

بررسی اثر نانوسیلور بر روی رشد ریشه های قارچ *Fusarium moniliforme* عامل بیماری پوسیدگی خوشه و طوقه ذرت و برنج

نفیسه کتولی^۱ و کامران رهنما^۲

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشکده علوم زراعی

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

*پست الکترونیک: Kamran_ra@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی تأثیر ماده نانوسیلور و تعیین غلظت موثرترین ماده بر روی قارچ *Fusarium moniliforme* عامل پوسیدگی طوقه برنج، پوسیدگی ساقه ریشه و دانه ذرت دو آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه به اجرا در آمد. در آزمایش اول دوزهای مختلف نانوسیلور مایع ۲۰۰L که شامل: شاهد بدون نانوسیلور، سایر تیمارها به ترتیب ۵ppm، ۱۰ppm، ۳۰ppm، ۵۰ppm و ۱۰۰ppm نانوسیلور در ۳ تکرار به منظور تعیین محدوده دوز نانوسیلور انجام شد. این ماده با محیط کشت PDA پس از سترون شدن مخلوط گردید. نتایج نشان داد که از دوز ۳۰ppm به بعد در بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی داری در سطح $p=0/05$ وجود دارد. در مرحله دوم آزمایش برای اطمینان بیشتر از تأثیر سایر دوزها آزمایش با مقادیر انتخاب شده عبارتند از: شاهد بدون نانوسیلور، تیمار اول ۲۰ppm، تیمار دوم ۲۵ppm، تیمار سوم ۳۵ppm، تیمار چهارم ۴۰ppm و تیمار پنجم ۶۰ppm در ۳ تکرار و همانند آزمایش اول تکرار گردید. نتایج نشان داد که از تیمار ۲۰ppm به بعد حدود ۵۰ درصد یا حتی بیشتر کاهش رشد قطر ریشه های فوزاریوم پس از چهار روز قابل مشاهده بود که در زمان کوتاه نانوسیلور کاهش چشمگیری در رشد ریشه های این قارچ داشته است، بنابراین نانوسیلورها علاوه بر خاصیت آنتی باکتریال، احتمالاً به نسبت بالایی خاصیت بازدارندگی بر علیه عامل بیمارگر گیاهی را نیز دارند.

واژه های کلیدی: نانوسیلور، قارچ *Fusarium moniliforme*، کاهش قطر ریشه فوزاریوم



مقدمه

فن آوری نانو اساساً توانایی کار در سطح مولکولی، اتم، اتم، برای ایجاد ساختارهای بزرگ و کاملاً نو با سازماندهی مولکولی است. رفتار مولکول‌های منفردیک نانومتری (10^{-9} متری) یا رفتار ساختارها در محدوده 10^{-9} تا 10^{-7} در مقایسه با مواد حجیم بسیار متفاوت است (۵). به عبارتی نانو تکنولوژی توانمندی تولید مواد، ابزار و سیستم‌های جدید با در دست گرفتن کنترل در سطوح مولکولی و اتمی و استفاده از خواصی است که در آن سطح ظاهر می‌شود (۳) و (۴)، در یک تقسیم‌بندی کلی فناوری نانو به ۳ شاخه تقسیم می‌شود:

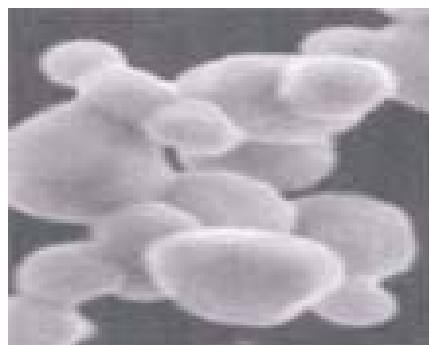
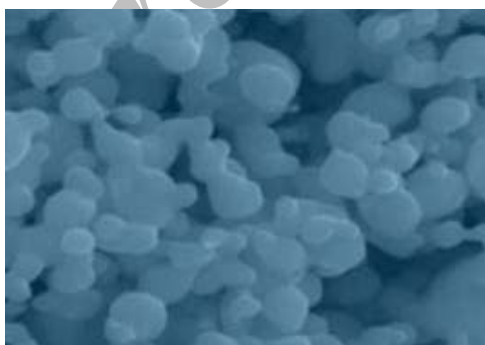
۱- فن آوری نانو تر (مرطوب): وظیفه این حوضه مطالعه سیستم‌های زیستی و زنده که در ابتدا در محیط آبی پرورش یافته‌اند، مانند مواد ژنتیکی، آنزیم‌ها و اجزای سلولی دیگر است.

۲- فن آوری نانو خشک: این شاخه به مطالعه سیستم‌های غیر زنده می‌پردازد که زمینه بررسی علوم فیزیک، شیمی و مواد است.

۳- فن آوری نانو محاسباتی: در ساخت مواد خودساز و خود ترمیم بی‌شک نرم‌افزارهایی نیاز خواهد بود که طرح آنها بر عهده این شاخه است. علاوه بر آن زمینه‌هایی مانند شبیه‌سازی و مدل‌سازی مواد با ساختار نانو نیز مرتبط با این بحث خواهد بود (۶).

نانو ذره‌ها Nano Particle

به ذرات در قطعه نانو و کوانتومی که مطالعه آنها با ابزار و اصول مکانیک کوانتومی انجام می‌گیرد نانو ذرات، نانو پودرها و یا ذرات کوانتومی می‌گویند.



نانوذرات نقره

ویژگی‌ها و خواص نانو ذرات که آنها را به‌عنوان عوامل انقلاب صنعتی در هزاره سوم میلادی قرار داده است ناظر بر دو موضوع اساسی می‌باشد:

الف: اثر اندازه کوانتومی: به این معنا که وقتی اندازه ذرات مواد اعم از فلزات، سرامیک‌ها و ... کوچکتر از یک حد باشد (به عبارتی در محدوده نانو) آنگاه خواصی که این مواد نشان می‌دهند، الزاماً با خواص آنها در حالت محدود و کپه‌ای و حجیم Bulk یکسان نیست. بلکه ذرات نانومتری خواص بسیار جالب و مطلوب و مفیدتری برای کاربردهای متفاوت نشان می‌دهند که خود یکی از عوامل رشد سریع تحقیقات روی نانو ذرات و پیش‌بینی استفاده بسیاری از آنها در صنایع مختلف می‌باشد.

ب- خواص تابع اندازه: به این معنا که نه تنها در حوزه نانومتری خواص مواد در حالت حجیم متفاوت می‌گردد، بلکه در همان محدوده نانومتری خواص جسم (ماده) تابع اندازه آن می‌باشد، مثلاً بین دو ذره‌ی نانومتری در ابعاد ۱ و ۲ نانومتر شاهد تغییر خواص خواهیم بود و این یکی از مهمترین ویژگی‌های ذرات نانومتری (نانوذرات) است (۶).

با توجه به گستردگی نانو ذرات و نیز گستردگی مواد کاربرد آنها از روش‌های مختلفی برای تولید این ذرات استفاده می‌شود که انتخاب آن بستگی به نوع ماده و کاربرد آن دارد. در تولید نانو ذرات از دو روش اصلی و اساسی می‌توان استفاده کرد.

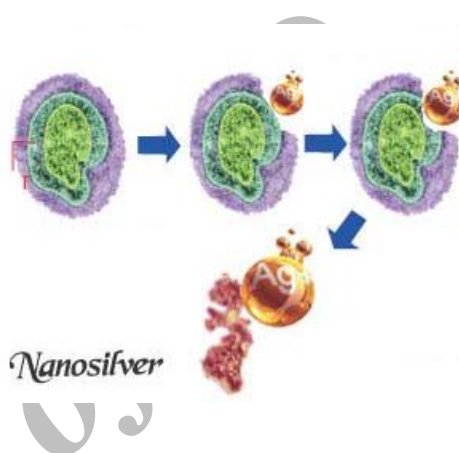
۱- روش‌های فیزیکی: که اصطلاحاً می‌توان آنرا روش بزرگ به کوچک هم نامید، قطعات بزرگ مواد مثل یک شمش طلا یا مس با استفاده از ابزار و ادوات فیزیکی به ذرات بسیار ریز در مقیاس نانومتر تبدیل می‌شوند.

۲- روش‌های شیمیایی: که مبتنی بر هسته‌سازی و رشد می‌باشد و اصطلاحاً آنرا روش از کوچک به بزرگ هم می‌نامند با استفاده از واکنش‌های شیمیایی تولید ذرات امکان‌پذیر می‌گردد که در مقایسه با روش فیزیکی بسیار ارزانتر و سهل‌الوصول‌تر می‌باشد. مزیت این روش‌ها ارزان بودن، در دسترس بودن و ساده بودن آزمایشات و تولید نانو ذرات است.

هر کدام از این روش‌ها به خودی خود، دارای راه‌کارهای جزئی‌تر می‌باشند و همچنین روش‌هایی بین این دو مطرح است که به روش‌های مکانیکی- شیمیایی موسوم‌اند (۵).



یکی از این نانو ذرات، نانو ذرات نقره یا Nano Silver می باشد. نقره در ابعاد بزرگتر فلزی با خاصیت واکنش دهی کم می باشد، ولی زمانی که به ابعاد کوچکتر در حد نانومتر تبدیل می شود خاصیت میکروبی کشی آن بیش از ۹۹ درصد افزایش می یابد، نقره در ابعاد نانو بر متابولیسم، تنفس و تولید مثل میکروارگانیسم ها اثر می گذارد (۶).



در فن آوری نانو سیلور یون های نقره به دو صورت پودر (کامپوزیت) و مایع (کلوئید) تولید می شوند.

۱- کامپوزیت نانو سیلور: یا نانو سیلور گروه P، شامل ذرات نانو نقره پوشش دهی شده روی TiO_2 می باشد که در مجاورت رطوبت هوا به صورت کاملاً فتوکاتالیستی موادی همچون OH^- و O_2^- که اکسید کننده و احیا کننده های قوی هستند را تولید کرده که این امر باعث مهار تولید ATP (مکانیزم تولید انرژی) در انواع میکروارگانیسم ها می شوند و شامل P101 (۱ درصد وزنی نقره)، P105 (۵ درصد وزنی نقره)، P110 (۱۰ درصد وزنی نقره) می باشند.

۲- کلوئید نانو سیلور: یا نانو سیلور گروه L، حاوی ذرات نانو نقره محلول شده در آب مقطر می باشد که با دوزهای 100L (100ppm ذرات نقره)، 200L (200ppm ذرات نقره) و 2000L (2000ppm ذرات نقره) می باشد که خاصیت آنتی باکتریال را داراست و توانایی تولید O_2^- را دارا هستند. این محلول ها از یون های نقره در اندازه های ۱۰۰-۱۰ نانومتر (10^{-9}) تشکیل شده اند و در مقایسه با محلول های دیگر پایداری بیشتری دارند (۵). دو مکانیسم عمده نانو نقره ها عبارتند از:



۱- مکانیسم کاتابولیستی: تولید اکسیژن فعال توسط نقره، این مکانیسم بیشتر در مورد کامپوزیت‌های نانو نقره‌ای صدق می‌کند که روی پایه‌های نیمه هادی مانند TiO_2 یا SiO_2 قرار گرفته می‌شود. در این وضعیت ذره مانند یک پیل الکتروشیمیایی عمل می‌کند و با اکسید کردن اتم اکسیژن، یون اکسیژن و با هیدرولیز کردن آب، یون $-OH$ را تولید می‌کنند که هر دو از بنیان‌های فعال و از قوی‌ترین عاملین ضد میکروبی نیز می‌باشند.

۲- مکانیسم یونی: دگرگون ساختن میکروارگانیسم به وسیله تبدیل باندهای $-SH$ به $-Sag$ در این مکانیسم ذرات نانونقره فلزی به مرور زمان یون‌های نقره از خود ساطع می‌کنند. این یون‌ها طی واکنش جانشینی، باندهای $-SH$ را در جداره میکروارگانیسم به باندهای $-Sag$ تبدیل می‌کنند، که نتیجه‌ای واکنش تلف شدن میکروارگانیسم است (۵). جنس فوزاریوم از رده قارچ‌های ناقص می‌باشد که دارای گونه‌های متعددی بوده و بسیاری از گونه‌های آن بیماری‌زا است. در اغلب گیاهان از جمله گیاهان زراعی، باغی، علوفه‌ای، زیتنی و جنگلی بیماری تولید می‌نماید و همه ساله در سراسر دنیا خسارات عمده‌ای وارد می‌سازد. بیماری پوسیدگی طوقه و بلایت خوشه گندم، پوسیدگی طوقه برنج و ساقه ذرت، انسداد آوندی و پژمردگی در گیاهان مختلف، پوسیدگی‌های انباری و پوسیدگی‌های میوه بعد از برداشت در محصولات مختلف نمونه‌هایی از بیماری‌های تولید شده بوسیله گونه‌های مختلف این قارچ است (۱). قدرت تولید و ترشح مایکوتوکسین‌های مختلف به وسیله تعدادی از گونه‌های فوزاریوم و زیان‌آور بودن آن برای سلامت انسان و دام از موضوعات مهمی است که در سال‌های اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته است (۲). جنس فوزاریوم گسترش جهانی دارد و قدرت سازگاری در اقلیم‌های مختلف را دارا می‌باشد (۷). گونه *Fusarium moniliforme* دارای میزبان‌های متعددی است که از مهمترین آنها که موجب خسارات جبران‌ناپذیری می‌گردد، پوسیدگی طوقه برنج، پوسیدگی ساقه و دانه ذرت، پوسیدگی ساقه و ریشه در سورگوم و مارچوبه (۲). این گونه بذرزاد و خاکزاد می‌باشد و یکی از مهمترین توکسین‌هایی که تولید می‌کند مایکوتوکسین *Fumonisin* می‌باشد که در انسان و دام ایجاد بیماری می‌کند (۸).

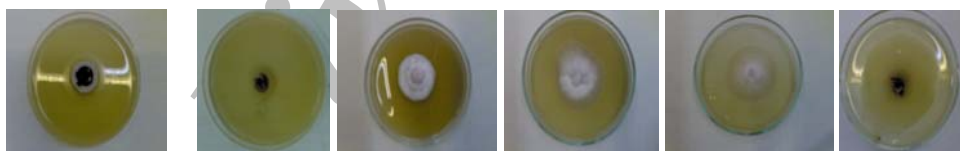
مواد و روشها

به منظور بررسی تأثیر ماده نانوسیلور و تعیین غلظت موثر این ماده بر روی رشد قارچ، کلوئید نانوسیلور (حاوی ذرات نقره محلول شده) از شرکت نانو نصب پارس و قارچ *Fusarium*



moniliforme از آزمایشگاه گروه گیاه پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی گرگان تهیه شد، دو آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت آزمایشگاهی به اجرا در آمده است که عبارتند از:

الف: مرحله اول: در آزمایش اول تاثیر دوزهای مختلف نانوسیلور که شامل: تیمارهای شاهد بدون نانوسیلور و سایر تیمارها عبارتند از: ۵ppm، ۱۰ ppm، ۳۰ppm، ۵۰ppm و ۱۰۰ppm نانوسیلور، در ۳ تکرار به منظور تعیین محدوده دوز موثر نانوسیلور انجام شد. به این ترتیب که پس از تهیه محیط کشت PDA و اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه به مدت ۱۵ دقیقه سترون شد و زمانی که دمای محیط به حدود ۴۵ درجه رسید به میزان ۵۰ میلی لیتر محیط کشت در بشر ریخته و داخل آن دوز مشخص شده نانوسیلور اضافه شده و به آرامی تکان داده تا کلونید نانوسیلور به خوبی با محیط کشت مخلوط شود، سپس به مقدار مساوی در ۳ پتری به قطر ۹ سانتی متر ریخته و تا هنگام استفاده اجازه داده شد تا محیط آگار سرد شود، این عمل برای تمام دوزها تکرار گردید. از کشت ۲ روزه قارچ *F.moniliforme* یک حلقه ۵ mm در مرکز پتری ها قرار داده و پتری ها را در انکوباتور با دمای ۲۳±۲ درجه سانتی گراد قرار گرفت. بعد از ۴ روز قطر برگنه قارچ را با خط کش اندازه گیری کرده و میزان رشد قارچ را در دوزهای مختلف نانوسیلور با نرم افزار SAS و آزمون LSD برای مقایسه میانگین در سطح ۵ درصد تجزیه و تحلیل گردید.



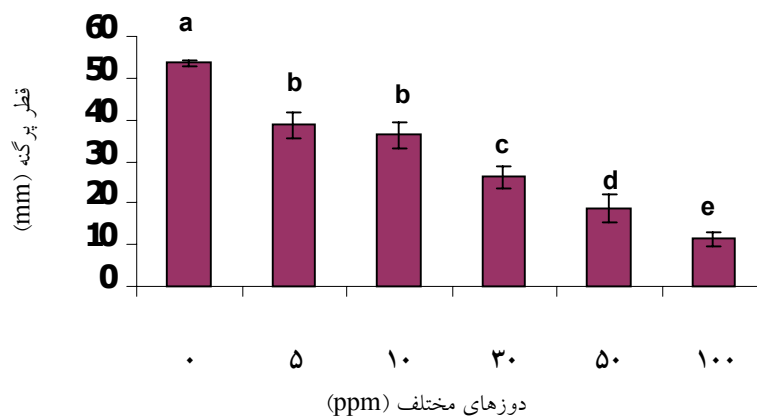
۱۰۰ppm - شاهد - ۵۰ ppm - ۳۰ ppm - ۱۰ ppm - ۵ppm -

شکل ۱- تاثیر مقادیر دوز نانوسیلور بر کاهش میانگین رشد قارچ *F.moniliforme*

در مقایسه یا شاهد پس از ۴ روز.

ب- مرحله دوم: پس از اینکه رشد قارچ مشخص شد در محدوده کدام دوز تفاوت معنی داری با سایر تیمارها داشته است، این محدوده را به قسمت های کوچکتر تقسیم کرده، به این صورت که تیمار اول یا شاهد بدون نانوسیلور، سایر تیمارها بترتیب شامل: ۲۰ppm، ۲۵ppm، ۳۰ppm و ۴۰ppm و تیمار ۶۰ppm، نانوسیلور بودند.





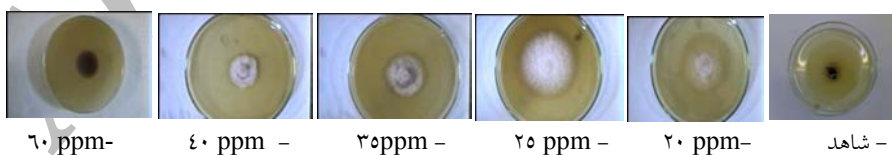
شکل ۲- مقایسه میانگین تاثیر دوزهای مختلف نانوسیلور بر روی رشد قارچ *F.moniliforme* پس از ۴ روز.

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر دوزهای مختلف نانوسیلور بر روی رشد قارچ *F.moniliforme* پس از ۴ روز

F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
۰/۲۴	۲/۴۳۰	۴/۸۶۱	۲	تکرار
۶۸۳۹	۶۸۹/۳۸۰	۳۴۴۶/۹۰۲	۵	تیمار

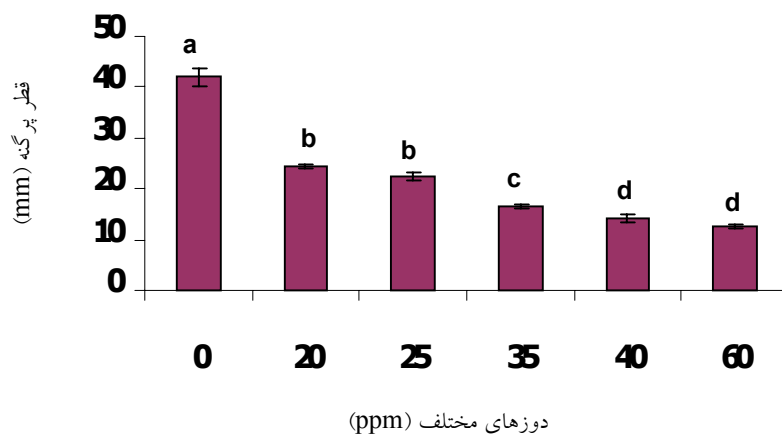
نتایج و بحث

نتایج نشان داد که از دوز ۳۰ ppm به بعد داده‌ها در تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری در سطح $p=0/5$ هستند (شکل ۲). برای اطمینان بیشتر از دوزهای کاهش یافته مجدداً آزمایش را با ۲۰ ppm شروع نموده تا اینکه موثرترین دوز را بدست آوریم.



شکل ۳- تاثیر مقادیر دوزهای تفکیک شده نانوسیلور بر کاهش میانگین رشد قارچ *F.moniliforme*

در مقایسه یا شاهد پس از ۴ روز.



شکل ۴- مقایسه میانگین تاثیر دوزهای تفکیک شده نانوسیلور بر روی رشد قارچ *F.moniliforme* پس از ۴ روز.

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر دوزهای تفکیک شده نانوسیلور بر روی رشد قارچ *F.moniliforme* پس از ۴ روز.

F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
۱/۷۵	۱/۵۵۵	۳/۱۱۱	۲	تکرار
۳۹۱/۶۷	۳۴۸/۱۴۷	۱۷۴۰/۷۳۶	۵	تیمار

در آزمایش دوم نتایج نشان داد که دوزهای کاهش یافته نسبت به آزمایش اول بطور موثرتری روی رشد پرگنه قارچ تأثیرگذار هستند (شکل ۴). بطوری که دوزهای کاهش یافته در آزمایش دوم از تیمار ۲۵ppm به بعد حدود ۵۰ درصد یا حتی بیشتر کاهش رشد قطر ریشه‌های فوزاریوم را پس از چهار روز نشان داد. در حالی که برخی از گونه‌های فوزاریوم به قارچکشی‌های رایج مثل تیباندازول مورد استفاده در کشاورزی مقاومت نسبی نیز نشان می‌دهند (۷ و ۸). در این آزمایش نشان داده شد که نانوسیلور در مدت زمان کوتاه کاهش چشمگیری در رشد ریشه‌های این قارچ دارد. در بعضی موارد در غلظت‌های بالا دیده شده که قارچ با تولید پیگمان‌های رنگی بقاء خود را در سطح کاهش یافته حفظ کرده است که این موضوع به خاصیت بازدارندگی این ماده ارتباط دارد. بنابراین می‌توان گفت که نانوسیلورها علاوه بر خاصیت آنتی باکتریال، به نسبت بالایی خاصیت ضد قارچی را هم دارند و چون



این ذرات کلونیدی اثرات مخربی بر روی محیط زیست ندارند (۳ و ۴) می‌توان برای مبارزه با قارچ‌های عامل بیماریزای فوزاریوم از آنها در آینده در صورت آزمایش‌های تکمیلی استفاده کرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری شرکت نانو پارس ایران و آقای محمدرضا محبوب در نمایندگی استان گلستان به جهت در اختیار گذاشتن ماده نانو سیلور برای انجام این تحقیق، صمیمانه تشکر می‌شود، همچنین از مدیرعامل شرکت آقای مهندس جعفر رحمانیا به جهت توصیه‌های علمی و حمایت شایسته نیز قدردانی می‌شود.

منابع

۱. صارمی، ح. ۱۳۷۹. بیماری‌های گیاهی ناشی از گونه‌های فوزاریوم. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۱۶۰ص.
۲. صارمی، ح. ۱۳۷۷. اکولوژی و تاکسونومی گونه‌های فوزاریوم. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۱۳۲ص.
۳. قاضی‌نوری، س.س. ۱۳۸۱. سیاست‌گذاری و برنامه‌ریزی علم و فناوری، مطالعه موردی نانو تکنولوژی در ایران. کمیته مطالعات سیاست نانو تکنولوژی دفتر همکاری‌های فناوری ریاست جمهوری با همکاری نشر آتنا. ۱۶۰ص.
۴. نانو تکنولوژی آئینه تکنولوژی آفرینش. ۱۳۸۰. برنامه پیشگامی ملی نانو تکنولوژی آمریکا. کمیته مطالعات سیاست نانو تکنولوژی با همکاری نشر آتنا. ۲۳۰ص
۵. گروه علمی دانشجویی نانو فناوری دانشگاه کاشان. ۱۳۸۴. درآمدی بر نانو فناوری خشک. نشر آراسته.
۶. کمیته مطالعات سیاست نانو تکنولوژی و انجمن علمی دانشجویی نانو تکنولوژی دانشکده فنی تهران با همکاری نشر آتنا. ۱۳۸۰. نانو تکنولوژی آئینه تکنولوژی آفرینش. ۱۱۲ص
7. Kawchuk, L.M., Hutchison, K.J., Verhaeghe, C.A., Lynch, D.R., Bains, P.S. and Holey, J.D. 2002. Isolation of the β tubulin gene and characterization of thiabendazole resistance in *Giberella Pulcouris*. Canadian Journal of Plant Pathology. 24(2). 233-238.
8. Nelson, P.E. 1981. Life Cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. Fungal wilt Disease of Plant. Academic press, NewYork. P 51-80.
9. Rosales, M.A. Mew, W.T. 1997. Suppression of *Fusarium moniliforme* in Rice by Rice-Associated Antagonistic Bacteria. Plant Disease. Vol. 81:1-49-52.

