تأثير مستخلص الثوم والبلتانول والاكروماسين في بكتريا *Ralstonia solanacearum*

رقيب عاكف العاني كامل سلمان جبر رجاء غازي الجنابي
كلية الزراعة/جامعة بغداد

المستخلص

اجريت هذه الاختبارات بهدف تقويم كفاءة المستخلص المائي للثوم في مقاومة بكتريا *Ralstonia solanacearum* المسببة للذبول البكتيري في الطماطة. اشارت النتائج الى ان اضافة المستخلص المائي للثوم الى الوسط الزرعي NA بالتراكيز 1% و 2% و 4% و 8% كان فعالاً في الحد من نمو البكتريا. وقد بغلت نسبة التثبيط 14.8% و 100% و 100% و 100% للتراكيز الاربعة بالتتابع. لم يكن للتركيز 0.5% تاثيرا في البكتيريا. ادى وضع اقراص ورق ترشيح بقطر 4 ملم مشبعة بالمستخلص المائي للثوم بتركيز 2% و Beltanol بتركيز 0.2% و Agromycin بتركيز 0.5 غم/لتر في الوسط الزرعي الى الحد من نمو البكتريا، وكان اكثرها كفاءة المستخلص المائي للثوم، اذ بلغ قطر الهالة 19.90ملم مقارنة مع 14.60 ملم للمبيد Beltanol و 11.80 ملم للمضاد الحيوي Agromycin. أدت معاملة نباتات الطماطه الملقحة بالبكتريا والمعاملة بمستخلص الثوم 2% والمبيد Beltanol 0.2 مل/لتر الى خفض معنوي لشدة الاصابة لجميع المعاملات بحيث اصبح الفرق بينها وبين معاملة المقارنة (بدون وجود البكتريا) غير معنوي بلغت النسبة المئوية لشدة الاصابة للنباتات المعاملة بالمسختلص المائي للثوم مع ماء السقي و Beltanol مع ماء السقي ومستخلص الثوم رشاً على المجموع الخضري 2.5% و 2.5% و 6.25% على الترتيب بعد ثلاثة ايام من المعاملة.

تفوقت معاملة اضافة مستخلص الثوم الى التربة مع ماء السقي على معاملتي Beltanol ومستخلص الثوم رشاً على المجموع الخضري في الايام التالية من المعاملة، اذ بلغت النسبة المئوية لشدة الاصابة في اليوم الخامس عشر من المعاملة 5.00% للنباتات المعاملة بمستخلص الثوم مع التربة مقارنة مع 11.50% للنباتات المعاملة بالبلتانول و 16.25% للنباتات المعاملة بمستخلص الثوم رشاً على المجموع الخضري واضفى المستخلص المائي للثوم حماية للنباتات من الاصابة بالبكتريا مدة 24 يوماً كما أظهرته نتائج اختبار الانتشار المناعي المزدوج.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences A.Al-Ani et. Al.

EFFECT OF GARLIC EXTRACT, BELTANOL AND AGROMYCIN ON THE BACTERIA *RALSTONIA SOLANACERUM*

Rakib A.Al-Ani Kamil S. Juber Ragaa G. Al-janabi
Plant dept., College of Agriculture, Univ. of Baghdad

ABSTRACT

This tests was carried out to evaluate the efficacy of water extract of garlic on *Ralstonia solanacearum,* the causal agent of bacterial wilt on tomato. Results showed that the addition of garlic extract at a concentration of 1%, 2%, 4% and 8% to the culture media containing *Ralstonia solanacearum* was efficient to prevent bacterial growth. The percentage of inhibition reached 14.8%, 100%, 100% and 100% for the four concentrations respectively. Filter paper discs 4 mm diameter saturated with 2% of garlic water extract, 0.2% Beltanol and 0.5 g/l Agromycin placed on the culture media led to prevent bacterial growth; it was found that garlic water extract was more efficient, with halo diameter in its treatment reached 19.90 mm compared with 14.60 mm for Belatnol of 0.2% concentration and 11.80 mm for the antibiotic Agromyicn 0.5 g/l concentration. Tomato plants inoculated with bacteria and treated with 2% garlic extract and the fungicide Beltanol (0.2 ml/l) showed to significant reduction in disease severity for all the treatments, so the different between the three treatments and the control became non significant. The percentage of disease severity for the plants treated with garlic water extract added to the irrigation water, Beltanol and garlic extract sprayed on plant shoots reached 2.5%, 2.5% and 6.25% respectively after 3 days of treatment. It has been found that the addition of garlic water extract with irrigation water was more efficient than Beltanol and garlic extract sprayed on plant shoots in the following days of the treatments. The disease severity was reached 5.00% for the plants treated with the garlic extract as soil treatment after 15 days of treatment compared with 11.5% for the plants treated with Beltanol and 16.25% for the plants sprayed with garlic extract. It has been found that addition of garlic extract to the plant gave a protection period of 24 days as determined by immunodouble diffusion test.

* تاريخ استلام البحث 2006/9/9, تاريخ قبول البحث 2007/6/23

(*) Part of M.Sc. thesis for third author.

(*) البحث جزء من رسالة ماجستير للباحث الثالث.

المقدمة

يعد مرض الذبول البكتيري المتسبب عن البكتريا *Ralstonia solanacearum* من بين الامراض التي تصعب مقاومتها. اقتصرت اجراءات المقاومة لهذا المرض ولمدة طويلة على استخدام المضادات الحيوية. أستخدمت المضادات Aeuromycin, Kanamycin, Tetramcyclin بتركيز 5 مايكروغرام/مل والمضادات Chloramphenicol وVancomycin بتركيز 30 مايكروغرام/مل وStreptomycin بتركيز 2 مايكروغرام/لتر وPenicillin بتركيز 10 مايكروغرام/مل واثبتت كفاءة في الحد من المرض (18). وجد ان البكتريا *R.solanacearum* حساسة للمضادات الحيوية Aeuromycin, Kanamaycin, Tetracyclin, Streptomycin بالتراكيز 5و 10و 15و 15 مايكروغرام/مل على الترتيب (4). استخدمت المستخلصات النباتية على نطاق واسع في المدة الاخيرة لمقاومة الكثير من المسببات المرضية ومنها المستخلص المائي للثوم (5، 7، 13، 30، 34) . أبدى الاخير فعالية ضد البكتريا Pseudomonas, Escherichia, Bacillus, Salmonella, Streptomyces (31). وجد ان مستخلص الثوم بتركيز 4% يمنع نمو البكتريا Salmonella, Escherichia, Shigella, Staphylococcus(6). وعرف ان بكتريا *E. coli* حساسة جدا لمستخلص الثوم بتركيز 2و4و5% وادى استخدام Allicine وهو المركب الرئيسي في مستخلص الثوم بتركيز2و4و5% الى قتل البكتريا *Bacillus cereus* وبتركيز 10% الى قتل البكتريا*Staphylococcus aureus* (35). وجد ان المستخلص المائي للثوم مثبط لنمو البكتريا *Pseudomonas syringae pv.phaseolicola* في الوسط الزرعي (17). كما ان للمستخلص المائي للثوم تأثيرا في الفطريات ايضا حيث وجد ان له المقدرة على تثبيط نمو الفطرين *Rhizoctonia solani* و *Sclerotium sp.* (16)، وان للمستخلص المائي للثوم بتركيز 7.5 غم/لتر فعالية كبيرة في تثبيط تكوين العلب السبورية للفطر *Phytophthora cryptogea* بنسبة 50% (33). وجد Brianchi وآخرون (9) إن استخدام مستخلص الثوم بتركيز 100 مل/لتر ادى الى تثبيط نمو الغزل الفطري في الفطريات Fusarium, Colletotrichum, Rhizoctonia,Pythium اجريت هذه التجربة بهدف تقويم كفاءة مستخلص الثوم في مقاومة البكتريا *R.solanacearum*

المواد وطرق العمل

عزل البكتريا

قطعت سيقان نباتات طماطة مصابة الى قطع صغيرة (0.5 - 1سم) عقمت القطع سطحيا بمحلول هايبوكلوريت الصوديوم 1% كلور حر مدة دقيقة واحدة ثم غسلت بالماء المقطر المعقم وجففت على ورق ترشيح . سحقت القطع في الماء المقطر بنسبة 1:1 (وزن/حجم)، ولقح وسط الاكار المغذي Nutrient agar (NA) بالمعلق الناتج بطريقة التخطيط . حضنت الاطباق بدرجة حرارة 30 ±1° م مدة 72 ساعة .أنتخبت المستعمرات الفردية واعيدت زراعتها بالطريقة نفسها واعتمدت المزارع الناتجة والدراسات التشخيصية . شخصت البكتيريا الى مستوى النوع باعتماد الصفات المزرعية والمجهرية والاختبارات الكيموحيوية (3).

تحضير مستخلص الثوم

هرس 50 غم من الثوم في 50 مل ماء مقطر بواسطة خلاط كهربائي. رشح المستخلص خلال اوراق ترشيح Whattman رقم 1 في قمع بخنر واعتمد الراشح اساسا في الاختبارات اللاحقة .

تحضير المصل المضاد للبكتريا

اخضع ارنب نيوزلندي لخمس حقنات وريدية من معلق مزرعة بكتيرية بعمر 24 ساعة حجم لقاح 10^8 خلية/مل في محلول دارئ فوسفاتي ملحي (**PBS**) بدرجة اس هيدروجيني 7 ، في الوريد الحافي للاذن اليسرى . استخدم في الحقنة الاولى 0.5 مل وفي الحقنة الخامسة2.5 مل بزيادة 0.5 مل في كل حقنة (29). جمع الدم بقطع الوريد الحافي للإذن اليمنى، في إناء زجاجي وترك في المختبر مدة ساعة للتجلط. اخذ الجزء السائل واخضع لعملية طرد مركزي بسرعة 5000 دورة/دقيقة مدة 15 دقيقة . اضيف للطافي ازايد الصوديوم NaN3 بنسبة 0.02% وحفظ في قناني زجاجية تحت التجميد (21).

تحديد التركيز الملائم من المستخلص المائي للثوم المؤثر في بكتريا *Ralstonia solanacearum* في الوسط الزرعي

حضر معلق من بكتريا *R. solanacearum* في دارئ فوسفاتي ملحي (0.2 غم KH2Po4و0.2 غم Kcl و 1.44غم Na2HPo4و 8 غم Nacl و 0.02% ازيد الصوديوم في لتر ماء مقطر بدرجة اس هيدروجين 7.0 بحجم لقاح 10^8 خلية /مل من مزرعة بكتيرية بعمر 24 ساعة على الوسط الزرعي NA. وضع 1 مل من المعلق البكتيري في كل من ستة اطباق زجاجية معقمة، وصب فوقه الوسط الزرعي NA المضاف اليه المستخلص المائي للثوم بالتراكيز 0.5و 1.5 و2و4و8%. حضنت الاطباق بدرجة حرارة 30 م لمدة 24 ساعة. كررت المعاملات ثلاث مرات مع معاملتي مقارنة تمثل احداهما الوسط الزرعي NA ملقح بالبكتريا فقط وتمثل الاخرى الوسط الزرعي مع مستخلص الثوم فقط. حسب عدد المستعمرات النامية على الوسط الزرعي في كل مكرر. حسبت نسبة التثبيط بقسمة الفرق في عدد المستعمرات بين معاملتي المقارنة والمعاملة وقسمتها على عدد المستعمرات في المقارنة معبر عنها بنسبة مئوية. جمعت البيانات في جداول مناسبة وحللت احصائيا بحسب تصميم تام التعشية وباعتماد قيم دانكن متعدد المدى عند مستوى احتمال 5% للمقارنة بين معدلات المعاملات.

تقويم فعالية المستخلص المائي للثوم والبلتانول والاكروماسين في مقاومة بكتريا *R. solanacearum* بطريقة الاقراص المشبعة على الوسط الزرعي NA:

اضيف الى 100 مل من الوسط الزرعي NA المعقم، قبل تصلبه و 0.5 مل من معلق البكتريا بحجم لقاح 10^8 خلية /مل في دارئ فوسفاتي

ملحي من مزرعة بكتيرية بعمر 24 ساعة. رج الوسط جيدا وصب في اطباق زجاجية معقمة بمعدل 25 مل/طبق وترك ليتصلب. شبعت اقراص من ورقة ترشيح قطر 4 ملم بالمستخلص المائي للثوم، بتركيز 2% وشبعت اقراص اخرى بالمبيد Beltanol (من انتاج شركة Probelty) تركيز 0.2 مل/لتر، واخرى بالمضاد الحيوي Agromycin تركيز 0.5 غم/لتر واقراص مشبعة بالماء، ووزعت على الوسط الغذائي(NA) الملقح بالبكتريا. حضنت الاطباق بدرجة حرارة 30م° لمدة 24 ساعة وقيس قطر الهالة حول الاقراص.

تقويم فاعلية المستخلص المائي للثوم و Beltanol في مقاومة البكتريا *R. solanacearum* تحت الظروف الحقلية:

لقحت نباتات طماطة صنف مونتكارلو بعمر 30 يوما بمعلق البكتريا *R. solanacearum* بحجم لقاح 10^8 خلية/مل حقنا في الساق في ابط الورقة الثالثة من الاعلى (20) وروعي المحافظة على رطوبة عالية في التربة اثناء التلقيح بدرجة حرارة 25-35 م.اضيف مبيد Beltanol مع ماء السقي بتركيز 0.2 مل/لتر، واضيف المستخلص المائي للثوم بتركيز 2% مع ماء السقي ورشا على المجموع الخضري بعد ساعة من التلقيح. نفذت التجربة على وفق تصميم تام التعشية كما في اعلاه باربع مكررات داخل بيت بلاستيكي يحوي تربة مزيجية وعلى النحو الاتي:

1- نباتات طماطة ملقحة بالبكتريا فقط
2- نباتات طماطة ملقحة بالبكتريا ومعاملة بالبلتانول.
3- نباتات طماطة ملقحة بالبكتريا ومعاملة بمستخلص الثوم مع ماء السقي
4- نباتات طماطة ملقحة بالبكتريا ومعاملة بمستخلص الثوم رشا على المجموع الخضري
5- نباتات طماطة غير ملقحة بالبكتريا ومعاملة بمستخلص الثوم رشا على المجموع الخضري.
6- نباتات طماطة سليمة للمقارنة.

حسبت شدة الاصابة وفق معادلة Mckinney (24) واعتمدت خمس درجات لتشكل المرض :

صفر: نباتات سليمة و 1:ذبول ورقة واحدةو 2: ذبول 2-3 اوراق و3: ذبول جميع الاوراق عدا القمة النامية و 4: ذبول جميع اوراق النبات 5: موت النبات.

تحديد مدة الحماية بالمستخلص المائي للثوم من الاصابة بالبكتريا *R.solanacearum* :

عوملت نباتات طماطة بعمر 25 يوما بالمستخلص المائي تركيز 2% في التربة مع ماء الري. لقحت النباتات المعاملة باللقاح البكتيري بحجم لقاح 10^8 خلية/مل حقنا في الساق بعد 24 ساعة، بعد اسبوع واسبوعين وثلاثة اسابيع. لقحت نباتات بالبكتريا وتركت بدون معامله. واخرى سليمة بدون تلقيح للمقارنة. سجلت النتائج بعد 3و6و9و12و15و18و24و27 يوما من المعامله. اعتمد اختبار الانتشار المناعي المزدوج للكشف عن وجود البكتريا في النباتات.

النتائج والمناقشة

تحديد التركيز الملائم من المستخلص المائي للثوم المؤثر في البكتريا *R. solanacearum* على الوسط الزرعي NA:

تشير النتائج في جدول1 إن التراكيز 1% و2%و4% و8% من المستخلص المائي للثوم كانت فعالة في الحد من نمو البكتريا على الوسط الزرعي. وقد بلغت نسبة التثبيط للبكتريا 44.8% و100% و100% و100% للتراكيز الاربعة بالتتابع.هذه النتائج جائت مماثلة لما وجده العامري وآخرون (3) إذ أعطى المستخلص المائي لفصوص الثوم بتركيز 1% و 2% و 4% نسبة تثبيط 100% لنمو البكتريا *Erwinia carotovora var. carotovora* في الوسط الزرعي Nutrient agar، ولم يكن للتركيز 0.5% تأثيرا في البكتريا. يلاحظ من النتائج ان اقل تركيز من المستخلص 2% أعطى تثبيطا كاملا للبكتريا لذلك اعتمد هذا التركيز في الاختبارات اللاحقة.

تقويم فاعلية المستخلص المائي للثوم و Beltanol وAgromycin في البكتريا *R. solanacearum* بطريقة الاقراص المشبعة على الوسط الزرعي:

أدى وضع اقراص مشبعة بالمستخلص المائي للثوم بنسبة 2% و Beltanol تركيز 0.2 مل/لتر و Agromycin تركيز 0.5 غم/لتر على الوسط الزرعي الملقح بالبكتريا الى الحد من نشاط ونمو البكتريا ظهر بشكل هالة تحلل حول الاقراص. كان المستخلص المائي للثوم اكثرها كفاءة في ذلك، اذ بلغ معدل قطر هالة التثبيط 19.90 ملم مقارنة 14.60 ملم للمبيد Beltanol و11.80 ملم للمضاد الحيوي وبفروق معنوية بين المعاملات، (جدول 2). يعزى تأثير Beltanol الى ان المادة الفعالة فيه8-hydroxy quinolin sulfate ترتبط بالمعادن والعناصر الثقيلة مكونة مركبا معقدا غير قابل للامتصاص يطرح مع النواتج الايضية، وحيث ان بعض هذه العناصر ضرورية لنمو البكتريا فقد يؤدي هذا الى ايقاف بعض الفعاليات الحيوية في البكتريا فضلا عن ان بعض العناصر مثل الحديد والكبريت تلعب دورا في السلسلة التنفسية وان غيابها او تعطيلها يؤثر في هذه السلسلة ويؤدي إلى موت الخلية البكتيرية (1).

يعزى تأثير المستخلص المائي للثوم الى ان المادة الاساسية في الثوم alline تتحول بفعل الانزيم allinase الموجود في المستخلص الى المادة الفعالة allicin التي سرعان ما تتحول الى العديد من المركبات الكبريتية ومنها المركب diallyl disulfide (8، 15، 25، 26). هذه المادة لها المقدرة على تثبيط فعالية انزيم 3-hydroxy-3-methyl glotaryl CoA reductase وبالتالي ايقاف تصنيع acetyl-CoA وهو الوحدة الاولية لتصنيع الاحماض الدهنية، وحيث ان هذه المواد تكون جزءا من الجدار الخلوي للبكتريا فأن هذا يؤدي الى ايقاف تصنيع الجدار الخلوي (15، 27، 32، 33). قد تعود فعالية الثوم إلى إن مادة allicin تنفذ بين طبقات الدهون المفسفرة وتتداخل مع مجاميع SH وتعطل عمل الانزيمات الحاوية على هذه المجاميع ومنها انزيم

Polygalacturonase (19) او من خلال احتوائه على مركبات تثبط المركبات التي تنتجها البكتريا الممرضة والتي تؤثر على مقاومة العائل للمسبب المرضي(28).

تقويم فاعلية المستخلص المائي للثوم و Beltanol في *R.solanacearum* حقليا :

ادت معاملة النباتات الملقحة بالبكتريا وبالمستخلص المائي للثوم 2% و Beltanol تركيز 0.2 مل/لتر الى خفض معنوي لشدة الاصابة بعد ثلاثة ايام من المعاملة قياسا بالنباتات الملقحة بالبكتريا فقط بدون وجود فروق معنوية بين المعاملات. بلغت النسبة المئوية لشدة الاصابة للنباتات المعاملة بالمستخلص المائي للثوم عن طريق التربة مع ماء الري و Beltanol والمستخلص المائي للثوم رشا على المجموع الخضري 2.5 و2.5 و6.25 على الترتيب (جدول 3). تفوقت معاملة اضافة مستخلص الثوم الى التربة مع ماء السقي على معاملتي الBeltanol ومستخلص الثوم رشا على المجموع الخضري في الايام التالية من المعاملة ،اذ بلغت النسبة المئوية لشدة الاصابة في اليوم الخامس عشر من المعاملة 5.00 %للنباتات المعاملة بمستخلص الثوم مع التربة مقارنة 11.50 % للنباتات المعاملة بالبلتانول و16.25% للنباتات المعاملة بمستخلص الثوم رشا على المجموع الخضري.

اضفى المستخلص المائي للثوم بتركيز 2% مع ماء السقي حماية لنباتات الطماطة من الاصابة بالبكتريا مدة 24 يوما. اذ بدأ الراسب بالظهور في اليوم السابع والعشرين من المعاملة بين الحفر الحاوية على المصل المضاد وتلك الحاوية على مستخلص من نباتات معاملة بالمستخلص المائي للثوم وملقحة بالبكتريا في اختبار الانتشار المناعي المزدوج.يتضح مما تقدم ان للمستخلص المائي للثوم تأثيرا كبيرا في تثبيط نمو البكتريا وان هذا التأثير يعزى الى المادة الفعالة فيه وهي allicin التي تعمل على تجريد البكتريا من المواد والعناصر الضرورية لنموها او للانزيمات التي تستخدمها وفعاليتها الحيوية وبالتالي ايقاف نموها وان الكثير من المواد التي يعمل هذا المركب على تعطيلها تدخل في تركيب الجدار الخلوي لذلك فان مادة allicin تتعارض او تعيق تكوين الجدار الخلوي للبكتريا وتشبه في ذلك تأثير بعض المضادات الحيوية التي تتعارض مع تكوين الجدار الخلوي كالبنسلين. اشارت نتائج عدة الى دور محتمل لمادة allicin في ايقاف تصنيع الجدار الخلوي (15، 27، 32، 33).

ربما يعود دور مستخلص الثوم في اضفاء حماية للنباتات من الاصابة الى ان وجود المادة الفعالة allicin في النبات قبل دخول البكتريا قد يعمل على خلق ظروف غير ملائمة لنمو وتكاثر البكتريا نتيجة لارتباطها مع العناصر الضرورية لنموها فضلا عن تثبيط تصنيع الجدار الخلوي للبكتريا كما سبقت الاشارة اليه(13، 15، 33). لا يستبعد ان تكون احدى اليات تأثير المادة الفعالة في الثوم استحثاث مقاومة جهازية في النبات ضد هذه البكتريا عن طريق تحفيز الخلايا على انتاج مركبات مضادة للبكتريا مشابهة لما يحدث في تحفيز المقاومة ضد الفايروسات بانتاج حامض السالسلك والذي بدوره يحفز بروتينات الامراضية Pathogenesis related proteins(PR-proteins) التي لها المقدرة على ايقاف تضاعف الفايروس (36). ان كفاءة المستخلص المائي للثوم وتحديد المادة الفعالة فيه ربما يكون املا في انتاج مركبات تدخل فيها المادة الفعالة في الثوم لمقاومة البكتريا الممرضة للنبات والتقليل قدر الامكان من استعمال المبيدات الكيمياوية.

جدول1. تقويم فاعلية تراكيز مختلفة من المستخلص المائي للثوم في البكتريا *Ralstonia solanacearum* بحجم لقاح 10 خلية/مل على الوسط الزرعي اكر المغذي (Nutrientagar):

تركيز المستخلص	معدل عدد المستعمرات / مل	
	عدد المستعمرات	نسبة التثبيط %
صفر	51.30 أ	صفر
0.5	51.00 أ	0.6
1	28.30 ب	44.8
2	0.00 ج	100
4	0.00 ج	100
8	0.00 ج	100

القيم التي تشترك بحروف متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن عند مستوى 0.05

جدول 2. تقويم فعالية المستخلص المائي للثوم و Beltanol وAgromycin في *R.solanacearum* على الوسط الزرعي NA:

المعاملة	التركيز	قطر هالة التثبيط/ملم
المقارنة	صفر	صفر
المستخلص المائي للثوم	%2	19.9 أ
Beltanol	0.2 مل/لتر	14.6 ب
Agromycin	0.5 غم/لتر	11.8 ج

القيم التي تشترك بحروف متشابهة لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن عند مستوى 0.05

جدول 3. تقويم فعالية المستخلص المائي للثوم وBeltanol في مقاومة *R.solanacearum* حقليا:

المدة بين اخذ القراءات/يوم / المعاملة	شدة الاصابة**				
	3	6	9	12	15
نباتات سليمة غير ملقحة (مقارنة)	0.00 ب	0.00 ب	0.00 د	0.00 د	0.00 ج
نباتات ملقحة بالبكتريا	125.00 أ	137.50 أ	58.75 ب	77.50 ب	90.00 أ
نباتات ملقحة بالبكتريا معاملة بالمبيد Beltanol	2.60 ب	5.00 ب	6.25 ج د	10.00 ج د	12.60ب ج
نباتات ملقحة بالبكتريا ومعاملة بمستخلص الثوم في التربة	2.60 ب	2.50 ب	3.75 ج د	3.75 د	5.00 ج
نباتات ملقحة بالبكتريا ومعاملة بمستخلص الثوم رشا على المجموع الخضري	6.25 ب	7.50 ب	11.25 ج د	13.75 ج د	16.25ب ج

*الارقام التي تشترك بحروف متشابهة لاتوجد بينها فروق معنوية حسب اختبار دنكن عند مستوى 0.05

**مقدر حسب المقياس : 0 = نباتات سليمة ، 1 = ذبول ورقة واحدة ، 2 = ذبول 2-3 ورقة ، 3 = ذبول جميع الاوراق عدا القمة ، 4 = ذبول جميع اوراق النبات و5 = موت النبات (10). وحسبت شدة الاصابة على وفق معادلة Mckinney (19).

المصادر

1. الخفاجي ،زهرة محمود.1987. الفعاليات الحيوية للبكتريا.وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. جامعة بغداد.
2. العامري،نبيل جواد ومحمد صادق حسن وصباح محمد جميل.2002. استخدام مستخلص الثوم في حماية درنات البطاطا من مرض التعفن الطري البكتيري مجلة الزراعة العراقية.105:7-113.
3. العاني، رقيب عاكف، رجاء غازي عبد المحسن و كامل سلمان جبر (2004). عزل وتعريف البكتريا المسببة لمرض ذبول الطماطم/ البندورة وتحديد طرزه الحيوية في البيوت المحمية. مجلة وقاية النبات العربية.22: 53-58.

4. المعاضيدي، كامل محمد عـايش.1985. دراسـة تشخيصـية ومرضـية علـى مسـبب مـرض الـذبول البكتيـري *Psedomonas Solanacearum* smith على البطاطا *Solanum tubersum l.* رسالة ماجستير. قسم وقاية النبات. كلية الزراعة. جامعة بغداد.

5. حسن، محمد صادق .2003. استعمال مسـتخلص فصـوص الثوم في مقاومة بعض الفطريات الممرضة. المجلة العراقيـة للعلوم الزراعية. 4:42-44

6. Al-Delaimy, K. S. and S.H. Ali . 1970. Antibacterial action of vegetable extracts on the growth of pathogenic bacteria. J.Sci.Fd. Agric. 21:110 (Abst.).

7. Amin, A. and B. Mody. 2006. *Allium sativum* vs. *Agrobacterium tumefaciens.* California State Science Fair 2006. Project number S1401. Accessed online April 2, 2006. at: http://www.juliantrubin.com/topicprojects/bacteriaprojects.html.

8. Ankri, S. and D, Mirelman. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes infect. 2:125-129.

9. Bianchi, A., Zmboelli, A., DAnterio, A. Z., and Bellesia. F. 1997. Ultrastructural studies on the effect of *Allium sativum* on phytopathogenis fungi in witre. Plant Disease 81:1241-1246.

10. Chen, W. Y. and E. Echandi. 1982. Bactericin production and selective medium for detection isolation and quantification of *Pseudomonas solanacearum* in soil. Phytopathology 72: 310-313.

11. Chen, W. Y. and E. Echandi .1984. Effects of avirulent bactericin producing strain of *Pseudomonas solanacearum* on the control of bacterial wilt of tobacco. Phytopathology 74:114-118.

12. Ciampi, L. and N. Sequeira .1980. Influence of temperature on virulence of race 3 strains of *Pseudomonas solanacearum* .Amer.Potato.J.57:307-317.

13. Curtis, H., U. Noll, J. Störmann and A.J.Slusarenko.2004.Broad-Spectrum activity of the volatile phytoanticipin allicin in extracts of garlic (*Allium sativum L.*) against plant pathogenic bacteria, fungi and Oomycetes. Physiol. Mol.plant Pathol.65:79-89.

14. De Meyer, G. and M. Itofte .1998. Induction of systemic resistance by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7Nske is a salicylic acid dependent phenomenon in tobacco In: B. Duffy, U. Rosenberger ,and G. Defago (eds.). Molecular Approach in Biological Control. 10BC Wprs Bull.21:117-127.

15. Foke, M., Fetd, A.and H-K. Lichtenthaler .1990. Allicin, a naturally occurring antibiotic from garlic, specifically inhibits acefyl.con symthetase. FEBS Letters 261:106-108.

16. Garcia, R. P. and M.V.P. Lawas .1990. Note:potential plant extracts for the control of azolla fungal pathogens. Phillip.Agric 73:343-348.

17. Gonde. B. and R.B Mabagola .1996. Effect of garlic extract on growth of *Pseudomonas syringae* pv. Phaseolicola in culture media. Bean Improvement.Cooperative(USA) 39:280-281.

18. Granada, G. A. and L. sequeira .1975. Characteristic of Colombia isolates of *Pseudomonas solanacearum* from tobacco. Phytopathology 66:1004-1009.

19. Joslyn, M. A. and J.B.S. Braveman .1954. The chemistry and technology of the pretreatment of fruit and vegetable products with sulfur dioxide and sulfites. Advances in Food Research 5:97.

20. Kelman, A. and N.N. Winstead .1952. Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. Phytopathology 42:628-634.

21. Kiraly, Z., Z. Klement, F. Solymosy and J. Voros .1974. Methods in plant pathology with special refernce to breeding for disease resistance.Elsevier Scientific publishing Company Inc.509p.

22. Lozano, J. C. and L. Sequeira .1970. Differetiation of race of *Pseudomonas solanacearum* by a leaf infiltration technique. Phytopathology 60:833-838.

23. Martin, G., E.R. French and U. Nydergger .1982. Strain of

Pseudomonas solanacearum affecting solanaciae in the Americas. Plant Disease 66:458-460.

24. Mckinney , H. H. 1923. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedling by *Helminthosporum sativum*. Agric. Res. 26 : 195-217.
25. Miron, T., A. Rabinikov, D.Mirelman, M.Whlchek and L. Weiner.2000. The mode of action of Allicin: its ready permeability through Phospholipid membranes may contribute to its biological activity. Biochim. Biophys. Acta.1463:20-30.
26. Miron, T., I. S hin,G. Feigenblat, L. Weiner, D. Mirelman and M.Wilchek.2002. A spectrophotmetric assay for allicin,alliin, and alliinase (alliin lyase) with A chromogenic thiol: reaction of 4-mercaptopyridine with thiosulfinates. Anal. Biochem. 307: 76-83.
27. Omkumari, R. V, A. Benerj, C.K.R. Kurup and T. Ramas arma .1991. The nature of inhibition of 3-hydroxy 3-methyl glutaryl Co-A reductase by garlic derived diallydisulfide .Biochem. Biophys.Acta 1078:219-225.
28. Person, T., T. H. Hansen, T.B.Rasmussen, M.E.Skindersø, M.Givskov and J.Nelsen. 2005. Rational design and synthesis of new quorum-sensing inhibitors derived from acylated homoserine lactones and natural products from garlic. Org. Biomol. Chem.. 3:253-262.
29. Rath, P. R. and S.K. Addy .1977. Variation in *Pseudomonas solanacearum* causing bacterial wilt of tomato. Indian Phytopathology 30:502-505.
30. Ross, Z. M., E. A. O'gara, D. J. Hill, H. V. Sleightholme and D. J. Maslin. 2001. Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: Evaluation of Methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. Appl. Environ. Microbiol. 67:475-480.
31. Rudat, K. P. 1969. Coparature investigation of the antibacterial effect of various leek and cruciferous plants. Qualitias Plantarum of Materiae Vegetables 18:1-3.
32. Saniewska, A. and L.B. Orlikowski .1993. Studies on the biological control of *Phytophthora cryptogea* Pethybr Et Laff.III. In vitro inhibition of P.cryptogea development by garlic homogenate and ajoene. Phytopath. Polonica 51:59-65.
33. Saniewska, A. 1997. Use of garlic in protecting *Antirrhium majus* against *Puccinic antirrhini* Diet. Et hollow. Plant Protection Comm. Pol. Acad. of Sci. 10:130-132.
34. Sivam, G. P. 2001. Protection against *Helicobacter pylori* and other Bacterial infections by garlic. J. Nutr. 131:1106-1108.
35. Tynecka, Z. and P. Zofiagos. 1973. The inhibitory action of garlic(*Alluim sativum* L.), growth and respiration of some microorganisms. Acta Microbial Pol. Serb Microbial Appl. 5:51-62.
36. Van Loon, L. C. 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related protein. Euro. J. Plant Pathol. 103:753-766.