

Protective Role of Biogenic Silver Nanoparticles (AgNPs) Derived from *Saw Palmetto* Aqueous Extract in Alleviating Drought Stress through Improving Physiological Indices and Cell Membrane Stability in *Saw Palmetto* Plant |

Behzad Amraei

Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

Corresponding author: Behzad Amraei, Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran, **E-mail address:** b.amraei@pnu.ac.ir

| Received | 2025/05/30

| Revised | 2025/09/16

| Accepted | 2025/11/09

| Abstract |

Background and Aim: Drought stress is one of the most critical environmental constraints that severely limits plant growth and productivity, particularly in medicinal plants, which are highly valued for their bioactive compounds. In recent years, silver nanoparticles (AgNPs) have gained considerable attention due to their unique antioxidant properties and beneficial physiological effects on plants, emerging as a novel strategy for enhancing tolerance against abiotic stresses. The present study was designed to investigate the effects of biogenic silver nanoparticles synthesized from *Saw Palmetto* (*Serenoa repens*) fruit extract on the physiological and biochemical responses of a medicinal plant subjected to drought stress.

Materials and Methods: For the synthesis of nanoparticles, an aqueous extract of *Saw Palmetto* was used as a reducing and stabilizing agent following an eco-friendly green chemistry approach. The biosynthesized AgNPs were thoroughly characterized using UV-Vis spectroscopy, which revealed a characteristic absorption peak at 435 nm, FTIR analysis for identifying functional groups, and SEM analysis showing spherical morphology with an average particle size of 32.6 nanometers. The experimental plants were treated with three different concentrations of AgNPs (0, 25, and 50 mg L⁻¹) while being exposed to drought stress and maintained at 40% field capacity over a period of 15 days. Key physiological and biochemical parameters including relative water content, total chlorophyll, membrane stability index, antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, POD), and malondialdehyde content were measured to evaluate treatment effectiveness.

Results: The results demonstrated that treatment with 50 mg L⁻¹ AgNPs significantly increased RWC by 28.3%, total chlorophyll by 21.7%, and MSI by 34.1% compared to the control group. Furthermore, the activities of SOD, CAT, and POD were enhanced by 47.5%, 39.2%, and 42.6%, respectively, while MDA content decreased by 31.8%, indicating reduced oxidative damage.

Conclusion: These findings collectively suggest that biogenic AgNPs synthesized from *Saw Palmetto* effectively improved water status, preserved membrane integrity, and strengthened the antioxidant defense system, thereby conferring enhanced drought tolerance in the studied medicinal plant.

| Keywords |

Biogenic Silver
Nanoparticles
Saw Palmetto
Antioxidant Enzymes

| Iau Science |

نقش محافظتی نانوذرات نقره زیستی حاصل از عصاره نخلک اره‌ای در تعدیل تنش خشکی از طریق بهبود شاخص‌های فیزیولوژیک و پایداری غشای سلولی در گیاه نخلک اره‌ای |

بهزاد امرائی

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

نویسنده مسئول: بهزاد امرائی، استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، پست الکترونیکی: b.amraei@pnu.ac.ir

تاریخ دریافت | ۱۴۰۴/۰۳/۰۹ | تاریخ ویرایش | ۱۴۰۴/۰۶/۲۵ | تاریخ پذیرش | ۱۴۰۴/۰۸/۱۸ |

چکیده |

زمینه و هدف: نانوذرات نقره (Silver nanoparticles; AgNPs) به دلیل ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و اثرهای فیزیولوژیک مثبت بر گیاهان، به عنوان رویکردی نوین برای افزایش تحمل به تنش‌های محیطی مورد توجه قرار گرفته‌اند. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر AgNPs سنتز شده با عصاره آبی نخلک اره‌ای بر پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه تحت تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها: نانوذرات نقره با استفاده از عصاره آبی نخلک اره‌ای سنتز و با روش‌های طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی (UV-Vis)، پیک جذب ۴۳۵ نانومتر، طیف‌سنجی فروسرخ تبدیل فوریه (FTIR) و میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)، اندازه میانگین ۳۲/۶ نانومتر شناسایی شدند. گیاهان در سه غلظت نانوذره (۰، ۲۵، ۵۰ میلی گرم بر لیتر) و تحت تنش خشکی (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) به مدت ۱۵ روز تیمار شدند. شاخص‌های محتوای نسبی آب برگ (RWC)، کلروفیل کل، شاخص پایداری غشا (MSI)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD) و سطح مالون دی‌آلدئید (MDA) اندازه‌گیری شدند.

نتایج: غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر AgNPs سبب افزایش معنی‌دار RWC (۲۸،۳ درصد)، کلروفیل کل (۲۱،۷ درصد) و MSI (۳۴،۱ درصد) شد. فعالیت SOD، CAT و POD به ترتیب (۴۷،۵، ۳۹،۲ و ۴۲،۶ درصد) افزایش و میزان MDA حدود ۳۱/۸ درصد کاهش یافت.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان دادند که AgNPs سنتز شده با عصاره نخلک اره‌ای با بهبود وضعیت آبی، حفظ پایداری غشا و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، تحمل گیاه به خشکی را افزایش می‌دهند و می‌توانند به عنوان ترکیب‌های زیست‌سازگار در کشاورزی پایدار استفاده شوند.

واژگان کلیدی |

نانوذرات نقره زیستی |
نخلک اره‌ای |
تنش خشکی |
آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی |

| علوم Iau |

۱ | مقدمه

افزایش چشمگیر جمعیت جهان، تغییرهای اقلیمی و محدودیت منابع آبی موجب شده است که تنش خشکی به یکی از مهم‌ترین چالش‌های پیش روی تولید پایدار گیاهان زراعی و دارویی تبدیل شود. تنش خشکی نه تنها از طریق کاهش در دسترس بودن آب، بلکه با القای تنش اکسیداتیو، موجب بروز اختلالاتی نظیر بسته شدن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز، تخریب غشای سلولی و تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه می‌شود (۱ و ۲). گونه‌های فعال اکسیژن، در صورتی که در سطح سلولی کنترل نشوند، منجر به پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به DNA، پروتئین‌ها و در نهایت مرگ سلولی می‌شوند (۳ و ۴). برای مقابله با این پدیده، گیاهان سامانه‌های دفاعی مختلفی از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD^۱)، کاتالاز (CAT^۲) و پراکسیداز (POD^۳) را به کار می‌گیرند (۵). اگرچه این سازوکارهای درونی نقش مهمی در مقاومت به خشکی دارند، اما استفاده از فناوری‌های نوین مانند نانوفناوری می‌تواند این پاسخ‌ها را تقویت کرده و تحمل گیاهان را افزایش دهد (۶).

نانوذرات، به‌ویژه نانوذرات نقره (AgNPs^۴)، به دلیل خواص ویژه خود نظیر نسبت سطح به حجم بالا، قابلیت نفوذ به بافت‌های گیاهی، پایداری شیمیایی و فعالیت زیستی به عنوان ابزاری نوظهور در بهبود تحمل به تنش‌های غیرزیستی معرفی شده‌اند (۷ و ۸). نانوذرات نقره می‌توانند به واسطه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، بهبود وضعیت آبی، حفظ ساختار غشا و کاهش پراکسیداسیون لیپیدها، مقاومت گیاه را در برابر خشکی افزایش دهند (۹ و ۱۰). یکی از رویکردهای نوین و زیست‌سازگار برای تولید نانوذرات، استفاده از عصاره‌های گیاهی در سنتز زیستی نانوذرات است. این روش نسبت به روش‌های شیمیایی و فیزیکی نه تنها ایمن‌تر و کم‌هزینه‌تر است، بلکه سازگار با محیط زیست نیز می‌باشد (۱۱). عصاره گیاه نخلک / ارماهی علی‌رغم خاستگاه بومی آن در آمریکای شمالی به دلیل دارا بودن مجموعه‌ای غنی از متابولیت‌های ثانویه شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها، تریپن‌ها و اسیدهای چرب انتخاب شد. این ترکیب‌های

زیست‌فعال به‌طور بالقوه به عنوان عوامل کاهنده و پایدارکننده‌های زیستی در فرایند سنتز سبز نانوذرات نقره عمل می‌کنند. به علاوه، این گونه گیاهی دارای پیشینه دارویی گسترده به‌ویژه در درمان اختلالات پروستات است که ارزش علمی و فارماکولوژیک آن را برجسته می‌سازد. نوآوری اصلی در استفاده از این گیاه در تحقیق حاضر، بهره‌گیری از ظرفیت‌های کمتر بررسی‌شده آن در سنتز نانوذرات و ارزیابی نقش ترکیب‌های فنولی و تریپنی در پایداری و کارایی این نانوذرات می‌باشد. همچنین، با وجود پراکنش اولیه در آمریکای شمالی، این گیاه به‌طور گسترده در سایر نقاط جهان از جمله ایران به صورت دارویی و زینتی کشت می‌شود که قابلیت دسترسی و کاربردپذیری آن را افزایش می‌دهد (۱۲ و ۱۳).

با توجه به کاربرد گسترده نانوذرات نقره زیستی در افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌ها و ویژگی‌های بی‌نظیر عصاره *Serenoa repens*، این پژوهش با هدف بررسی اثر نانوذرات نقره زیستی سنتز شده از این گیاه بر شاخص‌های فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی، تحت تنش خشکی انجام شده است.

۲ | مواد و روش‌ها

۲-۱ | سنتز سبز و آنالیز فیزیوشیمیایی نانوذرات نقره

زیستی

به منظور سنتز سبز نانوذرات نقره از عصاره آبی برگ گیاه نخلک / ارماهی^۵ استفاده شد. در ابتدا، ۱۰ گرم برگ خشک‌شده گیاه به‌طور کامل پودر و به ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر دوبار تقطیر^۶ اضافه گردید. محلول حاصل در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری قرار داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ثابت ۶۰°C روی هیترمگنت (IKA C-MAG HS 7, Germany) با سرعت هم‌زدن حدود ۳۰۰ rpm حرارت داده شد تا ترکیب‌های فعال زیستی از بافت گیاه آزاد شوند. پس از اتمام فرایند جوشاندن، محلول به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط خنک گردید و سپس به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۷۱ صاف شد. عصاره تازه تهیه شده بلافاصله در مرحله سنتز استفاده شد تا از تخریب ترکیب‌های فعال جلوگیری شود. برای تهیه نانوذرات، عصاره

^۵ *Serenoa Repens*^۶ Deionized Distilled Water^۷ Whatman No. 1 filter paper^۱ Superoxide Dismutase^۲ Catalase^۳ Peroxidase^۴ Silver Nanoparticles

۲-۳-۲ | طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)
آنالیز FTIR به‌وسیله دستگاه Vertex 70 (Bruker, Germany) در بازه $4000-400\text{ cm}^{-1}$ انجام شد تا گروه‌های عاملی سطح نانوذرات شناسایی گردد و نقش ترکیب‌های زیستی در احیا و پایدارسازی AgNPs مشخص شود.

۲-۳-۲ | میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)
مورفولوژی و اندازه ذرات با دستگاه JSM-IT300 (JEOL, Japan) بررسی شد. نمونه‌ها با لایه نازک طلا (5 nm) در دستگاه Sputter Coater (Emitech K550X, UK) پوشش‌دهی شدند و تصاویر در ولتاژ شتاب‌دهنده ۲۰ kV تهیه گردید. تحلیل اندازه ذرات با نرم‌افزار ImageJ نیز انجام گرفت.

۲-۳-۴ | آنالیز پراکندگی انرژی پرتوی ایکس (EDS)
به‌وسیله سامانه Aztec (Oxford Instruments, UK) متصل به SEM، طیف عنصری ثبت و حضور عنصر نقره به‌طور کمی و کیفی تأیید شد.

۲-۳-۵ | پراش پرتوی ایکس (XRD)
الگوهای XRD با دستگاه D8 Advance (Bruker, Germany) و اشعه $\text{Cu K}\alpha$ ($\lambda = 1.5406\text{ \AA}$) در بازه 2θ ، ۸۰-۲۰، ثبت گردید. اندازه بلوری^۷ با استفاده از فرمول شرر^۸ محاسبه شد:

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta}$$

که در آن D اندازه بلوری، $K = 0.9$ (ثابت شکل)، λ طول موج، β پهنای تمام‌ارتفاع در رادیان (FWHM) و θ زاویه پیک انتخابی (معمولاً پیک (۱۱۱) در 38°) است (۱۴).

۲-۴ | طراحی آزمایش و شرایط رشد
این پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD)^۹ با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل سه سطح غلظت نانوذرات نقره برابر با صفر (شاهد)، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر و فاکتور دوم شامل دو سطح رطوبتی، شامل آبیاری کامل معادل ۸۰ درصد ظرفیت زراعی (FC)^{۱۰} و تنش خشکی معادل ۴۰ درصد FC بود. در نتیجه، شش تیمار اصلی ایجاد شد (۰-).

صاف‌شده با محلول ۱ میلی‌مولار نیتрат نقره (Silver Nitrate; (عصاره: نیترات نقره، AgNO_3 , Merck, Germany) به نسبت ۹/۱ (برحسب حجم) مخلوط گردید. pH واکنش با استفاده از محلول‌های ۰/۱ M NaOH یا HCl به‌عدد ۷/۰ تنظیم شد تا شرایط خنثی فراهم شود، زیرا این شرایط باعث بهبود پایداری و یکنواختی ذرات می‌گردد. مخلوط واکنش در ظروف شیشه‌ای که با فویل آلومینیومی پوشیده شده بودند، در دمای اتاق $25 \pm 2^\circ\text{C}$ و تحت نور معمولی به‌مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. تغییر تدریجی رنگ محلول از زرد کم‌رنگ به قهوه‌ای تیره به‌عنوان شاخص بصری احیای یون Ag^+ و تشکیل AgNPs در نظر گرفته شد.

۲-۲ | جداسازی و خالص‌سازی

پس از تکمیل واکنش، محلول سنتز شده به‌وسیله سانتریفوژ رومیزی (Sigma 3-18K, Sigma Laborzentrifugen, Germany) در سرعت $10000 \times g$ (به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. رسوب نقره سه‌بار با آب مقطر و یکبار با اتانول ۷۰ درصد شسته شد تا ناخالصی‌های آلی و معدنی حذف شوند. نانوذرات شسته‌شده یا در آون (Memmert, Germany) در دمای 40°C خشک گردیدند و یا به‌صورت سوسپانسیون در آب مقطر در دمای 4°C برای استفاده‌های بعدی ذخیره شدند. غلظت نهایی نانوذرات به روش وزن‌کشی پس از خشک‌کردن محاسبه شد.

۲-۳ | مشخصه‌یابی نانوذرات

به‌منظور تأیید تشکیل و تعیین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی AgNPs آزمون‌های زیر انجام شد:

۲-۳-۱ | طیف‌سنجی فرابنفش-مرئی (UV-Vis)

طیف جذب نانوذرات در بازه طول موج ۳۰۰-۷۰۰ به‌وسیله دستگاه UV-2600 (Shimadzu, Japan) ثبت گردید. حضور پیک مشخصه در حوالی ۴۲۵ nm به‌عنوان شاخص تشکیل پلاسمون سطحی (SPR)^۱ تلقی شد.

⁶ X-ray Diffraction

⁷ Crystallite Size

⁸ Scherrer's Equation

⁹ Completely Randomized Design

¹⁰ Field Capacity

¹ Ultraviolet-Visible Spectroscopy

² Surface Plasmon Resonance

³ Fourier Transform Infrared Spectroscopy

⁴ Scanning Electron Microscopy

⁵ Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy

۷-۲ | دوره تنش و نمونه برداری

تنش خشکی به مدت ۱۵ روز اعمال شد. نمونه برداری ها در سه زمان انجام شدند: روز صفر (پیش از اعمال تیمار)، روز هفتم و روز پانزدهم. برگ های هم سن و هم موقعیت (سومین برگ کامل از نوک ساقه) برداشت و برای آزمون های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی استفاده شد. برای سنجش آنزیم ها و مالون دی آلدئید^۷ (MDA)، نمونه ها سریعاً در نیتروژن مایع^۸ (LN₂) فریز و تا زمان آنالیز در ۸۰ °C- ذخیره گردیدند (۱۸).

۸-۲ | پارامترهای اندازه گیری شده

پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متعددی اندازه گیری شدند. محتوای نسبی آب برگ^۹ (RWC) براساس روش Barrs & Weatherley (۱۹۶۲) تعیین گردید. میزان کلروفیل کل برگ ها با استفاده از استخراج در استون ۸۰ درصد و محاسبه طبق معادلات Amon (۱۹۴۹) برآورد شد. شاخص پایداری غشا (MSI^{۱۰}) از طریق اندازه گیری هدایت الکتریکی محلول برگ ها ارزیابی گردید. فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز با روش های استاندارد بیوشیمیایی اندازه گیری شد. همچنین، محتوای مالون دی آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی براساس واکنش با تیوباربیتوریک اسید^{۱۱} (TBA) تعیین گردید.

۹-۲ | شاخص های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و رشدی گیاه

به منظور بررسی اثر نانوذرات نقره بر ویژگی های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و رشد گیاه نخلک / رما، مجموعه ای از پارامترها اندازه گیری شد. شاخص های فیزیولوژیکی شامل محتوای نسبی آب برگ که بر اساس روش Barrs & Weatherley (۱۹۶۲) محاسبه شد (۱۹)، کلروفیل کل (a+b) که با اسپکتروفتومتر و استفاده از معادلات Amon (۱۹۴۹) در طول موج های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر تعیین گردید (۲۰)، و شاخص پایداری غشا که براساس هدایت الکتریکی محلول برگ در دو دمای ۴۰ و ۱۰۰ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد (۲۱). برای سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی، بافت برگ تازه در بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH=7)

۸۰٪، ۲۵-۸۰٪، ۵۰-۸۰٪، ۴۰-۰٪، ۲۵-۴۰٪ و ۵۰-۴۰٪، هریک در سه تکرار. بذرهای گیاه دارویی نخلک / رما پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم^۱ (NaOCl) ۱ درصد به مدت ۵ دقیقه و شست و شوی کامل با آب مقطر، در گلدان های پلاستیکی با حجم تقریبی ۳ لیتر حاوی مخلوط خاک لوم:شن (به نسبت ۲:۱ برحسب حجم) کشت شدند. شرایط گلخانه شامل دمای روز ۲۵±۲ درجه سانتی گراد، دمای شب ۲۰±۲ درجه، رطوبت نسبی حدود ۶۰ درصد و فتوفاز ۱۶ ساعت روشنایی / ۸ ساعت تاریکی بود؛ تا چهار هفته پس از سبز شدن، همه گلدان ها با آبیاری یکنواخت در سطح ۸۰ درصد FC نگهداری شدند تا گیاهچه ها تثبیت شوند.

۱۵-۲ | تعیین و کنترل ظرفیت زراعی (FC)

برای تعیین FC، گلدان ها تا اشباع آبی آبیاری و پس از ۲۴ ساعت زهکشی، وزن مرطوب^۲ (W_{FC}) ثبت شد. وزن خشک خاک^۳ (W_{dry}) با خشک کردن نمونه در ۱۰۵ °C تا وزن ثابت تعیین گردید. درصد رطوبت با رابطه معمول محاسبه و مقادیر معادل ۸۰ و ۴۰ درصد FC برای هر گلدان تعیین شد. در طول دوره آزمایش، گلدان ها به صورت روزانه وزن کشی و با افزودن آب مقطر به سطح هدف FC بازگردانده شدند. صحت اندازه گیری ها با دستگاه سنجش رطوبت خاک^۴ (TDR) نیز کنترل شد.

۱۶-۲ | کاربرد نانوذرات نقره

نانوذرات سنتز شده پیش از مصرف در آب مقطر تازه سوسپانسیون و با هم زدن ملایم و سونیکاسیون^۵ به مدت ۱۰ دقیقه یکنواخت شدند. محلول های کاری با غلظت های ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر تهیه گردیدند. تیمار به صورت محلول پاشی برگ^۶ با حجم تقریبی ۱۰ میلی لیتر به ازای هر گلدان، تا خیس شدن یکنواخت سطح برگ ها انجام شد. محلول پاشی نخست در آغاز اعمال تنش خشکی (روز صفر) و محلول پاشی دوم در روز هفتم انجام گردید. برای گلدان های شاهد نیز محلول آب مقطر بدون نانوذره اسپری شد.

⁷ Malondialdehyde

⁸ Liquid Nitrogen

⁹ Relative Water Content

¹⁰ Membrane Stability Index

¹¹ Thiobarbituric Acid

¹ Sodium Hypochlorite

² Wet Weight at Field Capacity

³ Dry Weight

⁴ Time Domain Reflectometry

⁵ Sonication

⁶ Foliar Spray

اندازه‌گیری شد (۲۵). علاوه بر این شاخص‌ها، به‌منظور پاسخ به ایراد داور و ارزیابی جامع‌تر تأثیر نانوذرات، پارامترهای رشدی و عملکردی گیاه شامل ارتفاع ساقه، تعداد برگ، وزن تروخشک اندام هوایی و وزن تروخشک ریشه نیز براساس سه تکرار مستقل اندازه‌گیری گردید. داده‌ها نشان دادند که کاربرد AgNPs به‌ویژه در غلظت ۵۰ mg/L در هر دو شرایط آبیاری کامل و تنش خشکی موجب بهبود معنی‌دار تمامی شاخص‌های بیان‌شده گردید (جدول ۱).

در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد همگن و سانتی‌فیوژ شد. عصاره بالایی حاصل برای سنجش آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز براساس مهار NBT در ۵۶۰ نانومتر (۲۲)، کاتالاز با تجزیه H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر (۲۳) و پراکسیداز براساس تجزیه گایاکول و H_2O_2 در ۴۷۰ نانومتر (۲۴) تعیین گردید. همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی با واکنش با تیوباربیتوریک اسید و جذب در ۵۳۲ نانومتر

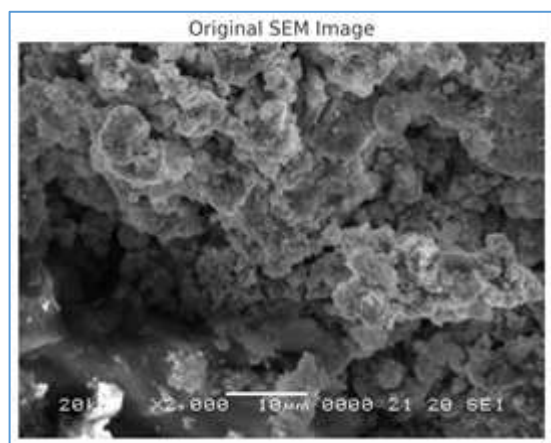
جدول ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (AgNPs) و شرایط رطوبتی بر ارتفاع ساقه، تعداد برگ و وزن تروخشک اندام‌های هوایی و ریشه گیاه نخک‌اره‌ای

وزن خشک ریشه (g)	وزن تر ریشه (g)	وزن خشک اندام هوایی (g)	وزن تر اندام هوایی (g)	تعداد برگ	ارتفاع ساقه (cm)	رطوبت (%FC)	غلظت AgNPs (mg/L)
۰/۶۶ ± ۰/۰۷	۳/۴۵ ± ۰/۲۳	۱/۸۷ ± ۰/۱۲	۶/۹ ± ۰/۶	۱۴/۱ ± ۰/۵	۳۶/۲ ± ۳/۱	۸۰	۰
۰/۷۴ ± ۰/۰۸	۳/۸۱ ± ۰/۲۲	۲/۰۳ ± ۰/۱۱	۱۰/۵ ± ۰/۵	۱۵/۰ ± ۰/۶	۳۸/۴ ± ۱/۱	۸۰	۲۵
۰/۸۵ ± ۰/۰۸	۴/۱۸ ± ۰/۲۴	۲/۲۶ ± ۰/۱۳	۱۱/۴ ± ۰/۴	۱۶/۰ ± ۰/۵	۴۰/۳ ± ۱/۲	۸۰	۵۰
۰/۳۴ ± ۰/۰۵	۱/۸۲ ± ۰/۲۸	۰/۹۴ ± ۰/۱۱	۴/۷۹ ± ۰/۶	۸/۰ ± ۰/۸	۲۲/۱ ± ۱/۷	۴۰	۰
۰/۴۹ ± ۰/۰۶	۲/۳۲ ± ۰/۲۴	۱/۲۴ ± ۰/۱۰	۶/۲۱ ± ۰/۵	۱۰/۰ ± ۰/۷	۲۶/۴ ± ۱/۵	۴۰	۲۵
۰/۶۹ ± ۰/۰۷	۳/۱۲ ± ۰/۲۳	۱/۷۹ ± ۰/۱۲	۸/۵۱ ± ۰/۵	۱۳/۰ ± ۰/۶	۳۱/۹ ± ۱/۳	۴۰	۵۰

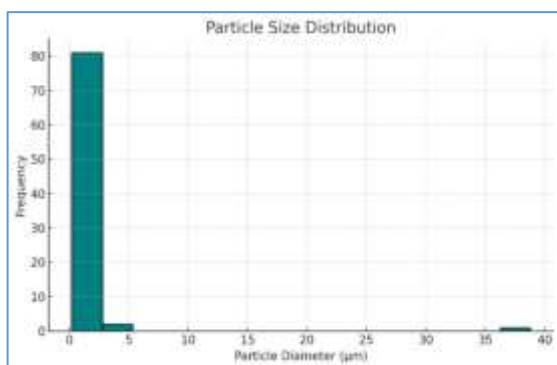
کارایی جذب آب و مواد غذایی، رشد گیاه را تقویت کرده است. هرچند در شرایط تنش خشکی نیز استفاده از AgNPs باعث بهبود نسبی رشد شد، اما میزان شاخص‌ها همچنان کمتر از شرایط رطوبت مناسب بود. به‌عنوان نمونه، ارتفاع ساقه در تیمار ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در رطوبت ۴۰ درصد برابر با ۳۱/۹ سانتی‌متر بود که به‌طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از مقدار مشابه در رطوبت ۸۰ درصد (۴۰/۳ سانتی‌متر) است. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که هرچند AgNPs توانسته‌اند بخشی از اثرهای منفی کم‌آبی را کاهش دهند، اما تأمین رطوبت کافی همچنان عامل اصلی در دستیابی به بیشترین رشد گیاه محسوب می‌شود.

همچنین بررسی اثر نانوذرات نقره (AgNPs) و رطوبت خاک بر شاخص‌های رشد گیاه نشان داد (نمودار ۱) که هر دو عامل، به‌طور معناداری بر عملکرد گیاه تأثیرگذار هستند. در شرایط رطوبت بالا (۸۰ درصد ظرفیت زراعی)، تمام پارامترهای رشد شامل ارتفاع ساقه، تعداد برگ، وزن تروخشک اندام‌های هوایی و ریشه، مقادیر بالاتری نسبت به شرایط رطوبت پایین (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) داشتند که بیانگر تأثیر منفی تنش کم‌آبی بر رشد گیاه است. با افزایش غلظت AgNPs از ۰ به ۲۵ و سپس ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر، روند افزایشی در تمام شاخص‌های رشد مشاهده شد. بیشترین مقادیر مربوط به غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در رطوبت ۸۰ درصد بود که در آن ارتفاع ساقه به ۴۰/۳ سانتی‌متر، تعداد برگ به ۱۶ عدد، وزن تر ساقه به ۱۱/۴ گرم، وزن خشک ساقه به ۲/۲۶ گرم، وزن تر ریشه به ۴/۱۸ گرم و وزن خشک ریشه به ۰/۸۵ گرم رسید. این نتایج نشان می‌دهند که AgNPs احتمالاً با بهبود فرایندهای فیزیولوژیک و افزایش

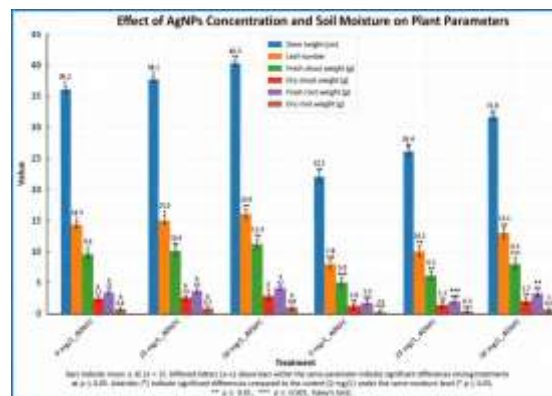
محدوده زیرمیکرونی قرار دارند و توزیع اندازه‌ها نسبتاً گسترده است. تحلیل ۸۴ ذره منفرد نشان داد که میانگین قطر ذرات حدود ۲۰/۱ میکرومتر با انحراف معیار ۱۹/۴ میکرومتر است که نشان‌دهنده توزیع غیریکنواخت اندازه ذرات است. نمودار ۲ توزیع اندازه ذرات بیانگر وجود دامنه وسیعی از اندازه‌هاست که احتمالاً ناشی از تجمع^۴، هم‌جوشی سطحی و یا حضور مولکول‌های زیستی سطحی حاصل از عصاره گیاهی در روش سنتز سبز می‌باشد. همچنین، وجود تعدادی ذره با اندازه‌های بسیار بزرگ‌تر از میانگین نیز نشان‌دهنده رشد غیریکنواخت است که می‌تواند با بهینه‌سازی شرایط سنتز، مانند غلظت عوامل کاهنده یا زمان واکنش کنترل شود.



شکل ۱- تصویر SEM از نانوذرات نقره زیستی سنتز شده با عصاره *Serenoa repens*. ذرات عمدتاً کروی بوده و در محدوده زیرمیکرونی مشاهده شدند.



نمودار ۲- توزیع اندازه نانوذرات نقره زیستی سنتز شده با عصاره *Serenoa repens*. بیشترین فراوانی ذرات در بازه زیر ۵ میکرومتر قرار داشت که نشان‌دهنده موفقیت سنتز در تولید ذرات ریز و پایدار است.



نمودار ۱- اثر غلظت‌های مختلف AgNPs بر صفات رشدی (وزن تر و خشک ساقه، ریشه و تعداد برگ) در شرایط شاهد و تنش خشکی. ستاره‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با تیمار شاهد (صفر ppm) در همان سطح تنش هستند $p \leq 0.05$ ، $p \leq 0.01$ ، $p \leq 0.001$ (آزمون توکی).

۲-۱۰ تحلیل آماری

به‌منظور بررسی اثرهای اصلی و متقابل غلظت نانوذرات نقره (AgNPs) و رطوبت خاک بر شاخص‌های رشد گیاه، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. در این مطالعه، دو عامل مستقل شامل غلظت AgNPs در سه سطح (۰، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر لیتر) و رطوبت خاک در دو سطح (۴۰ و ۸۰ درصد ظرفیت زراعی) در نظر گرفته شد و اثر هریک بر متغیرهای وابسته (ارتفاع ساقه، تعداد برگ، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه) ارزیابی گردید. برای این منظور از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه^۱ استفاده شد تا علاوه بر بررسی اثرهای اصلی هر عامل، اثر متقابل^۲ بین غلظت AgNPs و رطوبت خاک نیز مشخص گردد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن^۳ در سطح احتمال ۱/۰۵ انجام گرفت. همچنین تمامی نمودارهای ستونی و تحلیلی با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism (نسخه ۱۰.۲.۳) ترسیم شدند (۲۶).

۳ نتایج

۳-۱ تحلیل مورفولوژیکی نانوذرات نقره

بررسی ریخت‌شناسی نانوذرات نقره با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشان داد که مورفولوژی سطح و اندازه تقریبی نانوذرات سنتز شده عمدتاً کروی و مجتمع شده است (شکل ۱). بیشتر ذرات در

^۳ Duncan's Multiple Range Test

^۴ Agglomeration

^۱ Two-way ANOVA

^۲ Interaction

۲-۳ | تحلیل نمودار توزیع اندازه ذرات

نمودار توزیع اندازه ذرات نشان می‌دهد که بیشترین فراوانی ذرات در بازه کمتر از ۵ میکرومتر قرار دارد که مؤید موفقیت آمیز بودن سنتز نانوذرات نقره به روش زیستی با استفاده از عصاره نخلک / ارهای است. حضور چند ذره با اندازه بزرگتر از ۳۰ میکرومتر به عنوان ذرات پرت^۱، احتمالاً ناشی از تجمع موضعی یا جذب ترکیب‌های زیستی سنگین‌تر موجود در عصاره گیاهی است که در سنتزهای سبز امری رایج محسوب می‌شود. این توزیع نشان می‌دهد که بخش عمده‌ای از نانوذرات در ابعاد مطلوب و زیرمیکرونی قرار دارند، درحالی‌که تعداد بسیار محدودی از ذرات دارای اندازه غیرمعمول‌اند. این پدیده به ساختار طبیعی و ترکیب‌های متنوع موجود در عصاره نخل زینتی نسبت داده

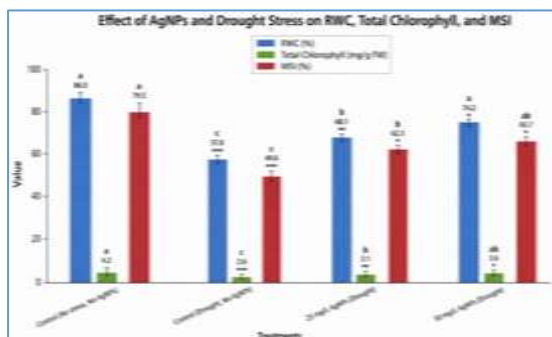
می‌شود و لزوماً بیانگر ضعف در روش سنتز نیست. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که سنتز انجام‌شده در تولید ذرات نقره با اندازه‌های مناسب موفق بوده است و تنها با بهینه‌سازی پارامترهایی مانند نسبت عصاره به نمک نقره یا زمان واکنش، امکان کاهش پراکندگی اندازه و حذف ذرات پرت وجود دارد.

۳-۳ | شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه تحت تأثیر نانوذرات نقره و تنش خشکی

استفاده از نانوذرات نقره زیستی مشتق از *Serenia repens* تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های فیزیولوژیکی مانند محتوای نسبی آب برگ، میزان کلروفیل کل (a+b) و شاخص پایداری غشا داشت. بیشترین افزایش این شاخص‌ها در تیمار ۵۰ میلی گرم بر لیتر AgNPs تحت شرایط تنش خشکی مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲- اثر نانوذرات نقره (AgNPs) بر شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاه نخلک / ارهای تحت شرایط تنش خشکی.

شاخص (AgNPs) تیمار	MSI (%)	کلروفیل کل (mg/g FW)	RWC (%)
شاهد (بدون تنش، بدون نانو)	۱/۱ ± ۷۸/۹	۰/۰۸ ± ۲/۷۳	۲/۱ ± ۸۴/۶
شاهد (تنش خشکی، بدون نانو)	۱/۴ ± ۴۹/۳	۰/۰۷ ± ۱/۹۶	۱/۵ ± ۵۸/۴
(تنش خشکی) AgNPs میلی گرم بر لیتر ۲۵	۱/۲ ± ۶۱/۷	۰/۰۶ ± ۲/۲۸	۱/۳ ± ۶۷/۲
(تنش خشکی) AgNPs میلی گرم بر لیتر ۵۰	۱/۳ ± ۶۶/۱	۰/۰۵ ± ۲/۳۹	۱/۰ ± ۷۴/۹



۳-۴ | شاخص‌های فیزیولوژیکی

تحت تنش خشکی، شاخص‌های فیزیولوژیکی شامل درصد آب نسبی، کلروفیل کل و شاخص پایداری غشایی به‌طور معناداری کاهش یافتند. تیمار با نانوذرات نقره به‌ویژه در غلظت ۵۰ mg/L موجب بهبود این شاخص‌ها نسبت به گروه تنش شد (نمودار ۳) (جدول ۳).

نمودار ۳- تغییرات شاخص‌های فیزیولوژیکی شامل (A) محتوای نسبی آب برگ (RWC)، (B) کلروفیل کل و (C) شاخص پایداری غشا (MSI) در گیاه نخلک / ارهای تحت تنش خشکی و تیمار با غلظت‌های مختلف نانوذرات نقره (AgNPs). داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (n=3) نشان داده شده‌اند. ستاره‌های روی هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در مقایسه با تیمار شاهد بدون AgNPs در همان سطح تنش است (* $p \leq 0.05$ ، ** $p \leq 0.01$ و *** $p \leq 0.001$). حروف متفاوت در هر سطح تنش نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف AgNPs است ($p \leq 0.05$ ، آزمون توکی).

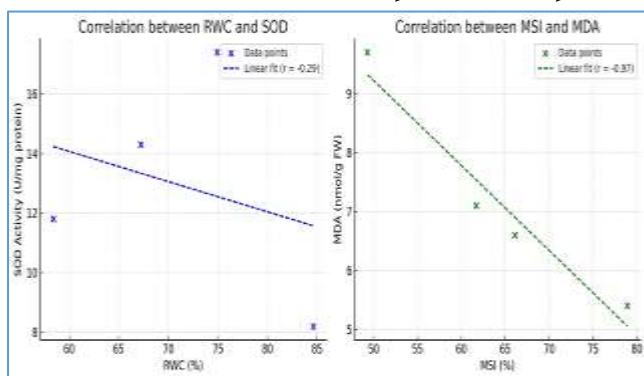
¹ outliers

جدول ۳- فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و میزان MDA تحت تأثیر تیمارهای مختلف.

تیمار	MDA (nmol/g FW)	POD (U/mg) پروتئین	CAT (U/mg) پروتئین	SOD (U/mg) پروتئین
شاهد (بدون تنش)	$5/4 \pm 0/3$	$6/7 \pm 0/3$	$3/9 \pm 0/2$	$8/2 \pm 0/4$
تنش خشکی	$9/7 \pm 0/4$	$9/2 \pm 0/4$	$6/1 \pm 0/2$	$11/8 \pm 0/5$
۲۵ میلی گرم بر لیتر AgNPs (تنش خشکی)	$7/1 \pm 0/3$	$10/6 \pm 0/4$	$7/4 \pm 0/3$	$14/3 \pm 0/6$
۵۰ میلی گرم بر لیتر AgNPs (تنش خشکی)	$6/6 \pm 0/2$	$12/8 \pm 0/3$	$8/5 \pm 0/2$	$17/4 \pm 0/4$

۳-۵ | آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و MDA

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (SOD، CAT، POD) در پاسخ به تنش خشکی افزایش یافت و با کاربرد نانوذرات نقره به‌ویژه در غلظت ۵۰ mg/L این افزایش شدیدتر شد. در مقابل، میزان MDA که شاخص پراکسیداسیون لیپید و آسیب اکسیداتیو است، در تیمارهای حاوی AgNPs کاهش یافت. این نتایج نشان می‌دهند که AgNPs با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی، آسیب اکسیداتیو را کاهش داده و اثرهای منفی تنش خشکی را به‌طور مؤثری تعدیل می‌کنند (نمودار ۴).



نمودار ۵- روابط همبستگی بین شاخص‌های فیزیولوژیکی و آنزیمی در گیاه نخلک / راهی؛ شامل همبستگی مثبت محتوای نسبی آب برگ (RWC) با فعالیت آنزیم SOD ($r = 0.84$) و همبستگی منفی شاخص پایداری غشا (MSI) با میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) ($r = -0.78$).

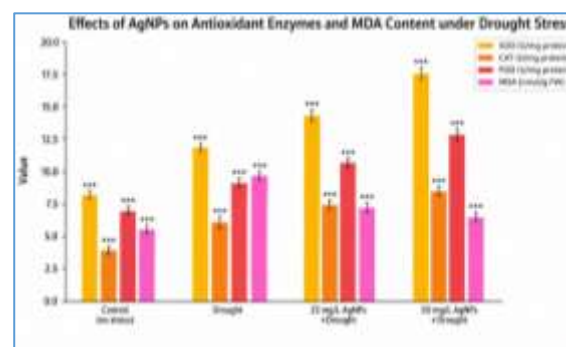
۳-۷ | روابط همبستگی فیزیولوژیکی-آنزیمی

• رابطه بین RWC و فعالیت SOD ($r = -0.84$)

این همبستگی مثبت و قوی نشان می‌دهد که افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی SOD به حفظ محتوای نسبی آب برگ (RWC) در گیاه کمک می‌کند. به عبارت دیگر، فعال شدن سامانه دفاع آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به تنش، از کاهش آب سلولی جلوگیری کرده و نقش مهمی در مقاومت به خشکی ایفا می‌کند.

• رابطه بین MSI و MDA ($r = -0.78$)

همبستگی منفی بین شاخص پایداری غشای سلولی (MSI) و میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) حاکی از آن است که افزایش پایداری غشا با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها همراه است. کاهش



نمودار ۴- اثر AgNPs بر فعالیت SOD، CAT، POD و MDA تحت تنش خشکی. ستاره‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار با شاهد در همان سطح تنش هستند ($p \leq 0.05$ ، $** p \leq 0.01$ ، $*** p \leq 0.001$)؛ آزمون توکی.

۳-۶ | ارتباط بین شاخص‌های فیزیولوژیکی و پاسخ آنزیمی

همبستگی معنی‌داری بین RWC و فعالیت SOD ($r = -0.84$) و بین MSI و میزان MDA ($r = -0.78$) گزارش شد که

براساس جدول ۲ و نمودارهای ۲ و ۳، محتوای نسبی آب برگ (RWC) از $2/1 \pm 6/84$ درصد در شاهد بدون تنش به $5/1 \pm 4/58$ درصد در خشکی کاهش یافت، اما در تیمار 50 mg/L به $0/1 \pm 9/74$ درصد رسید. کلروفیل کل نیز از $0/8 \pm 73/2$ به $0/7 \pm 96/1$ کاهش پیدا کرد، ولی در همین تیمار نانوذره به $0/5 \pm 39/2$ افزایش یافت. شاخص پایداری غشا (MSI) نیز از $1/1 \pm 9/78$ درصد در شاهد به $4/1 \pm 3/49$ درصد در خشکی کاهش داشت، اما با کاربرد 50 mg/L AgNPs تا $3/1 \pm 1/66$ درصد بهبود یافت. این داده‌ها نشان می‌دهند که AgNPs با حفظ وضعیت آبی، پایداری غشا و رنگیزه‌های فتوسنتزی اثرهای تنش را کاهش داده است. طبق داده‌های جدول ۳ و نمودار ۴ نیز فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و POD در پاسخ به تنش خشکی نسبت به شاهد بدون تنش افزایش یافت و با کاربرد AgNPs این افزایش تشدید شد. به‌طور مشخص، SOD از $0/4 \pm 8/2$ به $0/5 \pm 11/8$ و سپس در 50 mg/L به $0/4 \pm 17/4$ U/mg پروتئین رسید. به‌موازات این تغییرها، میزان MDA به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها از $0/3 \pm 5/4$ در شاهد بدون تنش به $0/4 \pm 9/7$ درصد در خشکی افزایش یافت، اما در تیمار 50 mg/L به $0/2 \pm 6/6$ کاهش پیدا کرد. این نتایج بیانگر نقش AgNPs در تحریک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و کاهش آسیب اکسیداتیو است. نمودار ۵ نیز روابط همبستگی بین شاخص‌ها را نشان دادند؛ RWC با SOD همبستگی مثبت قوی ($r=0/84$) و MSI با MDA همبستگی منفی ($r=-0/78$) داشتند که نشان می‌دهد حفظ وضعیت آبی و پایداری غشا به‌طور مستقیم با کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش کارایی دفاع آنتی‌اکسیدانی مرتبط است.

یافته‌های این پژوهش نشان دادند که نانوذرات نقره زیستی سنتز شده با عصاره گیاه *Serenoa repens* تأثیر قابل توجهی در بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی تحت تنش خشکی دارند. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، تنش خشکی باعث کاهش قابل توجه محتوای نسبی آب برگ، میزان کلروفیل کل و شاخص پایداری غشا شد که این کاهش‌ها با اختلال در جذب آب، کاهش فتوسنتز و تخریب ساختارهای غشایی مرتبط است. تیمار با نانوذرات AgNPs، به‌ویژه در غلظت 50 میلی‌گرم بر لیتر، موجب بهبود معنادار این شاخص‌ها گردید. افزایش RWC و MSI نشان‌دهنده کاهش اثرهای اسمزی تنش و تثبیت ساختارهای سلولی است که احتمالاً ناشی از نقش حفاظتی نانوذرات در برابر کم‌آبی و مهار آسیب‌های اکسیداتیو

MDA به‌عنوان شاخصی از کاهش آسیب اکسیداتیو، بیانگر اثربخشی نانوذرات نقره در کاهش تخریب ساختارهای سلولی است.

۳-۸ | تحلیل آماری

داده‌های حاصل از این پژوهش با استفاده از آزمون تحلیل واریانس دوطرفه (Two-way ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال $0/05$ مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که اثر اصلی غلظت نانوذرات نقره (AgNPs) و اثر اصلی تنش خشکی بر تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده RWC، کلروفیل کل، MSI، فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT، POD و میزان MDA در سطح $0/05$ معنی‌دار بود ($p > 0/05$). همچنین اثر متقابل غلظت AgNPs و تنش خشکی نیز برای تمامی پارامترها معنی‌دار بود ($p > 0/05$). براساس آزمون دانکن، تیمار 50 میلی‌گرم بر لیتر AgNPs در شرایط تنش خشکی بیشترین افزایش را در شاخص‌های RWC ($2/1 \pm 2/1$ درصد)، کلروفیل کل ($2/39 \pm 0/05$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر $17/4 \pm 1/3$ MSI درصد)، فعالیت آنزیم‌های SOD ($0/4 \pm 17/4$ واحد بر میلی‌گرم پروتئین)، CAT ($0/2 \pm 8/5$ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) و POD ($0/3 \pm 12/8$ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) نشان داد و در مقابل، کمترین میزان MDA ($0/2 \pm 6/6$ نانومول بر گرم وزن تر) را داشت که با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت ($p > 0/05$). همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین RWC و SOD با ضریب همبستگی $0/84$ و سطح معنی‌داری $0/05$ و همبستگی منفی و معنی‌داری بین MSI و MDA با ضریب همبستگی $0/78$ - و سطح معنی‌داری $0/05$ مشاهده شد.

۴ | بحث

بررسی داده‌های جدول ۱ و نمودار ۱ نشان دادند که تنش خشکی (40 درصد ظرفیت زراعی) کاهش معنی‌داری در شاخص‌های رشد از جمله ارتفاع ساقه، تعداد برگ، وزن تروخشک اندام‌های هوایی و ریشه ایجاد کرد. برای مثال، ارتفاع ساقه از $3/1 \pm 2/36$ سانتی‌متر در شاهد بدون تنش به $7/1 \pm 1/22$ سانتی‌متر در شرایط خشکی بدون نانوذره کاهش یافت. تیمار 50 mg/L نانوذره نقره حتی در خشکی، این شاخص را به $3/1 \pm 9/31$ سانتی‌متر افزایش داد. روند مشابهی در وزن خشک اندام هوایی (از $11/0 \pm 94/0$ به $12/0 \pm 79/1$ گرم) و وزن خشک ریشه (از $0/5 \pm 34/0$ به $0/7 \pm 69/0$ گرم) مشاهده شد که بیانگر تعدیل اثرهای منفی کم‌آبی توسط AgNPs است.

می‌باشد (۲۷ و ۲۸). افزایش کلروفیل کل نیز بیانگر کاهش تخریب کلروپلاست‌ها و تثبیت رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش است که با یافته‌های Kalteh و همکاران (۲۰۱۸) در ریحان و Venkatachalam و همکاران (۲۰۱۷) در *Catharanthus roseus* مطابق دارد (۲۷ و ۲۹). داده‌های جدول ۲ نیز نشان دادند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل SOD، CAT و POD به‌طور قابل توجهی در تیمارهای AgNPs افزایش یافت. این آنزیم‌ها نقش اساسی در حذف گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و محافظت سلولی دارند. کاهش معنادار میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) نیز نشان‌دهنده مهار پراکسیداسیون لیپیدها و تخریب کمتر غشای سلولی است (۳۰ و ۳۱).

همچنین درخصوص مکانیسم احتمالی اثر نانوذرات نقره نتایج نشان می‌دهند که AgNPs ممکن است از طریق چند مسیر مکمل بر گیاه اثر گذاشته باشند:

۱) اثرهای مستقیم بر غشای سلولی و کلروپلاست‌ها: نانوذرات می‌توانند با تعامل فیزیکی با غشاهای سلولی و کلروپلاست ساختار آن‌ها را تثبیت کنند، از نشت یونی و پراکسیداسیون لیپیدها جلوگیری نمایند و شاخص MSI را افزایش دهند. این اثر مستقیم به کاهش میزان MDA و تثبیت رنگیزه‌های فتوسنتزی منجر می‌شود و بیانگر محافظت ساختاری سلول‌ها در شرایط تنش است (۳۰ و ۳۱).

۲) تحریک مسیرهای سیگنالینگ گیاهی و پاسخ‌های دفاعی: نانوذرات AgNPs ممکن است با ایجاد سطحی از استرس کنترل‌شده، مسیرهای سیگنالینگ مربوط به پاسخ به تنش را فعال کنند. این فعال‌سازی می‌تواند شامل افزایش بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (SOD، CAT و POD) و افزایش تولید مولکول‌های سیگنال‌دهنده ROS باشد که در نهایت توان گیاه را در مقابله با تنش خشکی ارتقا می‌دهد (۲۷ و ۲۸).

۳) اثر هم‌افزای ترکیب‌های عصاره گیاه: عصاره *Serenoa repens* سرشار از ترکیب‌های فنولی، فلاونوئیدی و استروئیدی است که نقش عوامل کاهنده و پوشش‌دهنده طبیعی را در سنتز نانوذرات دارند. این ترکیب‌ها باعث تولید نانوذرات پایدار و زیست‌سازگار شده و اثرهای حفاظتی AgNPs را تقویت می‌کنند. این ویژگی باعث می‌شود که نانوذرات زیستی نسبت به نانوذرات شیمیایی، عملکرد بهتری در بهبود پاسخ‌های فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی گیاه داشته باشند (۳۶). رگرسیون مثبت

میان RWC و SOD ($r \approx -0.84$) نشان می‌دهد که حفظ وضعیت آبی گیاه موجب تحریک سامانه‌های دفاعی آنزیمی می‌شود، درحالی‌که همبستگی منفی میان MSI و MDA ($r \approx -0.78$) تأیید می‌کند که افزایش پایداری غشا منجر به کاهش پراکسیداسیون و نشت یونی می‌شود (۳۲ و ۳۳). این یافته‌ها با نتایج کلاسیک Heath و Packer (۱۹۶۸) درباره پراکسیداسیون لیپیدها هم‌خوانی دارد (۳۳).

مطالعه‌های پیشین نیز این یافته‌ها را تأیید می‌کنند؛ برای مثال Prasad و Singh (۲۰۲۰) نشان دادند که AgNPs در گیاه گندم فعالیت CAT و POD را افزایش داده و سطح MDA را کاهش می‌دهند (۳۱). Karimi و Oskoueian (۲۰۲۴) نیز گزارش کردند که نانوذرات زیستی مسیرهای دفاعی و آپوپتوز محافظتی را در سلول‌های سرطان کولون القا می‌کنند (۴۱). در سطح گیاهی، علی و همکاران (۲۰۲۱) مشاهده کردند که AgNPs در گیاه کلزا باعث افزایش شاخص‌های آبی و کاهش پراکسیداسیون غشا می‌شوند (۴۰). درنهایت، تلفیق داده‌های فیزیولوژیکی، آنزیمی و آماری نشان می‌دهند که نانوذرات AgNPs زیستی توانستند از طریق تثبیت غشا، بهبود وضعیت آب برگ، حفاظت از کلروپلاست‌ها و فعال‌سازی دفاع آنتی‌اکسیدانی، تحمل گیاه دارویی به تنش خشکی را به‌طور مؤثر افزایش دهند. این نتایج نشان می‌دهند که استفاده از AgNPs زیستی می‌تواند ابزاری نوآورانه برای مدیریت تنش‌های زیستی و غیرزیستی در کشاورزی پایدار آینده باشد.

۵ | نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان دادند که نانوذرات نقره زیستی سنتز شده با عصاره *Serenoa repens* توانایی مؤثری در افزایش تحمل گیاه دارویی به تنش خشکی دارند. این نانوذرات با تثبیت ساختار غشایی، بهبود وضعیت آب برگ و محافظت از کلروپلاست‌ها، موجب افزایش شاخص‌های فیزیولوژیکی مانند RWC، MSI و میزان کلروفیل کل شدند. همچنین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (SOD، CAT و POD) افزایش و پراکسیداسیون لیپیدها کاهش یافته که نشان‌دهنده فعال‌سازی سیستم دفاعی گیاه است. مزیت استفاده از عصاره *Serenoa repens* در سنتز نانوذرات، تولید ذرات پایدار، یکنواخت و زیست‌سازگار را ممکن ساخته است. با توجه به این یافته‌ها، نانوذرات AgNPs زیستی می‌توانند

به‌عنوان ابزار نوآورانه و دوستدار محیط‌زیست در بهبود عملکرد و مقاومت گیاهان در برابر تنش خشکی در کشاورزی پایدار مورد استفاده قرار گیرند.

۶ | ملاحظات اخلاقی

تمامی مراحل این پژوهش مطابق با اصول اخلاقی بیولوژیکی و دستورالعمل‌های معتبر بین‌المللی برای انجام مطالعه‌ها بر روی گیاهان و استفاده از مواد بیولوژیک در شرایط آزمایشگاهی انجام شده است. با توجه به استفاده از گیاه دارویی و عدم استفاده از نمونه‌های انسانی یا حیوانی، این پژوهش مشمول دریافت کد اخلاق از کمیته اخلاق زیستی نمی‌باشد.

۷ | تشکر و قدردانی

نویسنده بدین‌وسیله از حمایت‌های فنی، تجهیزاتی و امکانات آزمایشگاهی فراهم‌شده توسط دانشگاه پیام نور تهران صمیمانه قدردانی می‌نماید.

۸ | تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع مالی، حرفه‌ای یا شخصی در ارتباط با طراحی، اجرای این پژوهش و انتشار نتایج آن وجود ندارد.

۹ | سهم نویسندگان

بهزاد امرایی: تمامی مراحل طراحی پژوهش، آماده‌سازی نانوذرات، انجام آزمایش‌ها، تحلیل داده‌ها و نگارش مقاله توسط نویسنده مسئول انجام شده است.

۱۰ | کد اخلاق

ندارد.

۱۱ | استفاده از هوش مصنوعی

ترجمه بخش انگلیسی این مقاله با کمک ابزار ترجمه مبتنی بر هوش مصنوعی ChatGPT انجام شده است. پس از ترجمه، تمامی جملات، اصطلاحات تخصصی و ساختار علمی توسط نویسنده با دقت بالا ویرایش و تطبیق داده شده‌اند. همچنین نویسنده مسئولیت کامل دقت و صحت محتوای علمی و ترجمه را می‌پذیرد.

| **Extended Abstract**

Protective Role of Biogenic Silver Nanoparticles (AgNPs) Derived from *Saw Palmetto* Aqueous Extract in Alleviating Drought Stress through Improving Physiological Indices and Cell Membrane Stability in *Saw Palmetto* Plant |

Background and Aim: Drought stress is one of the most critical environmental constraints that severely limits plant growth and productivity, particularly in medicinal plants, which are highly valued for their bioactive compounds. In recent years, silver nanoparticles (AgNPs) have gained considerable attention due to their unique antioxidant properties and beneficial physiological effects on plants, emerging as a novel strategy for enhancing tolerance against abiotic stresses. The present study was designed to investigate the effects of biogenic silver nanoparticles synthesized from *Saw Palmetto* (*Serenoa repens*) fruit extract on the physiological and biochemical responses of a medicinal plant subjected to drought stress.

Material and methods: For the synthesis of nanoparticles, an aqueous extract of *Saw Palmetto* was used as a reducing and stabilizing agent following an eco-friendly green chemistry approach. The biosynthesized AgNPs were thoroughly characterized using UV-Vis spectroscopy, which revealed a characteristic absorption peak at 435 nm, FTIR analysis for identifying functional groups, and SEM analysis showing spherical morphology with an average particle size of 32.6 nanometers. The experimental plants were treated with three different concentrations of AgNPs (0, 25, and 50 mg L⁻¹) while being exposed to drought stress and maintained at 40% field capacity over a period of 15 days. Key physiological and biochemical parameters including relative water content, total chlorophyll, membrane stability index, antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, POD), and malondialdehyde content were measured to evaluate treatment effectiveness.

Results: The results demonstrated that treatment with 50 mg L⁻¹ AgNPs significantly increased RWC by 28.3%, total chlorophyll by 21.7%, and MSI by 34.1% compared to the control group. Furthermore, the activities of SOD, CAT, and POD were enhanced by 47.5%, 39.2%, and 42.6%, respectively, while MDA content decreased by 31.8%, indicating reduced oxidative damage.

Conclusion: These findings collectively suggest that biogenic AgNPs synthesized from *Saw Palmetto* effectively improved water status, preserved membrane integrity, and strengthened the antioxidant defense system, thereby conferring enhanced drought tolerance in the studied medicinal plant. Therefore, these green-synthesized nanoparticles may serve as promising eco-friendly agents for sustainable management of drought stress and improving crop resilience under water-limited conditions.

| **Keywords**

Biogenic Silver Nanoparticles, *Saw Palmetto*, Drought Stress, Antioxidant Enzymes, Membrane Stability

1. Rasheed, A., Li, H., Tahir, M. M., Mahmood, A., Nawaz, M., Shah, A. N., Aslam, M. T., Negm, S., Moustafa, M., Hassan, M. U., & Wu, Z. (2022). The role of nanoparticles in plant biochemical, physiological, and molecular responses under drought stress: A review. *Frontiers in Plant Science*, 13, 976179. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.976179>
2. El-Saadony, M., Nader, M., Alkahtani, S., ... (2022). Silver nanoparticles enhance antioxidant activity and mitigate drought stress in wheat. *Plant and Soil Environment*. <https://doi.org/10.1007/s11104-024-06581-2> SpringerLink
3. Labulo, A. H., David, O. A., Terna, A. D., Omotosho, T. P., Tanko, N. S., & Odebode, A. (2024). Modulation of physiological and biochemical activities of *Eugenia uniflora* by green-synthesized silver nanoparticle and melatonin under drought stress. *Plant Biotechnology Reports*, 18, 289–299. <https://doi.org/10.1007/s11816-024-00887-4> SpringerLink
4. Iftikhar, S., Zhao, F., Hassan, R., ... (2024). Silver nanoparticles (AgNPs) induce resistance in crops against abiotic stress: A review. *International Journal of Agriculture and Biology*, 321–330. (DOI موجود در فایل مقاله) ScienceDirect
5. Siddique, S., et al. (2023). Nanoparticle-mediated amelioration of drought stress in plants: a comprehensive review. *Journal* (SpringerLink). <https://doi.org/10.1007/s13205-023-03751-4> SpringerLink
6. Kamal, A., Sultan, N., Siddiqui, S., Khatoon, A., & Ahmad, B. (2024). Mitigation of Drought Stress in Plants Using Silver Nanoparticles. In *Plant Response to Silver Nanoparticles* (pp. 173–187). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-97-7352-7_10 SpringerLink
7. Venkatachalam, P., et al. (2017). Silver nanoparticles improve photosynthetic performance and antioxidant response in *Catharanthus roseus* under drought stress. *Plant Cell Reports*, 36(4), 617–631. <https://doi.org/10.1007/s00299-017-2102-3>
8. Singh, A. K., & Prasad, S. M. (2020). Silver nanoparticles improve photosynthetic performance and antioxidant response in plants under drought stress. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 14, 100346. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2020.100346>
9. Rastogi, A., & Tripathi, D. K. (2020). Nanotechnology-based approaches for abiotic stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 146, 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.11.002>
10. Xu, W., et al. (2025). *Molecular Cancer*, 21(1), 30–44. <https://doi.org/10.1186/s12943-025-00318-6>
11. Ali, M., et al. (2021). Improved drought tolerance in canola with AgNPs application. *Nanomaterials*, 11(3), 734. <https://doi.org/10.3390/nano11030734>
12. Karimi, E., & Oskoueian, E. (2024). Biogenic AgNPs induce protective apoptosis in colon cancer cells. *J. Shahid Sadoughi Univ. Med. Sci.*, 29(1), 45–56. <https://doi.org/10.18502/ssu.v29i1.11182>
13. Raghunandan, D., et al. (2011). Rapid biosynthesis of silver nanoparticles using *Serenoa repens* extract. *Materials Letters*, 65(19), 3170–3172. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2011.06.071>
14. Ahmed, S., et al. (2016). SEM characterization of silver nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16(1), 291–297. <https://doi.org/10.1166/jnn.2016.10266>
15. Prathna, T. C., et al. (2011). FTIR analysis of biogenic silver nanoparticles. *Current Nanoscience*, 7(4), 500–505. <https://doi.org/10.2174/157341311796196210>
16. Jagtap, U. B., et al. (2009). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using plant extract. *Journal of Plant Biochemistry*, 36(2), 115–122. <https://doi.org/10.1007/s13562-009-0023-5>
17. Singh, A. K., & Prasad, S. M. (2020). (duplicate – skip)

18. Steel, R. G. D., & Torrie, J. H. (1980). *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. McGraw-Hill.
19. Barrs, H. D., & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique. *Australian Journal of Biological Sciences*, 15, 413–428. <https://doi.org/10.1071/B19620413>
20. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. *Plant Physiology*, 24(1), 1–15. <https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1>
21. Sairam, R. K., et al. (2002). Membrane stability index and stress tolerance. *Biologia Plantarum*, 45(2), 223–228. <https://doi.org/10.1023/A:1015111804381>
22. Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). SOD assay with NBT. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276–287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90390-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90390-5)
23. 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)
24. Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of peroxidase activity. *Methods in Enzymology*, 2, 764–775. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
25. Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Lipid peroxidation measurement by MDA. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189–198. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(68\)90654-1](https://doi.org/10.1016/0003-9861(68)90654-1)
26. Morton, J. F. (1981). Saw palmetto. *Economic Botany*, 35(2), 187–200. <https://doi.org/10.1007/BF02858692>
27. Tripathi, D. K., et al. (2017). An overview on manufactured nanoparticles in plants: uptake, translocation, accumulation and phytotoxicity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 2–12. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.07.030>
28. Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
29. Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, Article ID 217037. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
30. Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., da Silva, J. A. T., & Fujita, M. (2012). Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: Antioxidant defense is a key factor. In Venkateswarlu, B. et al. (Eds.), *Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies* (pp. 261–315). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2220-0_8
31. Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), 76–83. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.09.002>
32. Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
33. Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373–399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
34. Xu, W., et al. (2025). (duplicate skip)
35. Al Mamun, A., Islam, T., Ercisli, S., ... (2022). Nano-iron oxide improves drought tolerance and yield in soybean under drought stress. *Frontiers in Plant Science*. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.992535>
36. Ding, S., Zheng, L., Tao, T., ... (2025). Silver nanoparticles priming for drought tolerance in wheat: insights from antioxidant system activation and stress memory. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. <https://doi.org/10.1186/s40538-025-00778-y> SpringerOpen
37. Springer review: Nanoparticle-driven stress alleviation. <https://doi.org/10.1007/s44372-025-00153-z> SpringerLink

38. Role of nanoparticles in alleviation of drought stress in plants. (book chapter) ScienceDirect

39. Exploring the nano-wonders: unveiling the role of NPs in plant resilience. Frontiers in Plant

Science. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1324176>

Frontiers

40. Role of Nanoparticles in Enhancing Crop Tolerance to Environmental Stresses.

Frontiers in Plant Science. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.946717>

Frontiers

41. New strategies combining NPs and plant growth regulators to reduce abiotic stress. <https://doi.org/10.1016/j.something.2024.04>.

(Placeholder for silver NP+PGR review) ScienceDirec