تاثیر ضد میکروبی نانوذرات نقره بیوسنتز شده توسط عصاره گیاه رزماری بر علیه چند باکتری عامل پوسیدگی نرم در شرایط انباری

اسماعیل ترک آبادی[1]، زینب فتوحیان[2]، فاطمه شهدادی[3]*

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جیرفت، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی.

۲.استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جیرفت، دانشکده کشاورزی، گروه گیاهپزشکی.

۳.استادیار، دانشگاه جیرفت، دانشکده کشاورزی، گروه صنایع غذایی.

***نویسنده مسئول:** *fatemeh.shahdadi@gmail.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۰۱

چکیده

امروزه استفاده از گیاهان در سنتز نانوذرات فلزی که خاصیت ضدمیکروبی دارند، مورد توجه قرار گرفته‌است. هدف مطالعه حاضر بیوسنتز نانوذرات نقره از عصاره آبی گیاه رزماری و سپس بررسی تاثیر این نانوذرات و سم مانکوزب بر علیه باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم جدا شده از هویج، سیب‌زمینی و پیاز در طی دوره انبارداری بود. آنالیز نانوذرات نقره بیوسنتز شده بر اساس طیف‌سنج ماوراءبنفش و FTIR (طیف سنج مادون قرمز) انجام گرفت. باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم با استفاده از محیط‌های کشت انتخابی و اختصاصی از هویج، سیب‌زمینی و پیاز جداسازی و شناسایی شد. یک جدایه بیمارگر از هر نمونه سبزی با شدت بیماری‌زایی بیشتر جهت انجام آزمون‌ها انتخاب شد و حداقل غلظت بازداری (MIC) آنها در برابر تیمارهای آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که MIC ایزوله‌های بیمارگر در برابر غلظت ۲۵۸۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر نانوذرات نقره و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام سم مانکوزب به ترتیب برابر با ۸۸/۸۸ درصد و ۱۰۰ درصد بود. میانگین درصد آلودگی سبزیجات به جدایه بیمارگر در حضور نانوذرات نقره در ماه سوم انبارداری به ترتیب برای پیاز، سیب‌زمینی و هویج ۷۰، ۸۰ و ۷۰ درصد و میانگین درصد آلودگی سبزیجات به جدایه بیمارگر در کنترل تلفیقی باکتری‌ها با نانوذرات نقره و سم مانکوزب در سه ماه انبارداری برای پیاز، سیب‌زمینی و هویج به ترتیب برابر با ۴۵، ۴۰ و ۴۰ درصد بود. با توجه به نتایج می‌توان از کنترل تلفیقی نانوذرات نقره بیوسنتز شده و سم مانکوزب در کنترل باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم هویج، سیب‌زمینی و پیاز استفاده کرد.

کلید واژه ها: اثر ضد میکروبی، باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم، عصاره آبی رزماری، نانوذرات نقره.

مقدمه

محصولات کشاورزی پس از برداشت با تهدیدات ناشی از پاتوژن‌های باکتریایی و قارچی مواجهه می‌شوند که می‌توانند عاملی برای گسترش بیماری‌های پس از برداشت در محصولات انباری باشند که در نتیجه باعث کاهش عمر محصول می‌گردند. گرچه بسیاری از مواد ضدباکتریایی و قارچ‌کش برای کاهش آلودگی پس از برداشت محصولاتی مانند پیاز، سیب‌زمینی و هویج و موارد دیگر استفاده می‌شوند اما بسیاری از این مواد شیمیایی بوده و اثرات مخربی بر محیط زیست و سلامت انسان می‌گذارد. بنابراین تمایل جهانی برای یافتن روش‌های جایگزین در کنترل ضایعات بعد از برداشت، با اولویت قرار دادن روش‌های سالم در جلوگیری از اثرات منفی و جانبی سموم در سلامتی انسان و نیز وجود مقاومت به قارچ‌کش‌ها امکان استفاده از مواد شیمیایی را کاهش داده است (بهداد و همکاران، ۱۳۹۲).

در سال‌های اخیر نانوذرات‌نقره به دلیل کاربرد بالقوه آنها در بسیاری از زمینه‌ها از جمله بخش کشاورزی

اهمیت زیادی یافته اند. نقره و ترکیبات آن طیف وسیعی از فعالیت‌های ضدمیکروبی را در برابر حدود ۶۵۰ نوع میکروارگانیسم ایجاد می‌کند (Sastry et al., 2004). نانوذرات‌نقره به وسیله اتصال به غشای سلول باکتری و همچنین نفوذ به داخل سلول، مانع تکثیر باکتری‌ها و غیرفعال کردن عملکرد آنها می‌شود. توسعه فناوری‌های سازگار با محیط زیست برای تولید نانوذرات با طیف وسیعی از خواص شیمیایی و فیزیکی یکی از چالش‌های جدید در زمینه فناوری نانو است (Sastry et al., 2004).

گیاه رزماری با نام علمی *Rosmarinus offcinalis* و نام محلی اکلیل کوهی، بوته‌ای همیشه سبز و معطر از خانواده نعنانیان است و از عصاره و اسانس آن در صنایع داروسازی و بهداشتی استفاده می‌شود. این گیاه از گیاهان بومی مدیترانه بوده که در ایران هم کشت می‌شود و در سرتاسر جهان مورد استفاده قرار می‌گیرد و دارای خواص ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی، تقویت حافظه و فعالیت مغزی، تحریک رشد مو و ... است (قربانپور و جاهدی، ۱۳۹۵).

مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس فرار گیاه رزماری شامل سینئول[1]، بورنئول[2]، کافر[3]، بورنیل استات[4]، پی‌نن[5] می‌باشند که بسته به شرایط جغرافیائی محل کشت گیاه، میزان و درصد هریک از این مواد متغیر است. سایر ترکیبات طبیعی موجود در برگ و سرشاخه‌های گلدار رزماری شامل فلاونوئیدها مانند جنکوانین[6] و لوتئولین[7]، اسیدهای فنلی مانند اسید رزمارینیک[8]، دی‌ترپن‌ها، تری‌ترپن‌ها، تانن‌ها، مواد تلخ، رزین، ساپونین، پروتئین، چربی، کربوهیدرات، فیبر، برخی املاح و ویتامین‌ها می‌باشند (حیدری و همکاران، ۱۳۹۵).

امروزه استفاده از گیاهان در سنتز نانوذرات فلزی مانند نقره مورد توجه قرار گرفته‌است. سنتز بیولوژیک نانوذرات نسبت به سنتز شیمیایی، امکان تولید بیشتر با هزینه‌های کمتر را فراهم می‌کند و در کل یک روش سازگار با محیط زیست، ساده و مناسب است. بهترین گزینه برای دستیابی به این هدف، استفاده از مواد بیولوژیکی مانند میکروارگانیسم‌ها و عصاره‌های گیاهی برای تولید نانوذرات می باشد (Siddiqi et al., 2018). در این مطالعه از عصاره استخراج شده از گیاه رزماری جهت بیوسنتز نانوذرات‌نقره استفاده شد و تاثیر آن بر عمر نگهداری پس از برداشت هویج، سیب زمینی و پیاز مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

الف- جمع‌آوری برگ رزماری و تهیه عصاره آبی

نمونه‌های برگ رزماری در فروردین ۱۳۹۸ از مزرعه تحقیقاتی گیاهان دارویی شهرستان جیرفت استان کرمان جمع‌آوری و در سایه خشک شد. سپس با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی پودر گردید. به منظور تهیه عصاره آبی، روش ماسراسیون بکار گرفته شد. ابتدا ۱۰۰ گرم از پودر برگ گیاه با ۵۰۰ میلی‌لیتر از آب مقطر دو بار تقطیر شده مخلوط ش دو به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای جوش قرار گرفت. در مرحله بعد عصاره آبی با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید (حیدری و همکاران، ۱۳۹۵).

ب- بیوسنتز نانوذرات نقره

ابتدا از نمک نیترات نقره مولاریته‌های ۰/۱ و یک مولار تهیه گردید. ۹۰ میلی‌لیتر از نیترات نقره با مولاریته‌های ۰/۱ مولار و یک مولار با ۱۰ میلی‌لیتر عصاره آبی برگ رزماری مخلوط و در دماهای ۴۰ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده‌شدند. جهت کنترل منفی در یک تیمار فقط مولاریته‌های نیترات نقره و در یک تیمار فقط عصاره آبی رزماری استفاده‌گردید (حیدری و همکاران، ۱۳۹۵).

1- Cineol
2- Borneol
3- Campher
4- Bornyl acetate
5 - pinene
6 -Genkwanin
7- Luteolin
8- Rosmarinic acid

پ- ارزیابی تولید نانوذرات نقره

جهت ارزیابی تولید نانوذرات نقره توسط عصاره آبی رزماری از دو روش رنگ‌سنجی و خواندن جذب نوری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و آنالیز FTIR[1] استفاده شد.-اولین نشانه تولید نانوذرات‌نقره تغییر رنگ محلول به سمت خرمایی است که البته باید نمونه نانوذرات نقره سنتز شده در کنار تیمارهای کنترل منفی (عصاره آبی رزماری، مولاریته نیترات‌نقره) بررسی شود تا از لحاظ تغییر رنگ ارزیابی گردند (Mittal et al., 2012).

یکی از خصوصیات نانوذرات‌نقره داشتن جذب نوری در محدوده بین ۴۲۰ تا ۴۸۰ نانومتر هستند. که به طور معمول در طول موج ۴۲۰ یا ۴۴۰ نانومتر دارای بالاتری جذب می‌باشند و از این ویژگی نیز می‌توان برای تائید سنتز نانوذرات نقره استفاده کرد. از جمله نکات مهم دیگر در ارتباط با نمونه سنتز شده نانوذرات نقره، اکسیدنشدن آن و تغییر نکردن رنگ آن به سمت خاکستری است زیرا در این حالت نانوذرات نقره خاصیت خود را از دست می‌دهند (Mittal et al., 2012).

ت-جمع‌آوری نمونه‌های آلوده به پوسیدگی نرم

سبزی‌های انتخاب‌شده در این بخش از پژوهش شامل سیب‌زمینی، هویج و پیاز است. سه انبار نگهداری محصولات کشاورزی در جیرفت بطور تصادفی انتخاب شد و پس از مراجعه به انبارهای مذکور نمونه‌های سیب‌زمینی، هویج و پیاز آلوده به پوسیدگی نرم جمع‌آوری شد و هر کدام در یک کیسه جدا قرار گرفتند و به آزمایشگاه منتقل شدند.

ث- جداسازی عامل بیماری از سبزیجات آلوده به پوسیدگی نرم

ابتدا نمونه‌های آلوده توسط آب مقطر استریل شستشو داده‌شدند تا عوامل خارجی از روی سطح سبزی آلوده برداشته‌شوند. سپس به‌منظور استریل کردن سطح نمونه (سیب‌زمینی، هویج، پیاز) نمونه را در آب ژاول دو درصد (هیپوکلریت‌سدیم) به مدت یک دقیقه قرار داده و با آب مقطر استریل شستشو داده شد. سپس از نمونه‌های آلوده، حد فاصل بین بافت آلوده و بافت سالم جدا گردید. بعد بافت جدا شده در محلول سرم فیزیولوژی استریل و به مدت ۲۰ دقیقه بر روی همزن با ۱۲۰ دور در دقیقه قرارداده‌شد. سپس از سوسپانسون حاصل در محیط TSA، کشت استریک داده شد و کلنی‌های رشد یافته از لحاظ مورفولوژی بررسی و خالص‌سازی و در نهایت کدگذاری شدند (تقی نسب و کریمی، ۱۳۹۱).

ج-آزمون بیماری‌زایی ایزوله‌های خالص‌سازی شده بر روی نمونه سبزیجات سالم

ایزوله‌های جداشده از نمونه‌های هویج، سیب‌زمینی و پیاز جهت انجام آزمون بیماریزایی در همان نمونه‌ای که از آن جدا شده بودند بکار گرفته شدند. روش کار به این صورت است که ابتدا سطح نمونه‌های هویج، سیب‌زمینی و پیاز به ترتیب با آب مقطر استریل، هیپوکلریت‌سدیم ۲ درصد، آب مقطر استریل شستشو و ضدعفونی شد. در مرحله بعد از نمونه‌های سبزیجات برش عرضی تهیه گردید و برش‌ها در پلیت استریل قرار گرفتند. سپس از ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های آلوده در سطح برش‌های عرضی تلقیح شد. در داخل مقدار کمی آب استریل نیز ریخته شد تا رطوبت محیط حفظ گردد. نمونه‌های تیمار شده در دمای ۲۸ درجه‌سانتیگراد در داخل گرمخانه قرار گرفتند و هر روز از لحاظ رشد و ایجاد پوسیدگی مورد بررسی واقع شدند (Tasveli and Asgharzadeh, 2009).

چ-شناسایی باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم جدا شده از نمونه‌های هویج، سیب‌زمینی و پیاز

جهت شناسایی ایزوله‌های باکتریایی بیمارگر تست‌های رنگ آمیزی گرم، کاتالاز و اکسیداز، کشت در محیط های کشت SIM، TSI، MR-VP، سیمون‌سیترات و

1- Fourier-transform infrared spectroscopy

ستریماید آگار انجام گرفت (Mansfield et al., 2012).

ح- تاثیر نانوذرات نقره و سم مانکوزب بر روی جدایه‌های بیمارگر

تاثیر نانوذرات‌نقره بر روی ایزوله‌های بیمارگر با روش میکرودیلوشن و تعیین MIC سنجیده شد. برای تعیین MIC برای هر باکتری یک سری ۱۰ لوله‌ای با رقت‌های ۲۵۶۰، ۱۲۸۰، ۶۴۰، ۳۲۰، ۱۶۰، ۸۰، ۴۰، ۵۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از نانوذرات‌نقره طبق استاندارد فارماکوپه استفاده گردید. رقت‌های نانو در میکروتیوپ و در محیط نوترینت‌براث تهیه شد. در هر میکروتیوپ ۹۰۰ ماکرولیتر از سوسپانسیون محیط کشت و ذرات نانو قرار داشت و در مرحله آخر ۱۰۰ میکرولیتر از ایزوله بیمارگر با کدورت ۰/۵ مک‌فارلند به هر میکروتیوپ اضافه گردید و مشخص شد کدام غلظت از نانو دارای حداقل غلظت کشندگی است (عزیزیان شرمه و همکاران، ۱۳۹۷).

در بررسی تاثیر سم مانکوزب بر روی جدایه‌های بیمارگر نیز از روش میکرودیلوشن استفاده شد و غلظت‌های مختلف سم طبق دستورالعمل نوشته شده در پشت جلد آن و رقت‌های متوالی (۲۰۰۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۲۵ پی‌پی‌ام) تهیه شد و حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد (MIC) غلظت سم بر روی باکتری‌های بیمارگر تعیین شد.

خ-بررسی نتایج انبارداری و کنترل تلفیقی جدایه‌های بیمارگر توسط نانوذرات‌نقره و سم مانکوزب

در این مرحله ابتدا سبزیجات مورد آزمون به طور سالم تهیه و بعد از انتقال به آزمایشگاه توسط هیپوکلریت‌سدیم ضدعفونی گردیدند. غلظتی از نانوذرات نقره و سم مانکوزب که استفاده شد غلظت MIC آنها بود. این آزمون در چهارتیمار و در سه بلوک تصادفی انجام شد. تیمارهای انجام شده در این آزمون شامل ۱) غوطه‌ور ساختن نمونه‌ها در نانوذرات نقره به مدت دو دقیقه ۲) غوطه‌ور ساختن نمونه‌های سبزی-های در غلظت سم مانکوزب به مدت دو دقیقه ۳) تلقیح نمونه‌های سبزیجات با یک جدایه بیمارگر انتخاب شده ۴)غوطه‌ور ساختن نمونه‌ها در مخلوطی از نانوذرات نقره و جدایه بیمارگر ۵) غوطه‌ورساختن نمونه‌ها در مخلوطی از سم مانکوزب و جدایه بیمارگر ۶) غوطه‌ور ساختن نمونه‌های سبزیجات در مخلوطی از نانوذرات‌نقره و سم مانکوزب و یک جدایه بیمارگر. آزمایشات در سه سطح مورد نظر در زمان یک، دو و سه ماه پس از انبارداری انجام شد (محمدپور و همکاران، ۱۳۹۳).

نتایج

ارزیابی تولید نانوذرات نقره از لحاظ ایجاد رنگ خرمایی

نتایج ایجاد رنگ خرمایی در تیمارهای مختلف مولاریته نیترات‌نقره (یک مولار و ۰/۱ مولار)، دما (۶۰ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد) و pH عصاره رزماری به ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ آورده شده‌است. تیماری که در آن واکنش احیا (خرمایی رنگ شدن) و بیوسنتز نانوذرات نقره در مولاریته یک مولار، دما ۴۰ درجه سانتیگراد در pH ۶/۸ از عصاره آبی رزماری اتفاق افتاد (در شکل ۱ نشان داده شده است). جدول ۱ نیز نتایج ایجاد رنگ خرمایی با نیترات نقره ۰/۱ و یک مولار را نشان می-دهد.

جدول ۱- نتایج ایجاد رنگ خرمایی با نیترات نقره ۰/۱ و یک مولار

تیمارهای آزمون	دما ۴۰ درجه سانتی‌گراد	دما ۶۰ درجه سانتی‌گراد	pH عصاره رزماری (۶/۸)	کنترل‌شاهد (نیترات نقره یک مولار)	کنترل شاهد (عصاره‌آبی)
نیترات نقره یک مولار	+	-	+	-	-
نیترات نقره ۰/۱ مولار	-	-	-	-	-

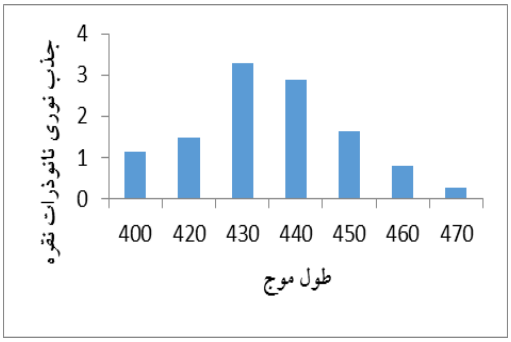
+: رشد مثبت، -: رشد منفی

شکل ۱- بیوسنتز نانوذرات نقره، A: نیترات نقره یک مولار، B: مخلوط کردن عصاره آبی گیاه رزماری و با مولاریته نیترات نقره، C: بیوسنتز نانوذرات نقره و ایجاد رنگ خرمایی

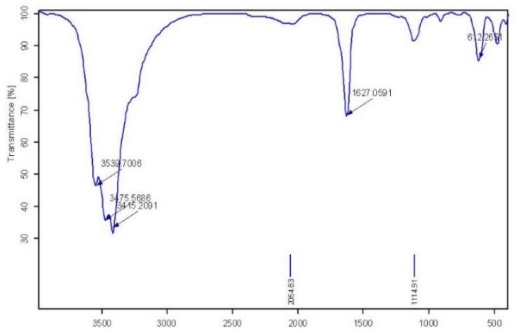
ارزیابی تولید نانوذرات نقره از لحاظ میزان جذب نوری جذب نوری نانوذرات نقره در بازه طول موجی بین ۴۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر خوانده‌شد و بالاترین جذب در طول موج ۴۳۰ نانومتر بود که مربوط به جذب نانوذرات نقره است (جدول ۲). نتایج طیف‌سنج مادون قرمز (FTIR) در شکل ۲ آورده‌شده‌است.

جدول۲- قرائت جذب نوری مربوط به نانوذرات نقره بیوسنتز شده و عصاره آبی رزماری

طول‌موج (نانومتر)	۴۰۰	۴۲۰	۴۳۰	۴۴۰	۴۵۰	۴۶۰	۴۷۰
جذب‌نوری نانوذرات‌نقره	۱/۱۲۶	۱/۴۸۷	۳/۲۹۰	۲/۸۷۷	۱/۶۳۱	۰/۷۸۱	۰/۲۵۱



شکل ۲- نمودار جذب نوری نانوذرات نقره بیوسنتز شده



شکل ۳- طیف سنج FTIR

کدگذاری نمونه‌های آلوده به بیماری پوسیدگی نرم

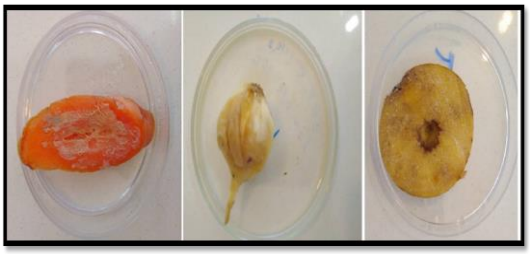
نمونه‌های هویج، سیب‌زمینی و پیاز آلوده به باکتری عامل پوسیدگی نرم از مناطق مختلف جمع‌آوری و کدگذاری شدند (جدول ۳).

جدول ۳-کد و محل نمونه‌های جمع‌آوری شده سبزیجات آلوده به باکتری پوسیدگی نرم

ردیف	کد نمونه	نوع نمونه	تاریخ جمع‌آوری	محل جمع آوری نمونه
۱	J1	پیاز	۹۸/۰۲/۱۵	جیرفت
۲	A1	پیاز	۹۸/۰۲/۲۰	عنبرآباد
۳	K1	پیاز	۹۸/۰۲/۲۵	کهنوج
۴	J2	سیب‌زمینی	۹۸/۰۲/۱۵	جیرفت
۵	A2	سیب‌زمینی	۹۸/۰۲/۲۰	عنبرآباد
۶	K2	سیب‌زمینی	۹۸/۰۲/۲۵	کهنوج
۷	J3	هویج	۹۸/۰۲/۱۵	جیرفت
۸	A3	هویج	۹۸/۰۲/۲۰	عنبرآباد
۹	K3	هویج	۹۸/۰۲/۲۵	کهنوج

جداسازی باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم و آزمون بیماریزای جدایه‌ها

کلنی‌های حاصل شده از کشت نمونه‌های پیاز، سیب‌زمینی و هویج آلوده به پوسیدگی نرم جداسازی و خالص‌سازی شدند. سپس آزمون بیماریزایی جدایه‌ها بر روی نمونه‌های سالم انجام شد و جدایه‌های که شدت بیماری‌زایی بیشتری بر روی نمونه‌های هویج، سیب‌زمینی و پیاز داشتند (شکل ۴) کدگذاری و جهت انجام آزمون‌های بعدی انتخاب شدند (جدول ۴).



شکل ۴- نتایج آزمون بیماریزایی توسط باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم جدا شده از هر نمونه

نتایج

شناسایی بیوشیمیایی ایزوله‌های بیمارگر

نتایج حاصل از شناسایی ایزوله‌ها با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی در جدول ۴ آورده شده است. در مجموع از محصولات انباری ۹ ایزوله جدا گردید که ایزوله‌های *پکتوباکتریوم* (*Pectobacterium*) غیرتخمیرکننده و ایزوله‌های *دیکیا* (*Dickeya*) لاکتوز مثبت و سوکروز مثبت بودند.

جدول ۴- نتایج شناسایی باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم جدا شده از سبزیجات آلوده

کد جدایه	رنگ‌آمیزی گرم	مورفولوژی میکروسکوپی	اکسیداز	کاتالاز	SIM	TSI	سیمون سیترات	MR-VP	نام باکتری
J1	منفی	کوکوباسیل	منفی	مثبت	حرکت‌مثبت/اندول منفی/ H_2Sمنفی		مثبت	-/+	*دیکیا*
A1	منفی	کوکوباسیل	منفی	مثبت	حرکت‌مثبت/اندول منفی/ H_2S منفی		مثبت	-/+	*دیکیا*
K1	منفی	کوکوباسیل	منفی	مثبت	حرکت‌مثبت/اندول منفی/ H_2S منفی		مثبت	-/+	*دیکیا*
J2	منفی	کوکوباسیل	مثبت	مثبت	حرکت‌مثبت/اندول منفی/H_2S منفی	قلیا/ قلیا	مثبت	-/-	*پکتوباکتریوم*
A2	منفی	کوکوباسیل	مثبت	مثبت	حرکت‌مثبت/اندول منفی/H_2S منفی	قلیا/ قلیا	مثبت	-/-	*پکتوباکتریوم*
K2	منفی	کوکوباسیل	مثبت	مثبت	حرکت‌مثبت/اندول منفی/H_2S منفی	قلیا/ قلیا	مثبت	-/-	*پکتوباکتریوم*
J3	منفی	کوکوباسیل	منفی	مثبت	حرکت‌مثبت/اندول منفی/ H_2S منفی		مثبت	-/+	*دیکیا*
A3	منفی	کوکوباسیل	منفی	مثبت	حرکت‌مثبت/اندول منفی/ H_2S منفی		مثبت	-/+	*دیکیا*
K3	منفی	کوکوباسیل	منفی	مثبت	حرکت‌مثبت/اندول منفی/ H_2S منفی		مثبت	-/+	*دیکیا*

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد باکتری‌های بیمارگر توسط نانوذرات نقره بیوسنتز شده

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم در سبزیجات هویج، سیب‌زمینی و پیاز در جدول ۵ آورده شده است. MIC اکثر نمونه‌ها در غلظت ۲۵۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر از استاندارد فارماکوپه آمریکا مشخص شد. بر اساس نتایج ۸۸/۸۸ درصد جدایه‌ها در غلظت ۲۵۶۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر دارای MIC بودند.

جدول ۵- نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم

	غلظت نانوذرات‌نقره بر اساس میلی‌گرم در میلی‌لیتر استاندارد فارماکوپه							
کد جدایه	۲۵۶۰	۱۲۸۰	۶۴۰	۳۲۰	۱۶۰	۸۰	۴۰	۲۰
J1	+	+	+	+	+	+	+	+
A1	–	+	+	+	+	+	+	+
K1	–	+	+	+	+	+	+	+
J2	–	–	+	+	+	+	+	+
A2	–	+	+	+	+	+	+	+
K2	–	+	+	+	+	+	+	+
J3	–	+	+	+	+	+	+	+
A3	–	+	+	+	+	+	+	+
K3	–	+	+	+	+	+	+	+

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد باکتری‌های بیمارگر توسط سم مانکوزب

نتایج مربوط به تاثیر غلظت‌های مختلف سم مانکوزب (بر اساس پی‌پی‌ام) بعد از گذشت هفت روز بررسی و در جدول ۶ آورده شده است. بر اساس نتایج ۱۰۰ درصد جدایه‌ها در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام دارای MIC بودند.

جدول ۶- نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی از رشد باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم

	غلظت سم مانکوزب (پی‌پی)				
کد جدایه	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۲۵
J1	–	–	+	+	+
A1	–	-	+	+	+
K1	–	-	+	+	+
J2	–	-	+	+	+
A2	–	-	+	+	+
K2	–	-	+	+	+
J3	–	-	+	+	+
A3	–	-	+	+	+
K3	–	-	+	+	+

بررسی نتایج انبارداری

نتایج حاصل از تیمارهای انجام شده در شرایط انبارداری در زمان‌های یک، دو و سه ماه بررسی شد. در این بخش از سه باکتری جداشده از نمونه پیاز، هویج و سیب‌زمینی یک جدایه که بیشترین میزان آلودگی را در تست بیماریزایی داشت انتخاب شد. میانگین درصد

آلودگی سبزیجات به جدایه بیمارگر در زمان‌های مختلف انبارداری (یک، دو و سه ماه) به ترتیب در جدول ۷ آورده شده است. با توجه به نتایج مشاهده شد که تیمارهای حاوی نانوذرات نقره و سم مانکوزب به تنهایی در پایان دوره انبارداری هیچ‌گونه آلودگی نشان ندادند همچنین مشخص شد که کنترل تلفیقی نانوذرات‌نقره و سم مانکوزب و جدایه بیمارگر در پایان دوره انبارداری درصد آلودگی سبزیجات کمتری نسبت به تیمارهای نانوذرات نقره و جدایه بیمارگرو تیمار سم مانکوزب و جدایه بیمارگر را نشان دادند.

جدول ۷- میانگین درصد آلودگی سبزیجات به جدایه بیمارگر در تیمارهای مختلف در زمان یک ماه انبارداری

زمان نگهداری	کد جدایه	نانوذرات نقره	سم مانکوزب	جدایه بیمارگر	نانوذرات نقره و جدایه بیمارگر	سم مانکوزب و جدایه بیمارگر	نانوذرات‌نقره و سم مانکوزب و جدایه بیمارگر
	J1	۰	۰	۰	۰	۰	۰
ماه اول	J2	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	J3	۰	۰	۰	۰	۰	۰
	J1	۰	۰	۱۰۰	۱۰	۰	۰
ماه دوم	J2	۰	۰	۱۰۰	۱۵	۰	۰
	J3	۰	۰	۱۰۰	۱۰	۰	۰
	J1	۰	۰	۱۰۰	۷۰	۶۰	۴۵
ماه سوم	J2	۰	۰	۱۰۰	۸۰	۶۰	۴۰
	J3	۰	۰	۱۰۰	۷۰	۵۰	۴۰

بحث

باکتری‌های مولد پوسیدگی نرم، بیمارگرهای مهم بسیاری از محصولات زراعی و باغی در نواحی نیمه-گرمسیری تا استوایی مرطوب جهان هستند. کشور ایران نیز از نظر آب و هوایی در ناحیه ای مناسب برای بیماری‌زایی این باکتری‌ها قرار دارد. گونه‌های *اروینیا* که آنزیم‌های پکتولیتیک تولید می‌کنند به عنوان پوسیدگی نرم در گیاهان شناخته شده‌اند (تقی‌نسب و کریمی، ۱۳۹۱). با مطالعه تنوع ژنتیکی گونه‌های این جنس، مشخص شده که تعدادی از آنها به جنس‌های جدید مانند پکتوباکتریوم، *انتروباکتر*، *دیکیا*، *سامسونیا* و ... منتقل شده و بدین ترتیب باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم گیاهان در دو جنس *پکتوباکتریوم* و *دیکیا* قرار داده‌شده‌اند (Zherebilo et al., 2001).

در تحقیق حاضر به جداسازی باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم از سبزیجات انبارداری از انبارهای مناطق جیرفت، عنبرآباد و کهنوج در استان کرمان پرداخته-شد. نمونه سبزیجات آلوده‌شده به پوسیدگی نرم دارای بافت له‌شده، تغییر رنگ‌داده به سمت قهوه‌ای و سیاه، با بوی بد و آبکی بودند. ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌ی سیب‌زمینی *پکتوباکتریوم* و ایزوله‌های جدا شده از نمونه‌های هویج و پیاز *دیکیا* بودند.

در مطالعه‌ای گیاهان حساس به باکتری‌های پوسیدگی نرم در ایران مورد بررسی قرار گرفت و دامنه میزبانی وسیعی از باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم در هویج، چغندر، خرما، کرفس، سیب‌زمینی و دیگر اقلام میوه و سبزی مشخص شد (تقی نسب و کریمی، ۱۳۹۱). گزارش شده که باکتری‌های پکتوباکتریوم عامل ایجاد پوسیدگی نرم در سیب‌زمینی هستند (علی و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین پوسیدگی نرم غده و ساقه سیب-زمینی توسط باکتری‌های *پکتوباکتریوم کاروتوروم* و *پکتوباکتریوم ارتوسپتیکوم* گزارش‌شده‌است (سهیلی-مقدم و حسن‌زاده، ۱۳۸۳). در استان خوزستان نیز عامل پوسیدگی نرم غده سیب‌زمینی و هویج *دیکیا کریزانتمی* و *پکتوباکتریوم کاروتووروم* (*اروینیا*

کاروتووروم) شناخته شده‌اند (سلطانی‌نژاد و همکاران، ۱۳۸۴).

یکی دیگر از جنبه‌های تحقیقاتی گیاهان استفاده از آنها در تولید نانوذرات است که روشی سریع‌تر و ارزان‌تر از روش‌های شیمیایی بوده و خطر کمتری برای انسان و محیط زیست دارد. گیاهان از جمله سامانه‌های زنده‌ی اقتصادی و موثر جهت تولید نانوذرات نقره می‌باشند (دهقان نیری و همکاران، ۱۳۹۷). در این تحقیق از عصاره‌ی گیاه رزماری به منظور تولید نانو ذرات نقره استفاده شد. عصاره‌ی گیاهان حاوی ترکیبات احیا کننده می‌باشند که توان احیای نیترات نقره را دارند اولین نشانه‌ی تشکیل نانوذرات‌نقره تغییر رنگ محول در حال واکنش عصاره‌ی گیاه و مولاریته نمک نیترات‌نقره می‌باشد.

در این تحقیق بیوسنتز نانوذرت‌نقره با استفاده از عصاره آبی گیاه رزماری انجام شد. جهت بیوسنتز نانوذرات‌نقره، از محلول نمک نیترات نقره یک مولار استفاده می‌شود. بعد از گذشت زمان رنگ محلول به سمت خرمایی تغییر کرد و با گذشت زمان شدت رنگ بیشتر شد. سپس جذب نوری نمونه بیوسنتز شده نانوذرات نقره توسط طیف‌سنج ماورابنفش خوانده شد و بیشترین جذب آن در طول موج ۴۳۰ نانومتر بود.

در مطالعه دیگری تشکیل نانوذرات نقره توسط گیاه دارویی بومادران با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۴۵۰ نانومتر تایید شد (کریمی و محسن زاده، ۱۳۹۲). در مطالعه دهقان نیری و همکاران (۱۳۹۷) از عصاره آبی گیاه کنجد برای تولید نانوذرات استفاده شد و میزان جذب در محدوده ۴۵۰ تا ۵۰۰ نانومتر افزایش یافت که بیانگر تولید نانوذرات نقره بود. در پژوهش مفاخری و همکاران (۱۳۹۶) طیف جذبی نانو ذرات تولید شده با استفاده از عصاره متانولی میخک هندی، توسط دستگاه اسپکتروسکوپی افزایش جذبی در محدوده ۴۵۰ تا ۶۰۰ نانومتر نشان داد که بیانگرسنتز نانوذرات نقره است

در تحقیق موهان و همکاران با استفاده از عصاره برگ گیاه *Canthium coromandelicum* بیوسنتز نانوذرات نقره انجام شد. در پژوهش ایشان نیز از محلول نیترات نقره یک مولار استفاده گردید. نتایج طیف‌سنجی جذب نور ماوراءبنفش نشان داد که رزونانس قوی بر روی سطح نانوذرات نقره در طول موج ۴۳۰ نانومتر وجود داشت (Mohan et al., 2014).

آلساماریا و همکاران بیوسنتز نانوذرات نقره را با استفاده از عصاره آبی پودر زردچوبه انجام دادند. نانوذرات نقره با استفاده از طیف‌سنجی اشعه ماوراءبنفش، طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه، میکروسکوپ الکترونی عبوری مشخص شدند. حداکثر جذب طیف‌های UV-VIS در ۴۳۲ نانومتر بود. نانوذرات نقره بیوسنتز شده فعالیت‌های ضد میکروبی بالا و کارآیی را علیه پاتوژن‌های غذایی نشان دادند. تصاویر TEM و میکروسکوپ الکترونی اسکن نشان می‌دهد که انقباض و آسیب جدی دیواره سلولی باکتریایی و نشت یا از دست دادن محتوای داخل سلولی باکتریایی وجود دارد (Alsammarraie et al., 2018).

تفاوت در زمان افزایش جذب، احتمالا به دلیل شرایط آزمایشگاهی مختلف موجود در زمان تولید نانوذرات می‌باشد، به عنوان مثال درمورد تولید نانوذرات نقره توسط گیاه آلوئه ورا، این زمان ۲۴ ساعت و پیک افزایش جذب اسپکتروفتومتری هم نامشخص گزارش شده‌است (Shankar et al., 2004).

یکی از کاربردهای نانوذرات نقره در خواص ضد میکروبی آنها است. بر همین اساس نانوذرات نقره بیوسنتز شده در این تحقیق بر روی باکتری‌های عامل پوسیدگی نرم در نمونه‌های هویج، سیب‌زمینی و پیاز که باکتری‌هایی گرم منفی بودند، اثر داده شدند. نتایج نشان داد نانوذرات نقره حاوی عصاره رزماری در غلظت ۲۵۶۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر از رشد تمامی جدایه‌های

عامل پوسیدگی نرم غیر از جدایه حاصل از پیاز (J1) جلوگیری نمودند.

اندازه و مورفولوژی خاص نانوذرات نقره باعث می‌شود که بتوانند با آسیب رساندن و تخریب غشا باکتری فعالیت ضدمیکروبی بالایی از خود نشان دهند (Morones et al., 2005). فعالیت نانوذرات نقره وابسته به غلظت بوده و برای باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت چشمگیرتر بوده است. این مطالعات ابراز داشته‌اند که تفاوت بین باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت در مقابل نانوذرات نقره به ساختار دیواره سلولی آن‌ها مربوط می-باشد. باکتری-های گرم منفی دارای دیواره سلولی نازک‌تری هستند که استحکام کمی دارد و از طرف دیگر سطح بیرونی باکتری‌های گرم منفی لایه‌ای از لیپوپلی‌ساکارید وجود دارد که دارای بار منفی است. وجود بار منفی در سطح سلول باکتری بر هم‌کنش بین نانوذرات نقره که دارای بار مثبت ضعیف هستند را با سلول باکتری آسان‌تر می‌کند. این بر همکنش در ابتدا باعث ایجاد سوراخ در دیواره سلولی می‌شود و سپس با ورود نانوذرات به درون سلول باکتری، در مسیر رشد سلولی باکتری تداخل ایجاد نموده و در نهایت باعث مرگ باکتری می‌شود (Guzman et al., 2012).

گزارش شده که حضور نانوذرات نقره باعث ایجاد و افزایش خاصیت ضد باکتریایی عصاره آبی رزماری می-گردد (حیدری و همکاران، ۱۳۹۵). در مطالعه حیدری و همکاران (۱۳۹۵) عصاره رزماری حاوی نانوذرات نقره روی باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سرئوس*، *پروتئوس ولگاریس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیاکلی* دارای اثر کشندگی بود.

در مطالعه نیک پرست و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر نانوذرات نقره سنتزشده با استفاده از عصاره برگ علف هرز تاج خروس بر پاتوژن‌های گیاهی *سودوموناس سیرینگی* و *زانتاموناس اورایزه* مورد مطالعه قرار گرفت و با آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین مقایسه شد و مشخص گردید که گیاه تاج خروس گزینه مناسبی برای تولید نانوذرات نقره بوده و نانوذرات تولیدشده به این روش دارای خواص آنتی‌باکتریایی در برابر این پاتوژن‌ها بودند.

در پژوهشِ تولید نانوذرات نقره به روش زیستی تک مرحله‌ای و با کاربرد عصاره میوه بلوط و بررسی فعالیت ضد باکتریایی آن، تغییر رنگ از شفاف به قهوه‌ای تیره در محلول مشاهده شد. میزان جذب نیز افزایش‌یافته و در ۴۲۰ نانومتر بیشترین جذب مشاهده شد. فعالیت ضدمیکروبی محلول نانوذرات نقره بر علیه باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس*، *سودوموناس آئروژینوزا* و *اشرشیاکلی* اثبات شد (چهار دولی و خدادادی، ۱۳۹۳).

خلیل و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند که نانوذرات حاصل از عصاره برگ زیتون اثر ضدباکتریایی روی باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* دارد. هارجای و همکاران با مطالعه خواص آنتی‌باکتریال نانوذرات حاصل از عصاره گیاه چریش دریافتند که نانوذرات نقره اثر آنتی‌باکتریال روی باکتری‌های *سودوموناس آئروژینوزا*، *استافیلوکوکوس اورئوس* دارد (Harjai et al., 2013).

نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی نتایج این آزمایش تولید موفق نانوذرات نقره را با استفاده از عصاره آبی رزماری را به صورت یک روش زیستی سریع و کم‌هزینه نشان داده و با توجه به اثبات فعالیت ضد میکروبی این نانوذرات کاربرد آن به تنهایی و در تلفیق با عوامل شیمیایی در زمینه های مختلف برای کنترل بیماری‌های پس از برداشت میوه‌ها و سبزیجات در طی انبارداری پیشنهاد می شود.

منابع

۱. بهداد، مریم. اعتمادی، نعمت الله. بهداد، ابراهیم. و زینالی، حسین. (۱۳۹۲). اثرات ضد قارچ سه اسانس گیاهی در برابر *رایزوپوس استولونیفر*، عامل پوسیدگی

نرم میوه توت‌فرنگی، نشریه گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۹ (۲): ۴۱۱ - ۳۹۹.

۲. تقی‌نسب، میثم. و کریمی ابراهیم. (۱۳۹۱). گیاهان حساس به باکتری‌های مولد پوسیدگی نرم در ایران. دانش بیماری‌شناسی گیاهی، ۱(۲):۵۳-۶۴.

۳. چهاردولی، محمود. و خدادادی، احسان. (۱۳۹۳). تولید نانوذرات نقره به روش زیستی با استفاده از عصاره میوه بلوط و بررسی فعالیت ضد میکروبی آن بر علیه عوامل ایجاد عفونت های بیمارستانی، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام. ۲۲ (۴) :۲۷-۳۳

۴. حیدری، روح الله. رشیدپور، مرضیه. و آزادپور، مژگان. (۱۳۹۵) سنتز سبز نانوذرات نقره توسط عصاره آبی گیاه رزماری و بررسی خواص ضدمیکروبی آن، نانومواد، ۲۶(۸): ۱۰۶-۹۹.

۵. دهقان‌نیری، فاطمه. میرحسینی، مریم. مفاخری، سودابه. و ضرابی، محمد مهدی. (۱۳۹۷). بررسی اثرات ضد باکتری و ضد قارچی نانوذرات نقره حاصل از عصاره آبی گیاه کنجد، مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی، ۳۱(۱): ۱۵۵-۱۶۵.

۶. سلطانی نژاد ، سوگند. تقوی ، سیدمحسن. حیاتی، جمشید. مستوفی زاده قلم‌فرسا، رضا. (۱۳۸۴). مطالعه خصوصیات فنوتیپی و بیماری‌زایی *پکتوباکتریوم* های مولد پوسیدگی نرم در استان خوزستان، نشریه بیماری های گیاهی، ۴۱(۴): ۶۱۳-۵۸۵.

۷. سهیلی‌مقدم، بیتا. و حسن زاده، ندا. (۱۳۸۳). شناسایی باکتری های بیماری زای عامل پوسیدگی نرم سیب زمینی در اردبیل . شانزدهمین کنگره حفاظت از گیاهان ایران، شیراز.

۸. عزیزیان شرمه، امید. طاهری زاده، مژگان. ولی زاده، محرم. قاسمی، علی. بیگمی، مریم. کمالی دلجو، افسانه. (۱۳۹۷). مطالعه اثر ضدمیکروبی نانوذرات نقره بیوسنتز شده با استفاده از عصاره آبی برگ گیاه کرفس کوهی علیه برخی از میکروب های بیماری زا با منشا غذایی، علوم غذایی و تغذیه، ۱۶(۱): ۴۸-۳۱.

۹. قربانپور، محمد. و جاهدی، حجت. (۱۳۹۵). مطالعه اثر ضدمیکروبی عصاره‌های مختلف اسفند، رزماری و برگ بوی استخراج شده با امواج فراصوت، بهداشت مواد غذایی، ۶(۲): ۳۳-۴۴.

۱۰. کریمی جواد. و محسن زاده، ساسان. (۱۳۹۲). سنتز گیاه نانوذرات نقره توسط گیاهان دارویی بومادران، مجله علوم پزشکی رازی، ۲۰(۱۱): ۶۷-۶۲.

۱۱. مفاخری، سودابه. دهقان نیری، فاطمه. و میرحسینی، مریم. (۱۳۹۶). بررسی تولید زیستی و اثر ضد باکتریایی نانو ذرات نقره تولید شده بوسیله عصاره متانولی گیاه دارویی میخک هندی، مجله زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس، ۸(۳): ۱۰۴-۹۳.

۱۲. محمدپور، مهدیه. خداکریمیان، غلام. میرزایی، سهیلا. (۱۳۹۳). ارزیابی توانایی باکتری‌های ریزوسفر هویج در القای رشد و کنترل بیماری پوسیدگی نرم. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه بوعلی سینا - دانشکده علوم کشاورزی.

13. Ali H.F. Junaid M. Ahmad M. Bibi A. Ali A. Hussaun S. Alam S. and Shan J.A. 2013. Molecular and pathogenic diversity identified amaong isolates of *Erwinia carotovora* subspecies atroseptica associated with potato blackleg and soft rot. Pak J Bot. 45: 1073-1078.

14. Alsammarraie F.K. Wang W. Zhou P. Mustapha A. and Lin M. 2018. Green synthesis of silver nanoparticles using turmeric extracts and investigation of their antibacterial activities. Colloids Surf. 171: 398-405.

15. Guzman M. Dille J. and Godet S. 2012. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. Nanomed J. 8:37-45

16. Harjai K. Bala A. Gupta R.K. and Sharma R. 2013. Leaf extract of *Azadirachta indica* (neem): a potential anti-biofilm agent for Pseudomonas aeruginosa. Pathogen Dis. 69(3): 62-65.

17. Khalil M. Ismail E, El-Magdoub F. 2013. Biosynthesis of Au nanoparticles

using olive leaf extract. Arab J Chem. 5: 431-437.

18. Mansfield J. Genin S. Magori S. Citovsky V. Sriariyanum M. Ronald P. Dow M. Verdier V. Beer S.V. and Machado M.A. Toth I. Salmond G. and Foster G.D. 2012. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. Mol Plant Pathol. 13:614–629.

19. Mittal A.K. Kaler A. and Banerjee U.C. 2012. Free radical scavenging and antioxidant activity of silver nanoparticles synthesized from flower extract of *Rhododendron dauricum*. Nano Biomed Eng. 4:118-124.

20. Mohan S.C. Sasikala K. Anand T. Vengaiah P. and Krishnaraj S. 2014. Green synthesis antimicrobial and antioxidant effects of silver nanoparticles using *Canthium coromandelicum* leaves extract. Res J Microbiol. 9:142-150.

21. Morones J.R. Elechiguerra J.L. Camacho A. Holt K. Kouri J.B. and Ramírez J.T. 2005. The bactericidal effect of silver nanoparticles. J Nanotechnol. 16:23-46.

22. Sastry M. Ahmad A. Khan M.I. and Kumar R. 2004. Microbial nanoparticle production. In: Niemeyer CM, Mirkin CA (eds) Nanobiotechnology. Weinheim, Germany, Wiley-VCH, 126–135.

23. Nikparast Y. Ghorbani R. Ahmadzadeh H. and Asadi G. 2018. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using Extract of Crown Weed and Investigation of Anti-Bacterial Effect. J Plant Prot. 32 (1): 139-146.

24. Shankar S.S. Rai A. Ahmad A. and Sastry M. 2004. Rapid synthesis of Au, Ag and bimetallic Au core Ag shell nanoparticles using neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. J Colloid Interf Sci. 275(2)496-502.

25. Siddiqi K. Husen A. and Rifaqat A. 2018. A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. J Nanobiotechnol. 16(1): 18-26.

26. Tasveli A.S. and Asgharzadeh N.A. 2009. Effect of *arbuscular mycorrhizal* fungi on nutrient uptake and onion yield in a saline soil under field conditions. J Soil Sci. 19(1): 47-56.

27. Zherebilo O.E. Kucheryava N. Gvozdyak R.I. Ziegler D. Scheibner M, Auling G. 2001 Diversity of Polyamine Patterns in Soft Rot Pathogens and Other Plant-Associated Members of the Enterobacteriaceae. Syst Appl Microbiol. 2001; 24(1): 54-62.

Antimicrobial effect of biosynthesized silver nanoparticles using Rosemary extract on some soft rot bacteria in storage condition

Torkabadi E[1], Fotoohiyan Z[2], Shahdadi F[3*]

1. M.Sc. student, Jiroft Branch, Islamic Azad University, Faculty of Sciences, Department of Microbiology.

2. Assistant Professor, Jiroft Branch, Islamic Azad University, Faculty of Agriculture, Department of Plant pathology.

3. Assistant Professor, University of Jiroft, Faculty of Agriculture, Food Science and Technology Department.

***Corresponding author:** *fatemeh.shahdadi@gmail.com*

Received: 23 October 2019 Accepted: 21 January 2020

Abstract

Nowadays, the use of plants in the synthesis of metal nanoparticles, which have antimicrobial activity, is considered. The present study aimed to evaluate the biosynthesis of silver nanoparticles from an aqueous extract of rosemary and then investigating the effect of these nanoparticles and mancoseb toxin on soft rot bacteria isolated from carrots, potatoes, and onions during storage. The biosynthesized silver nanoparticles were analyzed by ultraviolet and FTIR spectroscopy. Soft rot bacteria were isolated and identified using selective and specific culture media from carrots, potatoes, and onions. A pathogenic isolate from each sample with the highest pathogenicity was selected for the tests and their minimum inhibitory concentration (MIC) was evaluated against the experimental treatments. The MIC of the pathogen isolates against the 2580 mg/ml of silver nanoparticles and 1000 ppm of mancoseb were 88.88% and 100%, respectively. The mean percentage of vegetable contamination with pathogen isolates in the presence of silver nanoparticles in the third month of storage was 70%, 80%, and 70% for onions, potatoes, and carrots, respectively, and the average percentage of vegetable contamination with pathogenic isolates in the combined control of bacteria with silver nanoparticles and mancosbot toxin at the third month of storage for onion, potato and carrot were 45, 40 and 40%, respectively. According to obtained results, the combined control of biosynthesized silver nanoparticles and Mancoseb can be used to control soft rot bacteria in carrot, potato, and onion.

Keywords: Antimicrobial effect, soft rot bacteria, Aqueous extract of rosemary, silver nanoparticles.