

تاثیر نانو ذره‌های نقره زیستی بر عوامل بیماری‌زای گیاهی

سپیده سالاری^۱، صدیقه اسمعیل زاده بهابادی^{۲*}، فروغ یوسف زائی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- دانش آموخته فیزیولوژی گیاهی گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

esmaeilzadeh@uoz.ac.ir

چکیده

علم نانو به گسترش کاربردهای کم هزینه فناوری نانو برای افزایش رشد گیاه منتهی شده است. تاریخ استفاده بشر از فلز نقره، به بیش از ۵۰۰۰ سال قبل می‌رسد. تاثیر نانو ذره‌های نقره در بازدارندگی رشد و تکثیر قارچ‌های بیماری‌زا و باکتری‌ها به اثبات رسیده است. در مطالعه حاضر اثرهای نانو ذره‌های نقره بر عوامل بیماری‌زای گیاهی و سازوکار عمل آن‌ها بررسی شده است. در زمینه بر هم کنش گیاه- عامل بیماری‌زا، فناوری نانو ذره‌ها راه حل‌های نوینی را برای تیمار گیاهان فراهم کرده است. استفاده موفقیت‌آمیز از نانو ذره‌های نقره به عنوان معرف‌های ضد قارچی و ضد باکتریایی، به کاربرد آن‌ها در کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی منتهی می‌شود.

کلید واژه: نانو تکنولوژی، بیماری‌های گیاهی، سازوکار عمل

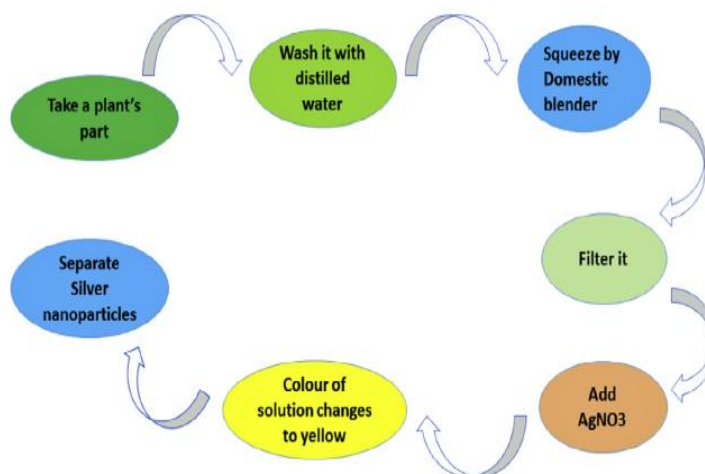
مقدمه

می‌توان گستره وسیعی از خواص را در یک ماده به دست آورد (۹). عنصر نقره به طور گسترده از گذشته برای هدف‌های مختلف استفاده شده است. نقره سابقه ضد میکروبی طولانی دارد. برای از کار انداختن آلودگی میکروب‌ها، فنیقی‌ها از نقره به عنوان آفت‌کش طبیعی برای درپوش بطری‌های شیر استفاده می‌کردند. نقره به عنوان یک عامل ضدمیکروبی خوب در برابر محدوده گسترده‌ای بیش از ۶۵۰ ریز موجودات زنده از کلاس‌های مختلف باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، قارچ‌ها یا ویروس‌ها شناخته شده است.

نانو تکنولوژی دستکاری دقیق و کنترل شده ساختار اتمی یا مولکولی مواد در مقیاس نانو به منظور تهیه ریز ذراتی با ویژگی‌های جدید و کاربردهای خاص است. فناوری نانو مربوط به موادی با ابعاد کوچک است که معمولا دارای اندازه‌ای در محدوده‌ی یک تا صد نانومتر است. هنگامی که حداقل یکی از ابعاد ماده به کمتر از ۱۰۰ نانومتر کاهش یابد، خواص مکانیکی، حرارتی، نوری، مغناطیسی و دیگر خواص با رسیدن به اندازه‌ای خاص (در محدوده ذکر شده) که برای هر ماده متفاوت است، تغییر می‌کنند. بنابراین

پردازش با امواج میکرو و ... وجود دارد. یکی از روش‌های تولید نانوذره‌ها، تولید به روش زیستی است و توجه به این روش برای تولید نانوذره‌های رو به افزایش است (شکل ۱). گیاهان، جلبک‌ها، قارچ‌ها، مخمرها، باکتری‌ها و ویروس‌ها در تولید زیستی نانوذره‌ها کاربرد دارند (۲۸، ۲۵ و ۱۷). گیاهان به علت فراوانی و عدم نیاز به شرایط و مواد غذایی خاص برای رشد و سازگاری با محیط گزین‌های مناسب برای تولید نانوذره‌ها به روش زیستی محسوب می‌شوند.

نانوذره‌های نقره (Nano silver particles) یکی از دستاوردهای شگرف علمی از فناوری نانو بوده است. خواص فیزیکی و شیمیایی نقره زمانی که به ابعاد نانو تبدیل می‌شود، از جمله اندازه شکل و مساحت سطحی تغییر می‌کند که به افزایش خاصیت ضد میکروبی آن می‌انجامد. خاصیت ضد میکروبی نانوذره‌های نقره به اندازه و شرایط محیطی (pH، استحکام یونی) و عامل پوششی بستگی دارد (۸). برای تولید نانوذره‌ها روش‌های مختلفی مانند واکنش‌های شیمیایی، تجزیه حرارتی ترکیب‌ها با کمک گرفتن از پرتوها، روش‌های الکتروشیمیایی،



شکل ۱- خلاصه‌ای از تولید نانوذره‌های نقره با استفاده از عصاره گیاهی.

عوامل بیماری‌زا (پاتوژن‌ها) و حفاظت محیط زیست، مثال‌هایی از پتانسیل فناوری نانو در علوم کشاورزی هستند (۱). استفاده موفقیت‌آمیز از نانوذره‌های نقره به عنوان شناساننده‌های ضد قارچی و ضد باکتریایی، به کاربرد آن‌ها در کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی منتهی می‌شود. نانوذره‌های نقره با طیف گسترده‌ای از فعالیت ضد میکروبی، بیماری‌های گیاهی مختلف را که بوسیله‌ی اسپورهای تولید کننده عوامل بیماری‌زای

فناوری نانو در علوم کشاورزی به عنوان یک فناوری قدرتمند، توانایی ایجاد انقلاب و دگرگونی‌های عظیمی در سیستم تامین مواد غذایی و کشاورزی در گستره جهان را دارا است. امنیت سیستم‌های غذایی و کشاورزی، غنی‌سازی و بهبود کیفیت فرآورده‌های کشاورزی، سیستم‌های رسانش هوشمند جهت درمان بیماری‌های گیاهی و دامی، از راه‌های جدید برای زیست‌شناسی ملکولی، مواد جدید جهت آشکارسازی

"سالاری و همکاران، تاثیر نانو ذره‌های نقره زیستی بر عوامل بیماری‌زای گیاهی"

قارچی ایجاد شده‌اند، کاهش می‌دهد.

اثرهای ضد قارچی یون‌های نقره و نانوذره‌های نقره

اولین گزارش از اثر ضد قارچی نقره در سال ۱۸۶۹ میلادی مبنی بر عدم رشد قارچ *Aspergillus niger* Tiegh در ظروف نقره‌ای منتشر شده است. تاثیر نانوذره‌های نقره در بازدارندگی رشد و تکثیر قارچ‌های بیماری‌زا از جمله *(Podosphaera pannosa)* Wallr.) de Bary (سفیدک پودر رز) نیز به اثبات رسیده است. نانوذره‌های نقره اثرهای ضد قارچی در برابر محدوده وسیعی از قارچ‌های معمولی مثل *Aspergillus*، *Candida* و *Sacharomyces* دارد (۲۷). دو کینیدی تولیدی قارچ، *Bipolaris sorokiniana* (Sacc) که باعث زنگ گیاهی جوانه، پوسیدن ریشه، پوسیدن کلاهک و خال لک برگ روی گونه‌های متنوعی از گندمیان و *Magnaporthe grisea* (Herbert) که باعث بادزدگی روی برنج (*Oryza sativa* L. و کبودی لک برگ بر روی علف چمن می‌شوند، عوامل بیماری‌زای مهم اقتصادی علفی‌ها هستند. در شرایط *in vitro* یون‌های نقره و نانو ذره‌های نقره تاثیرهای معنی‌داری روی این دو عامل بیماری‌زا داشتند. غلظت‌های موثر از ترکیب‌های نقره از تشکیل کلونی با ۵۰ درصد (EC_{50}) جلوگیری کردند که برای *Bipolaris sorokiniana* نسبت به *Magnaporthe grisea* بالاتر بوده است. تاثیر بازدارندگی روی تشکیل کلونی به طور معنی‌دار، بعد از خشتی کردن کاتیون‌های نقره با یون‌های کلراید کاهش یافت. یون و نانو ذره‌های نقره بطور معنی‌داری این دو بیماری قارچی را روی علف‌های چاودار چند ساله (*Lolium perenne*) کاهش دادند (۵) کپک‌های پودری یک گروه از عوامل بیماری‌زا هستند که

می‌توانند در یک محدوده گسترده‌ای از شرایط محیطی باعث بیماری شوند (۱۰). کپک پودری، در گیاهان مختلف از جمله کدو توسط دو گونه قارچ *Golovinomyces Cichoracearum* یا *Sphaerotheca Fusca* ایجاد می‌شود. نانوذره‌های نقره در غلظت‌های ۵۰ppm و ۱۰۰ppm بازدارندگی معنی‌داری در برابر کپک پودری داشتند. به طور عمومی، ذره‌های با اندازه ۱ تا ۵ نانومتر سیلیکا ممکن است از میان غشای پروتوپلاسمی رد شوند و به خوبی به داخل قارچ جذب می‌شوند (۲۶). وقتی که نانو سیلیس-نقره‌ای به داخل سلول‌های قارچی جذب می‌شوند، اعمال نانو ذره‌های نقره فعالیت ضد عفونی کنندگی را افزایش می‌دهد و سیلیکا، که مقاومت حرکتی به بیماری را فراهم می‌کند، مقاومت را افزایش می‌دهد و به شکل یک مانع فیزیکی برای قارچ بیماری‌زا عمل می‌کند (۶). اندازه‌ی کوچک عناصر فعال (قطر) ۱-۵ نانومتر به طور موثری بیماری‌های قارچی مانند کپک گردآلود را کنترل می‌کند (۱۵). اثر نانو ذره‌های نقره می‌تواند به کار بردن صحیح آن‌ها قبل از نفوذ کلونی شدن اسپورهای قارچی در میان بافت‌های گیاهی بهبود یابد.

اثرهای ضدباکتریایی یون‌های نقره و نانوذره‌های نقره

نقره در حالت یونی فعالیت ضد میکروبی بالایی نشان می‌دهد (۲۴ و ۱۶). نانوذرات نقره به عنوان عوامل باکتری‌کش مناسب پیشنهاد می‌شوند (۲۶ و ۱۳). پژوهش‌ها روی نقره به عنوان یک جایگزین برای کلر یا دیگر میکروب‌کش‌های سمی در حال پیشرفت است. به علاوه، تنوع عوامل ضد میکروبی غیر آلی که از نقره استفاده می‌کنند امروزه در حال پیشرفت است (۱۲ و ۱۶). یون‌های نقره خیلی واکنش‌پذیر هستند.

آن‌ها از تنفس و سوخت و ساز و رشد میکروب‌ها جلوگیری می‌کنند. به علاوه یون‌های نقره ممکن است به داخل DNA باکتری نفوذ کنند (۱۰).

Sondi و همکاران (۲۰۰۴) اثر غلظت‌های ۱۰ تا ۱۰۰ میکروگرم / میلی‌لیتر نانوذره‌های نقره را روی باکتری /شرشیاکلای بررسی نمودند. نتایج آن‌ها نشان داد که هر چه مقدار و غلظت نانو ذره‌های نقره افزایش یابد، رشد باکتری به تاخیر افتاده و در نهایت مهار می‌شود (۲۳). با توجه به سمیت بالای یون نقره برای جانداران، ترکیب سیلیکا-نانو نقره آن نیز استفاده شده است، که در غلظت ۱۰ ppm مانع از رشد باکتری‌هایی چون *Colletotrichum*, *Globisporangium ultimum* و در *Botrytis cinrea* و *gloeosporioides* غلظت ۱۰۰ ppm مانع از رشد باکتری‌های *Bacillus* *Azotobacter chroococcum subtilis* و *Pseudomonas Xanthomonas axonopodis* *syringe* به میزان ۱۰۰ درصد بازدارندگی گردیده است (۲۱).

ساز و کار اثر نانوذره‌های نقره

نانو ذره‌ها، یون‌های نقره را در سلول‌های باکتری و قارچ آزاد می‌کنند، که فعالیت باکتری‌کشی و ضد قارچی آن‌ها را افزایش می‌دهد (۱۴و۲۲). ساز و کار دقیق نانوذره‌های نقره که منجر به اثرهای ضد باکتریایی و ضد قارچی می‌شود، کاملاً مشخص نیست. با این حال نظریه‌های مختلفی در خصوص ساز و کار عمل نانوذره‌های نقره بر میکروب‌ها ارائه شده است (شکل ۲) (۱۹). غشا سلولی ریز موجودات زنده، بار منفی دارد و نانو ذره‌های نقره بار مثبت دارند و وقتی بارهای مثبت نانو ذره‌های نقره روی بارهای منفی غشای سلولی جمع می‌شوند، سبب

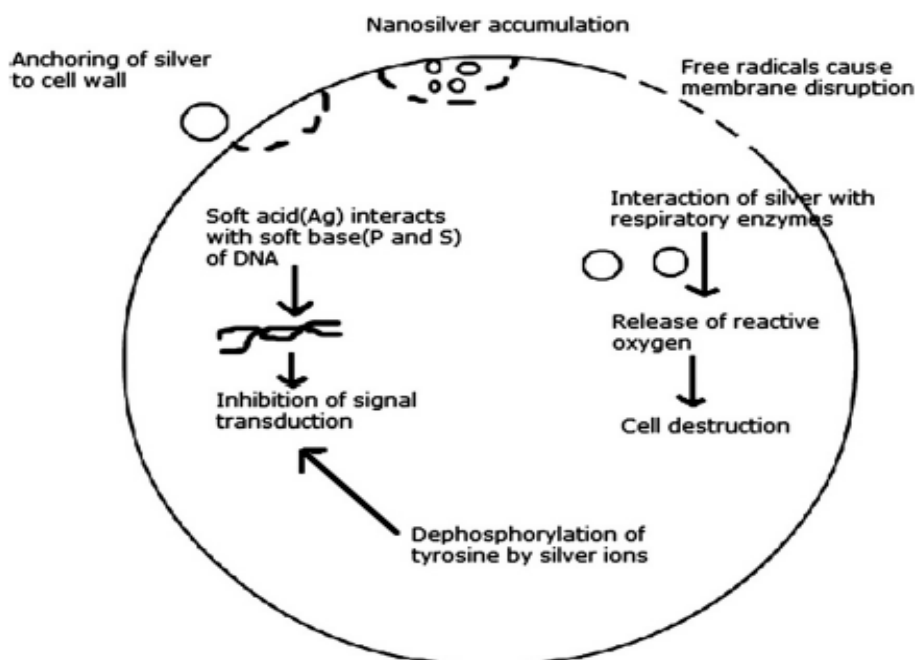
وقوع تغییر در ساختار غشا می‌شوند و سرانجام کنترل تراوایی غشا از بین می‌رود و منجر به مرگ سلولی می‌شود (۲۰و۲۴). نانوذره‌های نقره به زنجیره تنفسی حمله می‌کنند و سرانجام منجر به مرگ سلولی می‌شوند (۱۱). نانو ذره‌های نقره که بی‌بو، بی‌رنگ، بی‌خطر و غیر سمی برای انسان می‌باشند، با نفوذ به داخل سلول به مرور زمان، یون‌های Ag^+ را از خود آزاد می‌کنند که به گروه‌های تیول (SH-) آنزیم‌ها متصل می‌شوند و باعث غیر فعال‌سازی آنزیم‌های غشای سلولی که درگیر در انتقال انرژی غشا و حمل و نقل یون هستند، می‌شوند. به هم پیوستن Ag^+ با گروه‌های عاملی پروتئین‌ها، نتیجه آن از هم پاشیدگی پروتئین است (۱۸و۳).

یون‌های Ag^+ با گروه‌های فسفر و سولفور مولکول DNA متصل می‌شوند و باعث اختلال در رونویسی و در نتیجه مرگ سلولی می‌شوند. یون‌های Ag^+ بین جفت بازهای پورین و پیریمیدین نفوذ می‌کند، باندهای هیدروژن بین دو رشته موازی ناهمسو را می‌شکند و مولکول DNA تخریب می‌شود. تحلیل سلول باکتریایی می‌تواند یکی از دلایل برای خاصیت ضد باکتریایی آن باشد. تاثیر ضد باکتریایی وابسته به غلظت و غیروابسته به مقاومت اکتسابی به وسیله باکتری‌ها در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها است (۲). از دیگر سازو کارهای پیشنهاد شده، تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌باشد که به طور متعاقب تخریب غشا را تحریک می‌کند و خاصیت ضد میکروبی موثر نانو ذره‌های نقره را موجب می‌شود (۷). یون‌های نقره، گونه‌های فعال اکسیژن را از طریق واکنش آن‌ها با اکسیژن تولید می‌کنند، که برای سلول‌ها زیان‌آور هستند و باعث خسارت به پروتئین‌ها، لیپیدها و

"سالاری و همکاران، تاثیر نانو ذره های نقره زیستی بر عوامل بیماری زای گیاهی"

دفسفریلاسیون تنها در باقیمانده های تیروزین باکتری های گرم منفی اتفاق می افتد. فسفریلاسیون پپتیدهای باکتریایی به وسیله نانوذره ها تغییر می کند. نانوذره ها سوبستراهای پپتیدها را در باقیمانده های تیروزین دفسفریله کرده که منجر به مهار انتقال سیگنال و هم در نتیجه مهار رشد می شود (۱۹). به طور کلی مطالعه های بیشتر جهت مشخص شدن سازو کارهای دقیق اثر نانو ذره های نقره بر میکروب ها مورد نیاز است.

نوکلئیک اسیدها می شوند (۱۰). در مطالعه های قبلی مشاهده شده که نانو ذره های نقره سیستم های انتقالی، شامل جریان یون را به هم زدند. به هم خوردن جریان یون می تواند باعث انباشه شدن یون های نقره شود، که فرآیندهایی مثل ساز و کار و تنفس سلول را متوقف می کند. گزارش شده است نانوذره های نقره می توانند باعث تنظیم انتقال پیام (signal transduction) در باکتری شوند. فسفریلاسیون سوبستراهای پروتئین ها در باکتری بر مسیر انتقال پیام در باکتری اثر می گذارد.



شکل ۲- ساز و کارهای مختلف عمل نانوذره های نقره روی باکتری.

اتصال با باکتری و قارچ ها، بر ساز و کار سلولی اثر می کنند و مانع رشد سلولی می شوند. استفاده از نانو ذره های نقره به عنوان شناساننده های ضد قارچی و ضد باکتریایی، در کنترل عوامل بیماری زای گیاهی پیشنهاد می شود.

نتیجه گیری

بیشتر مطالعه های نانوذره های نقره روی باکتری ها و ویروس های بیماری زای حیوانات انجام شده است. گزارش های کمی درباره اثرهای نقره روی قارچ های بیماری زای زیستی موجود است. نانو ذره های نقره در

References

منابع مورد استفاده

- ۱- رهایی م.، سرافرازی ع.م. و خدایاری م. ۱۳۸۸. کاربردهای فناوری نانو در حوزه علوم زیستی (کشاورزی). ماهنامه زیست فناوری ۶: ۱۳.
- 2- Ankanna S., Prasad T.N.V.K.V., Elumalai E.K. and Savithramma N. (2010). Production of biogenic silver nanoparticles using *Boswellia valifoliolata* stem bark. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures 5: 369-72.
- 3- Guzman M., Dille J. & Godet S. (2012). Synthesis and antibacterial activity of silver nano particles against gram positive and gram negative bacteria. Nanomedicine: Nanotechnology Biology and Medicine 8: 37-45.
- 4- Hamouda T. and Baker Jr J.R. (2000). Antimicrobial mechanism of action of surfactant lipid preparations in enteric gram-negative bacilli. Journal of Applied Microbiology 89: 397-403.
- 5- Jo Y.K., Kim B.H. and Jung G. (2009). Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. Plant Disease 93: 1037-104
- 6- Kim S.G., Kim K.W., Park E.U. and Choi D. (2002). Silicon induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. Phytopathology 92: 1095-1103.
- 7- Kim T.N., Feng Q.L., Kim J.O., Wu J., Wang H., Chen G.C. and Cui F.Z. (1998). Antimicrobial effects of metal ions (Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^{2+}) in hydroxyapatite. Journal of Materials Science 9: 129-134.
- 8- Klueh U., Wagner V., Kelly S., Johnson A. and Bryers J.D. (2000). Efficacy of silver-coated fabric to prevent bacterial colonization and subsequent device-based biofilm formation. Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials 53: 621-631.
- 9- Kulkarni S. K. (2007). Nanotechnology: principles and practices, Capital publishing company.
- 10- Lamsal k., Kim S.W., Jung J.H., Kim Y.S., Kim K.S. and Lee Y.S. (2011). Inhibition Effects of Silver Nanoparticles against Powdery Mildews on *Cucumber* and *Pumpkin*. The Korean Society of Mycology 39 (1): 26-32.
- 11- Mahendra R., Alka Y. and Aniket G. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. Biotechnology Advances 27: 76-83.
- 12- Mallick K., Witcomb M.J. and Scurrall M.S. (2004). Polymer stabilized silver nanoparticles: A photochemical synthesis route. Journal Materials Science 39: 4459-4463.
- 13- Matthew D., Schaeublin Nicole M., Farrington Karen E., Hussain Saber M. and Johnson G.R. (2009). Lysozyme catalyzes the formation of antimicrobial silver nanoparticles. American Chemical Society Nano 3 (4): 984-94.
- 14- Morones J.R., Elechiguerra J.L., Camacho A., Holt K., Kouri J.B., Ramfrez J.T. and Yacaman M.J. (2005). The bactericidal effect of silver nanoparticles. Nanotechnology 16: 2346-2353.
- 15- Nair R., Varghese S.H., Nair B.G., Maekawa T., Yoshida Y. & Sakthi Kumar D. (2010). Plant Science 179 :154-163
- 16- O'Neill M., Vine M.G., Beezer G., Bishop A.E., Hadgraft A.H., Labetoulle J., Walkeer M. and Bowler P.G. (2003). Antimicrobial properties of silver-containing wound dressings: a microcalorimetric study International Journal of Pharmaceutics 263: 61-68.
- 17- Panigrahi T. (2013). Synthesis and characterization of silver nanoparticles using leaf extract of *Azadirachta indica* 0-69.

- 18- Park H.J., Sung H. K., Hwa J. K. and Seong H. C. (2006). A new composition of nanosized silicasilver for control of various plant diseases. *Journal of Plant Pathology* 22 (3): 295-302.
- 19- Prabhu S., Poulose E.K. (2012). Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects. *International Nano Letters* 2 (32): 1-10.
- 20- Ramamurthy C.H., Padma M.I., Samadanam D.M., Mareeswaran R., Uyavaran A., Suresh Jayesh, P., Ruparelia, A., Kumar, Chatterjee., Siddhartha, P., Duttagupta, Suparna Mukherji. (2008). Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Innovation Centre for Applied Nanotechnology* 707-716.
- 21- Sharma K., Sharma R., Shit S. and Gupta S. (2012). Nanotechnological application on diagnosis of a plant disease. *Proceedings of International Conference on Advances in Biological and Medical Sciences* 149-150.
- 22- Sondi I. and Salopek-Sondi B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloids Interface Science* 275: 177-182.
- 23- Sondi I. and Sondi B. S. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for gram negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science* 275 (1):177-182.
- 24- Thomas S. and Mc Cubin P. (2003). Acomparision of the antimicrobial effects of four silver-containing dressings on three organisms. *Journal of Wound Care* 12: 101-107.
- 25- Vijay Kumar P.P.N., Pammi S.V.N., Kollu P., Satyanarayana K.V.V. and Shameem U. (2014). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Boerhaavia diffusa* plant extract and their anti-bacterial activity. *Industrial Crops and Products* 52: 562-566.
- 26- Wright J.B., Lam K., Hanson D. and Burrell R.E. (1999). Efficacy of topical silver against fungal burn wound pathogens. *American Journal of Infection Control* 27 (4): 344-350.
- 27- Yu H., Chen M., Rice P.M., Wang S.X., White R.L. and Sun S. (2005). Dumbbell-like bifunctional Au-Fe₃O₄ nanoparticles. *Nano Letters* 5 (2): 379-382.
- 28- Zhang Y., Yang D., Kong Y., Wang X., Pandoli O. and Gao G. (2010). Synergetic antibacterial effects of silver nanoparticles @ *AloeVera* prepared via a green method *Nano Biomedical and Engineering* 2 (4):252-257.

Effect of bio Nano silver particles on plant pathogens

Sepideh Salari¹, Sedigheh Esmailzadeh Bahabadi^{2*}, Forough Yosefzadei³

1- Master's degree of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Zabol University, Zabol, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Zabol University, Zabol, Iran

3- Graduated of Plant Physiology Department of Biology, Faculty of Science, Urmia University, Urmia, Iran

esmaeilzadeh@uoz.ac.ir

Abstract

Nanoscience to develop low-cost applications of nanotechnology have led to increased plant growth. Human use of silver dates back more than 5,000 years ago. The effect of nano silver particles in inhibition of the growth of fungi and bacteria was proved. In this study, effect of nano silver particles on plant pathogens and their action mechanisms was studied. Nano technology has provided new solutions for treatment of plants in plant- pathogen interaction. Successful use of silver nanoparticles as anti-fungal and anti-bacterial agents, leads its application in controlling plant pathogens.

key words: Nanotechnology, plant diseases, action mechanism