



تأثیر نانوذرات اکسید روی بر صفات رویشی، ریختی و فیزیولوژیکی نهال‌های بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl.) تحت تنش خشکی

هادی ایمانی^۱، داود کر تولی نژاد^{۲*}، علی اصغر ذوالفقاری^۳ و الهه نیکوئی^۴

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم زیستی جنگل، دانشکده کویرشناسی، دانشگاه سمنان، ایران
^۲ استادیار گروه جنگلداری، دانشکده کویرشناسی، دانشگاه سمنان، ایران
^۳ دانشیار گروه بیابان‌زدایی، دانشکده کویرشناسی، دانشگاه سمنان، ایران
^۴ دانشجوی دکتری علوم زیستی جنگل، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۳۰)

چکیده

در این پژوهش، تأثیر نانواکسید روی بر هجده صفت مختلف رویشی، ریختی و فیزیولوژیکی نهال‌های بلوط ایرانی تحت تنش خشکی بررسی شد. نهال‌های دوساله پس از انتقال به سمنان و دو ماه فرصت تثبیت در شرایط گلخانه، پیش از شروع آزمایش، اندازه‌گیری اولیه شدند. آنالیزهای آماری در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور تنش خشکی (ظرفیت زراعی ۸۰، ۶۰، ۴۰ و ۲۰ درصد) و نانواکسید روی (غلظت‌های ۰، ۳۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) در چهار تکرار انجام گرفت. پس از دو بار محلول‌پاشی با نانواکسید روی با فاصله زمانی یک‌ماهه و شش ماه رویش در شرایط گلخانه، همه نهال‌ها اندازه‌گیری و ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی و غلظت نانواکسید روی از تعداد و رشد طولی برگ، رشد ارتفاعی و قطری و تعداد شاخه‌های نهال، کاسته می‌شود، اما تعداد برگ و درصد لکه‌های نانویی و نیز تعداد برگ‌های خشک افزایش می‌یابد. بهترین تیمار از نظر صفات رویشی و کیفی، مربوط به ترکیب آبیاری با ۴۰ درصد ظرفیت زراعی به همراه غلظت نانواکسید روی ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی در غلظت‌های مختلف نانواکسید روی، تنها آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت، اما در دیگر آنزیم‌های آزمایش شده (مانند کاتالاز، آسکوربات پروکسیداز و گایاکول پروکسیداز) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در کل با توجه به نداشتن تأثیر چندان بر صفات نهال و ایجاد اثر سوختگی بر سطح برگ‌ها در برخی تیمارها، استفاده از نانواکسید روی به منظور بهبود مقاومت به خشکی، استقرار و رویش نهال‌های بلوط توصیه نمی‌شود.

واژه‌های کلیدی: احیای جنگل، رویش نهال، صفات فیزیولوژیکی، ظرفیت زراعی، فعالیت آنزیمی.

مقدمه

خشک زیست‌توده شامل ریشه، اندام‌های هوایی و طول آن اثر می‌گذارد و سبب کاهش شدید فتوسنتز، مختل شدن فرایندهای فیزیولوژیکی، توقف رشد و سرانجام مرگ گیاه می‌شود (Bahmani et al., 2015; Bahmani et al., 2018; Yousefi et al., 2017). ایران از نظر موقعیت جغرافیایی در کمربند بیابانی

پدیده خشکیدگی پوشش گیاهی و کمبود آب یکی از مهم‌ترین مشکلات مناطق خشک و نیمه‌خشک است که بر رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد (Bahmani et al., 2015; Ercoli et al., 2007; Yousefi et al., 2017). تنش خشکی بر وزن

پتاسیم کمتر و کاهش تعداد برگ توانست مقاومت بهتری در برابر تنش خشکی نشان دهد. نانوفناوری یکی از علوم نوین در رشته کشاورزی و یکی از رشته‌های رو به توسعه و جدید دنیاست. هر ماده با اندازه کمتر از ۱۰۰ نانومتر، نانوذره خوانده می‌شوند (Kartoolinejad et al., 2017; Rahimi et al., 2016; Yousefi et al., 2017). پژوهش‌های گذشته درباره نانومواد نشان می‌دهد که این مواد می‌توانند تأثیر مطلوب یا منفی در گیاهان داشته باشند که با توجه به نوع گونه، مراحل مختلف رشد و ماهیت نانو متفاوت است (Rahimi et al., 2016; Yousefi et al., 2017). عناصر کم‌مصرف برای گیاهان زراعی، از عناصر غذایی ضروری‌اند؛ به‌طوری که رشد و عملکرد گیاهان را در خاک‌هایی چون خاک‌های آهکی که با کمبود این عناصر مواجه‌اند، کاهش می‌دهد. از پنج عنصر مهم شناخته شده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا می‌توان اکسید روی را نام برد که ترکیبی ایمن است. عنصر روی یکی از هفت عنصر کم‌مصرف ضروری برای رشد گیاهان است که اثر بسیار زیادی در مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی و زیستی دارد (Hosseini et al., 2008; Kartoolinejad et al., 2008)، به‌نحوی که کمبود آن فعالیت چند آنزیم مهم مانند فسفاتاز، الکل دی‌هیدروژناز، دیمیدین کیناز، کربوکسی‌پپتیداز، DNA و RNA را کاهش می‌دهد (Prasad et al., 1984). تحقیقات مختلفی در زمینه نانوآکسید روی انجام گرفته است که از آن جمله می‌توان پژوهش (Esparham et al., 2017) در گیاه کرچک (*Ricinus communis* L.) را نام برد. نتایج تحقیق آنها نشان داد که استفاده از نانوآکسید روی در غلظت‌های کم، سبب افزایش سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاه کرچک می‌شود، در صورتی که در غلظت‌های زیاد نانوآکسید روی (ZnO) به‌علت سمیت شدید، اثر بازدارنده بر رشد گیاه دارد. پژوهش دیگری توسط (López-Moreno et al., 2010) در تعدادی از گونه‌های گیاهی

جهان واقع شده است و منطقه‌ای خشک و نیمه‌خشک به شمار می‌آید، جنگل‌های زاگرس تأثیر مهمی در حفاظت خاک، تأمین آب، تعدیل آب‌وهوا و تعادل اقتصادی-اجتماعی دارند. امروزه متأسفانه به دلایل مختلف مانند دخالت مستمر انسان، عوامل اقلیمی، آفات و بیماری‌ها، خشکیدگی‌های مختلفی در جنگل‌های زاگرس به وقوع پیوسته که در بسیاری از مناطق به نابودی درختان منجر شده است (Hamzhepour et al., 2011).

جنگل‌های بلوط، مهم‌ترین و گسترده‌ترین پوشش جنگلی زاگرس‌اند که در زمره جنگل‌های خشک‌گرا (Xerophyte) معرفی شده‌اند. گونه بلوط ایرانی (*Quercus brantii* L.; Syn: *Quercus persica* L.) با دارا بودن بیش از ۲۰۰۰ گونه، متنوع‌ترین جنس تیره راش (Fagaceae) است که از مهم‌ترین گونه‌های درختی جنگلی ایران در جنگل‌های زاگرس به‌شمار می‌آید (Jazireie & Ebrahimi Rastaghi, 2003; Shariat et al., 2019). این گونه وسیع‌ترین پراکنش را در میان جنس گونه‌های بلوط دارد و از دره سیلوانا در آذربایجان غربی تا ارتفاعات جنوبی روستاهای داندجان و چنار سوخته شهرستان فیروزآباد فارس گسترش دارد (Azim Nejad et al., 2021). گونه مزبور نسبت به دیگر گونه‌های بلوط از انعطاف‌پذیری اکولوژیکی بیشتری برخوردار است؛ به‌نحوی که در خاک‌های مختلف و در شرایط گوناگون فیزیوگرافی به راحتی مستقر می‌شود. افزون بر این، نیاز رطوبتی آن کم است و در خاک‌های خشک نیز سازگار می‌شود (Panahi et al., 2009)، بنابراین باید به حفاظت، احیا و گسترش این گونه بومی حیاتی که ۶۰ درصد سطح غالب این مناطق را تشکیل می‌دهد، توجه بیشتری شود. نتایج تحقیق (Sisakhtnejad et al., 2016) در دو گونه بلوط ایرانی (*Quercus brantii* L.) و وی‌ول (*Quercus libani* Oliv.) نشان داد که در شرایط تنش خشکی، گونه بلوط ایرانی نسبت به گونه وی‌ول با جذب سدیم کمتر برگ و در نتیجه نسبت سدیم به

سی‌سی و ظرفیت زراعی ۲۰ درصد به مقدار ۱۸۰ سی‌سی محاسبه شد. محلول نانو اکسید روی نیز در پنج سطح یعنی با غلظت‌های ۰، ۳۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شد (Wang et al., 2012). پس از شش ماه رویش در شرایط گلخانه، هجده صفت مختلف رویشی، ریختی و فیزیولوژیکی در نهال‌ها و نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ بلوط ایرانی اندازه‌گیری و ارزیابی شد.

شیوه‌ی اجرای پژوهش

روش تهیه‌ی نانوذرات اکسید روی (ZnO)

نانو اکسید روی استفاده‌شده در این تحقیق محصول شرکت آمریکایی US Research Nanomaterials Inc (Houston, USA) بود که مشخصات آن در جدول ۱ ذکر شده است. تصویر SEM و TEM به‌همراه نمودار XRD نانو اکسید روی استفاده‌شده در شکل ۱ نشان داده شده است.

پودر نانو اکسید روی در آب مقطر ریخته و با استفاده از همزن التراسونیک (۱۰۰ وات و ۴۰ کیلوهرتز) به مدت ۱۵ دقیقه، مخلوط‌های یکنواخت نانوذرات اکسید روی با غلظت‌های ۳۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر ساخته شد. محلول پاشی نانوماده‌ی تهیه‌شده روی برگ‌ها در دو نوبت و با فاصله‌ی زمانی یک ماه، صورت گرفت. برای ایجاد شرایط مساوی در نوبت‌های آبیاری، هر سطح گلدان به‌صورت کاملاً مشابه و با وزن ۴۳۵۰ گرم تهیه شد. آب استفاده‌شده نیز با توجه به معادله $AW = FC - PWP$ به‌دست آمد که در این معادله AW آب قابل استفاده، FC رطوبت خاک در ظرفیت زراعی و PWP رطوبت خاک در نقطه‌ی پژمردگی دائم است. همچنین رطوبت خاک در مکش ۳۰ kPa به‌عنوان FC، با استفاده از تانسومتر در نمونه‌ی خاک گلدان و نقطه‌ی PWP با استفاده از داده‌های شن، سیلت، رس، جرم مخصوص ظاهری و رطوبت در ظرفیت زراعی نیز، با استفاده از مدل شبکه‌ی عصبی برنامه‌ی RETC تعیین شد. آبیاری

ادویه‌ای نشان داد که استفاده از نانو اکسید روی در غلظت زیاد، سبب کاهش رشد و کوتاه، باریک و قهوه‌ای شدن ریشه‌ها می‌شود که در نتیجه آن، جذب مواد غذایی و رشد گیاه کاهش می‌یابد. با توجه به اهمیت گونه‌های بلوط بومی موجود در جنگل‌های زاگرس، این تحقیق با هدف تعیین حد مقاومت گونه‌ی بلوط ایرانی به سطوح مختلف تنش خشکی در غلظت‌های کم، متوسط و زیاد نانو اکسید روی انجام گرفت. در واقع فرضیه‌ی تحقیق این بوده است که برخی از غلظت‌های تیمار نانو اکسید روی می‌توانند موجب افزایش مقاومت به خشکی این گیاه شوند. به این منظور، صفات رویشی، شادابی و فیزیولوژیکی برای ارزیابی اثرهای این آزمایش بررسی شد.

مواد و روش‌ها

منطقه‌ی پژوهش

به‌منظور اجرای این تحقیق، نهال‌های هم‌سن و کاملاً یکسان بلوط ایرانی از نظر شادابی و ارتفاع نهال به‌صورت گلدان‌های پلاستیکی کوچک از نهالستان مرکز تحقیقات شهرستان سنندج انتخاب و به شهرستان سمنان انتقال داده شدند. به‌منظور سازگاری نهال‌ها با شرایط آب‌وهوایی محل آزمایش، نهال‌ها به مدت دو ماه کاملاً مراقبت و آبیاری شدند. سپس قبل از شروع آزمایش و اعمال تیمارهای تنش خشکی و نانو اکسید روی، پارامترهای رویشی مانند تعداد کل برگ، تعداد برگ‌های خشک، تعداد برگ‌های سالم، شادابی و نیز مشخصه‌های ریختی نهال شامل ارتفاع نهال، قطر یقه نهال و تعداد شاخه‌های اصلی اندازه‌گیری شد. آبیاری در نوبت سه‌روزه و براساس ظرفیت زراعی (شاخص تعیین تنش خشکی) تعیین و برای هر سطح اجرا شد. مقدار آبیاری براساس درصد ظرفیت زراعی در چهار سطح شامل ظرفیت زراعی ۸۰ درصد به مقدار ۸۰۰ سی‌سی، ظرفیت زراعی ۶۰ درصد به مقدار ۵۰۰ سی‌سی، ظرفیت زراعی ۴۰ درصد به مقدار ۳۷۰

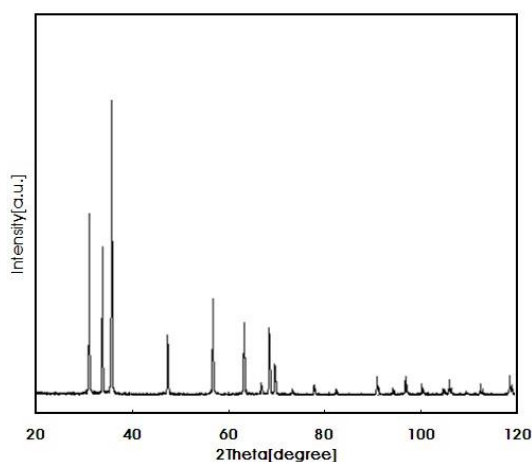
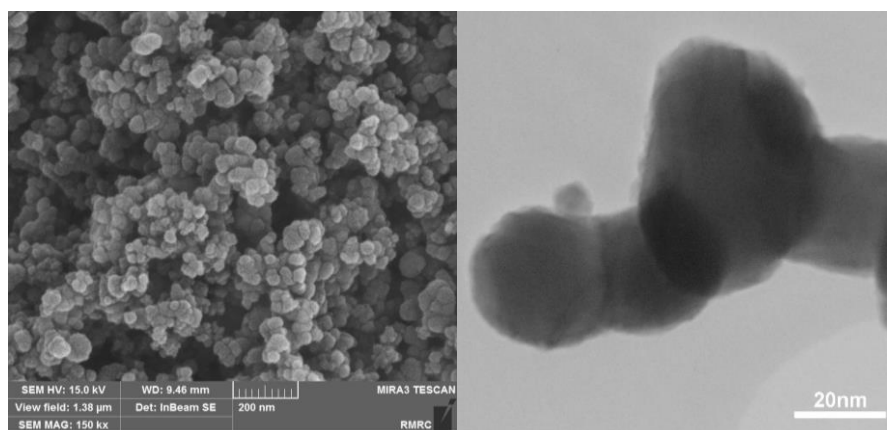
آبیاری انجام گرفت. در دو مرحله از هر تیمار، چهار نمونه برگ در شرایط کاملاً منجمد به منظور تعیین آنزیم‌های مورد نظر و پروتئین به آزمایشگاه ارسال شد.

گلدان‌ها هر سه روز یک بار، با توجه به وزن گلدان و مقدار تعیین شده پس از اولین مرحله به صورت اختلاف وزن گلدان (کاهش آب در اثر تبخیر)، در هر نوبت

جدول ۱- مشخصات نانو اکسید روی استفاده شده در آزمایش

Table 1. Characteristics of Zinc Oxide nano particles used in this study

درصد خلوص نانوذرات	Purity	99.8%
میانگین اندازه ذره	Particle Size	10-30 nm
مساحت سطح ویژه	Special Surface Area	20-60 m ² /g
رنگ	Color	milky white
فاز کریستال	Crystal phase	single
مورفولوژی کریستال	Crystal Morphology	nearly spherical
دانسیته	Density	5606 kg/m ³
سنجش سولفات	Sulphated assay	≤ 0.1%
وزن مولکولی	Molecular Weight	81.37
نقطه ذوب	Melting Point	1,975° C (3,587° F)
نقطه جوش	Boiling Point	2,360° C (4,280° F)
جرم تک ایزوتوپ	Monoisotopic Mass	79.924061 Da



شکل ۱- بالا: تصویر SEM و TEM؛ پایین: گراف XRD از نانو اکسید روی استفاده شده (10-30 nm, Z-Average=20 nm)
Figure 1. Up: SEM and TEM images; Down: XRD graph of Zinc Oxide nano particles used in the study (10-30 nm, Z-Average=20 nm)

اختلاف آماری در بین تیمارها از آنالیز واریانس دوطرفه (Two-way – ANOVA) استفاده شد. در نهایت به منظور مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون توکی (Tukey HSD) بهره‌گیری شد. همه مراحل آماری در محیط نرم‌افزار SPSS و رسم نمودارها نیز در برنامه اکسل انجام گرفت.

نتایج

اثر نانواکسید روی و تنش خشکی بر تعداد و شادابی برگ بلوط ایرانی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی بر همه ویژگی‌های رویشی برگ گونه بلوط ایرانی به جز شاخص تعداد کل برگ، معنی‌دار بوده است. نتایج بررسی تأثیر نانواکسید روی نیز نشان داد که تأثیر تیمار نانو، تنها بر تعداد برگ‌های دارای لکه نانو در اثر سوختگی معنی‌دار است و در فاکتورهای دیگر اختلاف معنی‌داری ندارد (جدول ۲).

به منظور اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ شامل سوپراکسیداز دیسموتاز، آسکوربات پروکسیداز، کاتالاز، گایاکول پروکسیداز و پروتئین، نمونه‌های برگ منجمد در هاون چینی به همراه نیتروژن مایع کوبیده و کاملاً خرد شدند. ۰/۵ گرم پودر برگ آسیاب‌شده به لوله‌های آزمایش ۲ میلی‌لیتری انتقال یافت و ۱ میلی‌لیتر از بافر استخراج به آنها اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد. نمونه‌ها در دو نوبت به مدت ۱۵ و ۱۰ دقیقه و در ۱۴۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند و عصاره رویی هر بار برداشته و دوباره سانتریفیوژ شد (Beauchamp & Fridovich, 1971).

روش تحلیل

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در چهار تکرار انجام گرفت. پس از برداشت داده‌ها به منظور سنجش توزیع نرمال داده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف، برای بررسی همگنی واریانس از آزمون لون و برای بررسی معنی‌دار بودن

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های رویشی برگ

Table 2. The results of ANOVA for growth characteristics of leaf

	ویژگی‌های رویشی	df	Ms	F	Sig.
تنش خشکی بر اساس ظرفیت زرعی Drought stress based on field capacity	Total leaf No. تعداد کل برگ	3	404.28	1.99	0.13 ^{ns}
	Old healthy leaves No. تعداد برگ‌های سالم قدیمی	3	936.42	29.09	0.000**
	Leaves with nano blight No. تعداد برگ‌های لکه نانویی	3	248.81	5.64	0.020*
	Dried leaves No. تعداد برگ‌های خشکیده	3	794.25	41.06	0.000**
	New leaves No. تعداد برگ‌های جدید	3	547.65	5.58	0.020*
	Freshness ranking رتبه‌بندی شادابی	3	2.03	15.25	0.000**
نانواکسید روی Zinc Oxide Nano Particles	Healthy leaves (%) درصد برگ‌های سالم	3	7586.79	12.63	0.000**
	Total leaf No. تعداد کل برگ	4	101.04	0.50	0.74 ^{ns}
	Old healthy leaves No. تعداد برگ‌های سالم قدیمی	4	122.61	3.82	0.08 ^{ns}
	Leaves with nano blight No. تعداد برگ‌های لکه نانویی	4	757.66	17.19	0.000**
	Dried leaves No. تعداد برگ‌های خشکیده	4	24.20	1.25	0.30 ^{ns}
	New leaves No. تعداد برگ‌های جدید	4	236.08	2.41	0.06 ^{ns}
نانو×تنش خشکی Nano× Drought stress	Freshness ranking رتبه‌بندی شادابی	4	0.22	1.64	0.18 ^{ns}
	Healthy leaves (%) درصد برگ‌های سالم	4	554.03	0.92	0.46 ^{ns}
	Total leaf No. تعداد کل برگ	12	169.77	0.83	0.62 ^{ns}
	Old healthy leaves No. تعداد برگ‌های سالم قدیمی	12	114.20	3.56	0.010*
	Leaves with nano blight No. تعداد برگ‌های لکه نانویی	12	82.51	1.67	0.057 ^{ns}
	Dried leaves No. تعداد برگ‌های خشکیده	12	37.68	1.95	0.046*
Drought stress	New leaves No. تعداد برگ‌های جدید	12	247.03	2.52	0.009**
	Freshness ranking رتبه‌بندی شادابی	12	0.25	1.89	0.054 ^{ns}
	Healthy leaves (%) درصد برگ‌های سالم	12	1941.52	3.23	0.001**

** : معنی‌دار در سطح ۱ درصد و * : معنی‌دار در سطح ۵ درصد؛ ns: بدون اختلاف معنی‌دار آماری

** : Significant level in 1%; * significant level in 5%; ns: not significant.

در روزهای ابتدایی پس از نانوپاشی، در غلظت‌های زیاد نانواکسید روی، لکه‌های زیادی روی برگ‌ها نمایان شد. در بعضی از سطوح خشکی به‌ویژه سطح تنش ۲۰ درصد ظرفیت زراعی نیز کل برگ‌ها به‌صورت لکه‌ای و خشک درآمدند که در بسیاری از گلدان‌ها ریزش برگ‌های خشک را در پی داشت (شکل ۲).

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی پاسخ معنی‌دار به اثر متقابل تنش خشکی و نانواکسید روی بر ویژگی‌های رویشی برگ گونه بلوط ایرانی را نشان داد، به‌نحوی که با افزایش غلظت نانو و تنش، در همه شاخص‌ها به‌جز پارامترهای تعداد کل برگ، برگ‌های دارای لکه نانو و رتبه‌بندی شادابی، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.



شکل ۲- سمت راست: ایجاد لکه‌های سوختگی ناشی از محلول‌پاشی نانواکسید روی در روزهای ابتدایی؛ سمت چپ: توأم شدن اثر سوختگی ناشی از غلظت‌های زیاد نانواکسید روی و تنش‌های خشکی زیاد

Figure 2. Right: the creation of blight caused by foliar spraying of zinc oxide nano particles in the early days; Left: the combination of blight caused by high concentrations of zinc oxide nano particles and high drought stress

تعداد کل برگ

تعداد برگ‌های دارای لکه‌های سوختگی در اثر نانو و

تعداد برگ سبز قدیمی

نتایج بررسی تعداد برگ‌های سبز قدیمی نشان داد که غلظت‌های ۳۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی بیشترین تأثیر را بر سبز ماندن برگ‌ها دارد و با افزایش غلظت نانو نوعی سمیت در برگ پدید می‌آید که سبب خشک شدن برگ‌ها می‌شود. بیشترین لکه‌های سوختگی نیز در همه سطوح تنش خشکی، در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی مشاهده شد که این موضوع درباره درصد برگ‌های دارای لکه سوختگی تحت تأثیر نانو به کل برگ نیز صدق می‌کند. بیشترین تعداد برگ در تنش ۸۰ درصدی بود، از این‌رو لکه‌های سوختگی بر اثر نانو نیز در آن تنش بیشتر مشاهده شد (شکل ۳).

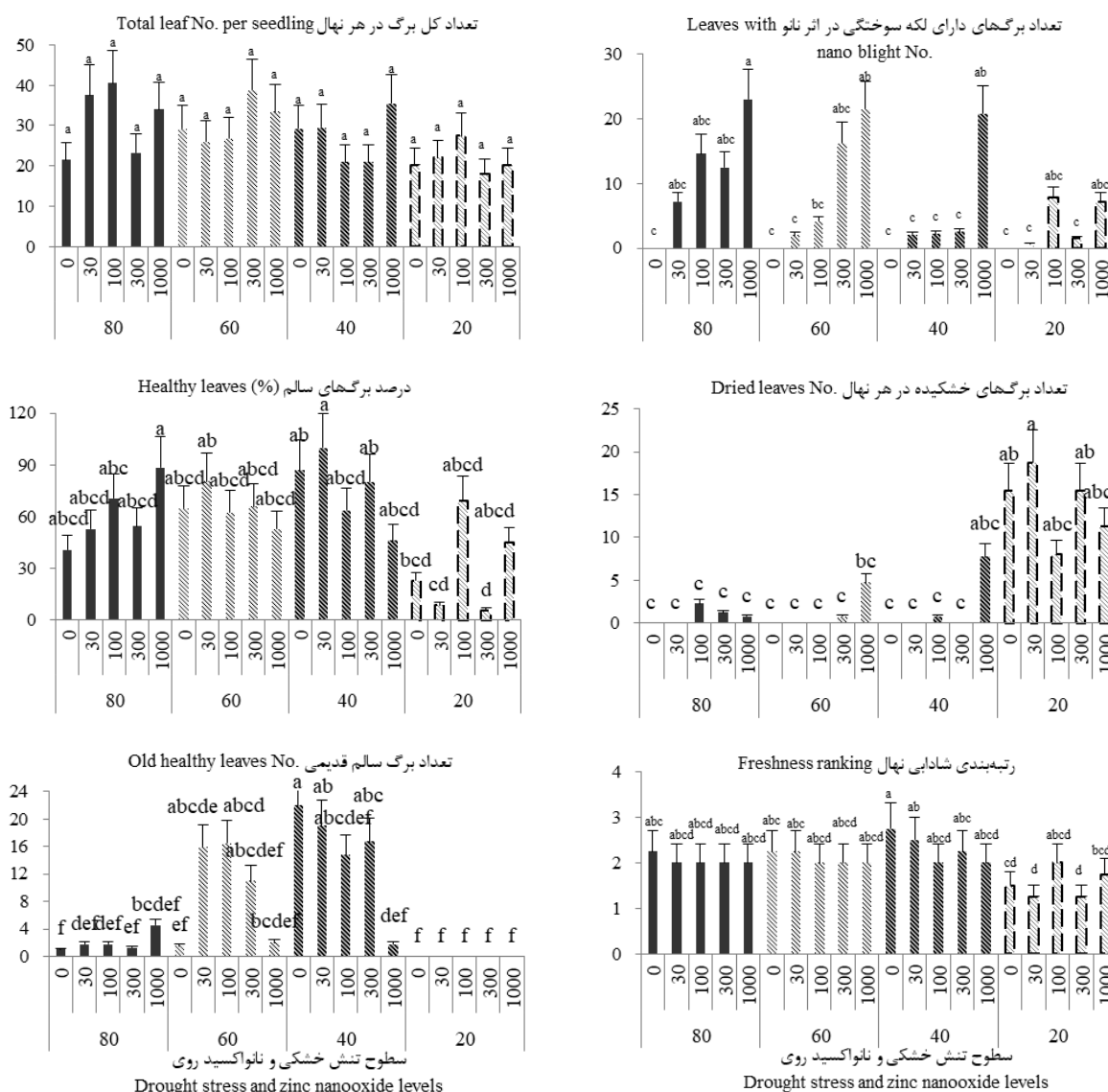
با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از مقایسه میانگین تعداد کل برگ در غلظت‌های مختلف نانواکسید روی و سطوح تنش خشکی، مشخص شد که تفاوت چندانی در تیمارها با تیمار شاهد وجود ندارد؛ به‌نحوی که در سطوح تنش ۸۰ و ۶۰ درصد (براساس ظرفیت زراعی)، غلظت نانو به‌ترتیب برابر با ۱۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و در سطوح تنش ۴۰ و ۲۰ درصد، ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود که به‌ترتیب در آن سطوح خشکی دارای بیشترین تعداد برگ بوده است. به‌طور کلی شاید غلظت‌های نانو در تعداد کل برگ چندان تأثیرگذار نباشد، اما براساس نتایج سطوح تنش خشکی، با افزایش تنش خشکی از تعداد کل برگ کاسته خواهد شد (شکل ۳).

رتبه‌بندی شادابی نهال‌ها

نتایج نشان داد که بیشترین شادابی نهال در تنش خشکی ۴۰ درصد بوده است، به‌نحوی که در دیگر سطوح تنش خشکی ۸۰، ۶۰، ۴۰ و ۲۰ درصد به‌ترتیب روند کاهشی نسبت به شاهد داشت و با افزایش غلظت نانو، شادابی کاهش یافت. این موضوع دربارهٔ درصد برگ‌های سالم به کل برگ و همچنین تعداد برگ‌های جدید در هر نهال نیز صدق می‌کند (شکل ۳).

تعداد برگ‌های خشکیده در هر نهال

با توجه به نتایج مقایسهٔ میانگین، سطح تنش ۲۰ درصد با آبیاری ۱۸۰ سی‌سی در هر نوبت، در همهٔ غلظت‌های نانو و حتی شاهد سبب خشکیدگی برگ‌ها شد. همچنین در سطوح تنش ۴۰ و ۶۰ درصد با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو اکسید روی نیز تا حدودی برگ‌های خشکیده نسبت به شاهد (صفر) مشاهده شد که نشان داد افزون‌بر تنش که بیشترین تأثیر را در خشکیدگی برگ‌ها دارد، غلظت زیاد نانو نیز تأثیرگذار بوده است (شکل ۳).



شکل ۳- نتایج اثر تنش خشکی (بر اساس Fc) و نانو اکسید روی بر ویژگی‌های رویشی برگ بلوط ایرانی

Figure 3. Results of drought stress (based on Fc) and zinc oxide nano particles effect on growth characteristics of Persian oak leaves

هیچ کدام از شاخص‌ها، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). براساس آزمون توکی نیز با افزایش مقدار نانو و تنش، به‌جز شاخص رشد قطری نهال، در دیگر شاخص‌های بررسی‌شده اختلاف معنی‌داری وجود نداشت.

اثر نانواکسید روی و تنش خشکی بر ویژگی‌های کمی و کیفی برگ و نهال بلوط ایرانی
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تنش خشکی بر همه ویژگی‌های کیفی برگ و نهال گونه بلوط ایرانی به‌جز شاخص‌های تعداد برگ، طول برگ و پهنای برگ معنی‌دار است، اما درباره تیمار نانو در

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های کیفی برگ و نهال بلوط ایرانی

Table 3. Results of ANOVA for qualitative characteristics of Persian oak leaves and seedlings

	Qualitative characteristics	df	ms	F	Sig.
تنش خشکی براساس ظرفیت زرعی Drought stress based on field capacity	Longitudinal growth of seedlings رشد طولی نهال	3	84.40	7.27	0.000 **
	Diameter growth of seedlings رشد قطری نهال	3	57.20	69.72	0.000 **
	No. of branch تعداد شاخه	3	7.15	2.99	0.038 *
	No. of leaves تعداد برگ	3	283.88	1.57	0.21 ns
	Leaf length طول برگ	3	0.60	0.51	0.68 ns
	Leaf width پهنای برگ	3	0.25	0.86	0.47 ns
	نانواکسید روی Zinc Oxide Nano Particles	Longitudinal growth of seedlings رشد طولی نهال	4	6.76	0.58
Diameter growth of seedlings رشد قطری نهال		4	1.29	1.57	0.19 ns
No. of branch تعداد شاخه		4	1.91	0.80	0.53 ns
No. of leaves تعداد برگ		4	79.77	0.44	0.78 ns
Leaf length طول برگ		4	0.17	0.14	0.97 ns
نانو×تنش خشکی Nano× Drought stress	Leaf width پهنای برگ	4	0.24	0.82	0.52 ns
	Longitudinal growth of seedlings رشد طولی نهال	12	10.04	0.87	0.59 ns
	Diameter growth of seedlings رشد قطری نهال	12	1.58	1.93	0.043 *
	No. of branch تعداد شاخه	12	1.85	0.77	0.68 ns
	No. of leaves تعداد برگ	12	133.06	0.74	0.71 ns
	Leaf length طول برگ	12	1.98	1.66	0.10 ns
	Leaf width پهنای برگ	12	0.62	2.15	0.26 ns

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد؛ * معنی‌دار در سطح ۵ درصد؛ ns بدون اختلاف معنی‌دار آماری

** Significant level in 1%; * significant level in 5%; ns: not significant.

بود. به‌طور کلی نظم یکنواختی در روند افزایشی و کاهش‌ی وجود نداشت، اما به‌طور کلی در سطح تنش ۸۰ درصد بیشترین و سپس به‌ترتیب در سطوح تنش ۶۰، ۴۰ و ۲۰ درصد بیشترین افزایش تعداد شاخه دیده شد (شکل ۴).

تعداد و طول برگ

بیشترین افزایش تعداد و طول برگ مربوط به سطح تنش ۸۰ درصد با غلظت نانو به‌ترتیب ۱۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. پس از آن نیز به‌ترتیب

رشد طولی و قطری نهال

بیشترین افزایش رشد طولی و قطری نهال مربوط به سطح تنش ۸۰ درصد با غلظت نانو به‌ترتیب ۱۰۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر بود و پس از آن به‌ترتیب در سطوح تنش ۶۰، ۴۰ و ۲۰ درصد، بیشترین رشد طولی و قطری نهال مشاهده شد (شکل ۴).

تعداد شاخه

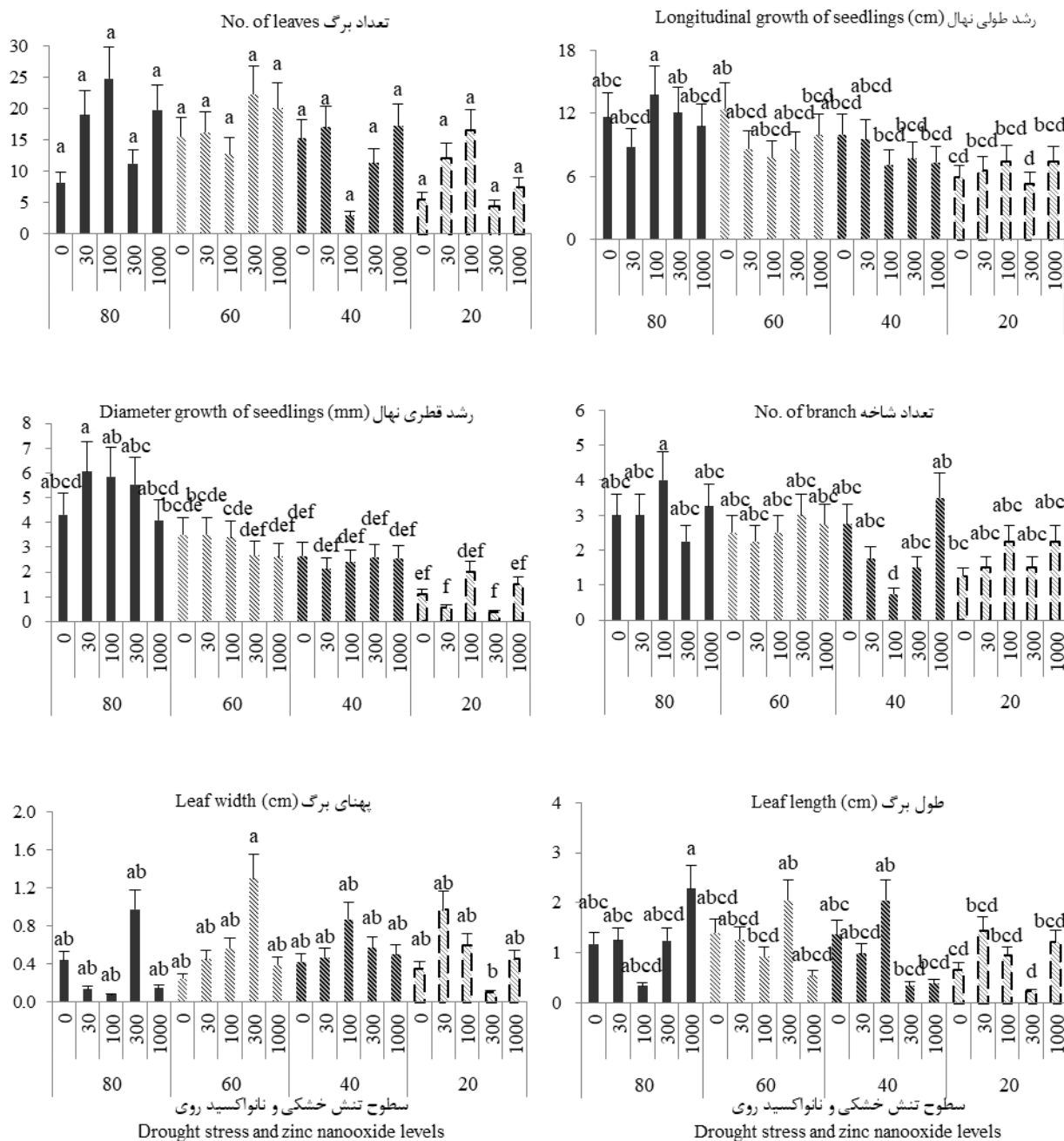
بیشترین تعداد شاخه مربوط به سطح تنش ۸۰ درصد و تیمار با غلظت نانو ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر

به‌ویژه در تیمارهای با غلظت نانو ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر داشت که البته بیشترین افزایش در سطح تنش ۶۰ درصد و تیمار با غلظت نانو ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود (شکل ۴).

در سطوح تنش ۶۰، ۴۰ و ۲۰ درصد بیشترین افزایش تعداد برگ و طول برگ مشاهده شد (شکل ۴).

پهنای برگ

افزایش پهنای برگ نسبت به شاهد، در همه سطوح ابتدا روند افزایشی و سپس روند کاهش‌ی



شکل ۴- نتایج اثر سطوح تنش خشکی و نانو اکسید روی بر ویژگی‌های کیفی برگ و نهال بلوط ایرانی
 Figure 4. Results of drought stress (based on Fc) and zinc oxide nano particles effect on qualitative characteristics of Persian oak leaves

وجود نداشت (شکل ۵). در زمینه تأثیر نانو اکسید روی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پروتئین برگ نیز در هیچ کدام از فاکتورها اختلاف معنی‌داری دیده نشد. این موضوع درباره اثر متقابل تنش خشکی و نانو اکسید روی نیز صدق می‌کند (جدول ۴).

نتایج اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پروتئین برگ گونه بلوط ایرانی، تنها بر آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) معنی‌دار بود و در دیگر فاکتورها اختلاف معنی‌داری

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ
Table 4. Results of ANOVA for antioxidant enzymes of leaves

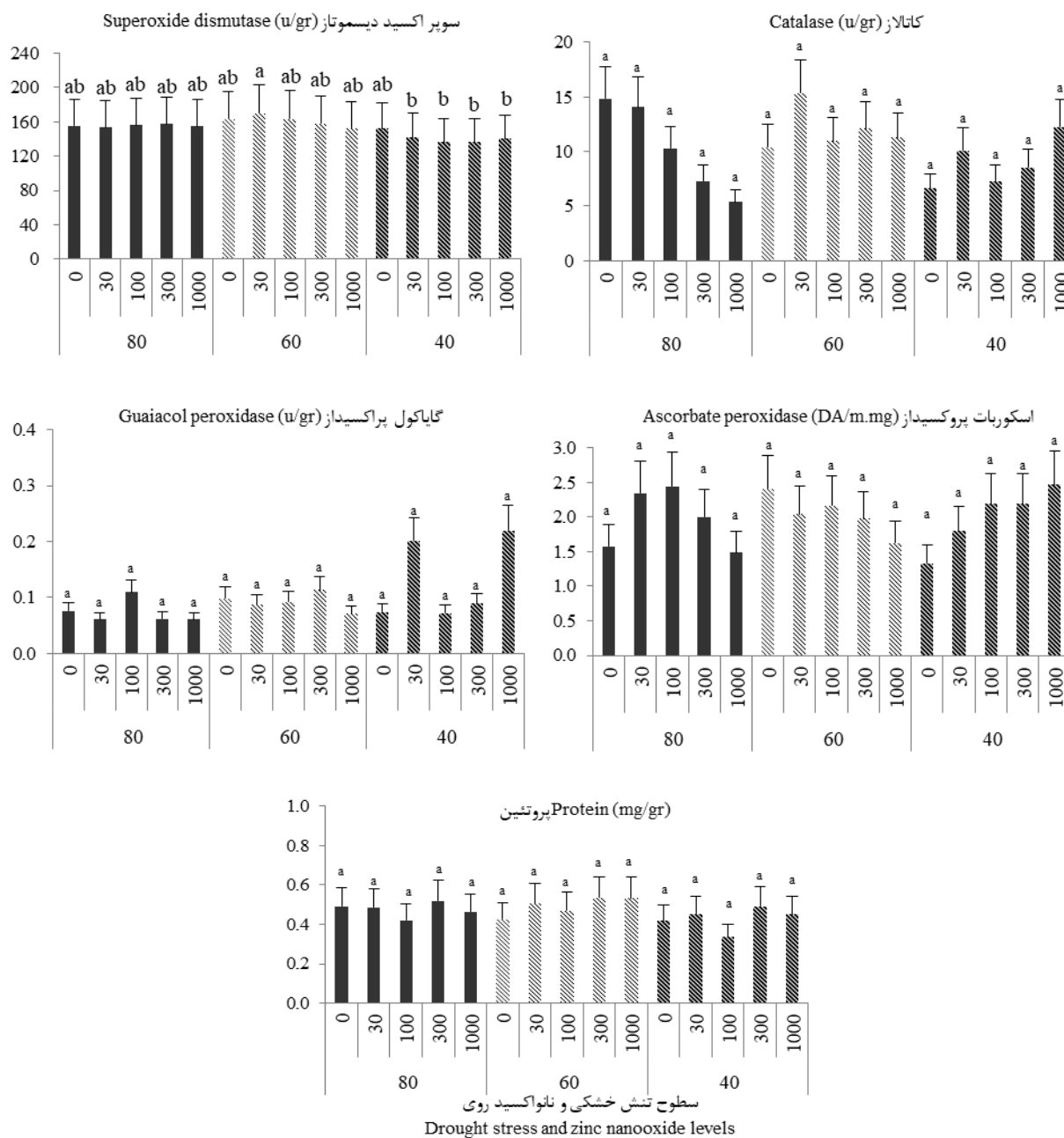
	enzymes آنزیم‌ها	df	ms	F	Sig.
تنش خشکی بر اساس ظرفیت زراعی Drought stress based on field capacity	Superoxide dismutase سوپراکسیداز دیسموتاز	2	2147.9	17.45	0.000**
	Ascorbate peroxidase آسکوربات پروکسیداز	2	0.03	0.08	0.92 ^{ns}
	Catalase کاتالاز	2	46.44	0.92	0.41 ^{ns}
	Guaiacol peroxidase گایاکول پروکسیداز	2	0.16	1.19	0.31 ^{ns}
	Protein پروتئین	2	0.22	1.20	0.31 ^{ns}
نانو اکسید روی Zinc Oxide Nano Particles	Superoxide dismutase سوپراکسیداز دیسموتاز	4	115.06	0.94	0.45 ^{ns}
	Ascorbate peroxidase آسکوربات پروکسیداز	4	44.0	1.35	0.27 ^{ns}
	Catalase کاتالاز	4	30.72	0.61	0.66 ^{ns}
	Guaiacol peroxidase گایاکول پروکسیداز	4	0.10	0.71	0.59 ^{ns}
	Protein پروتئین	4	0.02	1.09	0.37 ^{ns}
نانو×تنش خشکی Nano× Drought stress	Superoxide dismutase سوپراکسیداز دیسموتاز	8	108.03	0.88	0.54 ^{ns}
	Ascorbate peroxidase آسکوربات پروکسیداز	8	0.71	2.14	0.05 ^{ns}
	Catalase کاتالاز	8	36.68	0.73	0.67 ^{ns}
	Guaiacol peroxidase گایاکول پروکسیداز	8	0.12	0.91	0.52 ^{ns}
	Protein پروتئین	8	0.004	0.21	0.99 ^{ns}

** : معنی‌دار در سطح ۱ درصد؛ ns: بدون اختلاف معنی‌دار آماری

** : Significant level in 1% ; ns: not significant.

غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر، آنزیم گایاکول پراکسیداز در ۴۰ FC درصد با غلظت ۱۰۰۰ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر و پروتئین در ۶۰ FC درصد با غلظت ۱۰۰۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین مقدار را داشتند (شکل ۵).

نتایج بررسی اثر تنش خشکی و نانو اکسید روی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پروتئین برگ گونه بلوط ایرانی نشان داد که آنزیم کاتالاز و سوپراکسیداز دیسموتاز در ۶۰ FC درصد با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر، آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ۸۰ FC درصد با



شکل ۵- نتایج بررسی اثر سطوح تنش خشکی و نانواکسید روی بر مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ نهال بلوط ایرانی
Figure 5. Results of drought stress and zinc oxide nano particles effect on amount of antioxidant enzymes of Persian oak leaves

رشد قطری برگ و تعداد شاخه نیز مشخص شد که با افزایش تنش خشکی و غلظت نانواکسید روی، همه ویژگی‌های مذکور روند کاهشی یافتند و تنها پارامتر افزایش پهنای برگ در سطح ۶۰ FC درصد با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نانواکسید روی روند بهتری داشت که دلیل آن وجود برگ‌های سبز قدیمی است که در تنش‌های متوسط مانند ۴۰ و ۶۰ درصد بیشتر

بحث

نتایج تحقیق نشان داد که با افزایش تنش خشکی و غلظت‌های مختلف نانواکسید روی، تعداد برگ‌های نهال بلوط ایرانی کاهش و در مقابل تعداد برگ‌های دارای لکه نانو و برگ‌های خشکیده افزایش می‌یابد. درباره پارامترهای کیفی برگ و نهال بلوط ایرانی مانند تعداد برگ، رشد طولی نهال، رشد طولی برگ،

بیشترین افزایش رشد طولی و قطری نهال به ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰ و ۳۰ میلی گرم بر لیتر نانو اکسید روی (غلظت‌های کم نانو اکسید روی در این تحقیق) مطابقت دارد.

در تحقیق (Salehi et al. (2019) در زمینه تأثیر نانو ذرات اکسید روی بر پارامترهای رشد و بیوشیمیایی گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) مشخص شد که با افزایش غلظت نانو اکسید روی، رشد گیاه افزایش می یابد؛ در حالی که برای نانو اکسید سریم به این صورت نبود و بیشترین غلظت، سبب مهار رشد بخش هوایی شد. البته در زمینه محتوای کلروفیل، هر دو نوع نانو ذره (نانو ذرات اکسید روی و دی اکسید سریم) سبب کاهش محتوای کلروفیل کل گیاه شدند که بیانگر تأثیر منفی نانو ذرات بر محتوای کلروفیل است. افزایش ارتفاع بخش هوایی گیاه و سطح برگ را هم می توان به دلیل تلاش گیاه برای استفاده هر چه بیشتر از نور برای فتوسنتز دانست. استفاده از نانو ذرات اکسید روی سبب پدید آمدن نوار پروتئینی نیز شد که در نانو اکسید سریم مشاهده نشد.

تحقیق (Mezginzhad et al. (2019) درباره زنده ماننی کالوس‌های زرشک بی دانه (*Berberis vulgaris* L.) تحت تأثیر ذرات نانو اکسید آهن و اکسید روی نیز نشان داد که استفاده از ذرات نانو اکسید روی سبب افزایش صفات وزن خشک، وزن تر، درصد رطوبت جرمی و درصد زیست‌مانی کالوس‌ها می‌شود. مهم ترین مشکل در رشد کالوس‌های زرشک بی دانه، قهوه‌ای شدن و مرگ آنها بوده است که نانو ذرات اکسید روی سبب افزایش زیست‌مانی کالوس‌ها و بهتر شدن رشد آنها شد که دلیل آن را افزایش فعالیت‌های آنزیمی ذکر کرده‌اند.

سازش گیاهان با شرایط تنش خشکی بستگی به افزایش سیستم آنتی‌اکسیدانی آنها در برابر افزایش سطح گونه‌های اکسیژن فعال دارد. محتوای گونه‌های اکسیژن فعال در سیستم‌های بیولوژیک توسط دو نوع سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی شامل روش‌های آنزیمی

از دیگر تیمارها مشاهده شد. این موضوع در تحقیقات مشابه نیز مدنظر قرار گرفته است. برای مثال در تحقیق (Sadeghzadeh Hallaj et al. (2019) در نهال بنه (*Pistacia atlantica* Desf.) تحت تنش خشکی مشخص شد که تنش خشکی سبب کاهش شدید برگچه‌های نهال بنه می‌شود. کاهش برگ را می‌توان یکی از سازگاری‌های مورفولوژیک گیاهان در مواجهه با تنش خشکی دانست.

تحقیق (Esparham et al. (2017) درباره جوانه زنی، مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و محتوای قند برگ گیاه کرچک (*Ricinus communis* L.) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نانو اکسید روی نشان داد که غلظت‌های کم نانو اکسید روی سبب افزایش سرعت جوانه زنی، طول ساقه‌چه، ریشه‌چه، رنگیزه و قند محلول در برگ گیاه کرچک در مقایسه با شاهد می‌شود، اما غلظت‌های زیاد به علت تنش یا ایجاد سمیت شدید اثر بازدارنده بر رشد گیاه دارد که با نتایج تحقیق حاضر همسوست.

نتایج تحقیق (Fazelikakhki & Goldani (2018) نیز نشان داد که استفاده از مقدار مناسب نانو اکسید روی (۲۰۰ پی پی ام) در شرایط تنش شوری در گیاه سویا (*Glycine max* L.)، سبب بهبود صفات فیزیولوژیکی گیاه می‌شود و هدایت روزنه‌ای و شاخص پایداری غشا در سطوح مختلف را افزایش می‌دهد؛ اما افزایش غلظت نانو سبب کاهش صفات تحت بررسی می‌شود که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد.

نتایج تحقیق (Ghasemisiyani et al. (2017) درباره مقایسه سمیت نانو اکسید روی و بالک بر رشد گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum - graecum* L.) در شرایط گلخانه‌ای نشان داد که افزایش غلظت نانو و بالک اکسید روی، اثر منفی بر وزن و تعداد گره‌های ریزوبیومی شنبلیله دارد و سبب کاهش غلظت فسفر در اندام‌های هوایی و ریشه می‌شود؛ به نحوی که با افزایش غلظت نانو اکسید روی، طول ساقه کاهش می‌یابد که با نتایج این تحقیق مبنی بر مشاهده

پژوهش‌ها نشان می‌دهد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در افزایش تحمل به تنش خشکی تأثیر مهمی دارند و شدت فعالیت آنها در گیاه با توجه به شدت تنش و نوع گونه گیاهی متفاوت است.

Niakan & Zangane (2014) در پژوهشی در زمینه اثر تنش خشکی بر مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه شنبليله (*Trigonella foenum graecum*) دریافتند که تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برگ و ریشه به‌جز آنزیم آسکوربات پروکسیداز می‌شود. در صورتی که نتایج تحقیق در گونه بلوط ایرانی نشان داد که تنش خشکی و غلظت‌های مختلف نانوآکسید روی تنها بر آنزیم سوپراکسیداز دیسموتاز اثرگذار است و در دیگر آنزیم‌ها تأثیری ندارد.

تحقیق Ghadiri et al. (2014) درباره اثر نانوذرات نقره بر جوانه‌زنی بذر درخت کاج جنگلی (*Pinus sylvestris* L.) در خاک و آب نشان داد که نانوذرات نقره حتی در غلظت‌های کم سبب ایجاد آثار منفی بر کیفیت جوانه‌زنی بذرهای کاج جنگلی در محیط خاکی و آبی می‌شود.

Bayramzadeh et al. (2018) در پژوهشی درباره جوانه‌زنی و رویش بذر کاج جنگلی (*Pinus sylvestris* L.) تحت تأثیر نانوذرات نقره در خاک دریافتند که افزایش غلظت نانوذرات نقره می‌تواند سبب کاهش ویژگی‌های رویشی در همه دوره‌های زمانی شود که با نتایج این تحقیق همسویی دارد.

نتایج تحقیق Ashkavand et al. (2016) درباره نهال زالک زرد (*Crataegus aronia* L.) نیز نشان داد که استفاده از نانوذرات سیلیکا سبب بهبود فعالیت‌های فیزیولوژیک و افزایش زی‌توده کل نهال‌های زالک زرد می‌شود.

Sayedena et al. (2019) پژوهشی درباره جوانه‌زنی و رشد اولیه بارانک لرستانی (*Sorbus luristanica* L.) تحت تأثیر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم انجام دادند و دریافتند که نانوذرات دی‌اکسید

و غیر آنزیمی کنترل می‌شود. سیستم آنزیمی شامل آنزیم‌هایی مانند پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و سیستم غیر آنزیمی شامل آلفاتوکوفرول، بتاکاروتن آسکوربیک اسید، گلوتاتیون و ... است (Abedi & Pakniyat, 2010; Xu et al., 2008). نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی مانند خشکی، با افزایش محتوای آنتی‌اکسیدان‌ها همبستگی مثبت و معنی‌داری دارد (Malik et al., 2010).

نتایج تحقیق Moaveni et al. (2011) در گیاه *Calendula officinalis* نشان داد که نانوذرات تیتانیوم در شرایط تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شود که با یافته‌های این تحقیق که نشان داد تنش خشکی تنها بر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار است و بیشترین مقدار آن در سطح FC ۶۰ درصد با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانوآکسید روی بوده مطابقت دارد.

تحقیق Mahmoodi et al. (2020) در نهال بنه (*Pistacia atlantica*) نشان داد که استفاده از نانوذرات سیلیس تحت تنش خشکی سبب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود. افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز از روش‌های مقابله گیاهان با تنش خشکی است.

پژوهش Mazarie et al. (2019) درباره تأثیر محلول‌پاشی دی‌اکسید تیتانیوم بر خصوصیات فیزیولوژیکی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تنش خشکی نشان داد که بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌ها مربوط به آنزیم سوپراکسید دیسموتاز است که با نتایج تحقیق حاضر که نشان داد تنش خشکی تنها بر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز معنی‌دار است مطابقت دارد.

نتایج تحقیقات Zabet et al. (2003) نیز نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزایش می‌یابد.

ایرانی مانند تعداد برگ، رشد طولی نهال، رشد طولی برگ، رشد قطری برگ و تعداد شاخه کاهش و در مقابل تعداد برگ‌های خشکیده و تعداد برگ‌های دارای لکه نانو افزایش می‌یابد. در کل، استفاده از فناوری‌های نوین مانند نانوذرات شاید در انعطاف‌پذیری و مقاومت گیاهان چوبی به تنش‌های محیطی مانند خشکی کمک کند، اما هر نوع فناوری جدیدی در کنار اثر مثبت خود، اثرهای منفی نیز دارد. نانوذرات نیز از این قاعده مستثنا نیستند و برخی اثرهای منفی نیز دارند که دانشمندان در حال بررسی آنها بر محیط زیست و محیط زندگی انسان‌ها هستند.

در نهایت با توجه به موارد گفته‌شده و همه صفات بررسی‌شده، چون نانو اکسید روی تأثیر چشمگیری در افزایش مقاومت به تنش خشکی نهال‌های بلوط ایرانی نداشته است، استفاده از این ماده با وجود تأثیر مثبت و مهم آن در علوم مختلف، به دلیل آلودگی و هزینه‌های که به‌ویژه در کاربرد وسیع دارد پیشنهاد نمی‌شود و تحقیقات بیشتر در این زمینه ضرورت دارد.

تیتانیوم سبب بهبود همه صفات مانند درصد، سرعت و میانگین زمان جوانه‌زنی می‌شود؛ به‌نحوی که تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو سبب افزایش چشمگیر صفات جوانه‌زنی شد. در زمینه بهبود رشد (طول ساقه‌چه) و تولید زیست‌توده نیز مشخص شد که تیمار ۷۵ میلی‌گرم در لیتر نانوذرات دی‌اکسید تیتانیوم، بیشترین موفقیت و در مقابل تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر نانو کمترین موفقیت را داشته است که با یافته‌های تحقیق حاضر مبنی بر کاهش صفات کیفی برگ و نهال بلوط ایرانی تحت تأثیر افزایش غلظت نانو اکسید روی مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر بهترین تیمار از نظر تأثیر بر صفات رویشی و کیفی گونه بلوط ایرانی، مربوط به سطح آبیاری با ظرفیت زراعی ۴۰ درصد و غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر نانو اکسید روی بوده است. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت‌های مختلف نانو اکسید روی و تنش خشکی، پارامترهای کیفی برگ و نهال بلوط

References

- Abedi, T., & Pakniyat, H. (2010). Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of Oilseed Rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal Genet Plant Breed* 46(1), 27-34.
- Ashkavand, P., Tabari, M., Zarafshar, M., & Ghanbari, E. (2016). Effect of SiO₂NPs on Growth and Physiological Characteristics of Hawthorn (*Crataegus aronia* L.) Seedlings. *Journal of Wood & Forest Science and Technology*, 23(1), 41-62. doi:10.22069/JWFST.2016.2875
- Azim Nejad, Z., Bادهیان, Z., & Rezaei Nejad, A. (2021). The relationship between Iranian oak decline (*Quercus brantii* Lindl.) and some properties of soil and determining the ecophysiological responses of this. *Iranian Journal of Forest*, 13(3), 221-236. doi:10.22034/IJF.2021.141074
- Bahmani, M., Naghdi, R., & Kartoolinejad, D. (2018). Milkweed seedlings tolerance against water stress: Comparison of inoculations with *Glomus intraradices* and *Pseudomonas putida*. *Environmental Technology & Innovation*, 10, 111-121. https://doi.org/10.1016/J.ETI.2018.01.001
- Bahmani, M., Tabari, M., Jalali, S.G., & Kartoolinejad, D. (2015). Morphological and physiological changes in *Calotropis procera* seedlings under water stress conditions. *Desert Ecosystem Engineering Journal*, 4(7), 43-52. http://deej.kashanu.ac.ir/article-1-234-fa.html
- Bayramzadeh, V., Mortazavi, E., Davoodi, M.H., Kheiri, Sh., & Hossein Ashrafi, S.Kh. (2018). The durability of negative effects of silver nanoparticles on seed germination and growth characteristics of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in soil. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 26(1), 1-11. doi:10.22092/IJFPR.2018.116504
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287. https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8

- Ercoli, L., Lulli, L., Mariotti, M., Masoni, A., & Arduini, I. (2007). Post-anthesis dry matter and nitrogen dynamics in durum wheat as affected by nitrogen supply and soil water availability. *European Journal of Agronomy*, 28, 138-147. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2007.06.002>
- Esparham, E., Saeidisar, S., Mahmoodzadeh, H., & Hadi, M.R. (2017). The Effects of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles on the Germination, Biochemical and Ultrastructural Cell Characteristics of *Ricinus communis*. *Journal of Cell & Tissue*, 8(2), 151-165. <https://doi.org/10.52547/jct.8.2.151>
- Fazelikakhki, S.F., & Goldani, M. (2018). Effects of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO) on Improving Morpho-physiological, Yield and Its Components of Soybean (*Glycine max* L.) var. Williams under Salinity Stress. *Journal of Crop Ecophysiology*, 12(2), 253-268.
- Ghadiri, M., Bayramzadeh, V., & Davoudi, M.H. (2014). The Effect of Argent Nanoparticles on seed Germination of *Pinus sylvestris* in soil and Aqueous Suspension. *Journal of Forest and Wood Product (Iranian Journal of Natural Resources)*, 66(4), 367-376. doi:10.22059/JFWP.2014.36654
- Ghasemisiyani, N., Fallah, S., & Rostamnejadi, A. (2017). Comparison between toxicity effects of ZnO nanoparticles and their bulk on fenugreek (*Trigonella foenum - graceum*) growth under greenhouse environment. *Journal of Plant Production Research (JOPPR)*, 24(2), 23-42. doi: 10.22069/JOPP.2017.10706.2018
- Hamzehpour, M., Kia-Daliri, H., & Bordbar, S.K. (2011). Preliminary study of manna oak (*Quercus brantii* Lindl.) tree decline in Dashte-Barm of Kazeroon, Fars province. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 19(2), 352-363. doi:10.22092/IJFPR.2011.107578
- Hosseini, S.M., Kartoolinejad, D., Mirnia, S.K., Tabibzadeh, Z., Akbarinia, M., & Shayanmehr, F. (2008). The European mistletoe effects on leaves and nutritional elements of two host species in Hyrcanian forests. *Silva Lusitana*, 16(2), 229-237.
- Jazireie, M.H., & Ebrahimi Rastaghi, M. (2003). Zagros. Zagros silviculture. Published Tehran University, Tehran.
- Kartoolinejad, D., Hosseini, S.M., Mirnia, S.Kh., & Shayanmehr, F. (2008). The effect of mistletoe (*Viscum album* L.) on four nutrient elements Mg, Zn, Mn, Na and leaf area and weight of host trees in Hyrcanian forests. *Pajouhesh and Sazandegi*, 77, 47-52.
- Kartoolinejad, D., Rahimi, D., Nourmohammadi, K., & Naghdi, R. (2017). The Effect of Carbon Nanotubes on drought resistance of Caucasian Alder (*Alnus subcordata* C.A. Mey) in Germination Stage. *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 6(2), 17-28.
- López-Moreno, M.L., Dela Rosa, G., Hernandez-Viezcas, J.A., Peralta-Videa, J.R., & Gardea-Torresdey, J.L. (2010). X-ray absorption spectroscopy (XAS) corroboration of the uptake and storage of CeO₂ nanoparticles and assessment of their differential toxicity in four edible plant species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 3689-3693. <https://doi.org/10.1021/jf904472e>
- Mahmoodi, K., Alizadeh, Y., Abdul-Hamid, H., & Naji, H.R. (2020). Effect of nano SiO₂ on physiological features of *Pistacia atlantica* subsp. *mutica* under drought stress. *Journal of Wood & Forest Science and Technology*, 26(4), 85-100. doi:10.22069/JWFST.2020.13986.1715
- Malik, A.A., Li, W.G., Lou, L.N., Weng, J.H. & Chen, J.F. (2010). Biochemical/ physiological characterization and evaluation of in vitro salt tolerance in cucumber. *African Journal of Biotechnology*, 9(22), 3284-3292.
- Mazarie, A., Mousavi nik, S.M., Ghanbari, A., & Fahmideh, L. (2019). Effect of titanium dioxide spraying on physiological characteristics of sage (*Salvia officinalis* L.) under water stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12(2), 539-553. doi:10.22077/ESCS.2019.1369.1304
- Mezginezhad, Z., Ghaderi, M.GH., Alizde, Z., & Izanloo, A. (2019). Effect of Iron Oxide and Zinc Oxide Nanoparticles of on Callus Viability of Seedless Barberry. *Journal of Crop Breeding*, 11(30), 198-205.
- Moaveni, P., Valadabadi, S.A., Aliabadi Farahani, H., & Maroufi, K., (2011). Nanoparticles TiO₂ spraying affected on calendula (*Calendula Officinalis* L.) under field condition. *Advances in Environmental Biology*, 5, 2242-2244.
- Niakan, M., & Zanganeh, A. (2014). Effect of drought stress and salicylate on Antioxidant Enzymes activity in Fenugreek. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 9(133), 38-45.

- Panahi, P., Jamzad, Z., & Pourhashemi, M. (2009). Acorn production of Zagros forests oaks and their qualitative characteristics in Zagros section of National Botanical Garden of Iran. *Journal of Forest and Wood Products*, 62(1), 45-57.
- Prasad, T.N.V.K.V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K.R., Sreeprasad, T.S., Sajanalal, P.R., & Pradeep, T. (1984). Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*, 35(6), 905-927. <https://doi.org/10.1080/01904167.2012.663443>
- Rahimi, D., Kartoolinejad, D., Nourmohammadi, K., & Naghdi, R. (2016). Increasing drought resistance of *Alnus subcordata* C.A. Mey. seeds using a nano priming technique with multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Forest Science*, 62(6), 269-278. <https://doi.org/10.17221/15/2016-JFS>
- Sadeghzadeh Hallaj, M.H., Azadfar, D., & Mirzaei Nodoushan, H. (2019). Effect of shade on the leaflet morphology of wild Pistachio sapling under drought stress. *Iranian Journal of Forest*, 11(1), 95-104.
- Salehi, H., Chehregani Rad, A.K., Majd, A., & Gholami, M. (2019). Effect of ZnO and CeO₂ nanoparticles on the element accumulation, growth and biochemical parameters in *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Plant Research (Biology of Iran)*, 32(2), 259-271. doi:20.1001.1.23832592.1398.32.2.17.2
- Sayedena, S.V., Pilehvar, B., Abrari-vajari, K., Zarafshar, M., & Eisvand, H.R. (2019). Effects of TiO₂ Nanoparticles on Germination and Primary Growth of Mountain Ash (*Sorbus luristanica*). *Iranian Journal of Seed Research*, 6(1), 173-184. doi: 10.29252/yujs.6.1.173
- Shariat, A., Mirzaie Nodoushan, H., Mirza, M., Zare, Z., Keneshloo, H., & Taghavi, F. (2019). An ionome study in Persian oak (*Quercus brantii* Lindl.) to evaluate factors affected oak decline. *Iranian Journal of Forest*, 11(3), 415-425.
- Sisakhtnejad, M., Zolfaghari, R., Fayyaz, P., (2016). Assesment of drought resistant of *Quercus branti* and *Q. Libanii* seedlings using growth, physiological and nutrient uptake. *Applied Biology (Biannual Scientific Research)*, 30(2), 137-157. doi:10.22051/JAB.2017.3258
- Wang, C., Liu, L., Zhang, A., Xie, P., Jun Lu, J., & Ting Zou, X. (2012). Antibacterial effects of zinc oxide nano particles on escherichia coli K88. *African Journal of Biotechnology*, 11(44), 10248-54. doi: 10.5897/AJB11.3703
- Xu, P.L., Guo, Y.K., Bai, J.G., Shang, L., & Wang, X.J. (2008). Effects of long-term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light. *Physiologia Plantarum*, 132, 467-478. doi:10.1111/j.1399-3054.2007.01036.x
- Yousefi, S., Kartoolinejad, D., & Naghdi, R. (2017). Effects of priming with multi-walled carbon nanotubes on seed physiological characteristics of Hopbush (*Dodonaea viscosa* L.) under drought stress. *International Journal of Environmental Studies*, 74(4), 528-539. <https://doi.org/10.1080/00207233.2017.1325627>
- Zabet, M., Hoseinzade, A.H., Ahmadi, A., & Khialparast, F. (2003). Effect of water stress on different traits and determination of the best water stress index in mung bean (*Vigna radiata*). *Iranian Journal of Agricultural Science*, 34(4), 889-898.



Research Article

The effect of zinc oxide nano particles on growth, morphological and physiological characteristics of Persian oak (*Quercus brantii* Lindl.) seedlings under drought stress

H. Imani¹, D. Kartoolinejad^{2*}, A.A. Zolfaghari³, and E. Nikouee⁴

¹M.Sc. Graduate Student of Forest Biology, Faculty of Desert Studies, Semnan University, Semnan, Iran.

²Assistant Prof., of Forestry, Faculty of Desert Studies, Semnan University, Semnan, Iran.

³Associate Prof., of Soil Physics, Faculty of Desert Studies, Semnan University, Semnan, Iran.

⁴Ph.D. Student of Silviculture and Forest Ecology, Faculty of Natural Resources, University of Tehran, Karaj, I. R. Iran

(Received: 9 January 2021; Accepted: 21 December 2021)

Abstract

In this study, the effect of zinc oxide nano particle (ZnO) on 18 different growth, morphological and physiological characteristics of Persian oak (*Quercus brantii* L.) seedlings was investigated under drought stress. Before doing the experiment, initial characteristics of the two-year-old seedlings were measured after transferring them to Semnan and passing two months for stabilization in the greenhouse condition. Statistical analysis were performed with a completely randomized design under a factorial experiment using two factors of drought stress (field capacity 80%, 60%, 40% and 20%) and zinc nano oxide (concentrations 0, 30, 100, 300 and 1000 mg/l) with four replications. After twice spraying with zinc nano oxide with one-month interval and growing in greenhouse conditions for 6 months, all seedlings were measured and reassessed. The results showed that with increasing drought stress and nano oxide concentration, the number and longitudinal growth of leaves, height and diameter growth of seedlings and the number of seedling branches decreased, while the number of leaves and percentage of nano blight and the number of dried leaves increased. The best treatment in terms of growth and qualitative traits was related to the combination of irrigation with 40% of field capacity along with a concentration of 30 mg/l zinc nano oxide. The results also showed that only superoxide dismutase enzyme had a significant difference compared to the control with increasing drought stress at different concentrations of zinc nano oxide; however no significant difference was observed throughout other tested enzymes (catalase, ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase). Overall, due to the lack of prominent effect on seedling characteristics and creating the scorching spots on the leaf surface in some treatments, the use of zinc nano oxide is not recommended to improve the drought resistance, establishment and growth of oak seedlings.

Keywords: Forest restoration, enzyme activity, physiological traits, field capacity, seedling growth.