifts its strategy from optimizing photosynthesis at lower concentrations to accelerating growth and activating defense at higher concentrations. The application of the zinc-based nano-fertilizer significantly activated the antioxidant defense system of wheat. At 40 mg L<sup>-1</sup>, hydrogen peroxide content increased in the roots and shoots, alongside a significant increase was found in the activity of catalase and peroxidase enzymes in both organs. The nano-fertilizer, by inducing mild oxidative stress, elevated hydrogen peroxide levels as a signaling molecule. In response, the plant, through a simultaneous and proportional increase in antioxidant enzyme activity, established a hormetic adaptation that created a dynamic balance between growth stimulation and stress neutralization.

**Conclusion:** The nano-fertilizer activated the wheat antioxidant system by inducing mild oxidative stress and increasing hydrogen peroxide signaling. In response, the plant established a hormetic adaptation by increasing the activity of catalase and peroxidase enzymes, creating a dynamic balance between growth stimulation and stress management. Accordingly, the hydrochar-based nano-fertilizer modified with ZnO nanoparticles, by improving physiological, and antioxidant indicators, can be introduced as an effective and environmentally friendly strategy for enhancing wheat growth. This research represents a practical step towards valorizing agricultural waste and realizing the principles of the circular economy.

**Keywords:** Waste, Nanostructure, Zinc, Hydroponic, Wheat.

**Article Type:** Research Article

**Article history:** Received: 28 May 2025, Revised: 11 Jul 2025, Accepted: 30 Aug 2025, Published online: 23 Sep 2025

**Cite this article:** Souri, Z. & Norouzi, L. (2025). Synthesis of Nano-Fertilizer Based on Hydrochar Derived from Plant Waste and Its Effect on Wheat. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 4(3), 317-327. DOI: [10.22126/cbb.2025.13071.1125](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.13071.1125)



© The Author(s).  
[10.22126/cbb.2025.13071.1125](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.13071.1125)

**Publisher:** Razi University



## سنتز نانو کود بر پایه هیدروچارهای حاصل از پسماند گیاهی و اثر آن بر گیاه گندم

زهرا سوری<sup>۱</sup> و لیلا نوروزی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

<sup>۲</sup> پژوهشگر مرکز تحقیقات عوامل محیطی مؤثر بر سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران.

نویسنده مسئول: رایانامه: [z.souri@razi.ac.ir](mailto:z.souri@razi.ac.ir)

### چکیده

**مقدمه:** تغییرات اقلیمی، گسترش آلاینده‌ها و کاهش بازدهی محصولات کشاورزی، همراه با استفاده بی‌رویه از کودهای شیمیایی، چالش‌های جدی برای محیط‌زیست و سلامت انسان ایجاد کرده‌اند. از این‌رو، تولید کودهای کارآمد و کم‌خطر با اثرات زیست‌تخریب‌پذیری کمتر، به یک ضرورت تبدیل شده است. در این راستا، فناوری نانو با ارائه نانوکودها، پتانسیل بالایی برای افزایش رشد و عملکرد گیاهان دارد. هیدروچار، به‌عنوان یک ماده کربنی غیرسمی و سازگار با محیط‌زیست، می‌تواند به‌عنوان بستری مناسب برای رهاسازی کنترل‌شده عناصر غذایی مورد استفاده قرار گیرد. همچنین، استفاده از پسماندهای گیاهی مانند پوست میوه برای سنتز هیدروچار، رویکردی مبتنی بر اقتصاد چرخشی و توسعه پایدار است. این پژوهش با هدف سنتز نانوکود بر پایه هیدروچار حاصل از پسماند گیاهی و اصلاح شده با نانوذرات اکسید روی (ZnO) و ارزیابی اثرات آن بر رشد و پاسخ‌های فیزیولوژیکی گیاه گندم انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی (نانو کود) با استفاده از پسماند پوست نارنگی و نانوذرات اکسید روی به روش هیدروترمال سنتز شد. ویژگی‌های نانوساختاری نانوکود با استفاده از تکنیک‌های XRD، FTIR، FESEM و UV-Vis مورد بررسی قرار گرفت. سپس اثرات سطوح مختلف نانوکود (۰، ۲۰ و ۴۰ میلی‌گرم در لیتر) بر گیاه گندم رقم پیشگام در شرایط کشت هیدروپونیک به مدت ۲۱ روز مورد مطالعه قرار گرفت. سنتز نانوذرات و بررسی اثر آن‌ها بر پاسخ‌های اولیه گیاه گندم، به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام گردید. پارامترهای رشدی (طول و وزن تر ریشه و بخش هوایی)، محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئیدها)، محتوای پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و پراکسیداز) اندازه‌گیری شدند.

**یافته‌ها:** نتایج آنالیزهای XRD، FTIR، FESEM و UV-Vis سنتز موفقیت‌آمیز نانوکود هیدروچار اصلاح‌شده با نانوذرات اکسید روی را تأیید می‌کنند. تصاویر FESEM توزیع یکنواخت نانوذرات کروی ZnO با اندازه تقریبی ۲۰ نانومتر بر روی بستر نانورشته‌ای هیدروچار را نشان داد. طیف‌های FTIR حضور گروه‌های عاملی مختلف مانند هیدروکسیل و کربوکسیل و همچنین پیوند Zn-O را تأیید کردند. الگوی XRD وجود فاز کریستالی نانوذرات ZnO و ساختار آمورف هیدروچار را نشان داد. غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوکود بیشترین تأثیر را بر رشد گیاه داشت، در حالی که غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین افزایش را در رندگانه‌های فتوسنتزی ایجاد کرد. این پاسخ دوگانه و وابسته به غلظت، نشان‌دهنده یک تنظیم فیزیولوژیک پویا است که در آن گیاه راهبرد خود را از بهینه‌سازی فتوسنتز در غلظت پایین، به سمت تسریع رشد و فعال‌سازی دفاع در غلظت بالاتر تغییر می‌دهد. کاربرد نانوکود روی، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گندم را به‌طور چشمگیری فعال ساخت. در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر، محتوای پراکسید هیدروژن در ریشه و در بخش هوایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که به‌موازات آن، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز نیز در هر دو اندام افزایش پیدا کرد. نانوکود روی با ایجاد یک تنش اکسیداتیو خفیف، سطح پراکسید هیدروژن را به‌عنوان یک پیام‌رسان افزایش داد. گیاه در پاسخ، با افزایش همزمان و متناسب فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، یک سازگاری هورمیک ایجاد کرد که تعادل پویایی بین تحریک رشد و خنثی‌سازی تنش برقرار نمود.

**نتیجه‌گیری:** نانوکود روی با ایجاد تنش اکسیداتیو خفیف و افزایش سطح پیام‌رسان پراکسید هیدروژن، سیستم آنتی‌اکسیدانی گندم را فعال کرد. گیاه در پاسخ، با افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، سازگاری هورمیک ایجاد نمود که تعادل پویایی بین تحریک رشد و مدیریت تنش برقرار کرد. بر این اساس، نانوکود هیدروچار اصلاح‌شده با نانوذرات روی با بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی، راهکاری مؤثر و سازگار با محیط‌زیست برای افزایش رشد گندم معرفی می‌شود. این پژوهش گامی عملی در راستای ارزش‌آفرینی پسماندهای کشاورزی و تحقق اقتصاد چرخشی است.

**واژه‌های کلیدی:** پسماند، نانوساختار، روی، هیدروپونیک، گندم.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۰۷ اصلاح: ۱۴۰۴/۰۴/۲۰ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۰۸ انتشار آنلاین: ۱۴۰۴/۰۷/۰۱

استناد: سوری، ز. و نوروزی، ل. (۱۴۰۴). سنتز نانو کود بر پایه هیدروچارهای حاصل از پسماند گیاهی و اثر آن بر گیاه گندم. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۴(۳).

DOI: [10.22126/cbb.2025.13071.1125](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.13071.1125) ۳۲۷-۳۱۷



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه رازی

## مقدمه

امروزه تغییرات اقلیمی، گسترش آلاینده‌ها و کاهش بازدهی و کیفیت محصولات کشاورزی به چالش جدی تبدیل شده است. از سوی دیگر استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی خطر جدی برای سلامت انسان، خاک و گیاهان به وجود آورده است. بنابراین، تولید کودهایی که اثرات زیست تخریب پذیری کمتر و کارایی بیشتری نسبت به کودهای شیمیایی مرسوم دارند، در کانون توجه پژوهشگران قرار گرفته است ( Abdelbasir et al., 2020).

فناوری نانو با ایجاد تحول در علوم مختلف، پتانسیل بالایی برای ارائه راهکارهای نوین در حوزه کشاورزی دارد (Souri et al., 2021). یکی از کاربردهای امیدبخش این فناوری، توسعه "نانوکودها" است. این کودها قادرند عناصر غذایی را به تدریج و با سرعت مناسب در اختیار گیاه قرار دهند که این امر منجر به افزایش راندمان جذب، کاهش آبشویی و در نهایت، کاهش مصرف کود و آلودگی‌های زیست محیطی می‌شود. در بین نانومواد مختلف، نانومواد مبتنی بر کربن مانند هیدروچار، به دلیل ساختار کربنی غیر سمی، سمیت کم و سازگاری زیستی بالا، گزینه‌ای ایمن‌تر و مورد اقبال گسترده‌تر برای استفاده در کشاورزی محسوب می‌شوند (Chugh & Kaur, 2021). مطالعات متعدد نشان داده‌اند که کاربرد نانوذرات می‌تواند پارامترهایی مانند جوانه‌زنی بذر، نرخ فتوسنتز، مقاومت در برابر تنش‌های اکسیداتیو و همچنین عملکرد و کیفیت محصول را در گیاهان مختلف بهبود بخشد ( Prasad et

al., 2012; Zafar et al., 2016; Sharifan et al., 2020; Banerjee et al., 2023

در سال‌های اخیر استفاده از مواد کربنی که باعث بهبود رشد گیاهان می‌شوند، مورد توجه فراوان قرار گرفته است (Ding et al., 2023). بیوچار و هیدروچار از جمله مواد جامد کربنی با اهمیتی هستند که از کربنیزه شدن زیست توده‌های آلی تولید شده و باعث ترسیب کربن<sup>۱</sup> و بهبود حاصلخیزی خاک می‌شوند ( Padhye et al., 2022; Wu et al., 2023). هیدروچار نسبت به بیوچار عملکرد بیشتری (نسبت ماده جامد کربن دار به زیست توده) بیشتری دارد، بنابراین در هیدروچار نسبت به بیوچار، کربن بیشتری تثبیت می‌شود ( Padhye et al., 2022; Ding et al., 2023). قابل ذکر است که ادغام هیدروچار با رویکردهای نانوذرات محور، راه‌حلی بسیار امیدوارکننده جهت تولید مواد سازگار با محیط زیست است، که این رویکرد نوآورانه دارای پتانسیل بسیار زیادی برای پیشبرد قلمروهای شیمی سبز و احیای محیط است ( Khan et al., 2023). تحقیقات نشان داده‌اند که کاربرد انواع بیوچار و هیدروچار تأثیرات مثبتی بر رشد گیاهان داشته و همچنین منجر به افزایش مقاومت گیاهان در شرایط تنش گردیده است ( Torabian et al., 2021; Sun et al., 2022; Ding et al., 2023).

عنصر روی (Zn) به‌عنوان یک عنصر ضروری، نقش مهمی در متابولیسم و رشد بهینه‌ی گیاه ایفا می‌کند ( Hassan et al., 2020). از نقش‌های مهم این عنصر ضروری می-

<sup>1</sup> Carbon sequestration

می‌گردد ( Rossi *et al.*, 2019; Soury *et al.*, 2021; Banerjee *et al.*, 2023).

گندم با نام علمی *Triticum aestivum* از مهم‌ترین محصولات زراعی جهان به‌شمار می‌رود که نقش بی‌بدیلی در تأمین امنیت غذایی جهانی ایفا می‌کند. این گیاه استراتژیک، بخش عمده‌ای از نیازهای غذایی بشر را برطرف ساخته و حدود ۶۰ درصد از پروتئین و کالری موردنیاز در رژیم غذایی روزانه را فراهم می‌آورد ( Adil *et al.*, 2022). با افزایش جمعیت و محدودیت روش‌های کشاورزی متداول، استفاده از سیستم‌های کارآمدی مانند کشت هیدروپونیک می‌تواند با بهینه‌سازی مصرف نهاده‌ها (آب و کود) و افزایش عملکرد در واحد سطح، به تأمین این تقاضای فزاینده کمک کند. بنابراین، این پژوهش با هدف اصلی سنتز و ارزیابی نانوکود هیدروچار اصلاح‌شده با نانوذرات روی بر شاخص‌های رشد گیاه گندم رقم پیشگام در شرایط کشت هیدروپونیک طراحی گردید. هدف این مطالعه شامل بهینه‌سازی فرآیند سنتز برای تولید کودی کارآمد و سازگار با محیط‌زیست، تأیید ویژگی‌های نانو ساختاری آن، و سپس ارزیابی تأثیرات این نانوکود بر پارامترهای رشد (مانند طول و وزن ریشه و بخش هوایی) و شاخص‌های فیزیولوژیکی (مانند محتوای کلروفیل و فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) در گیاه گندم می‌باشد.

#### مواد و روش‌ها

توان به عملکردهای صحیح فیزیولوژیکی به واسطه‌ی تنظیم فرآیندهای حیاتی در گیاهان از جمله فتوسنتز و تولید کربوهیدرات‌ها، لقاح و تولید بذر، تنظیم رشد و مقاومت در برابر تنش‌ها اشاره کرد ( Mustafa *et al.*, 2022). عنصر روی در متابولیسم پروتئین‌ها، متابولیسم اکسین<sup>۱</sup> (IAA)، تشکیل دانه‌ی گرده، رشد دانه‌ها و اندامک‌های تولیدی گیاه، حفظ غشای زیستی، مقاومت به عوامل بیماری‌زا، تولید کلروفیل، باروری و جوانه‌زنی دانه، فعال‌سازی آنزیم‌های کلیدی متابولیسم سلولی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان<sup>۲</sup>، شرکت در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک و کنترل تکثیر و تمایز سلول‌ها نقش دارد (Hassan *et al.*, 2020). همچنین مشخص شده که عنصر روی به‌عنوان کوفاکتور جزء ضروری چندین آنزیم است که مسئول انواع مسیرهای بیوشیمیایی در گیاهان هستند ( Suganya *et al.*, 2020). ثابت شده است که IAA به‌عنوان محرک رشد نقش مهمی در افزایش تقسیم سلولی، جوانه زنی، بنیه بذر و گیاهچه، تولید گرده، و مقاومت در برابر تنش‌ها دارد، از این‌رو بر عملکرد و بازدهی محصول گیاهان زراعی نیز تأثیر می‌گذارد (Mustafa *et al.*, 2022). مطالعات متنوعی در ارتباط با بررسی اثر انواع نانو ذرات روی بر گیاهان مختلف صورت گرفته است و نتایج نشان داده اند که کاربرد نانوذرات اثرات مثبتی بر افزایش نرخ فتوسنتز، میزان زیست توده و کیفیت مواد مغذی داشته و باعث بهبود پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گیاهان

<sup>1</sup> Auxin

<sup>2</sup> Antioxidant enzymes

## سنتز نانو کود بر پایه هیدروچار حاصل از پسماند

## گیاهی اصلاح شده با ZnO

سنتز نانوذرات در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام گردید. نانوذرات کربن عامل دار شده با اکسید روی، از پسماند پوست نارنگی با روش هیدروترمال سنتز شدند. پس از خشک و پودر کردن پسماندها، مخلوطی از ۳۰ درصد وزنی استات روی به یک گرم پودر پسماند خشک، تهیه و pH آن با استفاده از محلول آمونیاک ۳۷٪ به ۱۰ تنظیم گردید. این مخلوط به مدت ۶ ساعت در دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس در اتوکلاو قرار داده شد. محصول نهایی بدون مرحله سانتریفیوژ، به-طور مستقیم مورد استفاده قرار گرفت و با تکنیک‌های XRD، FESEM و FT-IR از نظر مورفولوژی، اندازه ذرات و گروه‌های عاملی شناسایی و بررسی شد.

## تأثیر نانو کود سنتز شده بر گیاه گندم در شرایط

کشت هیدروپونیک<sup>۱</sup>

آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در سال ۱۴۰۲ در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه رازی کرمانشاه انجام گردید. با توجه به اهمیت گیاه گندم، در مرحله کشت هیدروپونیک گیاه گندم رقم پیشگام جهت بررسی تأثیر نانو کود سنتز شده، انتخاب گردید. در این مرحله ابتدا بذره‌های گیاه به وسیله‌ی محلول سدیم هیپو کلرایت ۱٪ به مدت ۲ دقیقه ضد عفونی و سپس با آب مقطر شستشو گردیدند تا در مراحل بعدی مورد استفاده

قرار گیرند. بذره‌های استریل شده داخل ظروفی که از قبل با پرلیت پر شده، قرار گرفتند و پس از جوانه‌زنی، بذرها به ظروف مخصوص کشت هیدروپونیک که حاوی هوگلند ۱۰ درصد (Souri et al., 2021) بودند، انتقال داده شدند. سپس ظروف هیدروپونیک در داخل اتاقک رشد (ژرمیناتور) با شرایط کنترل شده شامل چرخه دمایی روزانه (۲۵ درجه سلسیوس در طول ۱۶ ساعت دوره نوری و ۱۸ درجه سلسیوس در طول ۸ ساعت دوره تاریکی)، رطوبت نسبی ۵۰ درصد، تناوب نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نوری حدود ۱۵۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه، قرار گرفتند. پس از ۷ روز و رسیدن به مرحله چهار برگی، گیاهچه‌های داخل ظروف هیدروپونیک به گروه‌های سه تایی (هر تیمار، سه تکرار) تقسیم شدند و مورد تیمار قرار گرفتند. تیمار نانوکود در غلظت‌های ۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر به مدت ۲۱ روز در شرایط کشت هیدروپونیک اعمال گردید. پس از برداشت، نمونه‌های گیاهی (بخش هوایی و ریشه) بلافاصله برای اندازه‌گیری وزن تر مورد سنجش قرار گرفتند. سپس برای تجزیه و تحلیل‌های فیزیولوژیکی بعدی (اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی، پراکسید هیدروژن و فعالیت آنزیم‌ها)، نمونه‌ها در فریزر ۷۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند تا از تخریب مواد مورد بررسی جلوگیری شود.

## پارامترهای مورد مطالعه

## پارامترهای رشد

<sup>۱</sup> - Hydroponic

برای اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، مقدار ۰/۱ گرم از بافت تر برگ وزن شد و استخراج رنگیزه‌ها توسط استون ۸۰ درصد صورت گرفت. سپس محلول سبز رنگ بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس سانتریفیوژ گردید (Arnon, 1949). پس از آن جذب محلول رویی به‌وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر ثبت و با استفاده از روابط زیر محتوای کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید محاسبه گردید:

محاسبه کلروفیل a (۱)

$$Chl a(mg/ml) = (12.7 \times A663) - (2.69 \times A645)$$

محاسبه کلروفیل b (۲)

$$Chl b(mg/ml) = (22.9 \times A645) - (4.68 \times A663)$$

محاسبه کلروفیل کل (۳)

$$Total Chl \left( \frac{mg}{ml} \right) = Chl a + Chl b$$

محاسبه کاروتنوئید (۴)

$$Carotenoid \left( \frac{mg}{ml} \right) = (1000 \times A470) - (1.82 \times Chl a) - (85.02 \times Chl b)/198$$

کلروفیل a =  $[ (12/7 \times 663) - (2/6 \times 645) ]$  جذب نانومتر / میلی لیتر استون / میلی گرم بافت برگ

کلروفیل b =  $[ (22/9 \times 645) - (4/68 \times 663) ]$  جذب نانومتر / میلی لیتر استون / میلی گرم بافت برگ

کلروفیل کل = کلروفیل a + کلروفیل b

محتوای کاروتنوئید =  $(1000 \times OD_{470} - 1.8 \times Chl a - 85.02 \times Chl b) / 198$

بهم‌منظور برآورد شاخص‌های رشد، بعد از سپری شدن دوره تیمارها، پس از برداشت نمونه‌ها، طول ریشه و طول بخش هوایی با استفاده از خط‌کش (بر حسب سانتی‌متر) اندازه‌گیری گردید. سپس بخش هوایی و ریشه‌ی هر گیاه جدا شده و پس از خشک کردن آب موجود در سطح گیاهان بلافاصله با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و میزان وزن تر آنها بدست آمد.

اندازه‌گیری محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی

**اندازه‌گیری محتوای پراکسید هیدروژن<sup>۱</sup> (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

برای تعیین محتوای پراکسید هیدروژن، از روش ولیکووا و همکاران (Velikova *et al.*, 2000) با اندکی تغییر استفاده شد. مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت برگ با ۲ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک‌اسید (TCA) ۰/۱ درصد در هاون چینی ساییده شد و عصاره‌ی حاصل در ۱۲۰۰۰ دور، به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از مایع رویی برداشته و به آن ۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار و ۱ میلی‌لیتر یدید پتاسیم ۱ مولار اضافه گردید. جذب مخلوط ذکر شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد.

**اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز<sup>۲</sup> (CAT)**

برای اندازه‌گیری میزان غلظت کمی این آنزیم، ۵۰ میکرولیتر از عصاره گیاه با ۱ میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز که حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH, ۷) و H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ۱۵ میلی‌مولار بود (Aebi, 1984)، مخلوط شده و سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه، به وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

**اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز<sup>۳</sup> (POD)**

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت این آنزیم از روش چانس و ماهلی (Chance & Maehly, 1954) با اندکی

تغییرات استفاده گردید. اندازه‌گیری بر اساس میزان اکسید شدن گوایکول توسط این آنزیم انجام شد. در این روش ۷۵ میکرولیتر از عصاره‌ی گیاه را با ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی‌مولار گوایکول، ۵ میلی‌مولار H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و ۰/۲ مولار بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH, ۷) بود، مخلوط کرده و به مدت ۱ دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر، جذب آن خوانده شد.

**آنالیز آماری داده‌ها**

جزیه و تحلیل داده‌های حاصل از مراحل مختلف این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (Version 20) صورت گرفت. مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد، انجام گردید. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

**نتایج و بحث****شناسایی نانو کود بر پایه هیدروچار حاصل از پسماند****گیاهی اصلاح شده با ZnO**

تصاویر FESEM از نانوذرات اکسید روی بارگذاری شده بر بستر هیدروچار مشتق شده از پسماند گیاهی، در بزرگنمایی ۲۰۰ نانومتر، ساختار نانو رشته‌ای درهم‌پیچیده‌ای با ابعاد متغیر را آشکار می‌سازند. همان‌طور که در شکل 1A مشاهده می‌شود، نانوذرات اکسید روی با ریخت‌شناسی کروی و با پراکندگی یکنواخت بر سطح نانو رشته‌های هیدروچار توزیع شده‌اند.

<sup>1</sup> Hydrogen peroxide<sup>2</sup> Catalase<sup>3</sup> Peroxidase

گروه متیل نسبت داده شده است (Shaikh *et al.*, 2019). پیک‌های مشاهده‌شده در نواحی  $1085$  و  $cm^{-1}$   $1046$  مربوط به ارتعاشات کششی متقارن و نامتقارن C-O هستند (Shaikh *et al.*, 2019). همچنین باندهای جذبی در محدوده  $669$  تا  $900$   $cm^{-1}$  ناشی از خمش‌های آروماتیکی C-H می‌باشند (Shaikh *et al.*, 2019). باند جذبی در ناحیه  $451$   $cm^{-1}$  مشخصه پیوند Zn-O است (Hedayati, 2015; Huang *et al.*, 2014). وجود پیک شدید در ناحیه  $1200$   $cm^{-1}$  می‌تواند ناشی از برهمکنش بین اتم‌های روی و گروه‌های هیدروکسیل سطح هیدروچار باشد (Maduraimuthu *et al.*, 2023).

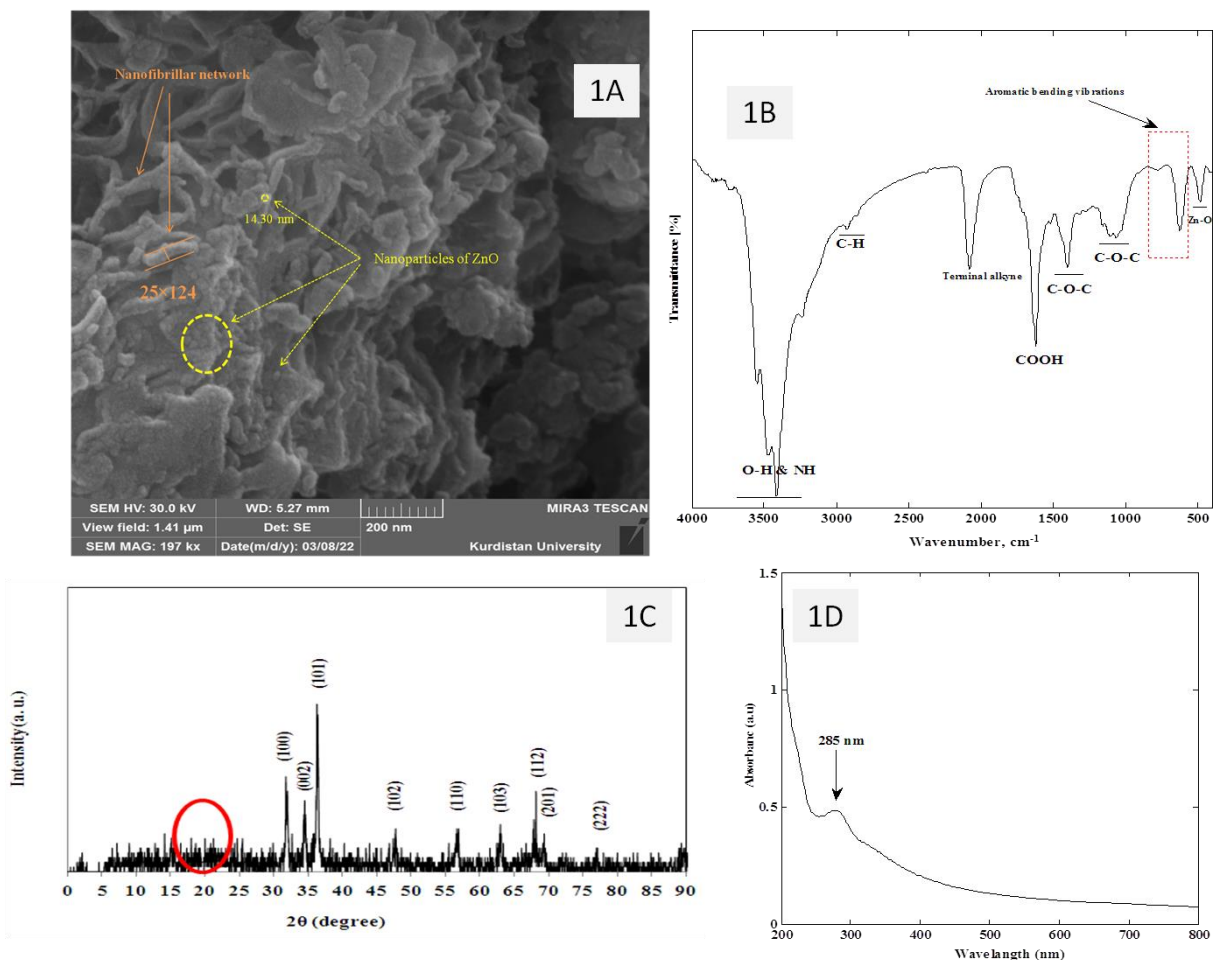
شکل 1C الگوی پراش پرتو ایکس (XRD) هیدروچار اصلاح شده با ZnO را نشان می‌دهد. با استفاده از پایگاه داده استاندارد JCPDS، پیک‌های پراش مشاهده‌شده در زوایای  $31/8$ ،  $34/44$ ،  $36/29$ ،  $47/57$ ،  $56/61$ ،  $67/96$ ،  $69/07$  درجه به ترتیب به صفحات کریستالی (100)، (002)، (101)، (102)، (110)، (112) و (201) ساختار کریستالی مکعبی نانوذرات ZnO نسبت داده شدند (Santhoshkumar *et al.*, 2017). از سوی دیگر، پیک پهن مشاهده‌شده در زاویه  $25$  درجه مربوط به ساختار آمورف کربن در هیدروچار می‌باشد (Rai *et al.*, 2017). شدت بالای پیک‌های مربوط به ZnO و پهنای زیاد پیک مربوط به کربن، حضور همزمان فازهای کریستالی و آمورف در نمونه را تأیید می‌کند.

این نانوذرات در محدوده اندازه‌ای تقریبی  $20$  نانومتر بر روی بستر رشته‌ای با ابعاد متوسط  $25$  نانومتر عرض و  $125$  نانومتر طول تثبیت شده‌اند. این مشاهدات، موفقیت‌آمیز بودن فرآیند بارگذاری نانوذرات اکسید روی بر بستر نانو رشته‌ای هیدروچار را به وضوح تأیید می‌کنند. در واقع، هیدروچار سنتر شده در این پژوهش می‌تواند به عنوان بستری کارآمد برای ذخیره‌سازی و انتقال کنترل‌شده نانوذرات اکسید روی به گیاه مورد استفاده قرار گیرد.

طیف FTIR هیدروچار اصلاح شده با اکسید روی در شکل 1B پیک‌هایی در محدوده‌های مختلف مربوط به گروه‌های عاملی موجود در ساختار هیدروچار نشان می‌دهد. یک پیک گسترده و شدید در ناحیه  $3330$  تا  $3600$   $cm^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی گروه‌های O-H و N-H است. حضور این گروه‌های عاملی در تجزیه و تحلیل FTIR نشان‌دهنده وجود ترکیباتی همچون پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها، تریپنوئیدها، پلی‌ساکاریدها و سایر گروه‌های عاملی در سطح هیدروچار می‌باشد (Maduraimuthu *et al.*, 2023). پیک‌های مشاهده‌شده در نواحی  $2938$  و  $2878$   $cm^{-1}$  به ارتعاش کششی C-H نسبت داده می‌شوند (Huang *et al.*, 2014). همچنین پیک مشاهده‌شده در ناحیه  $1200$   $cm^{-1}$  مربوط به ارتعاش کششی C-OH بوده که حاکی از حضور گروه‌های هیدروکسیل در سطح هیدروچار است. پیک موجود در ناحیه  $1647$   $cm^{-1}$  مشخصه گروه عاملی کربوکسیل (COOH-) می‌باشد. باند جذبی در  $1380$   $cm^{-1}$  به ارتعاش خمشی C-H مرتبط با

نانومتر نشان می‌دهد که مشخصه تشکیل نانوذرات ZnO می‌باشد. شایان ذکر است که عواملی همچون اندازه، شکل و ثابت دی‌الکتریک محیط بر ویژگی‌های جذب تأثیرگذار هستند (Roopan *et al.*, 2019).

تشکیل نانوذرات هیدروچار اصلاح شده با ZnO توسط طیف‌سنجی UV-Vis در محدوده ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل 1D نشان داده شده است، طیف UV-Vis یک پیک جذب در ۲۸۵



شکل ۱- تصویر FESEM نانوذرات ZnO بر بستر هیدروچار (A)، آنالیز FTIR نانوذرات ZnO بر بستر هیدروچار (B)، آنالیز XRD نانوذرات ZnO بر بستر هیدروچار (C) و آنالیز Uv-Vis نانوذرات ZnO بر بستر هیدروچار (D).

Figure 1- FESEM image of ZnO nanoparticles on hydrochar substrate (A), FTIR analysis of ZnO nanoparticles on hydrochar substrate (B), XRD analysis of ZnO nanoparticles on hydrochar substrate (C), and Uv-Vis analysis of ZnO nanoparticles on hydrochar substrate (D).

که، اثر تیمار نانوذره روی (نانو کود) بر وزن تر ریشه و بخش هوایی به ترتیب در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵ معنی دار بوده است. همچنین اثر تیمار نانوذره روی (نانو کود) بر محتوای کلروفیل کل در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی دار بوده، اما اثر آن بر محتوای کاروتنوئید در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی دار نمی باشد.

اثر هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی (نانو کود) بر رشد و پاسخ های فیزیولوژیکی گندم

با توجه به جدول ۱، نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تغییرات طول ریشه و بخش هوایی تحت تاثیر تیمار نانوذره روی (نانو کود) (غلظت های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر) در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی دار نمی باشد. در حالی

جدول ۱- جدول آنالیز واریانس تأثیر هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی (نانو کود) بر پارامترهای رشد (طول و وزن تر ریشه و بخش هوایی) و محتوای کلروفیل و کاروتنوئید گندم.

**Table 1- Analysis of variance (ANOVA) of the effect of hydrochar modified with zinc oxide nanoparticles (nano-fertilizer) on the growth parameters (length and fresh weight of root and shoot) and the chlorophyll and carotenoid content of wheat.**

منبع تغییرات	درجهی آزادی	میانگین مربعات				طول ریشه (cm)	طول بخش هوایی (cm)
		وزن تر بخش هوایی	وزن تر ریشه	محتوای کلروفیل کل (mg/g fresh weight)	محتوای کاروتنوئید (mg/g fresh weight)		
نانوذره روی (نانو کود)	2	1.2*	0.017**	0.45*	27.1 <sup>ns</sup>	7.2 <sup>ns</sup>	
خطا	6	0.48	0.003	0.12	23.9	5.8	
کل	9	114.3	3.4	49.9	3978.1	3067.4	
ضریب تغییرات		12.4	7.7	12	11.3	6.5	

ns، \* و \*\*، به ترتیب نشان دهندهی اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۱، ۰/۰۵ و عدم وجود اختلاف معنی دار می باشد.

پیش‌گیرانه برای افزایش کارایی جذب و تبدیل انرژی نور باشد. از سوی دیگر، در غلظت بالاتر (۴۰ میلی‌گرم بر لیتر)، احتمال دارد گیاه در معرض یک محرک قوی‌تر قرار گرفته و راهبرد خود را به سمت تقسیم و طول‌شدن سلولی شتاب‌یافته و نیز فعال‌سازی سازوکارهای تحمل سلولی (مانند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی) تغییر دهد. این تغییر اولویت، ممکن است با هدف حفظ هموستازی و مقاومت ساختمانی در شرایط محرک صورت پذیرد. در مجموع، این مشاهدات مؤید آن است که پاسخ جامع گیاهان به نانوذرات، یک پدیده خطی ساده نیست، بلکه حاصل یک تعامل پیچیده میان سیگنال‌های محیطی، مسیرهای متابولیکی و راهبردهای رشد است که در نهایت به یک خروجی فیزیولوژیک متعادل و وابسته به غلظت منجر می‌گردد. این نتایج با یافته‌های رالیا و همکاران (Raliya et al., 2015) همسو است که گزارش کردند نانوذرات روی موجب تحریک رشد ریشه در گیاه گوجه فرنگی می‌شوند. همچنین بهبود پارامترهای رشد و میزان فتوسنتز که بر اثر کاربرد نانو ذره روی مشاهده گردید، با نتایج راسی و همکاران (Rossi et al., 2019) مطابقت دارد که نشان دادند نانوذرات اکسید روی موجب بهبود پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی در گیاه قهوه می‌شوند. همچنین عدیل و همکاران (Adil et al., 2022) نشان داده‌اند که استفاده از نانوکود اکسید روی به‌طور قابل توجهی باعث بهبود شاخص‌های رشد و فیزیولوژیکی گندم تحت تنش شوری شده و کاربرد نانو اکسید روی منجر به افزایش معنی‌دار ارتفاع گیاه، وزن

بر طبق نتایج بدست آمده، به‌طور کلی کاربرد نانو کود باعث افزایش پارامترهای رشد (طول و وزن ریشه و بخش هوایی) و همچنین بهبود شاخص‌های فیزیولوژیکی (کلروفیل کل و کاروتنوئید) گیاه گندم گردید. بر اساس داده‌های جدول ۲، کاربرد نانوکود در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر منجر به افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشد شامل طول و وزن تر ریشه و بخش هوایی در مقایسه با تیمار شاهد گردید. کاربرد نانو کود در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر، باعث افزایش معنی‌دار وزن تر گیاه شد و وزن تر ریشه و بخش هوایی به ترتیب ۳۲ و ۲۳ درصد، نسبت به تیمار شاهد، افزایش یافت. در مقابل، حداکثر افزایش در شاخص‌های بیوشیمیایی مرتبط با فتوسنتز، یعنی محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید، در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. کاربرد نانو کود در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر باعث افزایش ۲۴ و ۲۶ درصدی محتوای کلروفیل و کاروتنوئید، نسبت به تیمار شاهد، گردید.

الگوی پاسخ وابسته به غلظت و متمایز در سطوح مختلف سازمانی گیاه، بیانگر یک تنظیم فیزیولوژیک پویا است. چنین واکنش دوگانه‌ای را می‌توان با مفهوم تخصیص منابع تفسیر نمود. به‌نظر می‌رسد در غلظت پایین‌تر (۲۰ میلی‌گرم در لیتر)، گیاه با بهینه‌سازی دسترسی به عنصر روی، منابع را بیشتر به سمت تقویت فرآیندهای بیوشیمیایی اولیه از جمله بیوسنتز رنگدانه‌های فتوسنتزی سوق می‌دهد. این امر می‌تواند بازتاب یک راهبرد

ریشه و بخش هوایی، محتوای کلروفیل و در نهایت عملکرد دانه گردید. سازوکار این بهبود، مربوط به اندازه کوچک و سطح ویژه بالای نانوذرات است که باعث حلالیت بهتر و جذب کارآمدتر عنصر روی می‌شود.

افزایش معنی‌دار محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها در گیاهان تیمار شده با نانوکود، به‌ویژه در غلظت ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر، را می‌توان به‌طور مستقیم به نقش حیاتی عنصر روی در فرآیند فتوسنتز و متابولیسم گیاه نسبت داد. روی به‌عنوان کوفاکتور چندین آنزیم کلیدی، از جمله آنزیم‌های دخیل در سنتز کلروفیل و چرخه کربن فتوسنتزی، عمل می‌کند ( Hassan *et al.*, 2020; Suganya *et al.*, 2020).

پیش‌سازهای کلروفیل و در حفظ یکپارچگی غشاهای تیلاکوئیدی دخالت دارد (Mustafa *et al.*, 2022). از سوی دیگر، بهبود مشاهده‌شده در شاخص‌های رشدی (طول و وزن) در غلظت بالاتر نانوکود (۴۰ میلی‌گرم در لیتر)، می‌تواند با نقش روی در سنتز و متابولیسم اکسین (IAA) مرتبط باشد. روی در مسیر بیوسنتز تریپتوفان، که پیش‌ساز IAA است، ضروری می‌باشد ( Hassan *et al.*, 2020). افزایش سطح IAA می‌تواند محرک مستقیم تقسیم و طولی شدن سلولی باشد که به نوبه خود منجر به بهبود رشد ریشه و ساقه می‌گردد ( Mustafa *et al.*, 2022).

بنابراین، نانوکود حاوی عنصر روی با فراهمی سازی کارآمد و تدریجی یون‌های روی از طریق بستر هیدروچار، این مسیرهای متابولیکی را تقویت کرده و در نهایت منجر به بهبود همزمان شاخص‌های فتوسنتزی و رشدی در گیاه گندم می‌شوند. این یافته‌ها با نتایج سایر پژوهش‌ها که بیانگر تأثیر مثبت نانوذرات روی بر پارامترهای فیزیولوژیکی و رشد گیاهان هستند، همسو می‌باشد ( Rossi *et al.*, 2019; Banerjee *et al.*, 2023).

ا توجه به شکل ۲، کاربرد نانوکود هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی، تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر رشد گیاه گندم در سیستم کشت هیدروپونیک داشته است، به‌طوری‌که با افزایش غلظت این نانوکود از تیمار شاهد (صفر میلی‌گرم بر لیتر) به غلظت‌های ۲۰ و سپس ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر، بهبود قابل ملاحظه‌ای در ارتفاع گیاه، طولی شدن ریشه و تراکم و گسترش بخش هوایی مشاهده می‌گردد. این بهبود رشد در وضعیت ظاهری گیاهان، تأییدکننده داده‌های کمی گزارش‌شده مبنی بر افزایش معنی‌دار پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی تحت تأثیر این نانوکود است و اثربخشی آن را به‌ویژه در غلظت ۴۰ میلی‌گرم بر لیتر تأیید می‌کند.

جدول ۲- تأثیر هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی (نانو کود) بر پارامترهای رشد (طول و وزن تر ریشه و بخش هوایی) و محتوای کلروفیل و کاروتنوئید گندم. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر معنی دار بودن اثر تیمارها بر میانگین پارامترهای رشد با استفاده از آزمون دانکن می باشند. داده ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد ارائه شده اند.

**Table 2-The effect of hydrochar modified with zinc oxide nanoparticles (nano-fertilizer) on the growth parameters (length and fresh weight of root and shoot) and the chlorophyll and carotenoid content of wheat. Different letters in each column indicate a significant effect of treatments on the average growth parameters using Duncan's test. Data are presented as mean  $\pm$  standard error.**

غلظت هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی (نانو کود)						
محتوای کاروتنوئید (میلی گرم / گرم وزن تر)	محتوای کلروفیل کل (میلی گرم / گرم وزن تر)	وزن تر بخش هوایی (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	طول بخش هوایی (سانتی متر)	طول ریشه (سانتی متر)	Hydrochar modified with zinc oxide nanoparticles (nano-fertilizer) concentration (mg/L)
Carotenoid content (mg/g fresh weight)	Total chlorophyll content (mg/g fresh weight)	Shoot fresh weight (g)	Root fresh weight (g)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	
3.4 <sup>b</sup> $\pm$ 0.25	2.1 <sup>b</sup> $\pm$ 0.05	3.01 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	0.56 <sup>b</sup> $\pm$ 0.009	17.5 <sup>b</sup> $\pm$ 0.3	18.6 <sup>b</sup> $\pm$ 0.3	0
4.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.14	2.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.12	3.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.24	0.63 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.019	18.2 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.8	21.2 <sup>ab</sup> $\pm$ 1.3	20
3.7 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.24	2.2 <sup>b</sup> $\pm$ 0.04	3.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.14	0.66 <sup>a</sup> $\pm$ 0.007	19.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.5	22.8 <sup>a</sup> $\pm$ 1.5	40



شکل ۲- تأثیر هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی (نانو کود) بر رشد گیاه گندم.

**Figure 2- The effect of hydrochar modified with zinc oxide nanoparticles (nano-fertilizer) on the growth of wheat.**

تیمار ۴۰ میلی گرم بر لیتر، به میزان ۷۳ درصد افزایش یافت که به ترتیب همراه با افزایش ۱۴۰ و ۵۰ درصدی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، در مقایسه با تیمار شاهد بود. همچنین در بخش هوایی، کاربرد نانو کود در غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ می گرم بر لیتر به ترتیب باعث افزایش ۶۰ و ۱۰۰ درصدی محتوای پراکسید هیدروژن، در مقایسه با تیمار شاهد گردید. کاربرد نانو کود در غلظت ۴۰ میلی گرم بر لیتر باعث افزایش معنی دار فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شد و میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بخش هوایی به ترتیب ۷۴ و ۷۷ درصد، نسبت به تیمار شاهد، افزایش یافت.

با توجه به جدول ۳، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تغییرات محتوای پراکسید هیدروژن ریشه تحت تأثیر تیمار نانوذره روی (نانو کود) (غلظت‌های ۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر لیتر) سطح احتمال ۰/۰۵ معنی دار نمی باشد. در حالی که، اثر تیمار نانوذره روی (نانو کود) بر محتوای پراکسید هیدروژن بخش هوایی در سطح احتمال ۰/۰۰۱ معنی دار بوده است. تغییرات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه و بخش هوایی تحت تأثیر تیمار نانوذره روی، در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی دار می باشد. همچنین اثر تیمار نانوذره روی (نانو کود) بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و بخش هوایی به ترتیب در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵ معنی دار می باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده (جدول ۴)، کاربرد نانو کود تأثیر قابل توجهی بر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاه گندم داشت. در ریشه، محتوای پراکسید هیدروژن در

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس تأثیر هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی (نانوکود) بر محتوای پراکسید هیدروژن و میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز ریشه و بخش هوایی گیاه گندم.

**Table 3- Analysis of variance (ANOVA) of the effect of hydrochar modified with zinc oxide nanoparticles (nano-fertilizer) on the hydrogen peroxide content and the activity of catalase and peroxidase enzymes in the roots and shoots of wheat.**

مجموع مربعات						منبع تغییرات	درجه‌ی آزادی
میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز	میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز	میزان فعالیت آنزیم کاتالاز	میزان فعالیت آنزیم کاتالاز	محتوای پراکسید هیدروژن	محتوای پراکسید هیدروژن		
بخش هوایی	پراکسیداز	بخش هوایی	ریشه	هیدروژن	هیدروژن		
Shoot peroxidase enzyme activity (U/mg protein)	ریشه peroxidase enzyme activity (U/mg protein)	Shoot catalase enzyme activity (U/mg protein)	Root catalase enzyme activity (U/mg protein)	بخش هوایی Shoot hydrogen peroxide content (μmol/g fresh weight)	ریشه Root hydrogen peroxide content (μmol/g fresh weight)		
4.3*	295.1**	12.5*	658.0*	3.2***	7.8 <sup>ns</sup>	2	نانوذره روی (نانو کود)
1.5	63.2	6.3	259.5	0.34	4.7	6	خطا
92.4	9677.1	252.6	5768.4	53.7	187.5	9	کل
26.1	19.6	28.4	43.5	26.6	26.8		ضریب تغییرات

\*\*\*، \*\*، \* و <sup>ns</sup> به ترتیب نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۰۱، ۰/۰۱، ۰/۰۵ و عدم وجود اختلاف معنی دار ۰ می باشد.

جدول ۴- تأثیر هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی (نانو کود) بر محتوای پراکسید هیدروژن و میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ریشه و بخش هوایی گیاه گندم. حروف متفاوت در هر ستون بیانگر معنی دار بودن اثر تیمارها بر میانگین محتوای پراکسید هیدروژن و میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ریشه و بخش هوایی با استفاده از آزمون دانکن می‌باشند. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد ارائه شده‌اند.

**Table 4- The effect of hydrochar modified with zinc oxide nanoparticles (nano-fertilizer) on the hydrogen peroxide content and the activity of catalase and peroxidase enzymes in the roots and shoots of wheat. Different letters in each column indicate a significant effect of treatments on the mean hydrogen peroxide content and the activity of catalase and peroxidase enzymes in the roots and shoots using Duncan's test. Data are presented as mean  $\pm$  standard error.**

غلظت هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی (نانوکود)	محتوای پراکسید (میکرومول/گرم وزن تر)	محتوای پراکسید (میکرومول/گرم هوایی)	میزان فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه (واحد/میلی گرم پروتئین)	میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بخش هوایی (واحد/میلی گرم پروتئین)	میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه (واحد/میلی گرم پروتئین)	میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بخش هوایی (واحد/میلی گرم پروتئین)
Hydrochar modified with zinc oxide nanoparticles (nano-fertilizer) concentration (mg/L)	Root hydrogen peroxide content ( $\mu\text{mol/g}$ fresh weight)	Shoot hydrogen peroxide content ( $\mu\text{mol/g}$ fresh weight)	Root catalase activity (U/mg protein)	Shoot catalase activity (U/mg protein)	Root peroxidase enzyme activity (U/mg protein)	Shoot peroxidase enzyme activity (U/mg protein)
0	$3.1^b \pm 0.28$	$1.6^c \pm 0.13$	$14.5^c \pm 0.6$	$3.8^b \pm 0.43$	$24.1^b \pm 0.72$	$2.2^b \pm 0.06$
20	$4.8^{ab} \pm 0.66$	$2.4^b \pm 0.14$	$20.3^b \pm 3.3$	$4.9^{ab} \pm 0.15$	$35.6^a \pm 2.3$	$3.1^{ab} \pm 0.11$
40	$5.2^a \pm 0.51$	$3.1^a \pm 0.12$	$34.8^a \pm 5.6$	$6.6^a \pm 0.91$	$36.8^a \pm 2.1$	$3.9^a \pm 0.48$

آنتی‌اکسیدانی گیاه را تحریک کنند، با یافته‌های سایر پژوهش‌ها نیز هم‌خوانی دارد (Banerjee et al., 2023).

بیه‌طور کلی، این مطالعه نشان می‌دهد که نانوکود هیدروچار اصلاح شده با نانوذره روی می‌تواند با تحریک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و بهبود پارامترهای رشدی، به‌عنوان یک راهکار مؤثر در افزایش عملکرد و مقاومت گیاه گندم مورد استفاده قرار گیرد. نتایج بیانگر آن است که نانوذرات با ایجاد یک تنش اکسیداتیو خفیف (هورمسیس)، سبب فعال‌سازی هدفمند آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شوند. همچنین، بهبود پارامترهای رشدی می‌تواند ناشی از نقش روی در سنتز اکسین و تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی باشد. با این حال، برای تعیین سازوکارهای دقیق عمل و بهینه‌سازی شرایط کاربرد، انجام مطالعات بیشتر در سطوح مولکولی (مانند بیان ژن‌های مرتبط با سنتز اکسین و مسیرهای آنتی‌اکسیدانی) و بیوشیمیایی (مانند ارزیابی سینتیک جذب و رهایش عناصر) ضروری به نظر می‌رسد. علاوه بر این، بررسی آثار بلندمدت این نانوکود در شرایط خاک و در مقیاس مزرعه، گامی کلیدی برای ارزیابی پتانسیل واقعی آن در کشاورزی پایدار خواهد بود.

### نتیجه‌گیری:

نتایج این پژوهش نشان داد که نانومواد مبتنی بر کربن مانند هیدروچار، در مقایسه با بسیاری از نانومواد سنتزی متداول (مانند نانوذرات فلزی)، به‌دلیل برخورداری از ساختار کربنی پایدار و سازگار با محیط‌زیست، از سمیت

بر اساس مشاهدات این پژوهش، پاسخ گیاه گندم به کاربرد نانو کود حاوی روی که باعث افزایش محتوای پراکسید هیدروژن و به تبع آن افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در ریشه و بخش هوایی شد را می‌توان در چارچوب پدیده هورمسیس<sup>۸</sup> تفسیر نمود. به‌نظر می‌رسد غلظت‌های مؤثر نانوکود، یک تنش اکسیداتیو خفیف و کنترل‌شده ایجاد کرده‌اند که به‌عنوان یک محرک هورمسی عمل می‌کند. در بخش هوایی، گیاه به‌طور کارآمد با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز به این چالش پاسخ داد. این پاسخ ممکن است تا حدی ناشی از نقش کوفاکتوری عنصر روی در ساختار یا عملکرد آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باشد (Suganya et al., 2020). مقابل، احتمال دارد تولید اولیه پراکسید هیدروژن در ریشه که در تماس مستقیم با نانوذرات قرار داشت، بیشتر بود. پاسخ ریشه معطوف به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد که نقش کلیدی در دفاع در برابر تنش‌ها و فرآیندهایی مانند تقویت دیواره سلولی دارد (Rossi et al., 2019). این تفاوت در پاسخ آنزیمی بین اندام‌ها، ممکن است نشان‌دهنده راهبردهای دفاعی تخصص‌یافته گیاه در سطح بافت است. در مجموع، نانوکود با فراهم‌آوری روی به‌عنوان یک ریزمغذی ضروری، مسیرهای آنتی‌اکسیدانی را تقویت کرده و هم‌زمان با عمل کردن به‌عنوان یک محرک هورمسی، سیستم دفاعی گیاه را پیش‌فعال نموده و تاب‌آوری آن را افزایش می‌دهد. این مشاهده که نانوذرات روی می‌توانند سیستم

<sup>8</sup> Hormesis

با محیط‌زیست برای افزایش عملکرد و مقاومت این گیاه راهبردی معرفی شود. این مطالعه همچنین گامی عملی در راستای ارزش‌آفرینی برای پسماندهای کشاورزی و ترویج اصول اقتصاد چرخشی از طریق تبدیل ضایعات گیاهی به محصولاتی با ارزش مانند نانوکودها محسوب می‌شود. بنابراین، کاربرد نانوکود هیدروچار اصلاح‌شده با نانوذرات روی، به‌عنوان محصولی مقرون‌به‌صرفه و سازگار با محیط‌زیست، جهت بهبود رشد و شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاهانی مانند گندم معرفی شد.

### سپاسگزاری

باز جناب آقای دکتر محمد رضا شمشادیان، مدیرعامل محترم شرکت توسکا تجارت آریان (ششماد شیمی)، بابت حمایت‌های ارزشمند ایشان از این پژوهش سپاسگزاریم.

کمتری برخوردارند. از این‌رو، کاربرد نانومواد کربنی در کشاورزی می‌تواند مورد استقبال گسترده‌تر پژوهشگران در حوزه‌های محیط زیست و علوم گیاهی قرار گیرد. همچنین، استفاده از پسماندهای گیاهی نظیر پوست میوه برای سنتز نانوذرات، با توجه به در دسترس بودن، هزینه کم و آسیب زیست‌محیطی حداقلی، به‌عنوان روشی سبز در راستای توسعه صنعتی و اقتصادی بازیافت پسماندها و تبدیل آن‌ها به محصولات باارزش از جمله انواع کودها به‌شمار می‌رود. بر اساس یافته‌های این پژوهش، نانوکود هیدروچار اصلاح‌شده با نانوذرات اکسید روی، با بهبود پارامترهای رشدی (افزایش طول و وزن تر ریشه و بخش هوایی) و فیزیولوژیکی (افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید) و همچنین تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه گندم، می‌تواند به‌عنوان راهکاری مؤثر، اقتصادی و سازگار

### References

- Abdelbasir, S. M., McCourt, K. M., Lee, C. M., & Vanegas, D. C. 2020. Waste-derived nanoparticles: synthesis approaches, environmental applications, and sustainability considerations. *Frontiers in Chemistry*, 8, 782. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00782>
- Adil, M., Bashir, S., Bashir, S., Aslam, Z., Ahmad, N., Younas, T., Asghar, R. M. A., Alkahtani, J., Dwiningsih, Y., & Elshikh, M. S. 2022. Zinc oxide nanoparticles improved chlorophyll contents, physical parameters, and wheat yield under salt stress. *Frontiers in Plant Science*, 13, 932861. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.932861>
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105, 121–126. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3)
- Arnon, D.I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
- Banerjee, S., Islam, J., Mondal, S., Saha, A., Saha, B., & Sen, A. 2023. Proactive attenuation of arsenic-stress by nano-priming: Zinc Oxide Nanoparticles in *Vigna mungo* (L.) Hepper trigger antioxidant defense response and reduce root-shoot arsenic translocation. *Journal of Hazardous Materials*, 446, 130735. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130735>
- Chance, B., & Maehly, A. C. 1954. Assay of catalase and peroxidase. *Methods of biochemical analysis* 1: 357–424. <https://doi.org/10.1002/9780470110171.ch14>

- Chugh, R., & Kaur, G. 2021. A mini review on green synthesis of nanoparticles by utilization of *Musa-balbisiana* waste peel extract. *Materials Today: Proceedings*. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.11.189>
- Ding, C., Ye, C., Zhu, W., Zeng, G., Yao, X., Ouyang, Y., Rong, J., Tao, Y., Liu, X., & Deng, Y. 2023. Engineered hydrochar from waste reed straw for peroxydisulfate activation to degrade quinclorac and improve solanaceae plants growth. *Journal of Environmental Management*, 347, 119090. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119090>
- Gao, F., Zhang, X., Zhang, J., Li, J., Niu, T., Tang, C., Wang, C. and Xie, J. 2022. Zinc oxide nanoparticles improve lettuce (*Lactuca sativa* L.) plant tolerance to cadmium by stimulating antioxidant defense, enhancing lignin content and reducing the metal accumulation and translocation. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1015745. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1015745>
- Hassan, M. U., Aamer, M., Umer Chattha, M., Haiying, T., Shahzad, B., Barbanti, L., Nawaz, M., Rasheed, A., Afzal, A., Liu, Y., and Guoqin, H. 2020. The critical role of zinc in plants facing the drought stress. *Agriculture*, 10, 396. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090396>
- Hedayati, K. 2015. Fabrication and optical characterization of zinc oxide nanoparticles prepared via a simple sol-gel method. *Journal of Nanostructures*, 5, 395–401. <https://doi.org/10.7508/JNS.2015.04.010>
- Huang, J. J., Zhong, Z. F., Rong, M. Z., Zhuou, X., Chen, X. D. and Zhang, M. Q. 2014. An easy approach of preparing strongly luminescent carbon dots and their polymer based composites for enhancing solar cell efficiency. *Carbon*, 70, 190–198. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2013.12.092>
- Khan, A. A., Al-Hazmi, H. E., Śniatała, B., Muringayil Joseph, T., Majtacz, J., Abdulrahman, S. A. M., Albaseer, S. S., Kurniawan, T. A., Rahimi-Ahar, Z., Habibzadeh, S. and Maĳinia, J. 2023. Hydrochar-nanoparticle integration for arsenic removal from wastewater: Challenges, possible solutions, and future horizon. *Environmental Research*, 238, 117164. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117164>
- Maduraimuthu, V., Ranishree, J. K., Gopalakrishnan, R. M., Ayyadurai, B., Raja, R. and Heese, K. 2023. Antioxidant activities of photoinduced phycogenic silver nanoparticles and their potential applications. *Antioxidants*, 12, 1298. <https://doi.org/10.3390/antiox12061298>
- Mustafa, A., Athar, F., Khan, I., Chattha, M. U., Nawaz, M., Shah, A. N., Mahmood, A., Batool, M., Aslam, M. T., Jaremko, M., Abdelsalam, N. R., Ghareeb, R. Y. and Hassan, M. U. 2022. Improving crop productivity and nitrogen use efficiency using sulfur and zinc-coated urea: A review. *Frontiers in Plant Science*, 13, 942384. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.942384>
- Padhye, L. P., Bandala, E. R., Wijesiri, B., Goonetilleke, A. and Bolan, N. 2022. Hydrochar: A Promising Step Towards Achieving a Circular Economy and Sustainable Development Goals. *Frontiers in Chemical Engineering*, 4, 867228. <https://doi.org/10.3389/fceng.2022.867228>
- Prasad, T. N., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R., Sreeprasad, T. S., Sajanlal, P. R. and Pradeep, T. 2012. Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*, 35, 905–927. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.663443>
- Rai, S., Singh, B. K., Bhartiya, P., Singh, A., Kumar, H., Dutta, P. K. and Mehrotra, G. K. 2017. Lignin derived reduced fluorescence carbon dots with theranostic approaches: nano-

- drug-carrier and bioimaging. *Journal of Luminescence*, 190, 492–503. <https://doi.org/10.1016/j.jlumin.2017.06.008>
- Raliya, R., Nair, R., Chavalmane, S., Wang, W. N. and Biswas, P. 2015. Mechanistic evaluation of translocation and physiological impact of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles on the tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plant. *Metallomics*, 7, 1584–1594. <https://doi.org/10.1039/C5MT00168D>
- Roopan, S. M., Mathew, R. S., Mahesh, S. S., Titus, D., Aggarwal, K., Bhatia, N., Damodharan, K. I., Elumalai, K. and Samuel, J. J. 2019. Environmental friendly synthesis of zinc oxide nanoparticles and estimation of its larvicidal activity against *Aedes aegypti*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 16, 8053–8060. <https://doi.org/10.1007/s13762-018-2175-z>
- Rossi, L., Fedenia, L. N., Sharifan, H., Ma, X. and Lombardini, L. 2019. Effects of foliar application of zinc sulfate and zinc nanoparticles in coffee (*Coffea arabica* L.) plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 135, 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.12.005>
- Santhoshkumar, J., Kumar, S. V. and Rajeshkumar, S. 2017. Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen. *Resource-Efficient Technologies*, 3, 459–465. <https://doi.org/10.1016/j.refit.2017.05.001>
- Shaikh, A. F., Tamboli, M. S., Patil, R. H., Bhan, A., Ambekar, J. D. and Kale, B. B. 2019. Bioinspired carbon quantum dots: an antibiofilm agents. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 19, 2339–2345. <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.16537>
- Sharifan, H., Moore, J. and Ma, X. 2020. Zinc oxide (ZnO) nanoparticles elevated iron and copper contents and mitigated the bioavailability of lead and cadmium in different leafy greens. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 191, 110177. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110177>
- Souri, Z., Karimi, N., Norouzi, L. and Ma, X. 2021. Elucidating the physiological mechanisms underlying enhanced arsenic hyperaccumulation by glutathione modified superparamagnetic iron oxide nanoparticles in *Isatis cappadocica*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 206, 111336. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111336>
- Suganya, A., Saravanan, A. and Manivannan, N. 2020. Role of zinc nutrition for increasing zinc availability, uptake, yield, and quality of maize (*Zea mays* L.) grains: an overview. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 51, 2001–2021. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1820030>
- Sun, R., Zheng, H., Yin, S., Zhang, X., You, X., Wu, H., Suo, F., Han, K., Cheng, Y., Zhang, C. and Li, Y. 2022. Comparative study of pyrochar and hydrochar on peanut seedling growth in a coastal salt-affected soil of Yellow River Delta, China. *Science of the Total Environment*, 833, 155183. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155183>
- Torabian, S., Farhangi-Abriz, S. and Alaei, T. 2021. Hydrochar mitigates salt toxicity and oxidative stress in maize plants. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 67, 1104–1118. <https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1779227>
- Van Audenhove, J., Bernaerts, T., Putri, N. I., Van Loey, A. M. and Hendrickx, M. E. 2023. The functionalisation of fruit and vegetable cell wall material as texturizing agent: The role of pectin depletion and particle size reduction techniques. *Food Hydrocolloids*, 142, 108814. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108814>
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151, 59–66. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00197-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1)

- Wu, Y., Wang, X., Zhang, L., Zheng, Y., Liu, X. and Zhang, Y. 2023. The critical role of biochar to mitigate the adverse impacts of drought and salinity stress in plants. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1163451. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1163451>
- Zafar, H., Ali, A., Ali, J. S., Haq, I. U. and Zia, M. 2016. Effect of ZnO nanoparticles on *Brassica nigra* seedlings and stem explants growth dynamics and antioxidative response. *Frontiers in Plant Science*, 7, 535. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00535>.