فصلنامه گیاه‌پزشکی
۱۳۹۰-۳ (۳) : ۲۴۷-۲۵۸

اثر نانو ذرات نقره بر فلور قارچی بذور گندم رقم چمران

محسن قمری*
دانشجوی سابق دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، اهواز، ایران
مسعود لطیفیان
استاد یار پژوهش موسسه تحقیقات خرما و میوه های گرمسیری، اهواز، ایران
منصور فربد
دانشیار گروه فیزیک دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
نازنین امیر بختیار
محقق مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران

چکیده

در این تحقیق اثر نانو ذرات نقره بر فلور قارچی بذر گندم رقم چمران و تعیین غلظت مناسب این ماده بر قارچ‌های بذرزاد مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در شش تیمار که شامل یک سطح ضد عفونی با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به عنوان روش متداول ضد عفونی سطحی و پنج سطح پوشش بذر با نانو ذرات نقره(S_1=۱/۳، S_2=۴، S_3=۶/۷، S_4=۹/۳ و S_5=۲۶۶۶) در معیار میلی‌گرم در لیتر نیترات نقره و چهار تکرار طراحی و اجرا گردید. نتایج نشان داد که بین سطوح مختلف ضدعفونی اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد از نظر شاخص بیماری وجود داشت. سطح S_1 در حدود ۵۰ درصد شاخص بیماری را در مقایسه با تیمار هیپوکلریت سدیم کاهش داد. بیشترین کاهش (حدود ۷۵ درصد) این شاخص در مقایسه با شاهد مربوط به سطح S_5 بود. متوسط غلظت کشنده نانو ذرات نقره بر گونه‌های غالب شامل *Alternaria alternaria*، *Aspergillus sp.*، *Fusarium graminiarum*، *Penicilium sp.*، *Torula sp.* به منظور دست‌یابی به غلظت مناسب جهت کاربرد عملی براساس روش فینی محاسبه گردید. حداکثر غلظت ۵۰ درصد بازدارندگی برای قارچ *Torula sp.* معادل ۱۸۷۵/۶ میلی‌گرم در لیتر و حداقل آن برای قارچ‌های *Alternaria alternaria* و *Aspergillus sp* معادل ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر ثبت شد. با توجه به اینکه قارچ‌های بذرزاد به‌صورت گروهی بر روی بستر بذری فعال می‌باشند در نظر گرفتن حداکثر غلظت لازم یعنی معادل ۱۸۷۵/۶ میلی‌گرم در لیتر برای دستیابی به ضد عفونی کاربردی ضروری می‌باشد.

واژه های کلیدی: فلور قارچی، قارچ‌های بذر زاد، نانو ذرات نقره، گندم، کنترل

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mghamari63@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

بذر گیاهان از عوامل مهم انتقال عوامل بیماری‌زای گیاهی از جایی به جای دیگر به حساب می‌آید (Kubiak & Korbas, 1999). کشت بذر عاری از بیمارگرهای بذر زاد عمده ترین روش کنترل ورود بیماری، بخصوص بیماری‌های جدید در یک مزرعه است (Weber *et al*., 2001). کشت بذور آلوده می‌تواند منجر به پراکندگی گسترده بیماری در گیاهان زراعی گردد (Dawson & Bateman, 2001). بیمارگرهای بذرزادی که در سطح یا درون بذر قرار دارند ممکن است سبب جلوگیری از نمو بذر، پوسیدگی بذر، کاهش و یا از دست رفتن قوه نامیه و همینطور آسیب دیدگی گیاهچه و گسترش بیماری در مراحل بعدی رشد گیاه به صورت موضعی و یا سیستمیک گردند (Bateman & Kwasna, 1999 ; Khanzada *et al*., 2002). از طرف دیگر بعضی از قارچ‌هایی که در سطح بذرها رشد می‌کنند تولید سمومی می‌کنند که سلامت انسان را به خطر می‌اندازد (Halt, 1994). از جمله روش‌های کنترل بیماری‌های بذرزاد پوشش بذر[1] با ترکیبات شیمیایی مانند قارچکش‌ها است (Lisker, 1990). تیمار بذور با قارچکش‌ها از طریق کنترل بیمارگرهای خاک زاد یا بذرزاد (سطحی یا درونی) می‌تواند باعث استقرار بهتر، گیاهچه‌های قوی تر و تولید محصول بیشتر گردد. با این حال، استفاده از ترکیبات شیمیایی با مشکلاتی همراه است: از جمله اثرات سوء بر جوانه زنی بذر، آلودگی‌های زیست محیطی و غذایی و اثر مستقیم بر افرادی که با این سموم در تماس هستند (Marcia & Arthur, 2000). مهم تر آن که می‌توانند باعث ایجاد مقاومت در بیمارگرها نسبت به سموم متداول گردند (Forsberg, 2004). براین اساس شناخت راهکارها و روش‌های نوین در کنترل عوامل آلودگی بذور ضروری می‌باشد. اثرات ضد میکروبی نقره سال‌هاست که شناخته شده و طی دهه‌های اخیر راه خود را به سایر صنایع از جمله ضد عفونی آب آشامیدنی، مکمل‌های غذایی، مواد دارویی و تولید مواد پوشش دهنده ضد میکروبی باز نموده است (Silvestry *et al*., 2007). فناوری نانو به‌عنوان رویکردی نوین در تمام رشته‌ها از جمله کشاورزی در حال گسترش می‌باشد. از جمله کاربردهای این فناوری در بخش کشاورزی، استفاده از نانو ذرات نقره برای تولید مواد پوشش دهنده با کاربردهای مختلف می‌باشد (Ghamari *et al*., 2012). در تحقیقی به منظور بررسی اثر پوشش بذر گندم با نانو ذرات نقره بر خصوصیات جوانه زنی مشاهده شد که غلظت های مختلف استفاده شده علاوه بر بهبود ویژگی‌هایی مانند درصد، سرعت و مدت جوانه‌زنی و طول و وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه، میزان آلودگی به قارچ‌های ساپروفیت؛ علی‌رغم عدم استفاده از مواد ضد غفونی کننده؛ نیز به شکل قابل ملاحظه‌ای کمتر از تیمار شاهد بود (Ghamari *et al*., 2012). در پژوهشی کاربرد نانو نقره با غلظت ۴۰ گرم در هکتار به همراه میدان مغناطیسی باعث افزایش عملکرد ذرت علوفه‌ای و بهبود خصوصیات

[1] Seed Coating

Archive of SID

www.SID.ir

سیلویی آن شد (Feizi & Rezvani Moghadam, 2011). Fakhrfeshani *et al*. (2012) گزارش دادند که کابرد محلول نانو نقره با بالاترین غلظت (۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در مقایسه با سطوح پایین تر و نیز روش‌های معمول ضد عفونی مانند هیپوکلریت سدیم و کلرید جیوه که اثرات سمی دارند توانست به شکل بسیار مطلوبی آلودگی‌های قارچی و باکتریایی در کشت بافت گیاه ژربرا را کنترل کند و علاوه بر آن هیچ اثر تخریبی بر ریزنمونه‌ها نداشت. تاثیر قابل قبول نانو ذرات نقره به منظور کنترل آفات و بیماری‌های قارچی برنج نیز گزارش شده است (Karamkesh *et al*., 2007). همچنین کاربرد موثر نانو ذرات نقره و عدم ایجادگیاه سوزی در حذف باکتری‌های ساپروفیت در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های متداول در کشت بافت گیاه والرین (سنبل الطیب) نشان داده شده است (Abdi *et al*., 2007). Hatami *et al*. (2013) روی دوام گل شاخه بریده رز نشان داد که کاربرد نانو ذرات نقره هم باعث افزایش جذب آب و هم باعث ممانعت از رشد میکرواورگانیسم‌ها در محل برش گردید. کاور و همکاران (Kaur *et al*., 2012) گزارش دادند که نانوذرات نقره اثر بازدارنده ای بر رشد میسلیوم و ناحیه رشد قارچ‌های بذر زاد به ویژه *Rhizoctonia solani*، *Asperillus flavus*، *Alternaria alternaria* دارند. در تحقیقی روی ۱۸ بیماری گیاهی قارچی مشخص شد که نانودرات نقره اثر بازدارنده‌ای بر رشد قارچ ها داشته و بیشترین کنترل در بالاترین غلظت (۱۰۰ppm) حاصل شد (2012) .Kim *et al*.

گندم در بین سایر غلات از نظر سطح زیر کشت و تولید سالانه در درجه اول اهمیت قرار داشته و به عنوان اصلی‌ترین منبع غذایی انسان در اکثر مناطق معتدل و نیمه خشک دنیا کشت می‌گردد (Fakhrunnisa *et al*., 2009). در حال حاضر در مراحل و بخش‌های مختلف کشاورزی غالباً از سمومی استفاده می‌شود که منشا طبیعی نداشته و می توانند علاوه بر اثرات نامطلوب بر کیفیت تغذیه‌ای محصولات تولیدی، موجب آلودگی محیط زیست شوند. با توجه به اینکه نقره منشا طبیعی داشته و اثرات ضد میکروبی نانو ذرات نقره به اثبات رسیده است و نیز اندک تحقیقات صورت گرفته در زمینه کنترل آلودگی‌های بذرزاد با استفاده از نانو فناوری، این تحقیق با هدف: (۱) بررسی امکان کنترل آلودگی‌ها بذر زاد گندم با استفاده از پوشش نانو ذرات نقره و (۲) تعیین غلظت مناسب این ماده بر هر یک از قارچ‌های بذر زاد گندم انجام گردید.

مواد و روش‌ها

تهیه نانو ذرات نقره

یکی از روش‌های متداول تهیه نانو ذرات فلزی از جمله نقره، حل کردن نمک فلزات در حلال‌های مختلف و سپس احیای آنها توسط عوامل احیاگر است. در این تحقیق نانو ذرات نقره با اندازه حدود ۳۰ نانومتر از طریق انحلال مقادیر مختلف نیترات نقره در یک لیتر اتانول و

Archive of SID

www.SID.ir

استفاده از وینیل تری اتوکسی سیلان (VTS) به عنوان عامل پایدارساز بر اساس روش Farbod *et al*. (2007) ساخته شدند. استفاده از عامل پایدارساز به منظور جلوگیری از مجتمع شدن ذرات نانو تشکیل شده به کار می‌رود. با افزودن VTS به محلول نیترات نقره و اتانول، بخش آلی VTS یعنی گروه وینیل با اندرکنش با نان ذرات نقره بصورت یک عامل پایدارساز عمل می‌کند.

بررسی آلودگی‌های قارچی بذر گندم

این آزمایش در سال ۱۳۸۸ در دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (رامین) انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی در شش تیمار و چهار تکرار طراحی گردید. در هر تکرار تعداد ۵۰ بذر از توده بذری گندم رقم چمران (جمع‌آوری شده از مناطق شمالی استان خوزستان) به طور تصادفی انتخاب شد. تیمارهای آزمایش، شامل یک سطح ضد عفونی با هیپوکلریت سدیم (H) و پنج سطح پوشش بذر با نانو ذرات نقره (S_1-S_5) بودند. بذور گندم هر تکرار بوسیله جریان آب معمولی شسته و به مدت یک شب خیسانده شدند. سپس بذور مجددا شستشوی سطحی شده و تعداد ۲۰۰ بذر مربوط به تیمار هیپوکلریت سدیم در الک‌های کوچک دست ساز به قطر دو سانتیمتر (Stiff, 2005) در هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت سه دقیقه ضد عفونی سطحی و سپس بوسیله آب مقطر استریل در سه مرحله مورد شستشو قرار گرفته و رطوبت اضافی آنها بر روی کاغذ خشک کن استریل خشک گردید. سایر بذور مربوط به تیمار نانو ذرات نقره، پس از دفع رطوبت اضافی، از طریق ایجاد پوششی از نانو ذرات نقره مورد تیمار قرار گرفتند. کلیه بذور تیمار شده به پتری‌های شیشه‌ای با قطر ۱۰ سانتیمتر حاوی محیط کشت آب-آگار طوری انتقال داده شدند که در هر پتری پنج بذر به فاصله ۴ سانتیمتر از همدیگر از هر سو قرار گیرد. درب پتری‌ها، بوسیله نوار پارافین مسدود گردید و به انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انتقال داده شده و پس از ۴۸ ساعت و سپس به فاصله هر ۲۴ ساعت یکبار از لحاظ رویش احتمالی عوامل بیماری‌زای قارچی مورد بررسی استریومیکروسکوپی قرار گرفتند. در صورت مشاهده رویش قارچ، خالص‌سازی در پتری‌های جداگانه حاوی محیط کشت PDA انجام گردید. این پتری‌ها به مدت یک هفته در انکوباتور نگهداری گردیده و پس از اسپورزایی جهت شناسایی عامل بیماری مورد استفاده قرار گرفتند.

محاسبه شاخص بیماری

قارچ‌های جداسازی شده جهت شناسایی به موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور ارسال شدند. بذور گندم هر تکرار، از شماره یک الی ۵۰ بر روی پتری دیش‌های ۱۰ سانتیمتری شماره‌گذاری و قارچ‌های جداسازی شده از هر بذر در جداول جداگانه‌ای که برای هر تکرار براساس شماره‌گذاری در نظر گرفته شد ثبت گردید. نهایتاً شاخص بیماری براساس رابطه اصلاح شده Capdeville *et al*. (2004) محاسبه گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

$$Disease\ Index = \frac{(x_1y_1 + (x_2y_2) + \cdots (x_ny_n)}{Total} \times 100$$

که در آن X_1 نماینده درصد آلودگی بذور که از نسبت تعداد گونه‌های جداسازی شده از هر بذر به تعداد گونه‌های جداسازی شده توده بذور مورد بررسی محاسبه و براساس جدول (۱) امتیازبندی گردید. Y_1 نماینده شیوع آلودگی که بر اساس نسبت تعداد بذر آلوده‌ای که مشابه بودند به تعدا کل بذور هر تکرار محاسبه گردیده است.

جدول ۱- شیوع آلودگی های بذر زاد و امتیاز در نظر گرفته شده در بذور گندم رقم چمران مورد آزمایش (Capdeville *et al*., 2004)

Table1. Seed born infestation and considered prominence on treated Chamran wheat cultivar (Capdeville *et al*., 2004)

Infestation percentage	**0**	**1-10**	**10-20**	**20-28**	**28-35**	**35-43**	**43-50**
Prominence	0	1	2	3	4	5	6

زیست سنجی

برای محاسبه مقدار کشنده نانو ذرات نقره، پنج محلول حاوی مقادیر مختلف نیترات نقره شامل S_1=۱/۳، S_2=۴، S_3=۶/۷، S_4=۹/۳ و S_5=۲۶۶۶ (هدف از انتخاب تیمار S_5 تعیین محدوده بحرانی غلظت نانو ذرات نقره بود) برحسب میلی‌گرم در لیتر اتانول تهیه شد. برای ایجاد پوشش نانو ذرات نقره بذرو گندم، به مدت یک دقیقه در این محلول قرار گرفته و بوسیله صافی استریل از محلول خارج شده و روی کاغذ خشک‌کن استریل رطوبت اضافی آنها گرفته شد. در مرحله بعد به محیط کشت آب-آگار منتقل و به ترتیبی که در بالا اشاره شد نوع ومیزان آلودگی به قارچ‌های رویش یافته مشخص و ثبت گزارش گردید.

محاسبات آماری

تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار MSTAT-C و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال معنی‌داری ۵ درصد صورت گرفت. برای تعیین غلظت‌های کشنده از نرم افزار Bio Stat استفاده شد. برای رسم خط رگرسیون، داده‌هایی که توسط نرم افزار اخیر محاسبه شده بود به نرم افزار Excel منتقل و منحنی‌های خطی مربوطه رسم شد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

الف) فلور قارچ‌های بذرزاد گندم

در این تحقیق ۱۴ گونه از قارچ‌های بیمارگر و یا بیمارگر ثانویه جداسازی گردید که فهرست آنها و متوسط در صد آلودگی آنها در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌گردد، براساس شاخص هریس گونه‌های غالب قارچ‌های بذرزاد شامل *Alternaria alternaria*، *Aspergillus* sp.، *Fusarium graminiarum*، *Penicilium* sp.، *Torula* sp. بودند. شایان ذکر است که براساس اطلاعات موجود در منابع علمی این اولین گزارش از ایجاد آلودگی بذرزاد به وسیله قارچ *Macrophomina* sp. در گندم می‌باشد.

جدول ۲- گونه‌های قارچ جداسازی شده در گندم رقم چمران مورد آزمایش و در صد آلودگی آنها در تیمارهای مختلف

Table 2. Isolated fungi species at treated Chamran cultivar wheat and their infestation percentage under different treatments

Pathogen	Infestation percentage under treatment					
	S1	S2	S3	S4	S5	H*
Alternaria alternaria	36.6	36	17.3	33.3	14.6	57.5 a
***Aspergillus* sp.**	0	0	0.7	0	0	0 e
fusarium graminiarum	26	19.3	12	14.6	5.3	51.5 b
***Penicilium* sp.**	0	0.7	0	0.7	0.7	1.3 c
***Torula* sp.**	1.3	0.7	0.7	0.7	1.3	1.3 c
Cladosporium herbarum	1.3	1.3	1.3	0.7	0	0.7 d
Dreschlera sorokiniana	2.7	0	1.3	0	0	0 e
***Helmintosporium* sp.**	1.3	1.3	0	2.7	0.7	0 e
***Rhizopus* sp.**	0	0	0	0	0	1.3 c
Stemphylium botryosum	0	1.3	1.3	0.7	0	0 e
***Ulocladium* sp.**	0.7	0	0.7	0	0.7	0.7 d
***Nigrospora* sp.**	0	0	0	2	0	0 e
***Sclerotium* sp.**	0	0	0	0	0	0.7 d
***Macrophomina* sp.**	0.3	0	0	0	0	0.7 d

* شاخص غالبیت هریس

*Haris Index

ب) اثر تیمار نانو ذرات نقره بر شاخص بیماری

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین سطوح مختلف پوشش بذر از نظر شاخص بیماری تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۳).

جدول ۳- آنالیز واریانس شاخص بیماری بذور گندم

Table 3. Analysis of variance on seed wheat disease index

		(MS)
S.O.V	**df**	**Disease Index**
Seed coating	5	0.00019679**
Error	18	0.00000658
CV (%)		3.5

** معنی دار در سطح احتمال یک درصد

**Significant at 1% probability level

Archive of SID

www.SID.ir

مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف پوشش بذر با نانو ذرات نقره بر شاخص بیماری بذور گندم رقم چمران مورد آزمایش، نشان دهنده اثر کاهشی نانو ذرات نقره بر این شاخص بود (جدول ۴). براین اساس سطح S_1 در حدود ۵۰ درصد شاخص بیماری را در مقایسه با تیمار هیپوکلریت سدیم کاهش داد و با افزایش غلظت نانو ذرات این روند کاهشی ادامه داشت. در بهترین حالت این شاخص در تیمار S_5 در مقایسه با شاهد حدود ۷۵ درصد کاهش یافت.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف پوشش بذر بر شاخص بیماری بذور گندم

Table 4. Means Comparisons for different seed coating levels effects on wheat seed disease index

Treatment	Disease Index
H	0.0265 a
S_1	0.0141 b
S_2	0.0120 bc
S_3	0.0088 cd
S_4	0.0116 bc
S_5	0.0065 d

در هر ستون میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک، فاقد اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشند.

Means in column followed by at least one letter in common are not significantly different at 5% probability level

ج) زیست سنجی اثرات نانو ذرات نقره بر گونه‌های غالب قارچ‌های بذرزاد

با توجه به اینکه غلظت‌های مختلف از نانو ذرات نقره در مقایسه با شاهد دارای درصدهای مختلف بازدارندگی نسبت به شاهد بودند، متوسط غلظت کشنده نانو ذرات نقره بر گونه‌های غالب شامل *Penicilium* sp.، *F. graminiarum*، *Aspergillus* sp.، *A. alternaria* و *Torula* sp. به منظور دستیابی به غلظت مناسب جهت کاربرد علمی بر اساس روش فینی *محاسبه گردیدند*. همانطور که در جدول ۵ ملاحظه می‌گردد، حداکثر غلظت (۵۰ درصد) بازدارندگی برای قارچ *Torula* sp. معادل ۱۸۷۵/۶ میلی‌گرم در لیتر و حداقل آن برای قارچ‌های *A. alternaria* و *Aspergillus* sp معادل ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر ثبت شده است.

جدول ۵- زیست سنجی اثرات نانو ذرات نقره بر گونه‌های غالب قارچ‌های بذرزاد

Table 5. Bioassy efficacy of nano silver on dominance seed-born fungi species

Pathogen	LC_{16}	LC_{50}	LC_{84}	(R^2)
Alternaria alternaria	933.09	0.02	39.38	0.81
***Aspergillus* sp.**	933.09	0.02	39.38	0.90
Fusarium graminiarum	6271.68	1826.11	531.70	0.98
***Torula* sp.**	2026.23	1875.60	1555.97	1
***Penicilium* sp.**	6271.68	1826.11	531.70	0.98

Archive of SID

www.SID.ir

منحنی محاسبه غلظت‌های کشنده براساس روش لوگ-پروبیت (Throne *et al.*, 1995) در شکل یک نشان داده شده است. با توجه به جدول ۵ ملاحظه می‌گردد که غلظت متوسط ۵۰ درصد بازدارندگی دو قارچ *F. graminiarum* و *Penicilium* sp. معادل ۱۸۲۶/۱۱ بوده که به غلظت حداکثر نزدیک است. میان غلظت‌های کشنده ۵۰ درصد این قارچ ها تفاوت فاحشی معادل ۱۸۷۶/۶ میلی‌گرم در لیتر وجود دارد لذا می‌توان چنین استنباط نمود که دو قارچ *A. alternaria* و *Aspergillus* sp. در گروه قارچ‌های حساس نسبت به نانو ذرات نقره بوده و قارچ‌های دیگر شامل *F. graminiarum* و *Penicilium* sp. و *Torula* sp. در گروه قارچ های با حساسیت کم، نسبت به نانوذرات نقره بوده‌اند. از میان قارچ‌های با حساسیت کمتر نیز قارچ *Torula* sp. از حساسیت کمتری نسبت به دو قارچ دیگر برخوردار است.

بحث

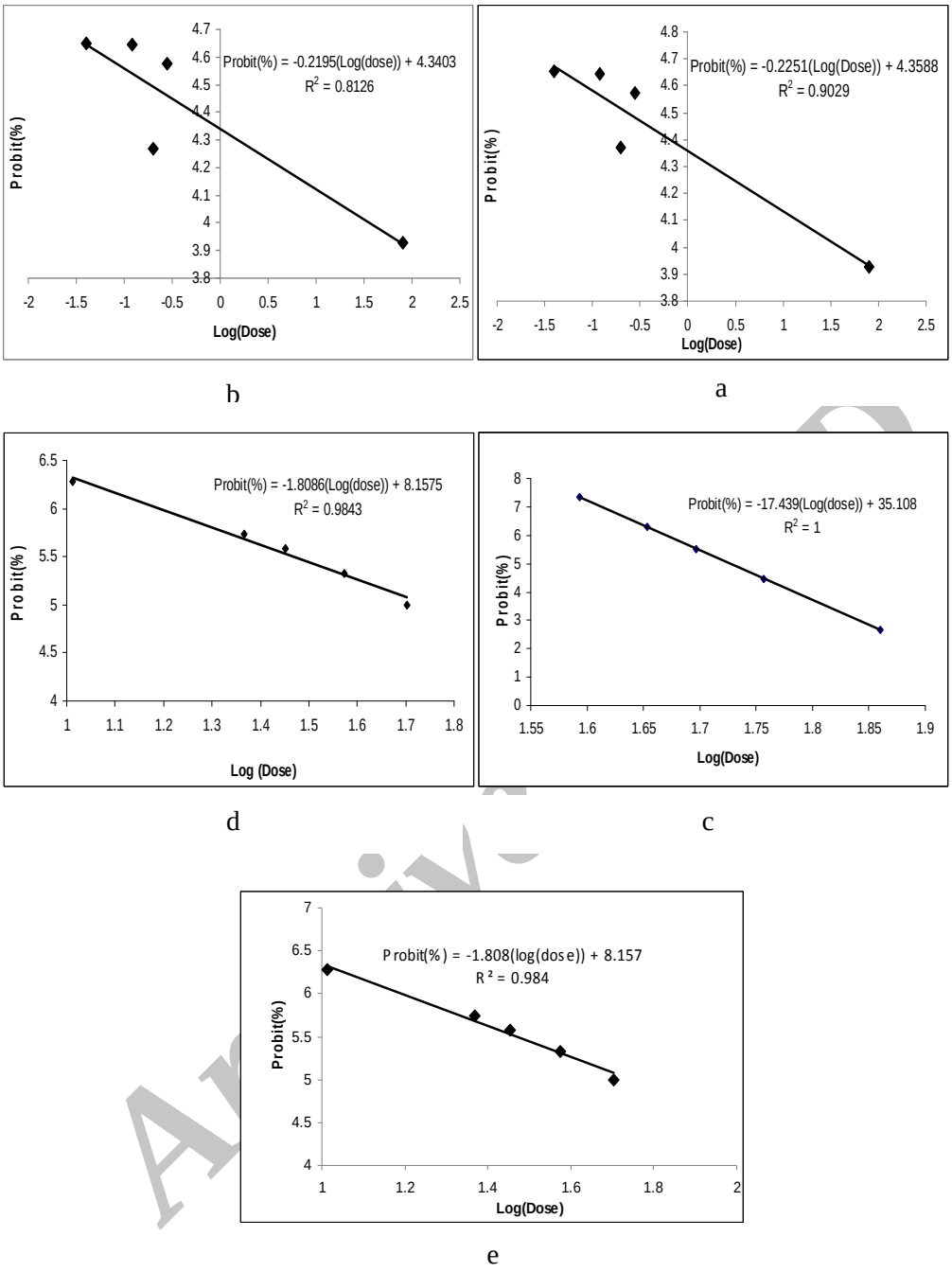
در خصوص مکانیزم اثر نانو ذرات نقره مشخص شده است که یون‌های نقره اثرات بازدارنده‌ای در برابر آنزیم‌ها و ترکیبات درون سلولی مختلف دارند. در این مکانیزم که به آن مکانیزم اثر یونی گفته می‌شود، نانو ذرات نقره به مرور زمان یون‌های Ag^+ را از خود ساطع می‌کنند. این یون‌ها طی واکنش جانشینی باندهای S-H را در جداره میکرواورگانسم‌ها و آنزیم ها به باندهای S-Ag تبدیل می‌کنند که نتیجه آن بهم خوردن ساختمان آنزیم‌ها، چربی‌های غشا و DNA و از بین رفتن میکرواورگانیزم است (Karamkesh *et al.*, 2007). این عمل از طریق افزایش بوجود آمدن گونه‌های فعال اکسیژن در آن میکرواوگانیسم صورت می‌گیرد (Ehsanpour, 2012). براین اساس احتمال می رود که این اثرات نامطلوب بر قارچ‌های بذرزاد نیز وارد گشته و منجر به کاهش چشم‌گیر شاخص بیماری شده است.

با انجام آزمایش‌های میکروسکوپی و بیوشیمیایی می‌توان علت این اثرات را با دقت و اطمینان بیشتری بر روی قارچ‌های بذرزاد معین نمود.

با توجه به اینکه قارچ‌های بذرزاد به صورت گروهی روی بستر بذری فعال می‌باشند، در نظر گرفتن حداکثر غلظت لازم (۱۸۷۵/۶ میلی‌گرم در لیتر) برای دستیابی به ضد عفونی کاربردی ضروری می‌باشد. چنانچه پیش از این اشاره شد هدف از انتخاب سطح S_5 تعیین محدوده بحرانی برای اثر نانو ذرات نقره بود. باتوجه اینکه تعداد تحقیقات انجام شده در این خصوص بسیار اندک است و تحقیق حاضر جزو مطالعات پیشرو در این زمینه می‌باشد، چنین استنباط می‌شود که برای دستیابی به سطح مناسبی از کنترل آلودگی‌های بذرزاد غلظت‌های در حدود سطح S_5 یا بالاتر از آن باید مورد ارزیابی قرار گیرند. این یافته‌ها با نتایج تحقیق کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2012) مبنی بر کاربرد حداکثر غلظت نانوذرات نقره (۱۰۰ ppm) مطابق داشت.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- منحنی غلظت درصد کشندگی براساس روش فینی جهت محاسبه متوسط غلظت کشندگی نانو ذرات نقره در قارچ های a) *Aspergillus* sp. b) *Alternaria alternaria* c) *Torula* sp. d) *Fusarium graminiarum* e) *Penicilium* sp.

Figure 1. Dose-mortality percentage curve for calculating mean of mortality dose caused by nano silver on fungi a- *Aspergillus* sp. b- *Alternaria alternaria* c –*Torula sp.* d –*Fusarium graminiarum* e- *Penicilium* sp.

www.SID.ir

اگرچه سطح غلظت توصیه شده در تحقیق حاضر بیشتر از سطح پیشنهادی توسط محققیقن اخیر است اما توجه به این نکته ضروری است که تنوع یافته‌ها می تواند مربوط به نوع و گونه قارچ، نوع گیاه و بذر مورد استفاده، محیط کشت، نحوه تهیه محلول نانو، اندازه ذرات نانو و برخی موارد ناشناخته دیگر باشد. نکته قابل تامل دیگر کاهش ۵۰ درصدی شاخص بیماری حتی در سطح S_1 بود که نشان دهنده نقش کنترلی نانو ذرات نقره بر پاتوژن‌های بیماری زا است.

از نظر اقتصادی در مقایسه این روش با سایر روش‌ها علاوه بر هزینه‌ی اجرای عملیات می‌بایست هزینه‌های ناشی از کاهش آسیب‌های زیست محیطی و تخریب قدرت جوانه زنی سایر روش‌ها را نیز در نظر گرفت. با توجه به غلظت پایین مصرفی، توجیه عملی-کاربردی نانو ذرات نقره در مقایسه با سایر تکنیک‌های لازم توصیه می‌گردد. کما اینکه کاربرد نانوذرات نقره در سال‌های اخیر در نقاط مختلف دنیا به عنوان جایگزین آفت‌کش‌ها و سموم شیمیایی گسترش چشم‌گیری داشته است و از آن تحت عنوان یک تکنولوژی پیشرفته که موجبات سودآوری اقتصادی را فراهم می‌آورد یاد می‌شود (Kaur *et al*., 2012). ادامه تحقیقات بر روی سایر انواع غلات و همچنین عوامل بیمارگر مهمی نظیر انواع سیاهک‌ها و زنگ‌ها ضروری می‌باشد. همچنین بررسی اثر این ماده بر عوامل میکروبی مفیدی مانند رایزوبیوم‌ها و مایکوریزا حایز اهمیت می‌باشد.

منابع

Abdi, G.H., Salehi, H. & Khosh-Khui, M. 2007. Antibacterial effects of nano silver in Valerian (*Valeriana officinalis* L.) tissue culture. *First Conference of Nano-technology in Southern Region of Iran, Shiraz University*.

Bateman, G. L & Kwasna, H. 1999. Effect of number of winter wheat crop grown successively on fungal communities on wheat root. *Applied Soil Ecology*, 13: 271-282.

Capdevill, G. D., Maffia, L. A., Finger, F. & Batista, U. G. 2004. Pre-harvest calcium sulfate application effects vase life & severity of gray mold in cultured roses. *Sciential Hortuculture*, 10: 329-338.

Dawson, W. A. J. M. & Bateman, G. L. 2001. Fungal communities on root of wheat and barley and effects of seed treatment containing fluquinconazole applied to control take- all. *Plant Pathology*, 50: 5-82.

Ehsanpour, A. A. 2012. Analysis affirmative and negative effects of nano particles and nano silver in particular on plants, animals and environment. *12th Agronomy and Plant Breeding Congress. Karaj*.

Fakhrfeshani, M., Bagheri, A. & Sharifi, A. 2012. Disinfecting effects of nano silver fluid in Gerbera (*Gerbera jamesonii*) capitulum tissue culture. *Journal of Biology and Environmenal Science*, 6: 121-127.

Fakhrunnisa, M. H., Hashmi, H. & Ghaffar, A. 2009. Seed-born mycoflora of wheat, sorghum and barley. *Pakistan Journal of Botany*, 38: 185-192.

Archive of SID

www.SID.ir

Farbod, M.. Batvandi, M, R. & Zargarshoushtari, M. 2007. Build and control the size of silver nanoparticles. *first Conference south of Nonotechnology in southern region of Iran, shiraz Univercity.*

Feizi, H. & Rezvani Moghadam, P. 2011. Influence of magnetic field and silver nano particles in comparison to macro and micro nutrient fertilizers on growth, yield and silage quality of Maize. *Journal of water and soil*, 24: 1062-1072

Forsberg, G. 2004. *Control of Seed-born Disease by Hot Humid Air Seed Treatment*. PhD. Thesis, Swedish university of agricultural sciences, Uppsala, Sweden.

Ghamari, M., Farbod, M., Gharineh, M. H., Bakhshandeh, A. M., Delfieh, M. & Behmanesh, M. 2011. Effects of silver nano particles seed coating on germination and early growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Research on Crops*, 13: 52-57.

Halt, M. 1994. Aspergillus flavus and aflatoxin B1 in flour production. *European Journal of Epidermiology*, 10: 555-558.

Hatami, M., Hatamizadeh, A., Ghasemnezhad, M. & Ghorbanpour. M. 2013. The comparison of antibacterial effects of silver nanoparticles (SNP) and silver nitrate to extend the vase life of red ribbon cut rose flowers. *Trakia Journal of Sciences*, 2: 144-151.

Karamkesh, M, M, Sarshar & Javanbakht, M. 2007. Application of silver nanoparticles on disposal of plant diseases and pests. *first Conference south of Nonotechnology in southern region of Iran, shiraz Univercity.*

Kaur, P., Thakur, R. and Choudhary, A. 2012. An in vitro study of the antifungal activity Silver/Chitosan nanoformulation against important seed borne pathogens. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 1: 83-86.

Khanzada, K. A., Rajput, M. A., Shah, G. S. & Mehboob, F. 2002. Effect of seed dressing fungicides for the control of seed born mycoflora of wheat. *Asian Journal of Plant Science*, 4: 441-444.

Kim, S. W., Jung, J. H., Lamsal, K., Kim, Y. S., Min, J. S. & Lee, Y. S. 2012. Antifungal Effects of Silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. *Mycobilogy*, 40: 53-58.

Kubiak, K. & Korbas, M. 1999. Occurrence of fungal diseases on selected winter wheat cultivares. *Postepy w Ochronie Roslin*, 39: 801-804. (in polish with English abstract).

Lisker, N. 1990. Improving wheat seedling emergence by seed protectant fungisides. *Crop Protection*, 9: 439-445.

Marcia, P. M., amd Arthur, L. H. 2000. Seed treatment for disease control. NDSU (North Dakota State University). Available from URL: http://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/crops/pp447/.htm

Silvestry, R. N., Sicairos, R. E., Gerba, C. P. & Bright, K. R. 2007. Silver as a disinfectant. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 191: 23-45.

Stiff, C. M. 2005. *Making Filters for cleaning small seeds*. Kitchen Calture Kits, Inc. Available from URL: http://www.kitchenculturekit.com/filter.htm (accessed May 5. 2006).

Throne, L. E., Weaver, D. K., Chew, V. and Baker, J. E. 1995. Pro bit analysis of correlated data: multiple observations over time at one concentration. *Journal of Economic Entomology*, 88: 1510-1515.

Archive of SID

www.SID.ir

Plant Protection Journal
2011, 3 (3): 247 - 258

Investigating the effects of silver nano particles on fungi flora of seeds of Chamran wheat cultivar

Mohsen GHAMARI
Khouzestan Ramin Agriculture and Natural Recources University, Ahvaz, Iran
(Corresponding author, E-mail: mghamari63@gmail.com)
Masoud LATIFIAN
Date Palm and Topical fruits Research Institute, Ahvaz, Iran
Mansour FARBOD
Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Nazani AMIR BAKHTIAR
Agriculture and Natural Resources Research Center of Khouzestan, Ahvaz, Iran

Abstract

This study was carried out in order to investigate the possibility of controlling seed-born disease of wheat Chamran cultivar by nano silver seed coating and indicate relevant concentration of nano silver on fungal seed-born of wheat at Khouzestan-Ramin Agricultural and Natural Resources University. Experiment was conducted in the form of completely randomized design with four replications and six treatments. Treatments included one level of disinfection by 2.5% sodium hypochlorite and five levels of seed coating by different concentration of silver nano particle (S_1 = 1.30, S_2 = 4, S_3 = 6.70, S_4 = 9.3 and S_5 = 2666 mg of silver nitrate solution). Results showed that there was a significant difference among disinfection levels ($P \leq 0.01$) for disease index. In comparison with sodium hypochlorite, the Disease Index was declined about 50% by S_1 treatment. The most favorable effect on decreasing Disease Index was observed with S_5 treatment where it dropped up to 75%. According to results the mean of mortal concentration of nano silver on dominant species (*Aspergillus* sp., *fusarium graminiarum, Penicilium sp., Torula* sp., *Alternaria alternaria*) was calculated using Fini method in order to approach the finest concentration. The maximum LC_{50} was obtained for *Torula sp.* 1875.6 ml/lit and the minimum 0.02 ml/lit was for *Aspergillus sp.* and *Alternaria alternaria.* Regarding to this point that fungal seed-borne are active on seed bed in the form of a band, for approach to efficient disinfection it is essential to use the maximum needed concentration.

Key words: fungi flora, seed-born fungi, nano silver, wheat, control

Archive of SID
www.SID.ir