



Research Article

## The effect of copper nanoparticles on soft rot agent of potato, carrot and onion

Zahereh Panahi<sup>1</sup>, Reza Khakvar<sup>1</sup>✉, Naser Aliasgharzad<sup>2</sup>,  
Saeed Zehtab<sup>3</sup>, Reza Farshbaf PourAbad<sup>1</sup>

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, 2. Department of Soil Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, 3. Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

Received: 07.31.2022

Accepted: 02.14.2023

Panahi Z, Khakvar R, Aliasgharzad N, Zehtab S, Farshbaf PourAbad R (2023) The effect of copper nanoparticles on soft rot agent of potato, carrot and onion. Plant Pathology Science, 12(1):1-11. Doi: 10.2982/PPS.12.1.1

### Abstract

**Introduction:** Bacterial soft rot caused by *Pectobacterium* species is one of the important and common diseases in Potatoes and vegetables. Disinfection of tubers or seeds with chemicals is one of the methods of disease management. Copper nanoparticles, like silver and gold nanoparticles, have a strong inhibitory effect on bacterial cells, but they are much cheaper and more accessible than them. This research was conducted to determine the effect of copper nanoparticles alone and in combination with oxytetracycline and streptomycin antibiotics on potato, carrot and onion soft rot. **Materials and Methods:** The pathogen was isolated from rotten tissues of potato, carrot and onion, purified and identified by studying the phenotypic and genetic characteristics of the Pel-gene region using *Pectobacterium* specific primers (Y1 and Y2). The effect of copper nanoparticles, oxytetracycline and streptomycin, and their combination with copper nanoparticles on the pathogen growth was investigated in a completely randomized design experiment with three replications for each treatment in vitro. **Results:** *Pectobacterium odoriferum* was identified as pathogen based on phenotypic characteristics and genetic affinity. Streptomycin compared to oxytetracycline inhibited the pathogen growth more and their effect in combination with copper nanoparticles increased by 12 and 19.5%, respectively. **Conclusion:** Copper nanoparticles can inhibit the growth of *P. odoriferum*, and in combination with antibiotics increase their effect.

**Key Words:** Copper sulfate, Oxytetracycline, *Pectobacterium*, Streptomycin,

✉ Corresponding author: khakvar@tabrizu.ac.ir

## مقاله پژوهشی

## تاثیر نانوذرات مس بر عامل پوسیدگی نرم سیبزمینی، هویج و پیاز

ظاهره پناهی<sup>۱</sup>، رضا خاک‌ور<sup>۱\*</sup>، ناصر علی‌اصغرزاد<sup>۲</sup>، سعید زهتاب<sup>۳</sup>، رضا فرشباف‌پورآباد<sup>۱</sup>  
 ۱. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ۲. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده  
 کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ۳. گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز  
 دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۰۹ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۵

پناهی ظ، خاک‌ور ر، علی اصغرزاد ن، زهتاب س، فرشباف‌پورآباد ر (۱۴۰۱) تاثیر نانوذرات مس بر عامل  
 پوسیدگی نرم سیبزمینی، هویج و پیاز. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۱۲(۱): ۱-۱۱.

Doi: 10.2982/PPS.12.1.1

## چکیده

**مقدمه:** پوسیدگی نرم باکتریایی ناشی از گونه‌های *Pectobacterium* از بیماری‌های مهم و شایع در سیب‌زمینی و سبزیها است. ضدعفونی غده یا بذر با مواد شیمیایی یکی از روشهای مدیریت بیماری است. نانوذرات مس همانند نانوذرات نقره و طلا اثر بازدارندگی شدیدی روی سلول‌های باکتری‌ها هستند، ولی از آن‌ها بسیار ارزن‌تر و در دسترس‌تر می‌باشد. این پژوهش برای تعیین اثر نانوذرات مس به تنهایی و در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین و استرپتومایسین بر عامل پوسیدگی نرم سیب‌زمینی، هویج و پیاز انجام شد. **مواد و روش‌ها:** بیمارگر از بافتهای پوسیده سیب‌زمینی، هویج و پیاز جدا، خالص و با مطالعه خصوصیات فنوتیپی و ژنتیکی ناحیه Pel-gene با استفاده از آغازگرهای اختصاصی پکتوباکتریوم (Y2 و Y1) شناسایی شد. اثر سه غلظت نانوذرات مس، آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین و استرپتومایسین هرکدام به تنهایی، و ترکیب هر آنتی‌بیوتیک با نانوذرات مس بر رشد بیمارگر در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای هر تیمار در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. **یافته‌ها:** براساس خصوصیات فنوتیپی و قرابت ژنتیکی بیمارگر *Pectobacterium odoriferum* شناخته شد. استرپتومایسین نسبت به اکسی‌تتراسایکلین بازدارندگی بیشتری از رشد بیمارگر و اثر آنها در ترکیب با نانوذرات مس به ترتیب ۱۲ و ۱۹/۵ درصد افزایش یافت. **نتیجه‌گیری:** نانوذرات مس خاصیت بازدارندگی از رشد *P. odoriferum* دارد و در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌ها اثر آنها را افزایش می‌دهد.

**واژگان کلیدی:** استرپتومایسین، اکسی‌تتراسایکلین، سولفات مس، *Pectobacterium*

## Introduction

## مقدمه

بیماری پوسیدگی نرم باکتریایی از جمله بیماری‌های مهم و شایع در محصولات کشاورزی بویژه محصولات غده‌ای و سبزیجات می‌باشد. گروه‌های مختلفی از باکتری‌ها باعث پوسیدگی نرم در گیاهان

\* نویسنده مسئول: khakvar@tabrizu.ac.ir

می‌شوند که از مهم‌ترین و شایع‌ترین آنها گونه‌های مختلف جنس *Pectobacterium* می‌باشد (Agrios 2005).

گونه‌های *Pectobacterium* باکتری‌هایی گرم منفی، کاتالاز مثبت، اکسیداز منفی، محیط KingB منفی، غیر فلئورسنت، میله‌ای شکل اغلب به صورت تک یا جفت و گاهی به صورت زنجیره‌های کوتاه دیده می‌شوند. اغلب دارای تاژک‌های متحرک و محیطی و بی‌هوازی اختیاری هستند (Charkowski et al. 2015, Schaad et al. 2001). آنها طیف وسیعی بیماری شامل پوسیدگی نرم و پژمردگی را در دامنه وسیعی از گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای ایجاد می‌کنند (Marquez et al. 2011). گونه *Pectobacterium carotovorum* (Jones 1901) Waldee 1945 در نواحی نیمه گرمسیری و گونه‌ی *P. oleriferum* (Gallois et al. 1992) Portier et al. 2019 بیشتر در نواحی معتدله انتشار دارد و این دو گونه وسیع‌ترین دامنه میزبانی را بین گونه‌های *Pectobacterium* دارا می‌باشند (Agyemang et al. 2020).

آنتی‌بیوتیک‌ها جزء مفیدترین داروهایی هستند که تا به حال برای مبارزه با باکتری‌ها شناخته شده‌اند. هرچند طیف وسیعی از آنتی‌بیوتیک‌های مختلف در سطح آزمایشگاهی علیه باکتری‌های بیمارگر گیاهی استفاده شده است، ولی فقط دو آنتی‌بیوتیک استروپتومایسین و اُکسی‌تتراسایکلین به صورت مزرعه‌ای و انباری مجوز مصرف در گیاه‌پزشکی را دریافت کرده‌اند (Vidaver 2002). آنتی‌بیوتیک‌ها علی‌رغم تأثیر خوب، ممکن است کاربرد آنها هزینه بالایی داشته باشد. یکی از اهداف پژوهش‌های نوین، یافتن راه‌حلی برای افزایش کارایی آنتی‌بیوتیک‌ها همراه با کاهش میزان مصرف کمی آنها است. نانوتکنولوژی از رشته‌های امیدبخش در این زمینه است (Gogos et al. 2012). نانوذرات به ذراتی کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر اطلاق می‌شوند که به علت اندازه بسیار کوچک آنها تأثیرات کاملاً متفاوتی از موادی که از آن ساخته شده‌اند را از خود نشان می‌دهند (Panacek et al. 2006). نانوتکنولوژی در کشاورزی برای حفاظت گیاهان، به حداقل رساندن نیازهای غذایی در کوددهی، بهبود خاک، پاک‌سازی آب و بقایای آلوده، دستگاه‌های تشخیص و حسگرها و اصلاح ژنتیک گیاهی به کار گرفته می‌شود (Gogos et al. 2012). این پژوهش با هدف بررسی تأثیر نانوذرات مس تهیه شده از مواد ارزان و در دسترس در افزایش کارایی دو آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین و استروپتومایسین در بازدارندگی از عامل بیماری پوسیدگی نرم باکتریایی سیب‌زمینی، هویج و پیاز صورت گرفت.

## Materials and Methods

## مواد و روش‌ها

### شناسایی عامل پوسیدگی نرم سیب‌زمینی، هویج و پیاز در استان آذربایجان شرقی

نمونه برداری در سال ۱۳۹۵-۱۳۹۶ از غده‌های سیب‌زمینی، هویج و پیازهای موجود در بازارتره بار هادی‌شهر استان آذربایجان شرقی در فصل‌های گرم سال و همچنین نمونه برداری از مزرعه‌های پیاز واقع در منطقه ایلخچی استان آذربایجان شرقی انجام شد. نمونه‌ها جهت جداسازی باکتری عامل

پوسیدگی نرم داخل پاکت‌های مخصوص و در شرایط خنک به آزمایشگاه منتقل شدند و در دمای چهار درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شدند. برای جداسازی عامل بیماری از روش کشت مستقیم بافت‌های آلوده و کشت از سوسپانسیون استفاده شد (Schaad et al. 2001). برای خالص‌سازی، جدایه رشد یافته روی محیط کشت به صورت خطی (streaking technique) کشت داده شد و از کلنی‌های تک انتخاب و بار دیگر کشت داده شد. این کار سه بار برای خالص‌سازی کامل تکرار گردید. آزمون‌هایی فنوتیپی برای شناسایی گونه‌های وابسته به جنس *Pectobacterium*، شامل آزمون گرم، رشد هوازی (OF)، تست کاتالاز، اکسیداز، مصرف D-arabitol، L-Galactonic و لهندن ورقه‌های سیبزمینی، رشد در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به روش‌های استاندارد باکتری‌شناسی انجام گرفت (Schaad et al. 2001).

شناسایی مولکولی جدایه‌ها با استخراج دی‌ان‌ای با استفاده از روش Schaad و همکاران (۲۰۰۱) با کمی تغییرات انجام شد. برای شناسایی گونه‌ی *Pectobacterium* از جفت آغازگر Y1/Y2 (Y1: TTACCGGACGCCGAGCTGTGGCGT; Y2: CAGGAAGATGTCGTTATCGCGAGT) که اختصاصی برای ناحیه Pel-gene طراحی شده‌اند، در واکنش PCR استفاده گردید (Baras et al. 1994). فراورده‌های واکنش PCR برای مشاهده نتیجه تکثیر و باند ایجاد شده در ژل آگارز یک درصد به مدت یک ساعت با ولتاژ ۱۰۰ ولت الکتروفورز شدند. نتیجه الکتروفورز با عکس برداری از ژل توسط دستگاه عکس‌برداری و نور UV مشخص شد و سپس به منظور انجام توالی‌یابی، محصول PCR برای هر جفت آغازگر در واکنش ۳۰ میکرولیتر تهیه شد و پس از الکتروفورز و اطمینان از وجود باند، جهت تعیین توالی به شرکت پیشگام ارسال گردید. نتیجه توالی‌یابی با استفاده از نرم افزار بلاست (Blast) با داده‌های توالی نوکلئوتیدی موجود در بانک ژن (NCBI) مقایسه شدند. با کمک نرم افزار Mega9 درختچه فیلوژنی به روش Neighbor-joining ترسیم و موقعیت ژنتیکی جدایه‌ها از مقایسه آنها با توالی جدایه‌های مرجع مشخص شد.

### بررسی اثر نانوذرات مس و آنتی‌بیوتیک‌ها بر بیمارگر

نانوذرات مس به روش شیمیایی با استفاده از سولفات مس تهیه گردید (Shaffiey et al. 2015). برای اطمینان از نانو بودن اندازه ذرات تشکیل شده، قطر آنها توسط دستگاه تفرق نور (Dynamic Light Scattering=DLS) اندازه‌گیری شد.

محلول‌های اکسی‌تتراسایکلین و استرپتومایسین در غلظت‌های ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام (غلظت توصیه شده در اغلب تحقیقات و کاتالوگ‌های کشاورزی) و نانوذره مس در غلظت‌های ۱۰۰۰۰ و ۱۰۰۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام نانوذره تهیه شدند.

برای بررسی تأثیر تیمارها روی رشد باکتری، از روش اندازه‌گیری جمعیت باکتری با اسپکتروفتومتری (با اندازه‌گیری OD<sub>600nm</sub>) استفاده شد (Naghash et al. 2012). آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در هشت تیمار در سه تکرار انجام شد. بدین منظور پس از کشت مجدد باکتری مورد نظر، غلظت معینی (۱۰<sup>۶</sup>-۱۰<sup>۷</sup> سلول در میلی‌لیتر) از آن تهیه و داخل محیط کشت مایع (NB; Nutrient Broth) در داخل

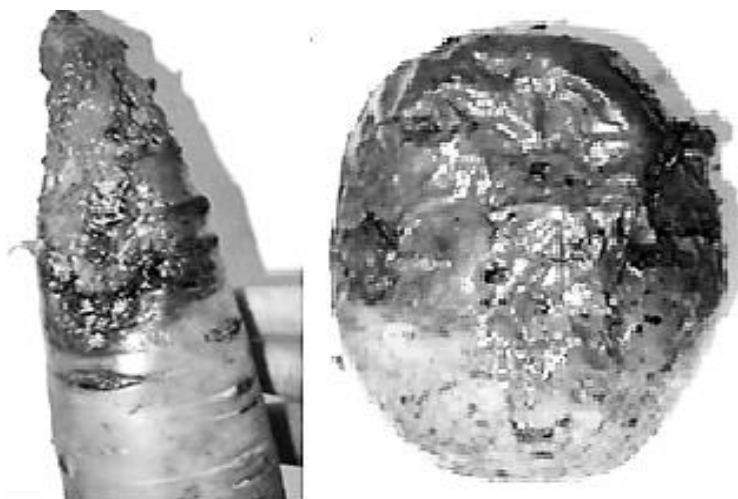
لوله‌های فالکن کشت داده شد. سه لوله محیط کشت بدون باکتری بعنوان شاهد منفی و سه لوله حاوی محیط کشت حاوی باکتری به عنوان شاهد مثبت در نظر گرفته شد. تیمارها به سه گروه نانوذرات به تنهایی، آنتی‌بیوتیک به تنهایی و نانوذره توام با آنتی‌بیوتیک تقسیم و مشابه هم انجام شدند. آنتی-بیوتیک‌ها در غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و نانوذره مس محلول خود در سه غلظت ۱۰۰۰۰ و ۱۰۰۰ و ۱۰۰ هزار پی‌پی‌ام تهیه و به داخل محیط کشت‌ها اضافه شدند. هر لوله فالکن به عنوان تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد. رشد باکتری (OD) در داخل لوله‌های فالکن در ساعات صفر، ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۷۲ با استفاده از اسپکتروفتومتر و در طول موج ۶۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. نتایج به نرم افزار Excel16 و SPSS16 منتقل و نمودار رشد رسم و تجزیه واریانس داده‌های آزمایش انجام گردید.

## Results

## یافته‌ها

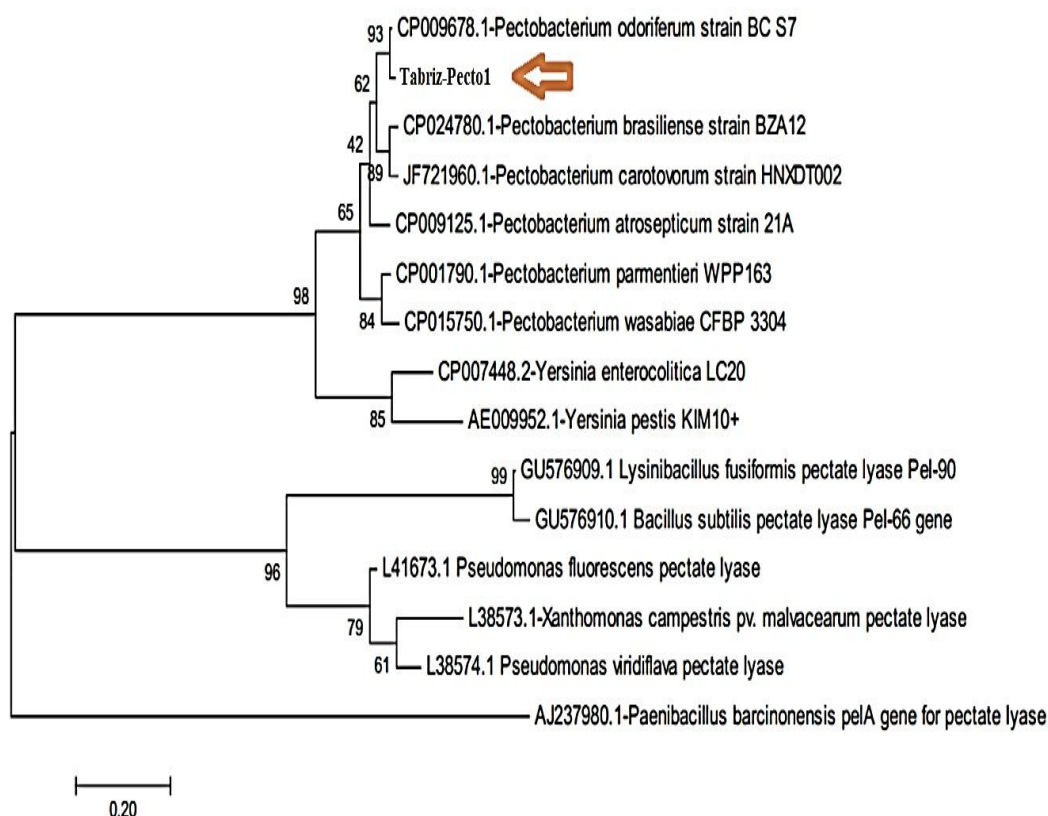
### عامل پوسیدگی نرم سیب‌زمینی، هویج و پیاز در استان آذربایجان شرقی

بین ۴۰ نمونه گیاهی جمع‌آوری شده که درجاتی از پوسیدگی نرم را نشان می‌دادند (شکل ۱)، ۱۲ جدایه باکتریایی با ویژگی‌های بیوشیمیایی باکتری‌های جنس *Pectobacterium* جداسازی و خالص‌سازی گردید. این ویژگی‌ها عبارت بودند از: گرم منفی، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت و بی‌هوازی اختیاری و تست لهاندن سیب زمینی مثبت. آزمون مصرف D-arabitol و L-Galactonic برای این جدایه مثبت و آزمون رشد در دمای ۴۰ درجه سلسیوس منفی بود که نشان از تعلق این جدایه به گونه‌ی *P. oderiferum* بود (در صورت تعلق به گونه‌ی *P. carotovorum* این دو تست بیوشیمیایی می‌بایست منفی می‌بود و در دمای ۴۰ درجه جدایه قادر به رشد بود). این جدایه باکتریایی از نمونه‌های منطقه ایلخچی جداسازی و شناسایی گردید.



شکل ۱. هویج و سیب‌زمینی جمع‌آوری شده با نشانه شاخص پوسیدگی نرم باکتریایی.

**Figure 1.** Carrot and potato sampled with typical bacterial soft rot symptoms.



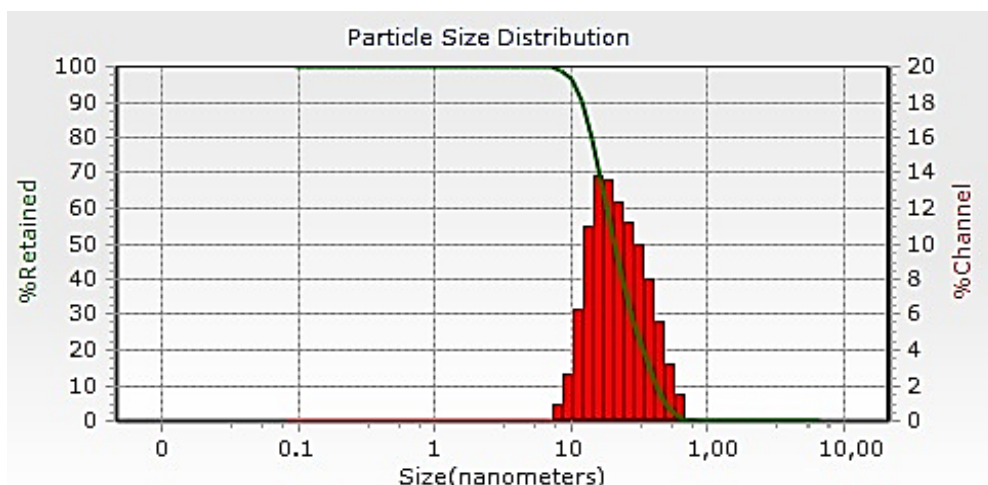
شکل ۲. درخت تبارزایی رسم شده با نرم افزار Mega با روش Neighbor joining با ۱۰۰۰ تکرار (Bootstrap=1000) برای جدایه منتخب بر اساس توالی ناحیه ژن *pel*.

**Figure 2.** Phylogenetic tree for selected bacterial isolate using Mega software and Neighbor-joining method with Bootstrap 1000 based on the sequence of *pel* gene region.

نتایج حاصل از پی سی آر نشان داد که همه‌ی این ۱۲ جدایه توان تولید قطعه ۴۳۴ نوکلئوتیدی مورد نظر با آغازگر اختصاصی Y1/Y2 را دارند. محصول پی سی آر جدایه‌ایی (Isolate code: Tabriz-Pecto1) که بیشتر توان در تست لهندن غده سیبزمینی از خود نشان می‌داد (بعنوان قوی‌ترین جدایه) برای توالی‌یابی و شناسایی دقیق‌تر به شرکت پیشگام ارسال گردید که نتیجه توالی‌یابی نشان داد که باکتری منتخب با احتمال ۹۸٪ *P. odoriferum* است (شکل ۲).

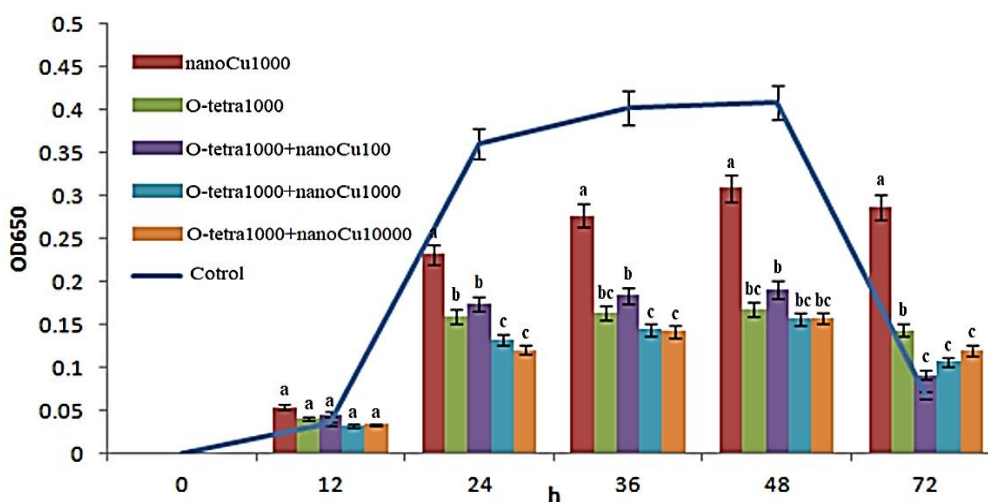
### اثر نانوذرات مس و آنتی‌بیوتیک‌ها بر رشد باکتری بیمارگر

بر اساس نتایج آنالیز DLS نانو ذرات تهیه شده در این پژوهش، میانگین قطری در حدود ۳۸ نانومتر داشتند که قابل قبول در مقیاس نانو می‌باشد (Hoo et al. 2008) (شکل ۳). این نانو ذرات به تنهایی به طور متوسط تا ۳۰٪ باعث کاهش رشد جمعیت باکتری شدند. بین غلظت‌های ۱۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰ هزار پی پی ام اختلاف معنی‌داری در میزان باکتری‌کشی مشاهده نگردید.



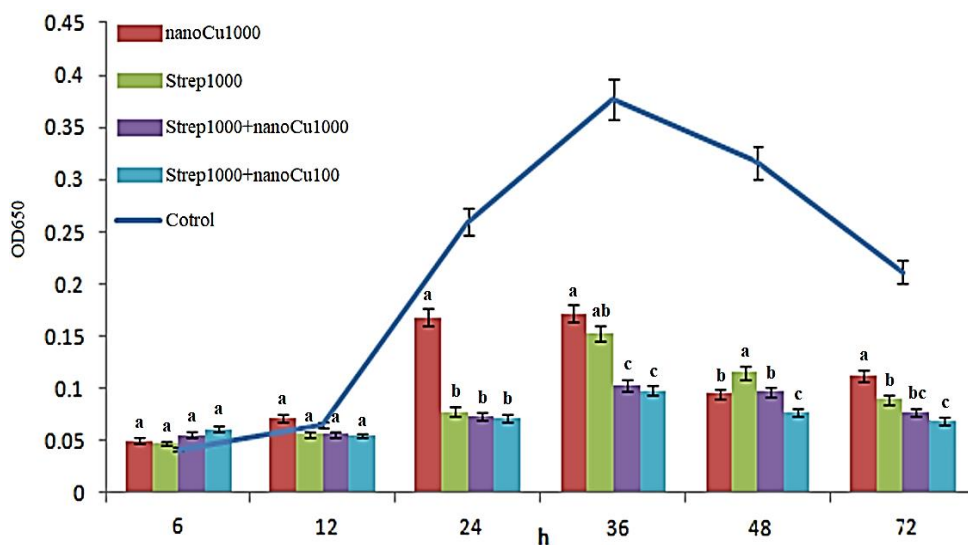
**شکل ۳.** نتیجه اندازه‌گیری قطر نانو ذرات مس تهیه شده در این مطالعه با استفاده از روش DLS  
**Figure 3.** The result of measuring copper nanoparticles size prepared in this study using DLS method

بررسی اثر آنتی بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین و نانوذره مس بر باکتری عامل پوسیدگی نرم گیاهان و نیز نتایج آنالیز آماری آنها نشان داد که در سطح احتمال پنج درصد بین غلظت‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد. کاربرد نانوذرات مس سنتز شده در این پژوهش در غلظت‌های بالا (۱۰۰۰ و ۱۰ هزار پی‌پی‌ام)، به طور معنی‌داری اثرباکتری‌کشی آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین را بصورت متوسط تا ۱۹/۵ درصد افزایش داد (شکل ۴). افزایش غلظت نانوذره مس باعث افزایش معنی‌دار توان باکتری‌کشی



**شکل ۴.** نمودار رشد تیمارهای باکتریایی در غلظت‌های مختلف نانوذره مس و اکسی‌تتراسایکلین به تنهایی و توأم با یکدیگر (ستون‌های که با حروف یکسان علامت‌گذاری شده‌اند از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری ندارند).

**Figure 4.** Growth rate of different bacterial treatments in different concentrations of nanoparticles and oxytetracycline alone and in the combination (Columns marked with the same letters were not statistically significant difference).



شکل ۵. نمودار رشد تیمارهای باکتریایی در غلظت‌های مختلف نانو ذره مس و استرپتومایسین به تنهایی و توأم با یکدیگر (ستون‌های که با حروف یکسان علامت‌گذاری شده‌اند از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری ندارند).

**Figure 5.** Growth rate of different bacterial treatments in different concentrations of nanoparticles and Streptomycin alone and in the combination (Columns marked with the same letters were not statistically significant difference).

آنتی‌بیوتیک در ساعتهای اولیه آزمایش گردید، ولی در ساعتهای پایانی (۷۲-۴۸ ساعت) اختلاف معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف نانوذره از بین رفت و افزایش غلظت نانو ذره حتی اندکی خاصیت باکتری‌کشی آنتی‌بیوتیک را کاهش داد.

بررسی اثر آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و نانو ذرات مس روی باکتری عامل پوسیدگی نرم و نتایج آنالیز آماری آنها، نشان داد که همانند اکسی‌تتراسایکلین، کاربرد توأم نانو ذرات سنتز شده با آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین در هر سه غلظت ۱۰۰۰، ۱۰۰ و ۱۰ پی‌پی‌ام نانوذره مس باعث افزایش معنی‌دار خاصیت باکتری‌کشی این آنتی‌بیوتیک می‌شود و به طور متوسط ۱۲ درصد توان بازدارندگی این آنتی‌بیوتیک را افزایش می‌دهد، ولی برخلاف اکسی‌تتراسایکلین با افزایش زمان، اثر باکتری‌کشی غلظت‌های بالای نانو ذره همراه آنتی‌بیوتیک اثر بازدارندگی بیشتری روی جمعیت باکتری از خود نشان می‌دهد (شکل ۵).

## Discussion

## بحث

طی این پژوهش عامل پوسیدگی نرم باکتریایی باکتری *P. odoriferum* شناسایی گردید، در پژوهش‌های قبلی نیز گزارش شده بود که گونه‌ی غالب در آذربایجان شرقی در اکثر پوسیدگی‌های نرم همین باکتری است (Ansari 2014). این گونه قبلاً به صورت یک زیرگونه بنام *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* شناخته می‌شد که اخیراً به سطح گونه ارتقا یافته است (Portier et al. 2019).



بررسی اثر آنتی‌بیوتیک‌ها بر عامل پوسیدگی نرم، هر دو آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین (۴۶٪/۶) و استرپتومایسین (۵۷٪/۹) - بعد از ۳۶-۴۸ ساعت از شروع آزمایش - طبق انتظار اثر بازدارندگی خوبی از خود نشان دادند. همچنین طی تحقیقی روی عامل بیماری پوسیدگی نرم گیاه زینتی سینگونوم (*P. carotovorum*) با استفاده از اسانس‌های گیاهی و آنتی‌بیوتیک‌ها در دو سطح آزمایشگاه و گلخانه، آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین با قطر هاله‌ی بازدارندگی ۱۵ میلی‌متر به عنوان بیشترین میزان بازدارندگی در بین آنتی‌بیوتیک‌ها شناخته شده است (Ghazy et al. 2021).

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که ترکیب آنتی‌بیوتیک‌ها با نانوذرات مس باعث افزایش اثر آنها بر باکتری بیمارگر می‌شود، که این افزایش بازدارندگی در مورد اکسی‌تتراسایکلین ۱۹/۵ درصد، و برای استرپتومایسین ۱۲ درصد بوده است. اثر افزایشی نانو ذرات روی آنتی‌بیوتیک‌ها قبلاً بطور گسترده در علوم زیستی و پزشکی مورد مطالعه و تایید قرار گرفته است. بررسی اثر ضد میکروبی نانوذرات نقره و مس روی یک سویه از *E. coli* و *B. subtilis* نشان داده که اثر ضد میکروبی نانوذرات مس بیشتر از نقره است (Yoon et al. 2007). بررسی اثر هم‌افزایی خاصیت ضد میکروبی نانوذرات نقره و آموکسی‌سیلین روی باکتری *E. coli* نشان داده که وقتی آموکسی‌سیلین و نانو ذرات نقره با هم ترکیب می‌شوند اثر ضد باکتریایی قوی‌تری روی سلول‌های *E. coli* نسبت به زمانی که به طور جداگانه استفاده می‌شوند، دارند (Ping et al. 2005).

## Conclusion

## نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهند، که عامل بیماری پوسیدگی نرم هویج، سیب‌زمینی و پیاز در استان آذربایجان شرقی باکتری *Pectobacterium odoriferum* است. همچنین نانوذرات مس باعث کاهش رشد این باکتری بیمارگر شده و در ترکیب با آنتی‌بیوتیک‌ها اثر آنها را بر باکتری افزایش می‌دهد. بنابراین می‌توان تهیه فرمولاسیونی ارزان قیمت از این آنتی‌بیوتیک‌ها همراه با نانوذرات مس برای مدیریت پوسیدگی نرم باکتریایی گیاهان مد نظر قرار داد.

## سپاسگزاری

نویسندگان از کادر اداری آزمایشگاه‌های بیماری‌های گیاهی و باکتری‌شناسی گیاهی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز کمال تشکر و قدردانی را دارند.

## References

## منابع

- Agrios GN (2005) Plant Pathology. 3rd (ed.). Academic Press, New York.
- Agyemang PA, Kabir MN, Kersey CM, Dumenyo CK (2020) The bacterial soft rot pathogens, *Pectobacterium carotovorum* and *P. atrosepticum*, respond to different classes of virulence-inducing host chemical signals. Horticulturae 6:13.
- Ansari F (2014) Identification of bacterial causal agent of soft rot disease on potato and carrot tubers in BostanAbad Area. Master thesis, University of Tabriz. 117Pp. (In Persian)

- Bahabadi NM, Hosseinpour Delavar F, Mirbakhsh M, Niknam KH, Johari SA (2015) Assessing antibacterial effect of filter media coated with silver nanoparticles against *Bacillus* spp. Iranian South Medical Journal 19:1-14. (In Persian with English Abstract)
- Baras F, Van Gijsegem F, Chatterjee AK (1994) Extracellular enzymes and pathogenesis of soft-rot *Erwinia*. Annual Review of Phytopathology 32:201-34.
- Charkowski AO (2015) Biology and control of *Pectobacterium* in potato. American Journal of Potato Research 92:223-229.
- Ghazy NA, Abd El-Hafez OA, El-Bakery AM (2021) Impact of silver nanoparticles and two biological treatments to control soft rot disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Egyption Journal of Biological Pest Control 31:3-19.
- Gogos A, Knauer K, Bucheli TD (2012) Nanomaterials in plant protection and fertilization: current state, foreseen applications, and research priorities. Journal of Agricultural Food Chemistry 39:9781-9792.
- Hoo CM, Starostin N, West P, Mecartney ML (2008) A comparison of atomic force microscopy (AFM) and dynamic light scattering (DLS) methods to characterize nanoparticle size distributions. Journal of Nanoparticle Research 10:89-96.
- Javadi A, Rostamirad A, Zand Monfared MR, Dastjani Farahani F, Heidarpour A, Khodadad Motlagh M (2015) The effect of ampicillin and gentamicin conjugated with gold nanoparticles on the formation of biofilms in *Pseudomonas aeruginosa*. Qom University of Medical Sciences Journal 9:35-41. (In Persian with English Abstract)
- Marambio-Jones C, Hoek EMV (2010) A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment. Journal of Nanoparticle Research 12:1531-1551.
- Marquez-Villavicencio MDP, Groves RL, Charkowski AO (2011) Soft rot disease severity is affected by potato physiology and pectobacterium taxa. Plant Disease 95:232-241.
- Naghash N, Safari M, Haimehrabi P (2012) Investigating the effect of silver nanoparticles on *E. coli* growth. Qom University of Medical Sciences Journal 6:65-68. (In Persian with English Abstract)
- Panacek A, Kvítek L, Pruček R (2006) Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity. The Journal of Physical Chemistry B 110:16248-16253.
- Ping L, Juan L, Changzhu W, Qingsheng W, Jian L (2005) Synergistic antibacterial effects of  $\beta$ -lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. Nanotechnology 16:1912-1917.
- Portier P, Pédrón J, Taghoutim G, Fischer-Le Saux M, Caullireau E, Bertrand C, Laurent A, Chawki K, Oulgazi S, Moumni M, Andrivon D, Dutrieux C, Faure D, Hélias V, Barny MA (2019) Elevation of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *odoriferum* to species level as *Pectobacterium odoriferum* sp. nov., proposal of *Pectobacterium brasiliense* sp. nov. and *Pectobacterium actinidiae* sp. nov., emended description of *Pectobacterium carotovorum* and description of *Pectobacterium versatile* sp. nov., isolated from streams and symptoms on diverse plants. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 69:3207-3216.
- Ruparelia JP, Chatterjee AK, Dutttagupta SP, Mukherji S (2008) Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. Acta Biomater 4:701-716.

- Schaad NW, Jones JB, Chun W (2001). Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria Third Ed., APS Press, St. Paul, Minnesota USA, 373p.
- Shaffiey SF, Ahmadi M, Shaffiey SR, Shapoori M, Varshouei SH, Azari F (2015) Synthesis of Copper Oxide (CuO) Nanoparticles and surveying its bactericidal properties against *Aeromonas Hydrophila* bacteria. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 5:36-43
- Vidaver AK (2002). Uses of Antimicrobials in Plant Agriculture. Clinical Infectious Diseases 34:107–110.
- Yoon KY, Hoon Byeon J, Park JH, Hwang J (2007) Susceptibility constants of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* to silver and copper nanoparticles. Science of The Total Environment 373:572-576.