Journal of Education and Science
Vol. 28, No.3, 2019, pp.176-185
ISSN 1812-125X
http://edusj.mosuljournals.com

Isolation, diagnosis of bacteria *Xanthomonas axonopodis* causing bacterial canker disease on citrus and resistance using antibiotics

Zahra Salem almashhadany
Department of biology / College of Education of Girls
University of Mosul, Mosul, IRAQ
Zahraasalim2010@uomosul.edu.iq

DOI: 10.33899/edusj.2019.162977

Received **11 / 11 / 2018**

Accepted **29 / 01 / 2019**

ABSTRACT

The study aimed at the determination of the pathogen of bacterial canker disease on citrus trees. The study showed that *Xanthomonas axonopodis pv. citri* was the major cause of the disease. The isolation process were carried by isolating 50 affected isolates obtained from various citrus fruit such as orange, lemon and tarring as well as some leaves and branches. For diagnosis, Morphological and biochemical tests were conducted. The sensitivity of these isolates was tested for six types of antibiotics; Azithromycin, Cefixime, Cefotaxime, Gentamycin, Streptomycin and Tetracycline. It was seen that all isolated bacteria were sensitive to all antibiotics. Cephotaxime showed the highest bacterial inhibition value 25mm, while Azithromycin showed the lowest one 11mm. The extract of 5 plants was also tested; onion, garlic, radish, grapes, and red pepper. Most of the used extracts affected the bacteria. The water extracted of the red pepper showed the highest inhibition value (10 mm) while the extracted water of grapes showed no inhibition value.

Keywords: canker disease, citrus, antibiotics, extracts.

عزل و تشخيص بكتريا *Xanthomonas axonopodis pv. Citri* المسببة لمرض التقرح البكتيري على الحمضيات ومقاومتها باستعمال المضادات الحيوية

زهراء سالم المشهداني
قسم علوم الحياة / كلية التربية للبنات
جامعة الموصل / الموصل / العراق
Zahraasalim2010@uomosul.edu.iq

DOI: 10.33899/edusj.2019.162977

الاستلام	القبول
2018 / 11 / 11	2019 / 01 / 29

الخلاصة

أجريت الدراسة بهدف تحديد مسبب مرض التقرح البكتيري على أشجار الحمضيات, وقد أثبتت الدراسة أن البكتريا *Xanthomonas axonopodis pv. citri* هي المسبب الرئيس للمرض. وقد تم إجراء عمليات العزل لـ 50 عزلة تم الحصول عليها من ثمار الحمضيات المختلفة (البرتقال والليمون والنارنج وبعض الأوراق والأغصان) التي ظهرت عليها أعراض الإصابة، اجريت العديد من الاختبارات الشكلية والكيموحيوية لتشخيصها، واخذت هذه العزلات لـ 6 أنواع من المضادات الحيوية (ازثرومايسين Azithromycin، سيفيكسيم Cefixime، سيفوتاكسيم Cefotaxime، جنتامايسين Gentamycin, ستربتومايسين Streptomycin، تتراسايكلين Tetracycline) وقد أظهرت جميع العزلات المستعملة حساسيتها للمضادات الحيوية وقد أعطى المضاد الحيوي Cefotaxime أعلى قيمة تثبيط للبكتريا إذ بلغت25 ملم، بينما بلغت اقل قيمة تثبيط مع المضاد الحيوي Azithromycin (11 ملم) كذلك تم اختبار 5 أنواع من المستخلصات النباتية (البصل، الثوم، الفجل، العنب و الفلفل الأحمر) وقد أعطت معظم المستخلصات المستعملة فعالية جيدة للبكتريا وكان المستخلص المائي للفلفل الأحمر أعلى قيمة تثبيط (10) ملم، بينما لم يظهر المستخلص المائي لنبات العنب أي فعالية.

الكلمات المفتاحية الدالة: التقرح البكتيري, الحمضيات, المضادات الحيوية, المستخلصات

المقدمة

تعد الحمضيات من نباتات الفاكهة والتي تعود إلى العائلة السذابيه *Rutaceae* جنس الحمضيات *Citrus* الذي يشمل معظم أشجار الحمضيات والتي تتراوح في نموها بين الأشجار والشجيرات مستديمة الخضرة التي لا ترتفع فوق أربع أمتار إلا في حالات نادرة قسم منها تعطي ثمارا بذرية والأخرى عديمة البذور وبعضها لها أشواك واقعة على الأفرع والأغصان وعمر هذه الأشجار طويل نسبيا، تتميز أشجار الحمضيات بوجود غدد زيتية في أوراقها تكسبها رائحة عطرية مميزة، ثمار الحمضيات غنية بالفيتامينات وبالذات فيتامين C كما تحتوي الثمار على فيتامين b1 وb2 وb3 كما تحتوي على فيتامين A و الكاروتين ويوجد بثمار الحمضيات أحماض مثل حامض الستريك و الترتريك و البنزويك و السكسنيك و الاكساليك و الفورميك ايضا, كما أن ثمار الحمضيات غنية ببعض الأملاح المعدنية كالبوتاسيوم والكالسيوم والمغنيسيوم و توجد كميات قليلة من معادن أخرى منها الفسفور والبروم والكلور واليود والبورون والحديد والصوديوم والنحاس (1).

في العراق تنتشر زراعة اشجار الحمضيات في جميع المناطق وتتركز في المنطقتين الوسطى والجنوبية بصوره ناجحة لملائمة الظروف المناخية والبيئية لزراعتها، وبالرغم من أهمية الحمضيات على اعتبارها احدى الأغذية الضرورية للفرد إلا أن كل الإنتاج يستهلك محلياً وفي معظم السنوات يتم تامين نقص الكمية بالاستيراد من الدول المجاورة، اما كمية الإنتاج في العراق من ثمار البرتقال للموسم الشتوي فقد بلغت 115562 طن و الليمون فقد بلغت 6073 طن للموسم الشتوي للعام 2014 بينما بلغ إنتاج النارنج للموسم نفسه 17838 طن حسب تقرير إنتاج أشجار الحمضيات لعام 2014(2).

الأمراض البكتيرية التي تصاب بها الحمضيات قليلة مقارنة بالأمراض الفطرية و الفايروسية ولكن تعد خطيرة مقارنة بالإمراض الأخرى, ويعد مرض تقرح الحمضيات البكتيري بين الأمراض المهمة التي تصيب الحمضيات اذ تصيب البكتريا جميع أجزاء شجرة الحمضيات فوق سطح التربة كالأوراق والأغصان والجذع وحتى الثمرة وتنتهي بموت النبات بالكامل وتكون جميع الأنسجة في الحمضيات عرضة للإصابة وتعد البكتريا *Xanthomonas axonopodis pv.citri* المسبب الأساسي لهذا المرض وتظهر الأعراض على الأوراق الصغيرة والأفرع والثمار على شكل بقع مصفرة كالبثرات المرتفعة خشنة الملمس مائلة للون البني ومع تقدم المرض تحاط هذه البثرات بهالة صفراء اللون وهذا ما يسمى عرض فوهة البركان (حافة عالية ووسط منخفض) تتجمع وتتسع البقع وتلتحم مع بعضها مؤدية إلى تقرح القلف ومن ثم الموت وتتكرر الأعراض على الجذع مما يؤدي إلى موت الفرع واصفرار الأوراق التي يحملها وتتساقط وفى النهاية (3).

تعد المقاومة الحيوية لأمراض النبات من الطرائق الحديثة التي يتم اللجوء اليها نتيجة لظهور صفة المقاومة لفعل المبيدات من قبل البكتريا وتزايد المخاوف الصحية المرتبطة بالمبيدات وتجنب تراكمها في البيئة مما دعت الحاجة إلى استعمالها وبالتحديد التضاد الحياتي بين الكائنات الحية الدقيقة بواسطة المواد التضادية المنتجة من البكتيريا أو الفطريات اذ انها تقلل من ضرر المركبات الكيميائية المتبقية على اجزاء النبات المختلفة كل ذلك ادى إلى زيادة الاهتمام في مقاومة أمراض النبات (4).

في السنوات الأخيرة ازداد الاهتمام بالأعشاب و النباتات الطبية باعتبارها احد المصادر الرئيسية لإنتاج الادوية و المستحضرات الطبية، اذ تناولت الكثير من الدراسات تأثيرها على البكتريا المسببة للأمراض وصولا الى استخدامها في مقاومة بعض من هذه الأمراض الناتجة عن المسببات البكتيرية لهذا اشتملت دراستي على تأثير المستخلصات النباتية لكل من البصل، الثوم، أوراق العنب، الفجل، الفلفل الأحمر على البكتريا المسببة لمرض التقرح البكتيري للحمضيات (5).

يشكل مرض التقرح البكتيري الخطر الحقيقي لزراعة الحمضيات في العديد من الأقطار والمهدد الحقيقي لزراعة الحمضيات. ولأهمية المرض وطبيعته فقد أجري هذا البحث للتعريف بالبكتريا المسببة للمرض وتشخيصها وتقييم بعض المضادات الملائمة والمستخلصات النباتية لمقاومتها.

المواد و طرائق العمل

عزل و تشخيص المسبب المرضي:

العزل

جمعت 50 عينة من ثمار الحمضيات وهي من ثمار البرتقال والليمون والنارنج ومن أجزاء أخرى من النبات مثل الأوراق والأغصان التي ظهرت عليها أعراض الإصابة واجري العزل بأخذ قطع صغيرة بطول 0.5

سم تقريبا وغمرت بمحلول الكحول 70% لمدة 3 دقائق ثم نقلت القطع إلى الماء المقطر المعقم، بعد ذلك زرعت على وسط المرق المغذي وحضنت لمدة 24 ساعة ثم نقلت حملة لوب منها إلى أطباق بتري حاوية على وسط الأكار المغذي وحضنت الأطباق في درجة حرارة 28°م لمدة 24 – 48 ساعة ولوحظت المستعمرات النامية.

التشخيص :

اجري التشخيص وذلك بإجراء الاختبارات الكيمو حيوية الآتية:

1– اختبار صبغة كرام

أنشى غشاء بكتيري من المستعمرات النامية وصبغت الشرائح النامية بصبغة كرام وفحصت تحت المجهر (6).

2– النمو بدرجة حرارة 39 م

أخذت حملة لوب من النمو البكتيري إلى سطح وسط الاكار المغذي Nutrient Agar و زرعت بطريقة التخطيط، وحضنت الأطباق في درجة حرارة 39 لمدة 24 ساعة (7).

3– اختبار النمو في الوسط الملحي الحاوي على 4% كلوريد الصوديوم

نقلت حملة من النمو البكتيري ولقحت بطريقة التخطيط على وسط الاكار المغذي الحاوي على 4% كلوريد الصوديوم وحضنت الأطباق في درجة 28°م (8).

4 – النمو على الأوساط الانتخابية:

تم عزل البكتريا على وسط Nutrient Agar (NA) ووسط مستخلص الخميرة والكلوكوز والاكار (YGC) Yeast Extract D – Glucose Bacto Agar وتحضن في درجة 28° للمدة بين 2– 3 يوم (9).

5 – الاختبارات الكيموحيوية:

الاختبارات الكيموحيوية التي أجريت هي:

اختبار الاندول و السترات و الاوكسديز و النترات و اختبار انتاج انزيم اليوريز و اختبارات السكريات (التريهالوز و المانيتول و الارابينوز) واختبار إنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين H2S (9).

6– القدرة الإمراضية

استعملت طريقة الأوراق المنفصلة وذلك بأخذ اوراق سليمة من نبات النارنج وغسلت بماء الحنفية لمدة 10 دقيقة، ثم عقمت تعقيما سطحيا بواسطة محلول هايبوكلورايت الصوديوم بتركيز 1% لمدة دقيقة واحدة، وشطفت بالماء المقطر المعقم لإزالة اثار المادة المعقمة، ثم حقنت الأوراق في محقنه طبية بمعلق بكتيري ذو تركيز 10^{5+} (خلية / مل) المحضر مسبقا من اوراق مصابه ظهرت عليها اعراض التقرحات والنامية على وسط المرق المغذي من مزرعة حديثة، ووضعت الأوراق الكاملة الملقحة في اطباق بتري حاوية على اوراق ترشيح معقمة مرطبة بالماء المقطر المعقم، ووضعت في حاضنة في درجة 28°م وفحصت يوميا لمدة سبعه ايام لملاحظة بداية ظهور التقرحات على الأوراق في حين لقحت معاملة المقارنة بالماء المقطر المعقم (10).

اختبار تأثير المضادات الحيوية في نمو البكتريا مختبريا:

استعملت طريقة الانتشار من الأقراص الرطبة Disk Diffusion Method وذلك باستخدام أقراص جاهزة من شركة Bio – Analyse التركية على وسط Mueller – Hinton agar والذي عقم بواسطة المعقام في درجة 121 لمدة 15 دقيقة ثم صب في أطباق بتري معقمة وترك الوسط لكي يتصلب ثم لقح

بالبكتريا بتركيز 10^{-8} خلية بكتيرية. المحضرة مسبقا و النامية على وسط N B لمدة 24 ساعة وقد استخدمت 6 أنواع من المضادات الحيوية (الجدول 1) و حضنت الأطباق في درجة حرارة 28°م لمدة 24 – 28 ساعة ثم سجلت أقطار المناطق الخالية من النمو حول كل قرص (11).

الجدول (1): المضادات الحيوية المستخدمة وتراكيزها ومختصراتها

المضاد الحيوي	تركيز المضاد(غرام /قرص)	الرمز
Azithromycin	15	AZM
Cefixime	5	CFM
Cefotaxime	30	CTX
Gentamycin	10	GN
Streptomycin	10	S
Tetracycline	10	TE

اختبار حساسية البكتريا للمستخلصات النباتات:

استعملت طريقة الانتشار من الحفر Well Diffusion method في الاكار لاختبار حساسية البكتريا للمستخلصات النباتية، إذ تم تحضير المستخلص المائي لنباتات البصل والثوم والعنب و الفجل والفلفل الأحمر، وقد اجريت طريقة الاستخلاص بجمع عينات من أبصال الثوم من السوق المحلية، ثم أخذت عينة من الفصوص المقشرة بوزن 250 غم وخلطها بـ 250 مل من الماء المقطر المعقم المغلي، وتركت لمدة 10 دقائق، ثم مزج الخليط بالخلاط الكهربائي لمدة 3 دقائق ورشح المزيج بوساطة قطعة من قماش الململ وبعدة طبقات وجمع الراشح بقنينة زجاجية واصبح الراشح معدا للاستعمال و بتركيز 100% بدون تخفيف (12).

اتبعت الطريقة نفسها أعلاه لتحضير باقي مستخلصات النباتات المستعملة في التجربة وبالنسب نفسها, أما الأجزاء المستعملة من النباتات فهي موضحة في الجدول (2) وأخذت الرواشح وجرى تعقيمها بواسطة ورق ترشيح، ثم حضرت أطباق بتري حاوية على الوسط الغذائي N A، بعدها تم نشر المعلق البكتيري على الوسط بشكل كامل، وباستعمال ثاقب فلين معقم بقطر 0.5 سم تم عمل حفر في الوسط وبالاستعانة بمحقنة طبية (Syringe) تم وضع 0.5 مل في الحفر من كل مستخلص ووزعت بحيث يحوي الطبق الواحد على خمسة أنواع من المستخلصات وبواقع ثلاثة مكررات لكل مستخلص, اما معاملة المقارنة فقد ملئت حفرها بالماء المقطر المعقام, بعدها وضعت الأطباق جميعها في الحاضنة في درجة 28°م لمدة 72 ساعة, وبعد انتهاء فترة التحضين اخذت النتائج بقياس قطر مناطق التثبيط حول كل حفرة.

الجدول (2): الاسم العلمي والاسم الشائع والجزء النباتي المستعمل في اختبار الحساسية

الاسم العلمي للنبات	الاسم الشائع	الجزء المستخدم
Allium cepa	البصل	الأوراق
Allium sativum	الثوم	الفصوص
Capsicum annuum	الفلفل الأحمر	الثمرة
Raphanus sativus	الفجل	الجذر
Vitis amurensis	العنب	الأوراق

النتائج و المناقشة

عزل و تشخيص المسبب المرضي:

العزل :

أظهرت نتائج العزل من ثمار البرتقال والليمون و النارنج والأجزاء النباتية المصابة منها نمو البكتيريا على وسط الاكار المغذي كما مبين بالشكل (1).

التشخيص:

1 – اختبار صبغة كرام:

يوضح الجدول (3) نتائج اختبارات تشخيص البكتريا المعزولة من العينات المصابة وتؤكد بان العزلة البكتيرية هي *Xanthomonas axonopodis* وقد أظهرت نتائج صبغ البكتريا بصبغة كرام وفحصها تحت المجهر الضوئي أن الخلايا البكتيرية هي كروية الشكل سالبة لكرام.

2 – النمو في درجة حرارة 39° م:

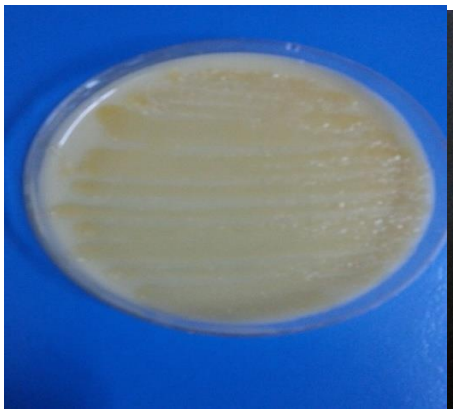
لم تظهر البكتريا أي نمو في درجة حرارة 39°م.

3 – النمو في الوسط الملحي:

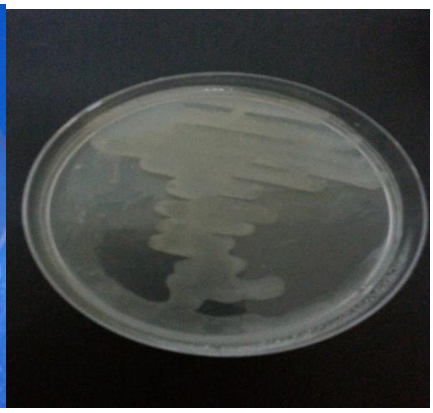
لم يظهر أي نمو في الوسط الحاوي على 4% كلوريد الصوديوم.

4 – النمو على الأوساط الانتخابية:

ظهرت مستعمرات صفراء ذات قوام لزج والتي تضمنت النمو على وسط NA كما في الشكل (1) ووسط مستخلص الخميرة والكلوكوز والاكار YGC كما في الشكل (2).



الشكل (1)



الشكل(2)

الشكل (1) نمو البكتريا *Xanthomonas axonopodis* على وسط NA

الشكل (2) نمو البكتريا *Xanthomonas axonopodis* على وسط YGC

5 – الاختبارات الكيمو حيوية:

أعطت نتائج الاختبارات نتيجة سالبة لاختبار الأندول اذ أنها لم تكون حلقة الأندول الحمراء وبينما أعطت العزلات نتيجة موجبة لاختبار السترات وقامت بتغيير لون الوسط الأخضر وأعطت نتيجة موجبة أيضا لاختبار تكوين غاز كبريتيد الهيدروجين وكانت سالبة لاختبار تحلل النترات فهي ليس لها القدرة على تحليل النترات إلى نتريت وكانت النتيجة سالبة لاختبار اليوريز وأعطت نتيجة موجبة لاختبارات السكريات وخاصة المانيتول والتريهالوز والارابينوز.

الجدول (3): الاختبارات الكيموحيوية لتشخيص البكتريا *Xanthomona axonopodis*

الفحوصات الكيميائية	النتيجة
صبغة كرام	–
النمو بدرجة حرارة 39 م	–
اختبار النمو في الوسط الحاوي على 4 % كلوريد الصوديوم	–
النمو على وسط YGC	+
اختبار الاندول	–
اختبار السترات	+
غاز كبريتيد الهيدروجين	+
النترات	–
اليوريا	–
السكريات وتتضمن:	
1 – المانيتول	+
2 – التريهالوز	+
3 – الارابينوز	+ +

+ موجب, – سالب

6- القدرة الامراضية

اظهر اختبار الامراضية على اوراق النارنج تحول في لون النسيج النباتي من الاخضر إلى البني المائل إلى الاصفرار وبداية لظهور التقرحات على الأوراق المعاملة بالبكتريا بعد 7 ايام من التلقيح كما موضح بالشكل (3) .

الشكل (3): يوضح تكون القرح على اوراق النارنج

حساسية البكتريا للمضادات الحيوية

أظهرت النتائج أن جميع العزلات البكتيرية المسببة لمرض التقرح البكتيري كانت حساسة لجميع المضادات المستعملة ضد البكتريا المسببة لمرض التقرح البكتيري، ويبين الجدول (4) والشكل (4)، اختلاف استجابة البكتريا للمضادات المستعملة قيد الدراسة, ويعد المضاد الحيوي سيفوتاكسيم Cefotaxime هو الأكثر تأثيرا في نمو البكتريا إذ بلغ قطر منطقة التثبيط (25 ملم, وقد يعود السبب في ذلك لكون هذا المضاد واسع الطيف، ويعود إلى فئة السيفالوسبورينات (الجيل الثالث) وهو فعال ضد البكتريا السالبة كما انه يقتل البكتريا الموجبة ايضا، وله القدرة على قتل الخلية البكتيرية من خلال تثبيط بناء الجدار الخلوي الخاص بها, وهذا يتفق مع ما ذكره Islam وجماعته (13) من ان هذا المضاد ذو فعاليه تثبيطية كبيرة للبكتريا *Xanthomonas axonopodis* السالبة لصبغة كرام، تلاه المضاد الحيوي سيفيكسيم Cefixime اذ بلغ قطر التثبيط (22.7)

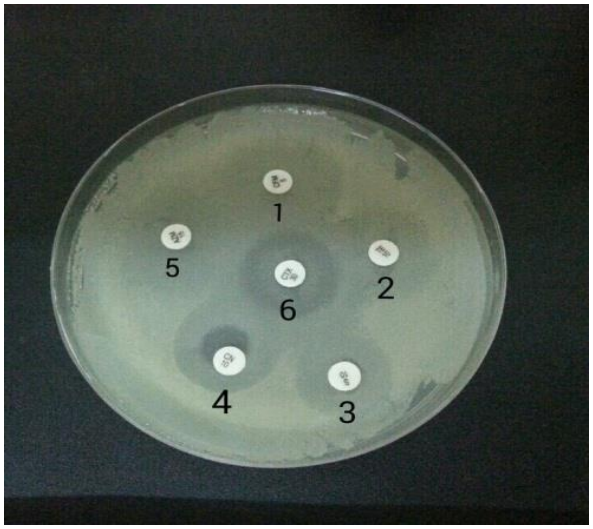
ملم, وهو يعود إلى عائلة السيفالوسبورينات أيضا، وقد بينت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين المضاد سيفوتاكسيم والمضاد Cefixim والمضادات الاخرى أما المضادات الحيوية تتراسايكلين Tetracycline, جنتامايسين Gentamycin، ستربتومايسين Streptomycin، ازثرومايسين Azithromycin، فهي من المضادات التي تعمل على قتل البكتريا وذلك بسبب تثبيطها لإنتاج الحامض النووي RNA, وقد بلغت قيم التثبيط بـ (15.6, 15، 14.6, 11) ملم على التوالي وقد كانت النتائج متفقة مع ما جاء به Minsavage وجماعته بالنسبة للمضادات جنتامايسين والستربتومايسين (14).

استعمل الإنسان المضادات الحيوية لمقاومة الأمراض التي تسببها البكتريا لمختلف الكائنات الحية الانسان والحيوان والنبات وذلك بسبب عملها على مسارات أيضية مختلفة مثل تأثيرها على الغشاء الخلوي مما يؤدي إلى القضاء على البكتريا او تأثيرها على أيض الأحماض النووية، وبما أن الفعالية التثبيطية للمضادات الحيوية تشمل البكتريا وحدها وليس لها تأثير على الفطريات والفايروسات, عليه فان المضادات الحيوية تختص بمعالجة الإصابات البكتيرية وحدها (15).

الجدول (4): حساسية البكتريا للبكتريا *Xanthomonas axonopodis* المسببة لمرض تقرح الحمضيات للمضادات الحيوية

المضاد الحيوي	قطر منطقة التثبيط / ملم
Azithromycin	**11.000 b**
Cefixime	**22.7667 a***
Cefotaxime	**25.000 a**
Gentamycin	**15.000 b**
Streptomycin	**14.600 b**
Tetracycline	**15.633 b**

* الارقام التي تحمل ارقاما متشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.01 حسب اختبار دنكن افقيا وعموديا. تمثل معدل 3 مكررات.



الشكل (4): يبين التأثير التثبيطي للمضادات الحيوية في البكتريا ***Xanthomonas axonopodis***

Cefixime – 1 Tetracycline – 2
Streptomycin – 3 Gentamycin – 4
Azithromycin –5 Cefotaxime – 6

اختبار حساسية مستخلصات النباتات على البكتريا

يبين الجدول (5) أن المستخلص المائي للفلفل الأحمر كان له اكبر الأثر في تثبيط نمو البكتريا المسببة لمرض التقرح البكتيري اذ بلغ قطر منطقة التثبيط 10 ملم، تلاه مستخلص البصل بقيمة 7 ملم، ثم مستخلص الثوم بقيمة 6 ملم، ثم مستخلص الفجل بقيمة 4 ملم، بينما لم يظهر مستخلص أوراق العنب أي تأثير يذكر على البكتيريا، ومما تقدم نتبين إن معظم المستخلصات الداخلة في الدراسة كان لها تأثير تثبيطي للبكتريا المعزولة ولعل تفوق مستخلص الفلفل الأحمر على بقية مستخلصات النباتات إلى احتواءه على مادة الكابسايسن capsaicin وهي مادة راتنجية لاذعة سببت زيادة فعاليته على المستخلصات الأخرى، اما فعالية مستخلص الثوم فتعود إلى احتواء فصوص الثوم على مادة الالسين وهي مادة مضادة للتأكسد ولها القدرة على تثبيط البكتريا السالبة والموجبة لكرام كما أنها لها القدرة على تثبيط الفايروسات والفطريات ايضا وتحرر هذه المادة عند سحق فصوص الثوم اثناء عملية الاستخلاص وهذا يتفق مع ما وجده كل من سلمان وعلاء (16)، ومما تقدم يتبين أن للمستخلصات تأثير تثبيطي ولكنه اقل اذا ما قورن بفعالية المضادات الحيوية ذلك أن للمستخلصات النباتية مركبات فعالة تمنع او تثبط فعل البكتريا ولكن تركيز هذه المواد يكون قليلا او انه يفقد اثناء عملية تحضير المستخلص أو خزن المستخلص وهذا يتفق مع ما ذكره مجيد والشطي (5)، وأما انعدام التأثير التثبيطين لمستخلص أوراق العنب فانة يمكن أن يعود إلى مادة البوليفينول الموجودة في أوراق العنب والتي لها فائدة كبيرة في مجال الحفاظ على البشرة من التجاعيد والشيخوخة ولكن ليس لها مواد مثبطة لنمو البكتريا وهذا يتفق مع Islam وجماعته (13)، وقد اظهرت نتائج التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين معدل تثبيط مستخلص الفلفل الاحمر وبقية المستخلصات الاخرى.

الجدول (5): حساسية المستخلصات النباتية للبكتريا

النباتات المستعملة	قطر منطقة التثبيط
البصل	7.0 b
الثوم	6.0 33 b c*
العنب	0.0 d
الفجل	4.0 c
الفلفل الأحمر	10.0 a

* الارقام التي تحمل احرفا متشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية بينها عند مستوى احتمال0.01 حسب اختبار دنكن افقيا وعموديا. يمثل معدل 3 مكررات

المصادر

1) Abdullah, Ali Mohammed. Citrus. General Authority for Agriculture and Fisheries Affairs. Agricultural Extension and Information Department. Kuwait. (1993).

2) Directorate of Agricultural Staticstics. Citrus Production Report 2014 Ministry of Planning, Central Bureau of Statics, Republic of Iraq, July2014, p 1-9 (2014).

3) Goto, M. Citrus canker. Plant Diseases of International Importance .III Disease of Fruit Crop. J. kumar, H.S. Chaube, U .S . Singh, and A. S. Singh, and A. N. Mukhopadhyay, eds. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ. (1991).

4) Obeidi, Ahmed Nabil Said. Study of Bladder Disease on Pear and Apple. Master Thesis, Faculty of Agriculture, Mosul University, Iraq (2017).

5) Majid, Guitar Rashid and Sabah Malik Habib Al – Shatti. Effectiveness of some plant extracts on the growth of some microorganisms. Basra Agricultural Sciences (2002).

6) Wells, john m boligala c. raju, hsueh-yun hung, william g. weisburg, linda mandelco - Paul, and don j. Brenner. Xylella fastidiosa gen. nov., sp. nov: gram-negative, xylem – limited, fastidious plant bacteria related *xanthomonas spp*. international journal of systematic bacteriology, Ap Vol.37,no.2p.136-143(1987).

7) Alwakil, Mohamed Abdel Rahman, Book of Plant Pathology, Integrated Development of Agricultural Programs in Plant Production, Arab Library, Mansoura University, Egypt. P 17 (2006).

8) Holt, J.C. and N. R. king. Berge's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. William and Wilkins London (1986).

9) Suk Park, Dong, Jae Wook Hyun, HeeWan Kang. Sensitive and specific detection of *xanthomonas axonopodis pv. citri* by PCR using pathovar specific primers based hrpw gene sequences MicrobiologicalResearch161P:145—149 (2006).

10) Gent, D. H., Al-Saadi, A., Gabriel, D. W., Louws, F. J., Ishimaru, C.A., and Schwartz, H. F. Pathogenic and genetic relatedness among *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii* and other pathovars of *X*. *axonopodis* Phytopathology 95:918-925(2005)

11) Bauer A, Kirby W, Sherris JC, turck, Turck M. Antibiotic susceptibili testing by a standardized single disk method. A. J .C. P.;45(4): 493. (1966).

12) Egorove, N. S.: Antibiotics Scientific Approach. Micropublishers'. Moscow. (1985).

13) Islam MA, Mazumdar RM, Islam S, Alam MJ, Urmee SA. Isolation, identification and in-vitro antibiotic sensitivity pattern of citrus canker causing organism *Xanthomonas axonopodis*. Adv. life sci., 1(4): 215-222(2014).

14) Minsavage, G.V. Cantevos, B.I., and stall, R. E. (1990). Plasmid – mediated resistance to streptomycin in *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicarotia*. phytopathology.80: 719 – 723.

15) Alani, Fayez Aziz, Amin Salman. Principles of microbiology, Dar L- Hikma for printing and publishing, Mosul, Iraq (1990).

16) Salman, Ali Marzouk, Alaa Idan Hassan. Evalution of the efficacy of plant extracts, antibiotics and bioconcentraction bacteria *Bacillus cereus* in resistance to mild bacterial fungal disease caused by bacteria. Kufa Journal of Agricultural Sciences/ Volume (3)/ lssue (2) p: 151 – 161 (2011).