Diala , Jour , Volume , 42 , 2010

دور مذيب الاستخلاص في الفعالية التثبيطية لنبات الشيح تجاه أنواع من الفطريات

م.د.علي أمين ياسين
قسم علوم الحياة- كلية العلوم
جامعة ديالى

م.د. نضال محمد صالح
قسم علوم الأغذية و التقانات الإحيائية
جامعة بغداد

الخلاصة:
أشارت الدراسة إلى أهمية دور مذيب الاستخلاص في أظهار وتنوع الفعالية التثبيطية لنبات الشيح Santonica (Artemisia herbaalba) تجاه أنواع مختلفة من الفطريات، ففي الوقت الدقي عجز فيه المستخلص المائي لهذا النبات في أظهار أي تثبيط لخميرة 9 Saccharomvices cerevisiaea وخميرةalhicanc نجح مستخلص خلات الأثيل في إحداث نثبيط بسيط لكلا الخميرتين. أشارت الدراسة على العموم إلى أن مستخلص نبات الشيح قد نجح في أظهار تثبيط أعلى تجاه عفن Aspergellus niger و Penicillium spp مقارنة مع الخمائر المدروسة. وأكدت الدراسة إلى دور المذيب المستعمل للاستخلاص على النشاط النثبيطي للشيح تجاه الأعفان المدروسة إذ بلغت نسبة التثبيط للمستخلص المائي للشيح 89.79% و 31.65% لعفن Aspergellus niger Penicillium spp على التوالي فان هذه النسبة لم تزد عن 51.42% و 11.3% للمستخلص الكحولي تجاه الأعفان أعلاه، ولم تزد نسبة التثبيط لمستخلص الهكسان للنبات عن 32.14% و62.46% على التوالي، في حين سجل مستخلص خلات الأثيل لنبات الشيح أقل قدرة تثبيطية تجاه الأعفان المختبرة حيث لم تزد نسبة التثبيط في أعلى تركيز للمستخلص عن 22.34% و 13.53% بالنسبة لعفنAspergellus niger و على التوالي.

المقدمة:
يعد نبات الشيح Santonica والمعروف في الأوساط العلمية باسم Artemisia herhaalba عضوا في الفصيلة المركبة و نبات معمر تمتاز أوراقه برائحة عطرية قوية وله أنواع كثيرة منتشرة في روسيا وأواسط أسيا وإيران وأغلب هذه الأنواع تكون برية كما يمكن زراعته في الأراضي ذات الترب الرملية وغالبا ما يتم استعمال جميع أجز اء النبات ماعدا الجذور (5). تتميز أجزاء النبات باحتوائها على زيت أساسي ومادة السانثولين والتي يعزى لها المفعول الطبي للنبات غير أن نسب تواجدها تتباين بحسب نوعية ومكان زراعة ووقت جمع النبات، هذا علاوة على احتواء الشيح على العديد من الزيوت ا الطيارة والتي قد تصل نسبنها إلى 3% (8). العديد من مواقع شبكة المعلومات الدولية ذكرت أن النبات أظهر دور فعال في قطع البلغم وعلا ج المغص وطرد الديدان المعوية كما أنه أظهر فعالية جيدة جدا لعلاج مرض البول السكري، واستعملت بعض أجزاء النبات كبخور يتم حرفه في المساكن والأماكن المزدحمة لإضفاء الرائحة جيدة (9, 10). ومع نهايات ستينات القرن

الماضي عمم الجيش الصينى علاجا كان فعالا ضد مرض الملاريا والذي كان منتشرا بين الجنود الصينيين في ذلك الوقت واستخلص هذا الدواء من عشبه الشيح البرية التي كانت منتشرة بكثرة في الصين (8).
وأشارت العديد من الدراسات إلى أهمية نبات الشيح البريه طبيا فهو خافضا للحرارة ومضاد للالتهابات إذ ذكرت هذه الدراسات إلى أن نبات الشيح يحتوي على 2 % من وزنه زيوت طيارة مثل الليمونين ونيمول والميرسين والكمفور (9). ومن هنا هدفت هذه الدراسة إلى معرفة قدرة نبات الشيح التثبيطية تجاه أنواع من الفطريات التي تنتشر بكثرة في الطبيعة.

المواد وطرائق العمل:

1- نبات الشيح:

تم شراء النبات المجفف (الأوراق والسيقان الدقيقة) من أسواق مدينة بغداد، وبعد طحنه باستخدام المطحنة الكهربائية تم غربلته بشكل جيد ثم حفظ في أكياس البولي أثلين جافة ومحكمة الغلق لحين الاستعمال.

2 - عزلات الأحياء المجهرية:

اشتملت العزلات على نوعين من الخمائر هي Saccharomyces cerevisiae و خميرة Candida albicans واثنان من الأعفان هماAspergellus niger وpenicillium spp إذ تم الحصول عليها من مختبرات الأحياء المجهرية التابعة لكلية الزراعة/ جامعة بغداد.

3- طرائق الاستخلاص:

أستخلص 10 غرام من نموذج الشيح المجفف مائيا، وذلك بإضافة مل من الماء المقطر بدرجة الغليان إلى النموذج وترك لمدة 30 دقيقة بعدها رشح المزيج بالتفريغ وركز بالمبخر الدوار عند درجة حرارة 65 م حتى بلغ حجم الراشح 20 مل، بعدها عقم المحلول بتمريره عبر ورق ترشيح ذات مسامية 45 .3 مايكر و ميتر (20).
كما أستخلص 10 غرام أخرى من نفس النموذج باستخدام الكحول الأنبل 80% أذا ضيف مل من الكحول إلى النموذج ومزج باستخدام المازج المغناطيسي لمدة 24 ساعة بعدها رشح المستخلص الناتج بتمريره عبر ورق ترشيح ثم أعيد استخلاص الراسب بالطريقة نفسها ولمرتين متتاليتين. جمع الراشح الناتج عن الوجبات الثلاثة وركز على حرارة 40-45 م^5 باستخدام المبخر الدوار حتى أصبح الحجم النهائي له 20 مل (18). أستخلص جزء آخر من النموذج بواسطة الهكسان حيث أضيف 50 مل من الهكسان إلى 5 غرام من مسحوق نبات الشيح المجفف، ثحم رج المزيج جيدا وترك المزيج فى قمع الفصل حتى تكونت طبقتين منفصلتين، تم استخلاص الطبقة المائية لمرتين متتاليتين ثم جمعت الطبقات الزيتية التي تكونت في كل مرة. ركز المزيج المجمع باستخدام المبخر الدوار وذلك للتخلص من المذيب الى أن بلغ حجم المستخلص 20 مليلتر (9). كما استخلص النموذج باستخدام خلات المثيل حيث أضيف من الخلات المائية إلى 15 غرام من مسحوق نبات الشيح المجفف وتم المزج جيدا ثم وضع المزيج في قمع الفصل وترك حتى تكونت طبقتين

منفصلتين. تم استلام الطبقة الزيتية في دورق خاص في حين تم أعادة استخلاص الطبقة المائية مرة أخرى وبنفس الأسلوب السابق. تم أعادة الاستخلاص مرة ثالثة للطبقة المائية المتبقية في قمع الفصل في حين تم إضافة الطبقة الزيتية إلى الطبقة المتحصل عليها في خطوة الاستخلاص الأولى. جمعت الوجبات الثلاثة وركزت باستخدام المبخر الدوار إلى أن وصل حجم الر الراشح إلى 20(9).

4- تقدير الفعالية التثبيطية للمستخلصات الأربعة لنبات الشيح تجاه الأحياء المجهرية:

اعتمدت طريقة الانتشار القرصي(16) Filter paper discs diffusion في تقدير الفعالية التثبيطية للمستخلصات تجاه الخمائر. فباستعمال قضيب زجاجى معقم تم نشر 0.1 مل من مزارع الخمائر المنشطة مسبقا على وسط pda المتصلب، بعدها وزعت أقراص ورق الترشيح ذات قطر 4 ملم على سطح الوسط وبواقع ست أقراص في كل طبق، حمل كل قرص من الأقراص المذكورة بـ 10 مايكروليتر من المستخلصات أعلاه. حضنت الأطباق على درجة حرارة 28; م لمدة 48 ساعة ثم قيست أقطار الهالات الشفافة المتكونة حول الأقراص المنتشرة في الأطباق. في حين قدرت الفعالية التثبيطية للمستخلصات الأربعة تجاه الأعفان حسب الطريقة التي ذكر ها E1-Ghaouth وجماعته ((14) وذلك بإضافة 5 مل من الماء المقطر المعقم إلى كل من عزلة عفن A. niger وعفن Penicilliur. spp النامية على وسط وبعمر 7 أيام إذ فصلت السبورات من الوسط الزراعي بوساطة الناقل Loop المعقم مع التحريك البسيط ثم مرر السائل الحاوي على الخيوط الفطرية والسبورات خلال قمع يحتوي قطنا مغلفا بشاش (تم تعقيمه في الموصدة) للتخلص من الخيوط الفطرية. بعدها وضعت الأنابيب الحاوية على الراشح في جهاز النبذ المركزي لمدة 5 دقائق وبسرعة 3000-دورة/ دقيقة. ثم أهمل الراشح وأضيف للراسب 5 مل من الماء المقطر المعقم مع المزج بالمازج الكهربائي Vortex لمدة دقيقة واحدة. أخذت قطر ة من العالق السبوري Spore suspension بماصة باستور ووضعت في شريحة عد كريات الدم Haemocytometer فتم الحصول على عالق سبوري من عفن A.niger بعد - 25 . .10 x6 ، سبور/ مل. وعالق لسبوري من Penicillium, spp - بعدد 3. 4 X4.310 سبور/ مل. وبعد أن خفف العالق خمسة مرات متتالية سحب 1 مل منه في كل مرة وأضيف إلى 9 مل ماء مقطر معقم وصولا إلى التركيز المستعمل في الدراسة. حضر محلول أساس لتنمية العالق السبوري وذلك بمزج 100 و 200 و 300 مايكرو غر ام من المستخلص على التوالي مع وسط PDA المعقم مسبقا والمبرد إلى درجة حرارة 045 م بعدها صب المزيج في أطباق بترفي وترك المزيت ليتصلب (12). ثم بواسطة اللوب (loop) المعقم وضعت قطرة من العالق
السبوري في وسط الطبق وحضن على درجة حر ارة 28م لمدة 6 آيام. قيست أقطار نمو المستعمرات المتكونة بعد انتهاء فترة الحضن وقورنت مع المستعمر أت النامية في أطباق السيطرة المحتوية على الوسط الغذائي فقط ثم حسبت النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة التالية:

النتائج والمناقشة:

تشير النتائج الواردة في الجدول (1) إلى أن المستخلص المائي لنبات الشيح لم يظهر أي تأثير تثبيطي واضح تجاه نوعي الخميرة المختبرة و اذ قد يعود لعدم قدرة الماء على استخلاص السانثولين وهي مادة بلورية شحيحة الذوبان في الماء (8) أذ أشارت الدراسات السابقة إلى فشل المستخلصات المائية العشرين نبات منشأها الأراضي الفلسطينية من أحداث أي تثبيط تجاه خميرة.c (albicans (11 .

ويشير الجدول نفسه إلى أن المستخلص الكحولي لهذا النبات قد أظهر تأثيرا طفيفا تجاه خميرة C. albicans حيث بلغ معدل قطر الهالة الشفافة المتكونة حول القرص الحاوي على هذا المستخلص حوالي 5. 13 ملم، فى حين فشل نفس المستخلص في أظهار أي تثبيط تجاه خميرة S. cerevisiae إلا آن نموها تأثر سلبا بمستخلص الهكسان أذ تكونت هالة شفافة حول القرص الحاوي على هذا المستخلص أذ بلغ معدل قطرها حوالي 16.6 ملم.

جدول (1) تأثير مذيب الاستخلاص لنبات الشيح على نمو خميرة. S *cerevisiae* خميرة *C. albicans*

نوع المستخلص	*S. cerevisiae*		*C. albicans*		معاملة المقارنة	
	القراءة	قطر الهالة الشفافة (ملم)	القراءة	قطر الهالة الشفافة (ملم)		
مستخلص المائي	1	—	1	—	—	—
	2	—	2	—	—	—
المستخلص الكحولي	1	—	1	13.1	12.7	12.9
	2	—	2	13.9	12.3	12.0
مستخلص الهكسان	1	17.9	1	—	8.35	—
	2	15.3	2	—	8.15	—
مستخلص خلات الاثيل	1	10.4	1	12.8	8.4	10.1
	2	10.3	2	12.7	9.18	10.0

(-): المستخلص لا يمتلك فعالية تثبيطية.
إن هذا يعود إلى اختلاف قدرة المستخلص الكحولي لنبات الشيح عن مستخلص الهكسان للنبات نفسه في تثبيط عفن الاختبار، إذ تختلف المذيبات في قطبيتها وبالتالي هي تختلف بنوعية المكونات الفعالة التي تستخلص بواسطتها من النبات، وقد يكون لهذا تأثير في نوع من الأحياء المجهرية دون غيرها.
وبين الجدول نفسه بان مستخلص خلات الأنبل لنبات الشيح قد ثبط بشكل طفيف نمو نوعي الخميرة المختبرة حيث بلغ معدل قطر الهالة الشفافة المتكونة حول القرص الحاوي على هذا المستخلص 10.35 ملم و ملم لكل من خميرة S cerevisiae وخميرة c albicansعلى التوالي. أن التأثير التثبيطي لنبات الشيح تجاه نوعى الخميرة المختبرة قد يعود لامتلاكه لأكثر من مركب فعال تجاه الأحياء المجهرية. فالنبات يحوي على الكلوكوسيدأت والزيوت العطرية إضافة إلى مركبات أخرى قد تساهم فى التأثير التثبيطى له وهذا أنعكس سلبا على قدرة الخميرة على النمو بوجود مستخلص هذا النبات.
كما أشارت الدراسة إلى امتلاك نبات الشيح تأثير تثبيطي تجاه عفن .A niger وعفن penicillium spp ولكن هذا التأثير تباين تبعا لنوع مذيب الاستخلاص وتركيزه فى بيئة التنمية. إذ يبين الجدول (2) أن المستخلص المائي للنبات له قدرة جيدة جدا على تثبيط نوعي عفن الاختبار وأن هذه القدرة تناسبت إيجابا مع تركيز المستخلص، وتفاوت نسب اللتثبيط تبعا لنوعي العفن. أن ذلك يمكن مردة للامتلاك نبات الشيح لأكثر من مكون فعال مثل Thugone وAbsinthin و Santonin و 4) Misin وان ذأئبية هذه المكونات تتباين تبعا لنوعيتها وقطبيتها علاوة على نوعية مذيب الاستخلاص. فقسم منها سهل الذوبان في الماء كالكلوكوسينو لات الملونة والحاملة للفلافونات والأنثوسيانبنات (2). وبلغت نسبة تثبيط المستخلص تجاه عفن A.niger 32.14 و 77.55 و 89.79% لتركيز100 و200 و300 ميكروغرام/ مل على التوالي وبلغت هذه النسبة 55.16 و60.23 و65.31% لعفن لنفس التركيز أعلاه، وهذا يعزى إلى أنه ليس كل المركبات الطبيعية المتواجدة في النباتات ذات التأثير المضاد للأحياء المجهرية مرتبطة مع الزيوت الأساسية أو لها علاقة بالجزء الدهني(13 ,22) .

جدول (2) تأثير المستخلص المائي لنبات الشيح على نمو سبورات عفن*A. niger* و *Penicillium spp.*

التركيز مايكرو غرام/ مل	*Aspergelus niger*		*Penicillium spp*	
	معدل قطر مستعمرة العفن (سم)	نسبة التثبيط%	معدل قطر مستعمرة العفن(سم)	نسبة التثبيط%
100	6.65	32.14	2.65	55.16
200	2.2	77.55	2.35	60.23
300	–	89.79	2.05	65.31
معاملة السيطرة	9.8	0	5.9	0

(-): المستخلص لا يمتلك فعالية تثبيطية.
كما أشار الجدول(3) إلى أن المستخلص الكحولى للشيح أظهر نشاطا متوسطا تجاه عفن A. niger بلغ 20.71 و 40.20 و 51.42% ه للتركيز100 و 00 2 و 300 ميكروغر ام/مل على التوالى، ولكن هذا النشاط انخفض بوضوح بالنسبة لعفنPenicilliurn spp حيث بلغ 0.51 و 6. 77 و11.33% لنفس التركيزأعلاه. قد يعود ضعف التأثير التثبيطى للمستخلص الكحولى للشيح فى نمو عفنPenicillium spp عن Aniger إلى وجود مواد فعالة تؤثر على النوع الثاني ولكنها قليلة التاثير على نمو العفن الأول. فمثلا أن للكلوكوسينولات ونواتج تحللها فعالية مضادة للبكتريا Bactericidal ومضادة للفطريات Fungicidal . فهناك أنواع من الفطريات لايتثبط نموها مركب من مركبات الآينموثايوسيانيت ونواتج تحلل الكلوكوسينولات، لكن من الممكن أن يتثبط نموها أنواع أخرى من نواتج تحطم الكلو كو سينو لات (15).
جدول (3) تأثير المستخلص الكحولى لنبات الشيح على نمو عفن المائى على نمو سبورات عفن A. niger و Penicillium spp

التركيز مايكروغرام/ مل	*Aspergelus niger*		*Penicillium spp*	
	معدل قطر مستعمرة العفن (سم)	نسبة التثبيط %	معدل قطر مستعمرة العفن (سم)	نسبة التثبيط %
100	7.77	20.71	5.88	0.51
200	5.86	40.2	5.51	6.77
300	4.76	51.42	5.24	11.33
معاملة السيطرة	9.8	0	5.9	0

ويشير الجدول (4) إلى أن مستخلص الهكسان للشيح تمنع بنسبة تثبيط متوسطة لعفن A.niger بلغت 14.28و25.51 و 32.14% للتركيز100و 200 و300 ميكروغرام/مل على التوالي غير أن لهذا المستخلص وقعا أكثر تأثير اعلى عفن Penicilliunn spp فبلغ 55.16 و 61.08 و 64.46%على التوالي. قد تكون فعالية النبات التثبيطية في الزيت أعلى من بقية المكونات والتي استخلصت بالهكسان كون النبات من النباتات العطرية.
تحتوي النباتات العطرية في جزء او اكثر من أجزائها على زيوت طيارة يستفاد منها في مجالات اقتصادية وطبية (3).
إن الأعشاب والتو ابل غنية بالمركبات الفينولية والعطرية وزيوت أساسية وحو امض دهنية طيارة علاوة على مركبات Oleoresins ومكونات أخر ى لها فعل مضاد تجاه الفطريات (17).
جدول (4) تأثير مستخلص الهكسان لنبات الشيح على نمو عفن Aspergelus

Penicillium spp و *niger*

التركيز مايكروغرام/ مل	*Aspergelus niger*		*Penicillium spp*	
	معدل قطر مستعمرة العفن (سم)	نسبة التثبيط	معدل قطر مستعمرة العفن (سم)	نسبة التثبيط
100	8.4	14.28	2.65	55.16
200	7.3	25.51	2.3	61.08
300	6.65	32.14	2.1	64.46
معاملة السيطرة	9.8	–	5.9	–

ويشير الجدول (5) إلى أن لمستخلص خلات الأثيل تأثير أقل من متوسط تجاه عفن A. niger أذ بلغت نسبة التثبيط 11.49 و13.16و 22.34% للتراكيز 100 و 200 و 300 مايكروغر ام على التوالي، في حين أنخفض هذا التأثير بشكل واضح تجاه عفن Penicillium spp فكان 96 .2 و 87 .6 و13.53% لنفس التراكيز أعلاه. وقد ذكرت الجنابي إلى أن حساسية عفنA. Niger لمستخلص خلات الأثيل لنبات الجنيبرة والحميرة والجرجير أكبر من حساسية عفن Penicillium spp للمستخلص نفسه (1)

جدول (5) تأثير مستخلص خلات الأثيل لنبات الشيح على نمو عفن *A. niger* و *Penicillium spp*

التركيز مايكروغرام/ مل	*Aspergelus niger*		*Penicillium spp*	
	معدل قطر مستعمرة العفن (سم)	نسبة التثبيط%	معدل قطر مستعمرة العفن (سم)	نسبة التثبيط%
100	8.79	11.49	5.74	2.96
200	8.51	13.16	5.53	6.87
300	8.00	22.34	5.11	13.53
معاملة السيطرة	9.8	0	5.9	0

قد يكون لمركبات الكلويكوسيينول ونواتج تحللها دورا رئيسيا في التثبيط تمتلك هذه المركبات فعالية مضادة تجاه أنواع من البكتريا والفطريات (15). كما يلاحظ أن فعالية المستخلص الكحولي التثبيطية لنبات الشيح أقل من فعالية المستخلص المائي تجاه عفني الاختبار وتأثيره في نمو عفن A. niger أكبر من تأثيره في نمو الثاني (جدول 3 . 2)، ويمكن القول بان مركبات الأيسوثايوسيانيت (وهي نواتج تحلل المر كبات الكلكولسيولينية) الأروماتية تكون أكثر سمية من المركبات الأليفاتية والأخيرة تنخفض سميتها تجاه الفطريات مع زيادة طول السلسلة الجانبية (21.19).

Diala , Jour , Volume , 42 , 2010

The Role of the Solvent Extraction in the Inhibiter Activity for Plant Santonica Against Kinds of Fangs

Ali Ameen Yaseen
Biology Department
Science College- Dayala University

Nedhal Mohamed Saleh
Food science and Biotechnology Department
Agriculture College- Baghdad uieversity

The stud displayed the important of the extract solvent role in appear and the variety of inhibition activation for plant Santonica (Arternisia herbaalba) against kinds of fungus. While the aquatic extraction for this plant to demonstrate any inhibition for Saccharomyces cerevisiae and Candida tropicalis yeast, the ethyl acetate has succeeded in occurring simple inhibition for both of them. The study indicated the Santonica has succeeded to show higher inhibition against Aspergellus niger and Penicillium spp mold compared with the studied yeast. The study also confirmed the role of used of the solvent extraction on the inhibition activity for Santonica plant against the studied mold, the inhibition ratio estimated for the against extraction for the aquatic extraction for Santonica was 98.79% and 31.65% for Aspergellus niger and Penicillium spp respectively, while this ratio didn't exceeded 51.42% and 11.3% for alcohol extraction for the same plant against the molds mentioned above. The inhibition ratio of the hexan extraction was 32.14% and 62.46 % respectively, while the ethyl acetate extraction for Santonica plant reported less inhabitant activity against the molds mentioned above, while the inhibition ratio didn't exceeded 22.34% and 13.53% in the highest concentration of extraction for Aspergellus niger and Penicillium spp respectively.

المصادر

1- الجنابي، نضال محمد2004 تأثير بعض المستخلصات النباتية كمضادات للأحياء المجهرية ومضادات للأكسدة وتطبيقها في بعض الأنظمة الغذائية،أطروحة دكتوراه- كلية الزراعة- جامعة بغداد.

2- الشحات، نصر أبو زيد 1986 . النباتات والأعشاب الطبية، دار البحار،بيروت- لبنان.

3- الربعي، عبد الرحمن سعيد والخليدي، عبد الولي أحمد.1996 النباتات الطبية والعطرية في اليمن، انتشارها، ومكوناتها الفعالة واستخداماتها،مركز عبادي للدراسات والنشر، صنعاء- اليمن.

4- الزبيدي، زهير نجيب و بابان، هدى عبد الكريم و فليح، فارس كاظم. 1996 . دليل العلاج بالأعشاب الطبية الراقية. وزارة الصحة- منظمة الصحة العالمية- شركة آب للطباعة الفنية المحدودة.

5- عبد السميع، أيمان.2008 الشيح مضاد قوي للالتهابات، مقالة في موقع الطب الربي، شبكة المعلومات الدولية.

6- قطب، فوزي طه.1981 النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر.

7- محمود، انتصار عبد الحميد1985. تأثير المستخلصات النباتية على بعض الفطريات المسببة للأمراض النباتية. رسالة ماجستير- كلية الزراعة/ جامعةبغداد.

8- منتديات شبكة INFINITY. مقالات عن الطب البديل.2008
WWW_jarasinet_com

9 - منتديات شبكة الأعلام العربية، 2002 . مجموعة مقالات عن الشيح وفوائده الطبية . WWW_Arahianinform_com .

10- منتديات شبكة القصيمي.2009 . فوائد نبات الشيح. شبكة المعلومات الدولية.

.11- Ali-Shtayeh, . .m.s. , R.M. Yaghmour, Y. R. Faidi, K. Salem and M. A. AI-Nuri. 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used .in folkloric medicine in the Palastinian area. j ,.Ethnophannacology, 60:265-271 .

12-Dixit, S.N. , S.C. Tripathi, and R.R. Upadhyay. 1976. The , 30:antifungal of pose flowers rosa indica. Economics Botany ;371-374 .

13-Dawidson,P.M. and A.L. Branen . 1993. Antimicrobials in ,Food. Marcel Dekker, New York

14-. 1999.ei-ghaouth.a.a . , A. Joseph, G. Jean, and Alani, A ،Glucanohudrolases and inhibitory activity to Botrysis cinerea . Canadian, J. Plant pathol.., 13:315-320 .

15- Fahey,. J.w., A. Zalemann, and P. Talalay. 2001. The chemistry .diversity and distribution of glucosinolates and isothio cyaznates ,.Article). Phytochemistry.) 56: 5-51,

16-. 1999.Faleiro , L., G.M. Miguel, and M.C. Brito Antimicrobial activity of essential oils of Rosmarius offcinalis L., Thymus mastichina (L) L . spp mastichina and thymus ;.albicans Hof-nanns & Link. Acta. Hort., 501. ISHS.45-48 .

17-Kim,J.W. . Y.S., Kim and K.H. Kyung. 2004. Inhibitory activity of essential oils of grrlic and onion against bacteria and ., -yeasts, J. Food protect.67:499 -504 .

18-Harbone, J. B. 1973, Photochemical Methods. Champman and .hall, London, new york.

19-Manici, . .LM . , L. Lazzeri, and S. Palmieri. 1997. In vetro -fungitoxic activity of some glucosinolate and their enzyme derived products toward plant pathogenic fungi. Agric. Food .,.Chem.45: 2768-2773 -

20-Pin-der, D. and Y. Gow-Chin. 1997. Antioxidative activity of ,.there herbal water extracts. Food Cgernistry.60)4(: 639-645

21- .Sal-war ،M.,J.A
Kirkegaarrd,P.T. Wong, andJ.M.Desmarcheiier.1998. Biofumigatio n potential of Brassicas, III In vitro toxicity of isithiocyanates to ,.soil-borne fungal pathogens. Plant Soil.201: 103-112

22-Stead, D. 1995. The effect of hydrocinamic acids and Potassium .sorbateb on the growth of 11 strains of spoilage yeasts. J. Appl ., ,Bacterial.78: 82-87