Ученые записки Крымского федерального университета имени В. И. Вернадского **«Биология, химия».** Том 1 (67). 2015. № 4. С. 100–108.

УДК 633/635:58

ЗАЩИТНО-СТИМУЛИРУЮЩАЯ НАНОКОМПОЗИЦИЯ СЕРЕБРА С ПРИЛИПАТЕЛЯМИ КАК ПЕРСПЕКТИВНОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ ИНКРУСТАЦИИ СЕМЯН ПШЕНИЦЫ

Юркова И. Н., Омельченко А. В.

Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия E-mail: nanosilver@rambler.ru

В работе исследована возможность введения в нанокомпозицию серебра стандартных прилипателей для инкрустации семян. Показано защитно-стимулирующее действие нанокомпозиции серебра на рост и развитие растений пшеницы. При инкрустации семян увеличение массы сухого вещества корней и надземной части наблюдалось во всем интервале исследуемых концентраций и составляло 17,3–18,5 % и 9,7–14,0 % соответственно по сравнению с контролем. Полученные результаты коррелировали с уменьшением зараженности фитопатогенами.

Ключевые слова: наночастицы, серебро, прилипатели, инкрустация, семена, пшеница.

ВВЕДЕНИЕ

В растениеводстве в настоящее время остро стоит проблема защиты культурных растений от грибковых, вирусных и бактериальных заболеваний. Мировые потери вследствие поражения сельскохозяйственных растений фитопатогенными микроорганизмами составляют около 20%. Более 80% фитопатогенов составляют грибы. Это наносит значительный экономический ущерб сельскому хозяйству. Вследствие заражения больших территорий посевов в зерне накапливаются токсины, опасные для здоровья людей и животных. В связи с постоянным изменением климатических условий проблема защиты растений становится еще острее [1–4].

В настоящее время на мировом рынке господствуют химические средства защиты растений, а сельскохозяйственные площади, обрабатываемые ими все возрастают [5]. Это наносит непоправимый вред окружающей среде. Биологические препараты от общего объема средств защиты растений занимают лишь несколько процентов из-за узкой специфичности и больших потерь. Поэтому замена химических методов защиты растений новыми безопасными препаратами, обладающими широким спектром защитно-стимулирующего действия, является актуальным.

Решить эту проблему возможно с помощью комплексных препаратов, содержащих наночастицы биогенных металлов [6–9]. К металлам, обладающим биологической активностью, можно отнести серебро. В отличие от ионных

биогенных металлов наночастицы обладают пролонгированным действием, малой токсичностью по сравнению с солями металлов и способны активировать физиологические и биохимические процессы растений [10–12]. Однако до настоящего времени в научной литературе существуют лишь отдельные данные, указывающие на стимуляцию наночастицами серебра физиолого-биохимических процессов, протекающих в растениях [13–15].

Наиболее перспективным способом обработки семян является инкрустация, при которой поверхность семян обрабатывают смесью фунгицидов или стимуляторов роста с пленкообразующими веществами. В отличие от традиционного протравливания это значительно повышает эффективность защиты всходов от вредителей и болезней, а также уменьшает негативное воздействие на людей и окружающую среду. В качестве пленкообразователя обычно применяют 2 % водный раствор NaKMЦ и 5 % водный раствор ПВС [16].

Целью настоящей работы было исследование нанокомпозиции серебра с прилипателями в качестве защитно-стимулирующего средства для обработки семян пшеницы методом инкрустации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами для проведения исследований служили семена озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Подолянка, поверхностно-активные вещества (прилипатели) Прилипач (синтетическое поверхностно-активное вещество этоксилат изодецилового спирта) и Липосам (комплекс экзополимеров полезных микроорганизмов) в концентрации 25 мг/л и водорастворимая нанобиокомпозиция серебра. Водорастворимую нанобиокомпозицию серебра получали методом «зеленой нанохимии» в матрице полисахарида альгината, восстанавливающего ионы серебра и стабилизирующего наночастицы [17]. Альгинат натрия не только позволяет получать водорастворимую композицию наночастиц серебра, длительно сохраняющую свою стабильность, но и обладает широким спектром биологической активности [18].

Основным критерием оценки качества композиции было отсутствие коагуляции наночастиц серебра. Устойчивость наночастиц контролировали методом оптической спектроскопии. Спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре $C\Phi$ -46.

Для определения биостимулирующего влияния нанобиосеребра семена обрабатывали методом инкрустации нанокомпозицией с прилипателями Липосам и Прилипач. Концентрация наносеребра составляла 25,0; 50,0; 100,0; 150,0 и 200,0 мг/л. Затем семена высушивали и выращивали в течение 7 суток в водной культуре на питательной среде Кнопа. Контролем служили семена без обработки нанобиосеребром. Биомассу проростков корней и надземной части измеряли гравиметрическим методом на 7 сутки, фиксируя растительный материал в течение 5 мин при 110 °С и доводя его до постоянной массы при 60 °С. Определение зараженности семян фитопатогенами проводили по ГОСТу 12044-93 [19].

Эксперименты проводили в 3-кратной биологической и 6-7 кратной аналитической повторностях. Статистическую обработку полученных результатов

проводили по Г. Ф. Лакину [20], в таблицах и на рисунках представлены средние арифметические значения и их стандартные ошибки.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для усиления адгезии защитно-стимулирующих препаратов растений целесообразно использовать поверхностно-активные вещества — прилипатели, которые обеспечивают большую площадь контакта с растением и уменьшают поверхностное натяжение используемого раствора. Однако введение дополнительных компонентов в композицию, содержащую наночастицы, может приводить к снижению их агрегативной устойчивости.

Исследование оптических свойств нанокомпозиции серебра с прилипателями Липосам и Прилипач в течение 3 месяцев показало отсутствие в их спектрах поглощения значительных изменений (рис. 1).

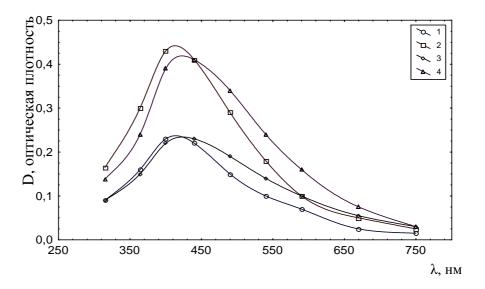


Рис. 1. Спектры оптического поглощения нанокомпозитов серебра с прилипателями Липосам (2,4) и Прилипач (1,3) в зависимости от времени экспозиции: 1,2 – через 1 час; 3,4 – через 3 месяца.

Широкие оптические полосы в спектре поглощения с максимумом поглощения 420-440 нм характерны для металлического состояния, а полосы с λ макс > 450 нм соответствуют агрегатам малых частиц, имеющих диаметр d=10-20 нм [21]. Высокая стабильность наночастиц серебра объясняется тем, что молекулы альгината натрия сорбируясь на частицах, образуют вокруг оболочку, препятствующую агрегации.

Нанокомпозиции с прилипателями обладают хорошей адгезией к различным растений. Однако более целесообразно в предлагаемой композиции использовать в качестве поверхностно-активного компонента Липосам, который является

природным биополимером. На рисунке 2 и 3 показаны листья с различным характером поверхности и семена пшеницы, обработанные прилипателем Липосам.



Рис. 2. Листья, обработанные нанокомпозицией серебра с прилипателем Липосам.

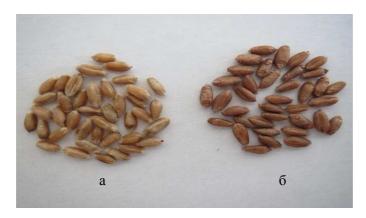


Рис. 3. Внешний вид семян пшеницы: а – семена без обработки, б – семена, обработанные нанокомпозицией серебра с прилипателем Липосам.

Эффект симуляции ростовых процессов под действием наночастиц серебра осуществляется на ранних этапах онтогенеза, оказывая значительное влияние на систему антиоксидантной защиты растений [22, 23].

Результаты стимуляции накопления биомассы корней и надземной части проростков после обработки семян нанокомпозицией методом инкрустации с прилипателями Липосам и Прилипач были близки. При инкрустации семян увеличение массы сухого вещества корней и надземной части наблюдалось во всем интервале исследуемых концентраций. При этом максимальный эффект оказывало наносеребро в концентрации 150,0–200,0 мг/л (табл. 1 и 2).

Полученные результаты хорошо коррелировали с уменьшением зараженности фитопатогенами. Как видно из приведенных таблице 1 и 2 результатов, при концентрации наносеребра 200,0 мг/л заражение полностью отсутствовало.

Таблица 1 Влияние инкрустации семян нанокомпозицией серебра с прилипателем Липосам на накопление биомассы 7-дневных проростков пшеницы и зараженность фитопатогенами $(\overline{x} \pm S \overline{x})$

Вариант		Заражен-			
опыта	корни, мг	надземная	корни,	надземная	ность
	_	часть, мг	%	часть, %	фитопатоге-
					нами, %
Контроль	81±2	237±4	100,0	100,0	26,0
Наносеребро	83±3	241±4	102,5	101,7	24,3
25,0 мг/л					
Наносеребро	86±3	249±5	106,2	105,1	10,2
50,0 мг/л					
Наносеребро	93±2	261±5	114,8	110,1	5,1
100,0 мг/л					
Наносеребро	95±3	260±5	117,3	109,7	0,2
150,0 мг/л					
Наносеребро	96±4	270±6	114,1	114,0	0
200,0 мг/л					

Таблица 2 Влияние инкрустации семян нанокомпозицией серебра с прилипателем Прилипач на накопление биомассы 7-дневных проростков пшеницы и зараженность фитопатогенами $(\overline{x} \pm S \overline{x})$

Вариант		Заражен-			
опыта	корни, мг	надземная	корни,	надземная	ность
		часть, мг	%	часть, %	фитопатоге-
					нами, %
Контроль	81±2	237±4	100,0	100,0	26,2
Наносеребро	79±2	240±4	97,5	101,3	23,4
25,0 мг/л					
Наносеребро	85±3	245±5	104,9	103,3	12,1
50,0 мг/л					
Наносеребро	89±2	251±5	109,9	105,9	6,3
100,0 мг/л					
Наносеребро	95±3	260±5	118,5	109,8	1,1
150,0 мг/л					
Наносеребро	95±4	268±6	117,3	113,1	0
200,0 мг/л					

ЗАЩИТНО-СТИМУЛИРУЮЩАЯ НАНОКОМПОЗИЦИЯ СЕРЕБРА ...

Более высокий стимулирующий эффект исследуемые нанокомпозиции оказывали на прирост массы сухого вещества корней по сравнению с надземной частью. Увеличение биомассы корней составляло 17,3-18,5% по сравнению с контролем (p<0,01). Максимальное увеличение накопления биомассы надземной части соответствовало 9,7-14,0% (p<0,05). При замачивании семян пшеницы в нанокомпозиции, содержащей серебро, в течение 4 часов максимальный прирост биомассы корней составлял лишь 11,8%, а надземной части -5,7% [15].

Таким образом, нанокомпозиция на основе серебра с прилипателями может быть использована в качестве экологически безопасного защитно-стимулирующего препарата нового поколения для обработки растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- 1. Впервые исследовано защитно-стимулирующее действие инкрустации семян пшеницы нанокомпозицией на основе серебра с прилипателями.
- 2. Показано, что наиболее оптимальной является концентрация наносеребра 150,0–200,0 мг/л. При этом прирост биомассы сухого вещества корней составлял 17,3–18,5 %, а надземной части 9,7–14,0 % по сравнению с контролем.
- 3. Увеличение биомассы коррелировало с уменьшением зараженности фитопатогенами.

Список литературы

- Швартау В. В. Современная защита семян озимой пшеницы / В. В. Швартау // Зерно. 2011. № 9. – С. 98–102.
- Левитин М. М. Защита растений от болезней при глобальном потеплении / М. М. Левитин // Защита и карантин растений. – 2012. – № 8. – С.16–17.
- 3. Чулкина В. А. Экологические основы интегрированной защиты растений / В. А. Чулкина, Е. Ю. Торопова, Г. Я. Степцов. – М.: Колос, 2007. – 568 с.
- 4. Защита растений от болезней / В. А. Шкаликов, О. О. Белошапкина, Д. Д. Букреев и др. М.: КолосС, 2010. 404 с.
- Санин С. С. Химическая защита пшеницы от болезней при интенсивном зернопроизводстве / С. С. Санин, А. А. Мотовилин, Л. Г. Корнева, Т. П. Жохова, Т. М. Полякова, Е. А. Акимова // Защита и карантин растений. – 2011. – № 8. – С. 3–10.
- 6. Федоренко В. Ф. Направления использования нанотехнологий и наноматериалов в АПК и задачи информационного обеспечения их развития / В. Ф. Федоренко, Д. С. Буклагин, И. Г. Голубев // Нанотехнологии производству. 2006. С. 409–413.
- Коваленко Л. В. Активация прорастания семян ультрадисперсными порошками железа / Л. В. Коваленко, Г. Э. Фолманис // Достижения науки и техники АПК. – 2001. – № 9. – С. 7–8.
- 8. Пролонгированное воздействие ультрадисперсных порошков металлов на семена злаковых культур / В. Н. Селиванов, Е. В. Зорин, Е. Н. Сидорова [и др.] // Перспективные материалы. 2001. № 4. С. 66–69.
- 9. Разработка и проведение экспериментальной оценки эффективности применения в растениеводстве новых видов удобрений, полученных с использованием нанотехнологий / Н. П. Егоров, О. Д. Шафранов, Д. Н. Егоров [и др.] // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. 2008, № 6. С. 94–99.
- 10. Копейкин В. В. Водорастворимые нанокомпозиты нуль-валентного металлического серебра с повышенной антимикробной активностью / Копейкин В. В. // Доклады АН. 2001. Т. 380, № 4. С. 497–450.

- 11. Бактерицидные и каталитические свойства стабильных металлических наночастиц в обратных мицеллах / Егорова Е. М., Ревина А. А., Ростовщикова Т. Н., Киселева О. И. // Вестн. Моск. ун-та. Сер.2. Химия. 2001. Т. 42, № 5. С.332–337.
- 12. Пархоменко Н. А., Юркова И. Н., Рябушко В. И. Антибактериальное и противомикробное действие водорастворимой нанобиокомпозиции на основе серебра и морских биополимеров // Ученые записки Таврического национального университета имени В. И. Вернадского. Серия: «Биология, химия». 2008. Т. 21 (60), № 2. С. 106–112.
- 13. Salama H. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, Common bean bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.) / Salama H. // J. Biotechnology. 2012. V. 3, No. 10. P. 190–197.
- Юркова И. Н. Влияние наночастиц серебра на ростовые процессы пшеницы / И. Н. Юркова, А. В. Омельченко, И. А. Бугара // Вестник ВСГУТУ. – 2014. – № 1 (46). – С. 69–73.
- 15. Омельченко А. В. Стимулирующее действие наночастиц серебра на рост и развитие растений пшеницы / А. В. Омельченко, И. Н. Юркова, М. Н. Жижина // Ученые записки Таврического национального университета имени В. И. Вернадского. Серия: «Биология, химия». 2014. Т. 27 (66), № 1. С. 127–135.
- 16. Кильмакаев Т. А. Методы предпосевной обработки семян / Т. А. Кильмакаев. Успехи современной биологии. 1991. Т. 111. Вып. 1. С. 134–137.
- 17. Пат. 10539 Украина, МКИ7 А 61 К 33/38, А 61 К 31/715. Спосіб отримання водорозчинної бактерицидної композиції, що містить наночастки срібла / Юркова І. М., Естрела-Льопіс В. Р., Рябушко В. І., Рябушко Л. І. ; заявник та власник патенту Таврійський національний університет імені В. І. Вернадського. № u2001128682 ; заявл. 13.05.05 ; опубл. 15.11.05. Бюл. № 11.
- 18. Физико-химические свойства, физиологическая активность и применение альгинатов и полисахаридов бурых водорослей / Ю. С. Хотимченко, В. В. Ковалев, О. В. Савченко [и др.] // Биология моря. 2001. Т. 22, № 3. С. 151–162.
- 19. ГОСТ 12044-93. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями. Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 2011. 57 с.
- 20. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин. М.: Высш. шк., 1990. 352 с.
- 21. Ершов Б. Г. Нуклеация серебра при восстановлении водородом в водных растворах, содержащих полифосфат: образование кластеров и наночастиц / Б. Г. Ершов, Е. В. Абхалимов // Колл. журн. 2007. Т. 69, № 5. С. 620-625.
- 22. Labraba X. Effect of foliar applications of silver nitrate and ear removal on dioxide assimilation in wheat flag leavesduring grainfilling / X. Labraba, J. L. Araus // Field Crops Res. 1991. Vol. 28. P. 149–162.
- 23. Effect of nano silver and silver nitrate on seed yield of borage / M. Seif Sahandi, A. Sorooshzadeh, S. Rezazadeh, H. A. Naghdibadi // J. of Med. Plants Res. 2011. Vol. 5. P. 171–175.

PROTECTIVE AND STIMULATING NANOCOMPOSITES OF SILVER WITH ADHESIVES AS A PROMISING TOOL FOR INCRUSTATION OF WHEAT SEEDS

Jurkova I. N., Omel'chenko A. V.

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russian Federation E-mail: nanosilver@rambler.ru

The most promising method of seed treatment is incrustation, when the seed surface is treated with fungicides or growth stimulators together with film-forming substances. Unlike traditional dressing, this approach significantly increases the effectiveness of protection of seedlings from pests and diseases and also reduces negative impacts on humans and the environment.

The aim of this study was to investigate protective and stimulating nanocomposites of silver with adhesives as a promising tool for incrustation of wheat seeds.

The objects for the research were the seeds of winter wheat (*Triticum aestivum* L.), varieties Podolyanka, adhesives 'Prilipach' and 'Liposam' in a concentration of 25 mg/L, and a water-soluble silver nanobiocomposite. Stability of nanoparticles was determined by optical spectroscopy. The absorption spectra were recorded on a spectrophotometer SF-46. To determine the protective and stimulating effect of nanobiosilver on seeds they were treated via incrustation of silver nanobiocomposite with adhesives. Concentrations of nanosilver tested were 25.0; 50.0; 100.0; 150.0 and 200.0 mg/L. Biomass of seedling roots and aboveground parts was measured with gravimetric method after 7 days. Determination of seed infection by phytopathogens was carried out according to GOST 12044-93.

Study of optical properties of the silver nanocomposite with adhesives 'Prilipach' and 'Liposam' during 3 months showed the absence of significant changes in the absorption spectra. High stability of silver nanoparticles was provided by sodium alginate which prevents aggregation of nanoparticles.

Incrustation of seeds with silver nanocomposite and adhesives 'Liposam' and 'Prilipach' gave close results. The increase of dry matter biomass of roots and aerial parts was observed over the entire range of concentrations studied. The maximum effect was detected when concentration of nanosilver was 150.0-200.0 mg/L. The results correlated well with the decrease of phytopathogen infection. At a concentration of nanosilver 200.0 mg/L phytopathogen infection was completely absent in seeds.

Keywords: nanoparticles, silver, adhesive, incrustation, seed, wheat.

References

- 1. Shvartau V. V., Sovremennaja zashhita semjan ozimoj pshenicy, Zerno. 9, 98 (2011).
- Levitin M. M. Zashhita rastenij ot boleznej pri global'nom poteplenii, Zashhita i karantin rastenij, 8, 16 (2012).
- 3. Chulkina V. A., Toropova E. Ju., Stepcov G. Ja. Jekologicheskie osnovy integrirovannoj zashhity rastenij, 568 p. (M.: Kolos, 2007).
- Shkalikov V. A., Beloshapkina O. O., Bukreev D. D. Zashhita rastenij ot boleznej, 404 p. (M.: KolosS, 2010).
- 5. Sanin S. S., Motovilin A. A., Korneva L. G., Zhohova T. P., Poljakova T. M., Akimova E. A., Himicheskaja zashhita pshenicy ot boleznej pri intensivnom zernoproizvodstve, *Zashhita i karantin rastenij*, **8**, 3 (2011).
- Fedorenko V. F., Buklagin D. S., Golubev I. G., Napravlenija ispol'zovanija nanotehnologij i nanomaterialov v APK i zadachi informacionnogo obespechenija ih razvitija, Nanotehnologii – proizvodstvu. (2006).
- 7. Kovalenko L. V., Folmanis G. Je., Aktivacija prorastanija semjan ul'tradispersnymi poroshkami zheleza, *Dostizhenija nauki i tehniki APK*, **9**, 7 (2001).
- 8. Selivanov V. N., Zorin E. V., Sidorova E. N., Prolongirovannoe vozdejstvie ul'tradispersnyh poroshkov metallov na semena zlakovyh kul'tur, *Perspektivnye materialy*, **4**, 66 (2001).
- 9. Egorov N. P., Shafranov O. D., Egorov D. N., Razrabotka i provedenie jeksperimental'noj ocenki jeffektivnosti primenenija v rastenievodstve novyh vidov udobrenij, poluchennyh s ispol'zovaniem nanotehnologij, *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo*, **6**, 94 (2008).
- Kopejkin V. V. Vodorastvorimye nanokompozity nul'-valentnogo metallicheskogo serebra s povyshennoj antimikrobnoj aktivnost'ju, *Doklady AN*, 380 (4), 497 (2001).

- 11. Egorova E. M., Revina A. A., Rostovshhikova T. N., Kiseleva O. I., Baktericidnye i kataliticheskie svojstva stabil'nyh metallicheskih nanochastic v obratnyh micellah, *Vestn. Mosk. un-ta. Ser.2. Himija*, **42** (5), 332 (2001).
- 12. Parhomenko N. A., Jurkova I. N., Rjabushko V. I., Antibakterial'noe i protivomikrobnoe dejstvie vodorastvorimoj nanobiokompozicii na osnove serebra i morskih biopolimerov, *Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Serija: «Biologija, himija»*, **21** (2), 106 (2008).
- 13. Salama H. Effects of silver nanoparticles in some crop plants, Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and corn (*Zea mays* L.), *J. Biotechnology*, **3** (10), 190 (2012).
- Jurkova I. N., Omel'chenko A. V., Bugara I. A. Vlijanie nanochastic serebra na rostovye processy pshenicy, Vestnik VSGUTU. 1(46), 69 (2014).
- 15. Omel'chenko A. V., Jurkova I. N., Zhizhina M. N., Stimulirujushhee dejstvie nanochastic serebra na rost i razvitie rastenij pshenicy, *Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Serija: «Biologija, himija»*, **27** (1), 127 (2014).
- Kil'makaev T. A. Metody predposevnoj obrabotki semjan, Uspehi sovremennoj biologii, 111 (1), 134 (1991).
- 17. Pat. 84626 MPK6 A 61 K 33/38, A 61 K 31/00. Sposib otrimannya vodorozchinnoï kompozitsiï nanochastinok, yaka mistit' nanochastinki selenu / I. M. Yurkova, E. P. Panova, D. O. Panov, O. V. Omel'chenko: zayavnik i vlasnik Tavriys'kiy natsional'niy universitet; − № 201305453; zayavl. 26.04.13; opubl. 25.10.13. Byul. № 20.
- 18. Hotimchenko Ju. S., Kovalev V. V., Savchenko O. V., Fiziko-himicheskie svojstva, fiziologicheskaja aktivnost' i primenenie al'ginatov i polisaharidov buryh vodoroslej, *Biologija morja*, **22** (3), 151 (2001).
- 19. GOST 12044-93. Semena sel'skohozjajstvennyh kul'tur. Metody opredelenija zarazhennosti boleznjami (Minsk: Mezhgosudarstvennyj sovet po standartizacii, metrologii i sertifikacii, 2011).
- 20. Lakin G. F. Biometrija, 352 p. (M.: Vyssh. Shk., 1990).
- 21. Ershov B. G., Abhalimov E. V., Nukleacija serebra pri vosstanovlenii vodorodom v vodnyh rastvorah, soderzhashhih polifosfat: obrazovanie klasterov i nanochastic, *Koll. zhurn*, **69** (5), 620 (2007).
- 22. Labraba X., Araus J. L., Effect of foliar applications of silver nitrate and ear removal on dioxide assimilation in wheat flag leavesduring grainfilling, *Field Crops Res*, **28**, 149 (1991).
- 23. Seif Sahandi M., Sorooshzadeh A., Rezazadeh S., Naghdibadi H. A. Effect of nano silver and silver nitrate on seed yield of borage, *J. of Med. Plants Res*, **5**, 171 (2011).