

دور مذيّب الاستخلاص في الفعالية التثبيطية لنبات الشّيح تجاه أنواع من الفطريات

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

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

الخلاصة:

أشارت الدراسة إلى أهمية دور مذيّب الاستخلاص في أظهر وتنوع الفعالية التثبيطية لنبات الشّيح (*Santonica*) (*Artemisia herbaalba*) تجاه أنواع مختلفة من الفطريات، ففي الوقت الدقي عجز فيه المستخلص المائي لهذا النبات في أظهر أي تثبيط لخميرة ٩ *Saccharomvices cerevisiaea* و خميرة *alhicanc* نجح مستخلص خلاص الأثيل في إحداث تثبيط بسيط لكلا الخميرتين. أشارت الدراسة على العموم إلى أن مستخلص نبات الشّيح قد نجح في أظهر تثبيط أعلى تجاه عفن *Aspergellus niger* و *Penicillium spp* مقارنة مع الخمائر المدروسة. وأكدت الدراسة إلى دور المذيّب المستعمل للاستخلاص على النشاط التثبيطي للشّيح تجاه الأعفان المدروسة إذ بلغت نسبة التثبيط للمستخلص المائي للشّيح 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% و 62.46% على التوالي، في حين سجل مستخلص خلاص الأثيل لنبات الشّيح أقل قدرة تثبيطية تجاه الأعفان المختبرة حيث لم تزد نسبة التثبيط في أعلى تركيز للمستخلص عن 22.34% و 13.53% بالنسبة لعفن *Aspergellus niger* و على التوالي.

المقدمة:

يعد نبات الشّيح *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 آسيا وإيران وأغلب هذه الأنواع تكون برية كما يمكن زراعته في الأراضي ذات الترب الرملية وغالبا ما يتم استعمال جميع أجزاء النبات ماعدا الجذور (٥). تتميز أجزاء النبات باحتوائها على زيت أساسي ومادة السانثولين والتي يعزى لها المفعول الطبي للنبات غير أن نسب توأجدها تتباين بحسب نوعية ومكان زراعة ووقت جمع النبات، هذا علاوة على احتواء الشّيح على العديد من الزيوت الطيارة والتي قد تصل نسبها إلى 3% (8). العديد من مواقع شبكة المعلومات الدولية ذكرت أن النبات أظهر دور فعال في قطع البلغم وعلاج المغص وطرد الديدان المعوية كما أنه أظهر فعالية جيدة جدا لعلاج مرض البول السكري، واستعملت بعض أجزاء النبات كبخور يتم حرقه في المساكن والأماكن المزدهمة لإضفاء الرائحة جيدة (٩، ١٠). ومع نهايات ستينات القرن

الماضي عمم الجيش الصيني علاجاً كان فعالاً ضد مرض الملاريا والذي كان منتشرًا بين الجنود الصينيين في ذلك الوقت واستخلص هذا الدواء من عشبة الشيش البرية التي كانت منتشرة بكثرة في الصين (٨).

وأشارت العديد من الدراسات إلى أهمية نبات الشيش البريه طبيا فهو خافضا للحرارة ومضاد للالتهابات إذ ذكرت هذه الدراسات إلى أن نبات الشيش يحتوي على ٢ % من وزنه زيوت طيارة مثل الليمونين ونيمول والميرسين والكمفور (٩). ومن هنا هدفت هذه الدراسة إلى معرفة قدرة نبات الشيش التثبيطية تجاه أنواع من الفطريات التي تنتشر بكثرة في الطبيعة.

المواد وطرائق العمل:

١ - نبات الشيش:

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.

٢ - عزلات الأحياء المجهرية:

اشتملت العزلات على نوعين من الخمائر هي *Saccharomyces cerevisiae* و خميرة *Candida albicans* واثان من الأعفان هما *Aspergillus niger* و *penicillium spp* إذ تم الحصول عليها من مختبرات الأحياء المجهرية التابعة لكلية الزراعة/ جامعة بغداد.

٣- طرائق الاستخلاص:

أستخلص ١٠ غرام من نموذج الشيش المجفف مائيا، وذلك بإضافة مل من الماء المقطر بدرجة الغليان إلى النموذج وترك لمدة ٣٠ دقيقة بعدها رشح المزيج بالتفريغ وركز بالمبخر الدوار عند درجة حرارة ٦٥ م حتى بلغ حجم الراشح ٢٠ مل، بعدها عقم المحلول بتمريره عبر ورق ترشيش ذات مسامية ٤٥. ٣ مايكر و ميتر (٢٠).

كما أستخلص ١٠ غرام أخرى من نفس النموذج باستخدام الكحول الأنبل ٨٠% إذا ضيف مل من الكحول إلى النموذج ومزج باستخدام المازج المغناطيسي لمدة ٢٤ ساعة بعدها رشح المستخلص الناتج بتمريره عبر ورق ترشيش ثم أعيد استخلاص الراسب بالطريقة نفسها ولمرتين متتاليتين. جمع الراشح الناتج عن الوجبات الثلاثة وركز على حرارة ٤٠-٤٥ م باستخدام المبخر الدوار حتى أصبح الحجم النهائي له ٢٠ مل (١٨). أستخلص جزء آخر من النموذج بواسطة الهكسان حيث أضيف ٥٠ مل من الهكسان إلى ٥ غرام من مسحوق

نبات الشيش المجفف، ثم رج المزيج جيدا وترك المزيج في 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 إلى أن بلغ حجم المستخلص ٢٠ مليلتر (٩). كما استخلص النموذج باستخدام خلاص المثيل حيث أضيف من الخلاص المائية إلى ١٥ غرام من مسحوق نبات الشيش 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 إعادة استخلاص الطبقة المائية مرة أخرى وبنفس الأسلوب السابق. تم إعادة 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 ٢٠ (٩).

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

اعتمدت طريقة الانتشار القرصي (١٦) Filter paper discs diffusion في تقدير الفعالية التثبيطية للمستخلصات تجاه الخمائر. فباستعمال قضيب زجاجي معقم تم نشر ٠.١ مل من مزارع الخمائر المنشطة مسبقا على وسط pda المتصلب، بعدها وزعت أقراص ورق الترشيح ذات قطر ٤ ملم على سطح الوسط وبواقع ست أقراص في كل طبق، حمل كل قرص من الأقراص المذكورة بـ ١٠ مايكروليتر من المستخلصات أعلاه. حضنت الأطباق على درجة حرارة ٢٨؛ م لمدة ٤٨ ساعة ثم قيست أقطار الهالات الشفافة المتكونة حول الأقراص المنتشرة في الأطباق. في حين قدرت الفعالية التثبيطية للمستخلصات الأربعة تجاه الأعفان حسب الطريقة التي ذكرها E1-Ghaouth وجماعته (١٤) وذلك بإضافة ٥ مل من الماء المقطر المعقم إلى كل من عذلة عفن *A. niger* وعفن *Penicillium spp* النامية على وسط وبعمر ٧ أيام إذ فصلت السبورات من الوسط الزراعي بواسطة 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 ٥ دقائق وبسرعة ٣٠٠٠-دورة/ دقيقة. ثم أهمل الراشح وأضيف للراسب ٥ مل من الماء المقطر المعقم مع المزج بالمزج الكهربائي Vortex لمدة دقيقة واحدة. أخذت قطرة من العالق السبوري *Spore suspension* بماصة باستور ووضعت في شريحة عد كريات الدم Haemocytometer فتم الحصول على عالق سبوري من عفن *A.niger* بعد - ٢٥ . . ١٠٠ x6 ، سبور/ مل. وعلق لسبوري من *Penicillium, spp* - بعدد ٣. ٤ X4.3١٠ سبور/ مل. وبعد أن خفف العالق خمسة مرات متتالية سحب ١ مل منه في كل مرة وأضيف إلى ٩ مل ماء مقطر معقم وصولا إلى التركيز المستعمل في الدراسة. حضر محلول أساس لتنمية العالق السبوري وذلك بمزج ١٠٠ و ٢٠٠ و ٣٠٠ مايكرو غر ام من المستخلص على التوالي مع وسط PDA المعقم مسبقا والمبرد إلى درجة حرارة ٥٤ م بعدها صب المزيج في أطباق بترفي وترك المزيت ليتصلب (١٢). ثم بواسطة اللوب (loop) المعقم وضعت قطرة من العالق السبوري في وسط الطبق وحضن على درجة حرارة ٢٨ م لمدة ٦ أيام. قيست أقطار نمو المستعمرات المتكونة بعد انتهاء فترة الحضن وقورنت مع المستعمرات النامية في أطباق السيطرة المحتوية على الوسط الغذائي فقط ثم حسبت النسبة المئوية للتثبيط وفق المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{\text{معدل نمو مستعمرات الفطريات في وسط الفعالة} - \text{معدل نمو مستعمرات الفطريات في وسط السيطرة}}{\text{معدل نمو مستعمرات الفطريات في وسط الفعالة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة:

تشير النتائج الواردة في الجدول (١) إلى أن المستخلص المائي لنبات الشيح لم يظهر أي تأثير تثبيطي واضح تجاه نوعي الخميرة المختبرة واذ قد يعود لعدم قدرة الماء على استخلاص السانثولين وهي مادة بلورية شحيحة الذوبان في الماء (٨) أذ أشارت الدراسات السابقة إلى فشل المستخلصات المائية العشرين نبات منشأها الأراضي الفلسطينية من أحداث أي تثبيط تجاه خميرة C. (١١) albicans .

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 ١٣.٥ ملم، في حين فشل نفس المستخلص في إظهار أي تثبيط تجاه خميرة S. cerevisiae إلا أن نموها تأثر سلبا بمستخلص الهكسان أذ تكونت هالة شفافة حول القرص الحاوي على هذا المستخلص أذ بلغ معدل قطرها حوالي 16.6 ملم. جدول (١) تأثير مذيب الاستخلاص لنبات الشيح على نمو خميرة S.

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

(-): 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 ثبت بشكل طفيف نمو نوعي الخميرة المختبرة حيث بلغ معدل قطر الهالة الشفافة المتكونة حول القرص الحاوي على هذا المستخلص ١٠.٣٥ ملم و ملم لكل من خميرة *S cerevisiae* وخميرة *c albicans* على التوالي. أن التأثير التثبيطي لنبات الشيح تجاه نوعي الخميرة المختبرة قد يعود لامتلاكه لأكثر من مركب فعال تجاه الأحياء المجهرية. فالنبات يحوي على الكلوكوسيدات والزيوت العطرية إضافة إلى مركبات أخرى قد تساهم في التأثير التثبيطي له وهذا انعكس سلبي على قدرة الخميرة على النمو بوجود مستخلص هذا النبات.

كما أشارت الدراسة إلى امتلاك نبات الشيح تأثير تثبيطي تجاه عفن *A niger* و عفن *penicillium spp* ولكن هذا التأثير تباين تبعاً لنوع مذيب الاستخلاص وتركيزه في بيئة التخمير. إذ يبين الجدول (٢) أن المستخلص المائي للنبات له قدرة جيدة جداً على تثبيط نوعي عفن الاختبار وأن هذه القدرة تناسبت إيجاباً مع تركيز المستخلص، وتفاوتت نسب التثبيط تبعاً لنوعي العفن. أن ذلك يمكن مرده لامتلاك نبات الشيح لأكثر من مكون فعال مثل *Thugone* و *Absinthin* و *Santonin* و *Misin* وان ذاتية هذه المكونات تتباين تبعاً لنوعيتها وقطبيتها علاوة على نوعية مذيب الاستخلاص. فقسم منها سهل الذوبان في الماء كالكلوكوسينولات الملونة والحاملة للفلافونات والأنثوسيانينات (٢). وبلغت نسبة تثبيط المستخلص تجاه عفن *A.niger* ٣٢.١٤ و ٧٧.٥٥ و ٨٩.٧٩% لتركيز ١٠٠ و ٢٠٠ و ٣٠٠ ميكروغرام/مل على التوالي وبلغت هذه النسبة ٥٥.١٦ و ٦٠.٢٣ و ٦٥.٣١% 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 (١٣، ٢٢).

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

و *Penicillium spp.*

التركيز مايكرو غرام/مل	<i>Aspergelus niger</i>		<i>Penicillium spp</i>	
	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 (٣) إلى أن المستخلص الكحولي للشيخ أظهر نشاطا متوسطا تجاه عفن A. niger بلغ ٢٠.٧١ و ٤٠.٢٠ و ٥١.٤٢% ه للتركيز ١٠٠ و ٢٠٠ و ٣٠٠ ميكروغرام/مل على التوالي، ولكن هذا النشاط انخفض بوضوح بالنسبة لعفن Penicillium spp حيث بلغ ٠.٥١ و ٦.٧٧ و ١١.٣٣% لنفس التركيز أعلاه. قد يعود ضعف التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي للشيخ في نمو عفن Penicillium spp عن Aniger إلى وجود مواد فعالة تؤثر على النوع الثاني ولكنها قليلة التأثير على نمو العفن الأول. فمثلا أن للكلوكوسينولات ونواتج تحللها فعالية مضادة للبكتريا Bactericidal ومضادة للفطريات Fungicidal. فهناك أنواع من الفطريات لا يتثبط نموها مركب من مركبات الأينموثايوسيانيت ونواتج تحلل الكلوكوسينولات، لكن من الممكن أن يتثبط نموها أنواع أخرى من نواتج تحطم الكلوكوسينولات (١٥).

جدول (٣) تأثير المستخلص الكحولي لنبات الشيخ على نمو عفن المائي على نمو سبورات عفن A. niger و Penicillium spp

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

ويشير الجدول (٤) إلى أن مستخلص الهكسان للشيخ تمنع بنسبة تثبيط متوسطة لعفن A.niger بلغت ١٤.٢٨ و ٢٥.٥١ و ٣٢.١٤% للتركيز ١٠٠ و ٢٠٠ و ٣٠٠ ميكروغرام/مل على التوالي غير أن لهذا المستخلص وقعا أكثر تأثيرا على عفن Penicillium spp فبلغ ٥٥.١٦ و ٦١.٠٨ و ٦٤.٤٦% 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 أو أكثر من أجزائها على زيوت طيارة يستفاد منها في مجالات اقتصادية وطبية (٣).

إن الأعشاب والتوابل غنية بالمركبات الفينولية والعطرية وزيوت أساسية وحوامض دهنية طيارة علاوة على مركبات Oleoresins ومكونات أخرى لها فعل مضاد تجاه الفطريات (١٧).

جدول (٤) تأثير مستخلص الهكسان لنبات الشيخ على نمو عفن Aspergelus

Penicillium spp و *niger*

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

ويشير الجدول (٥) إلى أن لمستخلص خلاص الأثيل تأثير أقل من متوسط تجاه عفن *A. niger* إذ بلغت نسبة التثبيط ١١.٤٩ و ١٣.١٦ و ٢٢.٣٤% للتراكيز ١٠٠ و ٢٠٠ و ٣٠٠ مايكروغرام على التوالي، في حين أنخفض هذا التأثير بشكل واضح تجاه عفن *Penicillium spp* فكان ٢.٩٦ و ٦.٨٧ و ١٣.٥٣% لنفس التراكيز أعلاه. وقد ذكرت الجنابي إلى أن حساسية عفن *A. Niger* لمستخلص خلاص الأثيل لنبات الجنبيرة والحميرة والجرجير أكبر من حساسية عفن *Penicillium spp* للمستخلص نفسه (١)

جدول (5) تأثير مستخلص خلاص الأثيل لنبات الشيح على نمو عفن *A. niger*

Penicillium spp و

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

قد يكون لمركبات الكلويكوسيينول ونواتج تحللها دوراً رئيسياً في التثبيط تمتلك هذه المركبات فعالية مضادة تجاه أنواع من البكتريا والفطريات (١٥). كما يلاحظ أن فعالية المستخلص الكحولي التثبيطية لنبات الشيح أقل من فعالية المستخلص المائي تجاه عفن الاختبار وتأثيره في نمو عفن *A. niger* أكبر من تأثيره في نمو الثاني (جدول ٣ . ٢)، ويمكن القول بان مركبات الأيسوثايوسيانيت (وهي نواتج تحلل المركبات الكلوكولسيولينية) الأروماتية تكون أكثر سمية من المركبات الأليفاتية والأخيرة تنخفض سميتها تجاه الفطريات مع زيادة طول السلسلة الجانبية (٢١.١٩).

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

Ali Ameen Yaseen

Nedhal Mohamed Saleh

Biology Department

Food science and Biotechnology

Department

Science College- Dayala University

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 01.42% 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

- ١- الجنابي، نضال محمد 2004 تأثير بعض المستخلصات النباتية كمضادات للأحياء المجهرية ومضادات للأكسدة وتطبيقها في بعض الأنظمة الغذائية، أطروحة دكتوراه- كلية الزراعة- جامعة بغداد.
- ٢- الشحات، نصر أبو زيد ١٩٨٦ . النباتات والأعشاب الطبية، دار البحار، بيروت- لبنان.
- ٣- الربيعي، عبد الرحمن سعيد والخليدي، عبد الولي أحمد. ١٩٩٦ النباتات الطبية والعطرية في اليمن، انتشارها، ومكوناتها الفعالة واستخداماتها، مركز عبادي للدراسات والنشر، صنعاء- اليمن.
- ٤- الزبيدي، زهير نجيب و بابان، هدى عبد الكريم وفليح، فارس كاظم. ١٩٩٦ . دليل العلاج بالأعشاب الطبية الراقية. وزارة الصحة- منظمة الصحة العالمية- شركة أب للطباعة الفنية المحدودة.
- ٥- عبد السميع، أيمن. ٢٠٠٨ الشيخ مضاد قوي للالتهابات، مقالة في موقع الطب الربيعي، شبكة المعلومات الدولية.
- ٦- قطب، فوزي طه. ١٩٨١ النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر.
- ٧- محمود، انتصار عبد الحميد ١٩٨٥. تأثير المستخلصات النباتية على بعض الفطريات المسببة للأمراض النباتية. رسالة ماجستير- كلية الزراعة/ جامعة بغداد.
- ٨- منتديات شبكة INFINITY. مقالات عن الطب البديل. ٢٠٠٨
WWW_jarasinet_com
- ٩ - منتديات شبكة الأعلام العربية، ٢٠٠٢ . مجموعة مقالات عن الشيخ وفوائده الطبية . WWW_Arahianinform_com .
- ١٠ - منتديات شبكة القصيمي. ٢٠٠٩ . فوائد نبات الشيخ. شبكة المعلومات الدولية.
- 11- Ali-Shtayeh, . .m.s. , R.M. Yaghmour, Y. R. Faidi, K. Salem and M. A. Al-Nuri. 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used .in folkloric medicine in the Palastinian area. j .Ethnophannacology, ٦٠:٢٦٥-٢٧١ .

۱۲-Dixit, S.N. , S.C. Tripathi, and R.R. Upadhyay. 1976. The antifungal activity of rose flowers *Rosa indica*. *Economic Botany* 30: 371-374 .

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

۱۴-. ۱۹۹۹. ei-ghaouth. a. a . , A. Joseph, G. Jean, and Alani, A. Glucanohydrolases and inhibitory activity to *Botrytis cinerea* . *Canadian Journal of Plant Pathology* 13: 310-320 .

15- Fahey, J.W., A. Zalemann, and P. Talalay. 2001. The chemistry, diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates (Article). *Phytochemistry* 56: 5-51,

۱۶-. ۱۹۹۹. Faleiro , L., G.M. Miguel, and M.C. Brito. Antimicrobial activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus mastichina* (L) L . spp *mastichina* and *thymus albicans* Hof-nanns & Link. *Acta Hort.*, 501. ISHS. 40-48 .

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

18-Harbone, J. B. 1973, *Photochemical Methods*. Chapman and Hall, London, New York.

19-Manici, L.M. , L. Lazzeri, and S. Palmieri. 1997. In vitro antifungal 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 these herbal water extracts. *Food Chemistry* 60(1): 639-640

٢١- .Sal-war 'M.,J.A

Kirkegaard, P.T. Wong, and J.M. Desmarcheier. 1998. Biofumigation potential of Brassicas, III In vitro toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. Plant Soil. ٢٠١: ١٠٣-١١٢

٢٢-Stead, D. 1995. The effect of hydrocinamic acids and Potassium sorbate on the growth of 11 strains of spoilage yeasts. J. Appl. Bacteriol. ٧٨: ٨٢-٨٧