

大蒜提取物和根系分泌物对 3 种土传性病原菌的抑菌效果

张万萍 赵 丽

(贵州大学农学院, 贵州贵阳 550025)

摘 要: 研究了紫皮蒜与白皮蒜不同苗龄根系分泌物、不同浓度水提取物及乙酸乙酯提取物对辣椒疫霉病菌、草莓灰霉病菌和番茄青枯病菌的抑菌作用。结果表明: 紫皮蒜、白皮蒜均以苗龄 20~30 d 的根系分泌物对 3 种土传性病菌抑制效果最好, 紫皮蒜水提取物完全抑制辣椒疫霉病菌、草莓灰霉病菌菌落生长的最低抑菌浓度为 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 而白皮蒜的最低抑菌浓度则为 $20.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$; 紫皮蒜乙酸乙酯提取物完全抑制辣椒疫霉病菌和草莓灰霉病菌菌落生长的最低抑菌浓度分别为 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $2.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 而白皮蒜乙酸乙酯提取物最低抑菌浓度要达到 $10.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $20.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 二者乙酸乙酯提取物最低抑菌浓度达到 $20.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时对番茄青枯病菌具有很好的抑菌效果。

关键词: 大蒜; 根系分泌物; 土传性病原菌; 抑菌作用

中图分类号: S633.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-6346 (2012) 02-0066-06

Inhibitory Effects of Garlic Extracts and Root Exudates on Three Soil-borne Pathogens

ZHANG Wan-ping, ZHAO Li

(College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang 550025, Guangzhou, China)

Abstract: The effects of root exudates of purple and white garlic (*Allium sativum* L.) at different seedling ages, including different concentrations of aqueous garlic extract and the ethyl acetate extract on pepper *Phytophthora* blight caused by *Phytophthora capsici*, strawberry gray mold caused by *Botrytis cinerea* and tomato bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* Smith were investigated. The best inhibitory effects were found using the root exudates of 20-30 d purple and white garlic on all 3 soil-borne pathogens. While $5.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ of purple garlic water extract can completely inhibit the pepper *Phytophthora* blight and the colony growth of strawberry gray mold. Higher concentration of water extract from white garlic, e.g. $20.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ is needed to exert the same effect. On the other hand, the minimum inhibitory concentration (MIC) of ethyl acetate extract from purple garlic can inhibit completely the pepper *Phytophthora* blight and the strawberry gray mold with $5.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $2.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively. However, the higher concentration of the ethyl acetate extract from white garlic at $10.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $20.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively are required to inhibit the 2 pathogens to the same extent as by purple garlic. $20.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ of ethyl acetate extracts from 2 garlic varieties are required to suppress tomato bacterial wilt.

收稿日期: 2011-07-28; 接受日期: 2011-10-10

基金项目: 贵州省科技厅农业攻关项目〔黔科合 NY 字 (2009) 3020〕, 贵州现代农业产业技术体系建设项目 (GZCYTX2010-01)

作者简介: 张万萍, 博士, 教授, 专业方向: 蔬菜栽培和分子育种, E-mail: zwp269@126.com

Key words: Garlic; Root exudates; Soil-borne pathogens; Bacteriostasis

大蒜 (*Allium sativum* L.) 为百合科葱属植物, 在医疗卫生和杀菌抑菌方面具有重要作用。大蒜的这种广谱抗病作用主要是由于大蒜含有 100 多种具有植物疗法效果的含硫化合物, 包括脂溶性有机硫化合物和硫代亚磺酸酯 (thiosulfinates) (闫森森 等, 2010)。

大蒜是许多蔬菜作物的良好前茬作物。研究表明: 大蒜对多种蔬菜具有化感作用 (高子勤和张淑香, 1998; 陈能煜 等, 2000), 大蒜鳞茎具有明显的抑菌效应 (陈能煜 等, 2000; 周娟等, 2002; Benkeblia, 2004)。大蒜直接作用于下茬作物的物质可能主要是大蒜根系中的物质及大蒜根系分泌物 (周艳丽 等, 2007a, 2007b)。

大蒜还对植物病原菌具有广谱的杀菌作用。对于大蒜提取物的抑菌效果, 前人进行了有益的探索 (Unal et al., 2001; Onyeagba et al., 2004; Amin & Kapandis, 2005)。而有关大蒜酯类提取物的抑菌效应仅宋卫国等 (2005) 有过初步报道。

本试验以贵州的两个大蒜品种为材料, 探讨其根系分泌物、大蒜水提取物以及乙酸乙酯提取物对不同种类土传性病原菌的抑菌作用, 拟探明大蒜作为良好的前茬作物的作用机制, 为土传性病害生物防治以及无公害生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大蒜品种为贵州省毕节白皮蒜和云南紫皮蒜。供试病原菌为辣椒疫霉病病菌, 来源于贵州省农业科学院植病研究所, 番茄青枯病病菌来源于贵州大学贵州山地农业病虫害重点实验室植保研究所, 草莓灰霉病病菌从草莓上分离接种获得。辣椒疫霉病病菌于蛋白胨葡萄糖孟加拉红培养基上 25 ℃ 条件下培养 72 h。草莓灰霉病病菌分离、纯化及培养采用方中达 (1998) 的方法, 于 PDA 培养基上 25 ℃ 培养 72 h。番茄青枯病病菌于 PDA 培养基上 30 ℃ 恒温箱中培养 72 h。

1.2 大蒜根系分泌物的提取

大蒜根系分泌物的提取参照周艳丽等 (2007a) 的方法。选择大小、质量一致的蒜瓣, 剥去外衣, 先用洗洁精清洗, 晾干, 75% 乙醇表面消毒 1 min, 无菌水冲洗 3~5 次, 再用升汞浸泡 10 min 后, 无菌水冲洗 3~5 次。将蒜瓣接种到 6% 琼脂培养基上, 每瓶接 2 瓣。密封后置于 20 ℃, 12 h 光照, 4 000 lx 的无菌条件下培养。为获得不同苗龄的大蒜根系分泌物, 分别将白皮蒜和紫皮蒜培养 10、20、30、40 d 后取出大蒜, 培养基中即含有大蒜根系分泌物。

1.3 大蒜水提取物和乙酸乙酯提取物的分离

小心剥去蒜瓣外衣, 称取 50 g, 洗洁精清洗后, 无菌水冲洗 3~5 次, 将其捣碎呈糊状, 加入 30 mL 无菌水浸泡 24 h 后进行过滤, 在超声波清洗器中超声振荡提取 30 min, 离心后取上清液, 在恒温下旋转蒸发浓缩, 得到大蒜水提取物约 40 g, 定容至 100 mL, 得到的母液浓度为 400 mg · mL⁻¹。同样处理得到的水提取液参照宋卫国等 (2005) 的方法, 用乙酸乙酯分液萃取, 对得到的大蒜提取液乙酸乙酯相进行旋转蒸发浓缩, 得到的浓缩物质为乙酸乙酯提取物 (约 3 g)。用 100 mL 乙酸乙酯定容后得到的母液浓度为 30 mg · mL⁻¹。

1.4 抑菌试验设计

分别在 10、20、30、40 d 4 个苗龄期进行根系分泌物处理。混合培养基平板的制备参照周艳丽等 (2007b) 的方法: 50 ℃ 水浴溶解含有大蒜根系分泌物的 PDA 培养基, 在无菌条件下将其与病菌培养基进行混合, 混合比例为 1:1, 倒置平板, 每个培养皿倒入混合培养基 15 mL。

对照为不含大蒜根系分泌物的培养基。

试验对紫皮蒜、白皮蒜水提取物和乙酸乙酯提取物各设置 5 个不同浓度: 1.25、2.50、5.00、10.00、20.00 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。大蒜提取物分别与病菌培养基混合后倒置平板。用打孔器取生长均匀的菌丝培养基柱, 移植到大蒜提取物培养基上。对照为不含有大蒜提取物的培养基。辣椒疫霉病或草莓灰霉病病菌菌落实际增长直径=实测菌落直径平均值-接种时截取的菌落直径。每处理菌落 10 次重复。细菌性病害的抑菌效果采用滤纸片法测定 (苏莉, 2008), 每皿 4 个滤纸片, 每处理 3 皿。25 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗培养, 3 d 后测量抑菌圈直径。试验数据采用 LSD 法进行统计分析 (SAS 软件)。

2 结果与分析

2.1 大蒜根系分泌物对 3 种土传性病原菌的抑菌作用

2.1.1 大蒜根系分泌物对辣椒疫霉病菌的抑菌作用 由图 1 可见, 不同苗龄紫皮蒜根系分泌物培养基上辣椒疫霉病菌菌落实际增长直径从小到大依次为: 30 d < 20 d < 10 d < CK, 各个处理根系分泌物培养基菌落实际增长直径差异达到极显著水平, 10 d 以上苗龄紫皮蒜和白皮蒜根系分泌物对辣椒疫霉病菌均具有显著抑菌作用, 且以 30 d 苗龄抑制效果最佳。

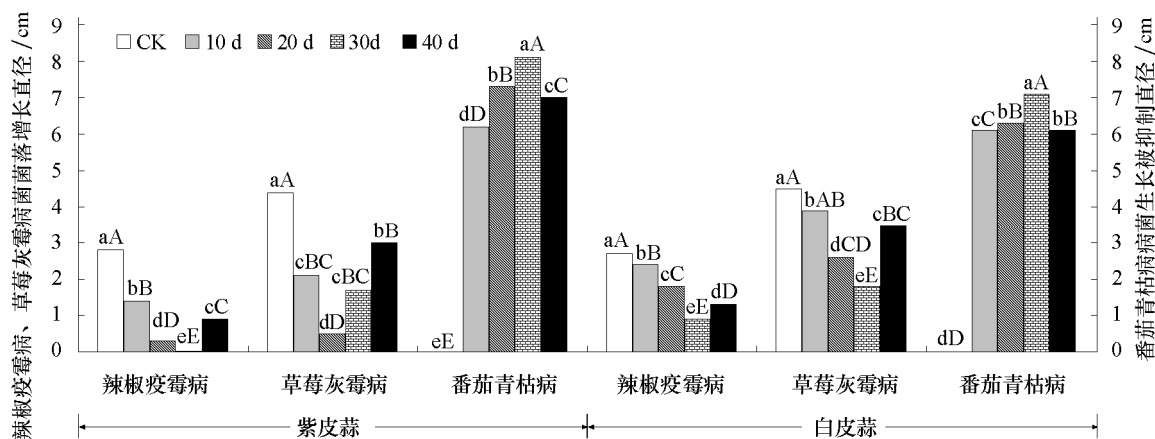


图 1 大蒜根系分泌物对辣椒疫霉病、草莓灰霉病和番茄青枯病病菌的抑菌效果

相同病原菌图柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($\alpha=0.05$), 不同大写字母表示处理间差异极显著 ($\alpha=0.05$), 下同。

2.1.2 大蒜根系分泌物对草莓灰霉病菌的抑菌作用 由图 1 可知, 与对照相比 10 d 苗龄紫皮蒜的根系分泌物对草莓灰霉病菌表现出极显著的抑制作用, 抑制效果以 20 d 和 30 d 苗龄根系分泌物最好, 且紫皮蒜对草莓灰霉病菌的抑制效果比白皮蒜好。

2.1.3 大蒜根系分泌物对番茄青枯病菌的抑菌作用 由图 1 可见, 不同苗龄紫皮蒜对番茄青枯病菌的抑菌圈直径均极显著大于对照, 彼此间差异达极显著水平。白皮蒜根系分泌物抑菌圈直径随苗龄的增加呈先升后降的趋势, 30 d 苗龄的抑菌圈直径极显著高于其他处理。除 10 d 苗龄外, 各苗龄紫皮蒜对番茄青枯病菌的抑菌圈直径大于白皮蒜, 表明紫皮蒜对番茄青枯病菌的抑菌效果比白皮蒜好。

2.2 大蒜水提取物对 3 种土传性病原菌的抑菌作用

2.2.1 大蒜水提取物对辣椒疫霉病菌的抑菌作用 由图 2 可见, 紫皮蒜水提取物浓度为 1.25 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 2.50 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 其培养基上辣椒疫霉病菌菌落增长直径均极显著低于对照。当水提取物浓度达到 5.00 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 及其以上时, 辣椒疫霉病菌被完全抑制。白皮蒜水提取物在浓度为 1.25 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 2.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时对辣椒疫霉病菌表现出抑制作用, 当水提取物浓度

达到 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 其培养基中病原菌完全被抑制。

2.2.2 大蒜水提取物对草莓灰霉病病菌的抑菌作用 由图 2 可见, 紫皮蒜水提取物浓度在 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 对草莓灰霉病病菌菌落生长的抑制作用与对照差异极显著。当水提取物浓度达到并超过 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 可完全抑制草莓灰霉病病菌菌落生长。和紫皮蒜相比, 白皮蒜水提取物对草莓灰霉病病菌的最低抑制浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 极显著低于对照。当水提取物浓度达到 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 草莓灰霉病病菌菌落生长被完全抑制。

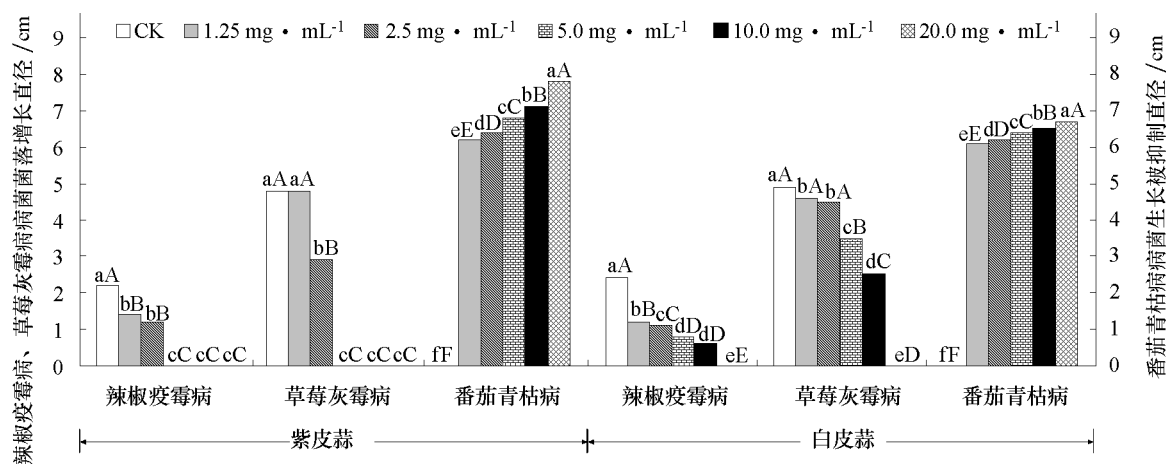


图 2 大蒜水提取物对辣椒疫霉病、草莓灰霉病和番茄青枯病病菌的抑菌效果

2.2.3 大蒜水提取物对番茄青枯病病菌的抑菌作用 图 2 结果还表明, 紫皮蒜水提取物浓度为 $20.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 番茄青枯病病菌的抑菌圈直径最大, 各浓度处理间抑菌圈直径差异均达极显著水平。白皮蒜水提取物对番茄青枯病病菌抑制作用的趋势大致和紫皮蒜相同, 各浓度白皮蒜水提取物对番茄青枯病病菌的抑菌作用均小于紫皮蒜。

2.3 大蒜乙酸乙酯提取物对 3 种土传性病原菌的抑菌作用

2.3.1 大蒜乙酸乙酯提取物对辣椒疫霉病病菌的抑菌作用 如图 3 所示, 紫皮蒜鳞茎乙酸乙酯提取物对辣椒疫霉病病菌的最低抑菌浓度为 $1.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 提取物浓度为 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 或以上时, 辣椒疫霉病病菌菌落生长被完全抑制。

白皮蒜乙酸乙酯提取物最低抑菌浓度相对较高, 为 $2.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 辣椒疫霉病病菌菌落增长直径显著低于对照。当提取物浓度大于 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 培养基上辣椒疫霉病病菌菌落生长完全被抑制。

2.3.2 大蒜乙酸乙酯提取物对草莓灰霉病病菌的抑菌作用 由图 3 可见, 紫皮蒜鳞茎乙酸乙酯提取物对草莓灰霉病病菌的最低抑菌浓度为 $1.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。当浓度为 $2.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 及其以上时, 草莓灰霉病病菌生长被完全抑制。白皮蒜乙酸乙酯提取物对草莓灰霉病病菌菌落生长的最低抑制浓度相对较高, 为 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。当提取物浓度增至 $20 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 草莓灰霉病病菌菌落生长被完全抑制。

2.3.3 大蒜乙酸乙酯提取物对番茄青枯病病菌的抑菌作用 由图 3 可以看出, 紫皮蒜和白皮蒜的鳞茎乙酸乙酯提取物对番茄青枯病病菌的抑菌效果均随提取物浓度的增加而增强。其中, 紫皮蒜乙酸乙酯提取物浓度为 $1.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 其抑菌圈直径极显著大于对照, 且各处理间差异均达极显著水平。

白皮蒜鳞茎乙酸乙酯不同浓度提取物对番茄青枯病病菌的抑制效果总体和紫皮蒜相似, 但各浓度提取物抑菌圈直径相应小于紫皮蒜, 表明紫皮蒜乙酸乙酯提取物对番茄青枯病病菌抑菌

效果比白皮蒜好。

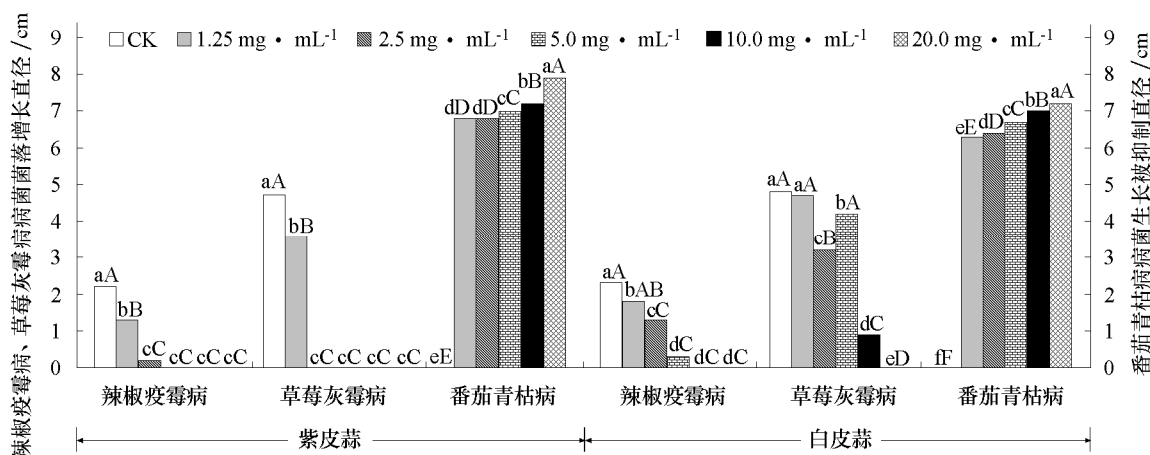


图 3 大蒜乙酸乙酯提取物对辣椒疫霉病、草莓灰霉病和番茄青枯病病菌的抑菌效果

3 结论与讨论

大蒜不仅具有广谱杀菌作用,还作为一种理想的间套作作物,取得了很好的田间生物防治效果。许多研究表明,大蒜的这种作用主要源于其根系分泌物的他感作用和鳞茎内富含高效的杀菌化合物(高子勤和张淑香,1998;陈能煜等,2000;周娟等,2002;Benkeblia,2004)。前人的研究结果表明,大蒜的根系分泌物和鳞茎提取物对不同的病原菌具有一定的抑菌作用(Adaeze et al.,2008;Ivanova et al.,2009)。例如,大蒜鳞茎粗提物对辣椒疫霉病菌菌丝及孢子均有显著的抑制作用(苏莉,2008),大蒜鳞茎提取物对苏云金芽孢杆菌(翟兴礼,2009),番茄早疫病菌(徐文静等,2008),以及灰霉病菌(耿建峰等,2008;尹晓东等,2008)也有明显的抑制效果。大蒜乙醇提取物对烟草青枯病菌有明显的控制效果(赖荣泉等,2011)。另外,康萍芝等(2006)的研究结果表明,大蒜根系分泌物对小麦的全蚀病菌具有较好的抑制作用,还有研究表明,大蒜植株的水浸液对西瓜和黄瓜的枯萎菌以及辣椒疫病菌表现出抑制效果(佟飞等,2007)。但也有不一致的报道,如Onyeagba等(2004)的研究结果表明大蒜的水提取物和乙醇提取物对任何细菌都不具有抑制作用。另外,有关大蒜乙酸乙酯提取物对土传性病菌的抑制作用的研究仅见宋卫国等(2005)的报道。

本试验结果表明,两个大蒜品种的根系分泌物、鳞茎水提取物和乙酸乙酯提取物对辣椒疫霉病、草莓灰霉病和番茄青枯病的病原菌都表现出强烈的抑制作用。其中,根系分泌物对3种土传性病原菌的抑制作用均以30 d苗龄的分泌物效果最佳;紫皮蒜水提取物完全抑制辣椒疫霉病、草莓灰霉病菌菌落生长的最低抑菌浓度为 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,而白皮蒜的最低抑菌浓度则为 $20.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。紫皮蒜乙酸乙酯提取物完全抑制辣椒疫霉病菌和草莓灰霉病菌菌落生长的最低浓度分别为 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $2.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,而白皮蒜乙酸乙酯提取物最低抑菌浓度则分别为 $10.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $20.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;二者乙酸乙酯提取物最低抑菌浓度达到 $20.00 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时对番茄青枯病菌具有很好的抑制效果,但总体上紫皮蒜对番茄青枯病菌的抑菌效果比白皮蒜好。

试验结果还表明,大蒜水提取物、乙酸乙酯提取物抑制细菌性病害(番茄青枯病)的浓度较真菌性病害(辣椒疫霉病、草莓灰霉病)高。另外,两个大蒜品种的乙酸乙酯提取物的抑菌效果均要好于水提取物。前人的研究表明,大蒜水溶性组分中具有抑菌活性的主要成分可能为

有机硫化物,如S-烯丙基-L-半胱氨酸、S-烯丙基巯基-L-半胱氨酸等(闫森森等,2010)。周艳丽(2007)的研究表明,琼脂培乙酸乙酯提取物可能成分为2,6-二异丙基苯酚、2,6-二叔丁基对甲酚、2,6-二异丙基苯酚、邻苯二甲酸二丁酯以及二烯丙基二硫化物等。对于本试验中大蒜地方品种白皮蒜和紫皮蒜具有抑菌活性的提取物的主要成分需要做进一步的实验分析。

目前,农业生产上防治土传病害的主要手段为化学杀菌剂,这无疑对人类健康和生态环境造成不容忽视的危害。利用大蒜分泌物具有他感作用的原理,在多种作物中套作大蒜可以有效防治病害的发生(杨彬等,2008;郝丽霞等,2010)。因此,大蒜作为理想的植物源农药,可以用于替代传统的化学杀菌剂,作为很好的无公害茄果类蔬菜生产的前茬作物,广泛应用于无公害绿色蔬菜和有机农产品的生产。本试验的研究结果为选择抗菌大蒜品种和提取物的方式应用于田间病害防治提供了借鉴。

参考文献

- 陈能煜,伍睿,陈丽,刘戎,赵立勉,王静,田敏卿. 2000. 大蒜研究进展. 天然产物研究与开发, 12(2): 67-73.
- 方中达. 1998. 植病研究方法. 3版. 北京: 中国农业出版社.
- 耿建峰,黑田克利,田中一久. 2008. 洋葱油和大蒜提取物对灰霉菌的作用效果. 中国蔬菜, (5): 20-22.
- 高子勤,张淑香. 1998. 连作障碍与根际微生态研究 I. 根系分泌物及其生态效应. 应用生态学报, 9(5): 549-554.
- 郝丽霞,程智慧,孟焕文,孙金利,韩玲. 2010. 设施番茄套作大蒜的生物和生态效应—套播时期对不同品种大蒜生长发育和产量的影响. 生态学报, 30(19): 5316-5326.
- 康萍芝,白小军,沈瑞清,张丽荣. 2006. 不同作物根系分泌物对小麦全蚀病菌的影响. 内蒙古农业科技, (4): 37-38.
- 赖荣泉,曾文龙,江桂花,李玲英,谢先辉. 2011. 大蒜乙醇提取物对烟草青枯病及普通花叶病的控制作用初报. 云南农业大学学报, 26(2): 284-287.
- 宋卫国,李宝聚,石延霞,刘开启. 2005. 大蒜提取物抑制番茄灰霉菌活性测定. 中国蔬菜, (8): 21-22.
- 苏莉. 2008. 大蒜 (*Allium sativum* L.) 鳞茎粗提物对辣椒疫霉病抑制效应及其机理 [硕士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- 佟飞,程智慧,金瑞,周艳丽. 2007. 大蒜植株水浸液醇溶成分的化感作用. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 35(6): 119-124.
- 徐文静,郑陪和,杜茜,周义发,董英山,李启云. 2008. 大蒜抑菌成分提取方法及抑菌活性的研究. 吉林农业科学, 33(3): 50-54.
- 闫森森,许真,徐蝉,郭得平. 2010. 大蒜功能成分研究进展. 食品科学, 31(5): 312-318.
- 杨彬,陈修斌,杨德江,鄂利锋. 2008. 辣椒套作大蒜对辣椒疫病防治效果研究初探. 河西学院学报, 24(2): 59-60.
- 尹晓东,魏松红,刘冰,何智勇,白莹莹,胡莎. 2008. 大蒜提取液对番茄两种真菌病害的抑制作用. 沈阳农业大学学报, 39(1): 89-91.
- 翟兴礼. 2009. 大蒜水提物对苏云金芽孢杆菌的抑制作用. 长江蔬菜, (6): 70-72.
- 周娟,贾恩礼,周广军. 2002. 大蒜对病原微生物作用的研究进展. 时珍国医国药, 13(10): 633-635.
- 周艳丽,程智慧,孟焕文. 2007a. 大蒜根系分泌物对不同受体蔬菜的化感作用. 应用生态学报, 18(1): 81-86.
- 周艳丽,程智慧,孟焕文,高红春. 2007b. 大蒜根系水浸液及根系分泌物的化感作用评价. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 35(10): 87-92.
- 周艳丽. 2007. 大蒜 (*Allium sativum* L.) 根系分泌物的化感作用研究及化感物质鉴定 [博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Adaeze J C, John O C, Derrick J S. 2008. Aqueous extraction of dried and fresh garlic, and comparative antimicrobial susceptibility testing of garlic extracts on selected *Bacteria*. BIOS, 79(2): 56-60.
- Amin M, Kapandis B P. 2005. Heat stable antimicrobial activity of *Allium ascalonicum* against bacteria and fungi. Indian J Exp Biol, 43(8): 751-754.
- Benkeblia N. 2004. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). Lebensm Wiss Technol, 37: 263-268.
- Fenwick G R, Hanley A B. 1985. The genus *Allium* — part 3. Medicinal effects. CRC Crit Rev Food Sci Nutr, 23: 1-73.
- Ivanova A, Mikhova B, Najdenski H, Tsvetkova I, Kostova I. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of wild garlic *Allium ursinum* of Bulgarian origin. Natural Product Communications, 4(8): 1059-1062.
- Onyeagha R A, Ugbogu O C, Okeke C U, Iroakasi O. 2004. Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* Linn), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and lime (*Citrus aurantifolia* Linn). African Journal of Biotechnology, 3(10): 552-554.
- Unal R, Fleming H P, McFeeters R F, Thompson R L, Breidt Jr F, Giesbrecht F G. 2001. Novel quantitative assays for estimating the antimicrobial activity of fresh garlic juice. J Food Prot, 64(2): 189-194.