التأثير التثبيطي للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل في نمو بعض أنواع الفطريات المرضية
The Antifungal activity of alcohol extract of *Peganum harmala* seeds

عبد الجبار عبد الحميد الخزرجي إيمان عباس خلف عادل سعدي سلمان عصام شاكر حمزة كلبوي عبدالمجيد ناصر*
وزارة العلوم والتكنولوجيا
* كلية الزراعة / جامعة بغداد

Alkhazraji A.A.H Khalaf E.A Salman A.S Hamza E.SH Gulboy A. Nasir*
Ministry of Science and Technology
* College of Agriculture/ University of Baghdad

الملخص

اختبرت فعالية مستخلص بذور الحرمل الكحولي المحضر مختبريا في تثبيط ثلاث عزلات من الفطريات والتي شخصت في مختبرات مركز بحوث تلوث الغذاء/ وزارة العلوم والتكنولوجيا *Aspergillus niger, Aspergillus flavus* and *Penicillium spp.* وأظهرت نتائج المعاملة بالتراكيز المختلفة(0.012،0.05،0.25،0.5،1،5،20،50،100،200،300 ملغم/1مل) للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل تثبيط كافة انواع الفطريات قيد الدراسة، إلا إن التراكيز أعلاه أظهرت تباينا واضحا في تثبيط هذه الفطريات، اذ ازدادت الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل مع ازدياد التراكيز ولحد 300ملغم/ 1 مل، وقد تم التأكد من ذلك من خلال قياس قطر المستعمرات النامية على أطباق السيطرة و مقارنتها مع قطر المستعمرات النامية على الأوساط التي مزج معها المستخلص حيث لوحظ الفرق الواضح في النمو للأنواع الثلاثة من الفطريات قيد الدراسة، اذ كان قطر المستعمرات النامية عند التركيز 0.012 ملغم /مل هو27،26 و9 ملم للفطريات الثلاث *Aspergillus niger*، *Aspergillus flavus* و*Penicillium spp.* على التوالي مقارنة باقطارها على اطباق معاملة السيطرة والتي كانت 38،35 و20 ملم للفطريات الثلاث على التوالي، بينما انخفض قطر المستعمرات النامية عند التركيز 0.05 ملغم/مل الى 25،21 و 7 ملم للفطريات *Aspergillus niger*، *Aspergillus flavus* و*Penicillium spp.* على التوالي مقابل 38،33 و 21 ملم على التوالي في اطباق معاملة السيطرة. وبشكل عام فقد تم تثبيط نمو كافة أنواع الفطريات قيد الدراسة كليا عند التركيز 0.25 ملغم/مل صعودا.

الكلمات المفتاحية: الحرمل، المستخلص الكحولي، الفعالية التثبيطية، الفطريات

Abstract

The study was conducted to evaluate the inhibition activity of alcohol extract of *Peganum harmala* seeds in some pathogenic fungi (*Aspergillus niger, Aspergillus flavus* and *Penicillium spp.*), which was isolated in food research center/ Ministry of Science and Technology. Results revealed that alcohol extract of *Peganum harmala* seeds was inhibited the growth of all kind of fungi under study at the extract concentrations (0.012,0.05, 0.25,0.5,1,5,20,50, 100 ,200 and 300 mg/ml), colonies diameters for *Aspergillus niger* was 27, 25 mm at the concentrations 0.012 and 0.05 mg/ml respectively in the comparison with its colonies diameter in the control group which was 38 mm for both concentrations, and it was 26,21 mm for *Aspergillus flavus* at the same concentration (0.012 and 0.05 mg/ml) respectively, whereas the colonies diameter was decreased to 9,7 mm for *Penicillium spp*. at 0.012 and 0.05 mg/ml of alcohol extract respectively. In general, the inhibition activity of *Peganum harmala* seeds alcohol extract was increased with the increasing of extract concentrations. The growth rate of all kinds of fungi under study was completely inhibited at 0.25mg/ml concentration and above.

Key Words: *Peganum harmala*, Alcohol extract, Fungi, Inhibition activity

لمقدمـــــة

استخدم الإنسان العقاقير والمستخلصات من مواردها الثلاث (النباتية، الحيوانية و المعدنية) غير أن المستخلصات النباتية فاقت الموارد الأخرى و تشير المعلومات تاريخيا إن البابليين تعرفوا على حوالي 200 مستخلص نباتي [1] كما قام الأطباء العرب باستخدام العديد من النباتات و من بينها الحرمل *Peganum harmala*، وقد اشير إلى فعالية المستخلصات الزيتية و الكحولية لبذور هذا النبات ضد أنواع مختلفة من الخمائر والاعفان [2] وتتوفر العديد من النباتات التي تمتلك الفعالية ضد المسببات المرضية و الأمراض و تستخدم في مجال الطب كما تعددت الدراسات و تنوعت حول استعمال المستخلصات النباتية الخام منها أو المركبات الفعالة النقية المعزولة في تثبيط و قتل الاحياء المجهرية الدقيقة كالبكتريا و الاعفان و الخمائر. ان الصفات المضادة للأحياء المجهرية والسموم لبعض النباتات، الأعشاب ومكوناتها تم توثيقها منذ اواخر القرن التاسع عشر [3]. هذه النباتات الطبيعية مثل الثوم، عشبة الليمون،datura ،الخرنوب،triplex الزنجبيل، الحبة السوداء، القريص، اليوكالبتوس، الجت والريحان [6,5,4]. وهي امنة الاستخدام للإنسان والنظام البيئي مقارنة باستخدام المركبات الكيماوية المضادة للفطريات، ويمكن استخدامها بسهولة من قبل الناس الذين استخدموها لآلاف السنين لتحسين الطعم والرائحة لطعامهم إضافة إلى قيمتها الاقتصادية [8,7]

و لقد شخصت الحضارات الأولى أيضا قيمة المواد النباتية واستخدموها في الطهو، وكما هو معروف فأن للحرمل خواص مضادة للأكسدة ومضادة للعديد من الاحياء العضوية وقد استخدم في علاج العديد من الحالات المرضية وهذا يفسر الاعتقاد السائد حول استخدامه في طرد الشر و الحسد من البيوت قديما. وبشكل عام فأن ما يميز الأعشاب الطبية المعروفة عن الأدوية الكيميائية إن الأعراض الجانبية لها قليلة لان المواد الفعالة فيها سهلة الامتصاص ولها دور في معالجة الكثير من الأمراض [9]. وقد ذكر Misra (2010) [10] ان احد المركبات الموجودة في الحرمل هو peganine آمن وفعال ضد طفيلي الليشمانيا Lieshmania donovani. كما أشار Lala (2004) [11] إلى أن المركب القلوي Harmine له فعالية في تدمير طفيليات intracellular إذ يستخدم بشكله المتحوصل (vesicular forms) في التطبيقات الطبية في الإنسان، كما أشار Valeria [12] إلى أن الجلد، الشعر، الأظافر والأنسجة تحت الجلد في البشر والحيوانات تتعرض إلى الإصابة بعدة أنواع من الكائنات العضوية وبشكل رئيسي الفطريات المسماة dermatophytes والمسببة لأمراض الجلد (dermatophytoses) وهو ماشار اليه Amer [13] ايضا. وقد Bokhari [14]، ان المستخلصات المائية او المستخلصات بمختلف المذيبات العضوية لخمسة نباتات طبية شائعة الاستخدام في السعودية، كان لها تاثير واضح في تثبيط فعالية مختلف انواع الفطريات المرضية ومنها *Microsporum Canis, Microsporum gypseum* و *Tricophyton mentagrophytes* وغيرها. ان العدوى المرضية التي تسببها ثلاث اجيال من الفطريات خلال مجاميع الحيوانات، الكلفة العالية للعلاجات وصعوبة السيطرة على أضرارها على الصحة العامة، توضح الأهمية العظمى لتلك الفطريات الطبية [15]. ويعد المتوفر من العوامل المضادة للفطريات والمجازة للاستخدامات البيطرية والمعالجات البشرية قليل نسبيا، إن الاستخدام المنظم للعقاقير الجهازية لمعالجة الحيوان أو الإنسان محدود لسميتها العالية ومشاكل المتبقيات التي تظهر في منتجات الحيوان والمستهلكة من قبل الإنسان [16]. ان مختلف المعاملات

للسيطرة على الأمراض الجلدية موصى بها وبشكل عام، فان خيار استخدام العوامل المضادة للفطريات قد تضمنته المعالجة الصيدلانية [18,17]، وقد تبين مؤخرا بأنه يمكن تثبيط نشاط بعض الأحياء العضوية المسببة للأمراض باستخدام منتجات بعض النباتات الطبيعية. ان المستخلصات النباتية استخدمت منذ القدم لمعالجة عدد من الأمراض المعدية ومن ضمنها تلك التي تسببها البكتريا، الفطريات، البروتوزوا والفيروسات [21,20,19]. عدد من الابحاث التي اجريت مختبريا او داخل جسم الكائن الحي اكدت كفاءة المستخلصات النباتية ضد الاصابات المرضية الفطرية للانسان والنبات [22] .

يهدف البحث الحالي الى تقصي تاثير مستخلص بذور الحرمل الكحولي في نمو بعض انواع الفطريات المرضية، بعد ان تمت دراسة تاثيره في نمو خمسة انواع من البكتريا المرضية [23]، بغية اضافته الى مخففات السائل المنوي للمجترات بديلا عن المضادات الاحيائية لاطالة عمر النطف اثناء الحفظ بالتبريد او التجميد.

المواد و طرائق العمل

العزلات الفطرية

استخدمت العزلات الفطرية *Aspergillus flavus, Aspergillus niger* و*Penicillium spp.* ، وقد شخصت هذه العزلات الثلاث في مختبرات مركز بحوث الغذاء / وزارة العلوم و التكنولوجيا حسب مفتاح التشخيص [24], زرعت العزلات الفطرية الثلاث على سطح الآكار PDA(Potato Dextrose Agar) المائل ثم حضنت بدرجة 25 ± 2 م لفترة 3-5 أيام بعدها نقي الفطر و اختبرت قدرته الامراضية لاختبار نقاوتها وبعد التأكد من ذلك حفظت بدرجة 4 م في الثلاجة لحين الاستخدام .

تحضير المستخلص الكحولي

تم بمرحلتين الأولى هي الاستخلاص الزيتي و قد اعتمدت طريقة Desmukh [25] لفصل الزيوت الموجودة في مسحوق الحرمل جرى الاستخلاص بوضع 50 غرام من مسحوق الحرمل في كشتبان الاستخلاص (Thimble) ثم وضع داخل جهاز الاستخلاص البخاري (Soxhlet extractor) و غطي المسحوق بطبقة من الصوف الزجاجي الذي يمنع المسحوق من الارتفاع للأعلى و أضيف 500 مل من الهكسان ببطئ وبشكل تدريجي إلى الكشتبان الحاوي على مسحوق الحرمل بعدها تم تشغيل الجهاز على درجة حرارة 75م و استمرت عملية الاستخلاص عدة ساعات و لستة دورات، بخر المذيب باستخدام جهاز المبخر الدوار تحت الضغط المخلخل بدرجة حرارة 45 م ثم اخذ النموذج المتبقي في الدورق ووضع في فرن بدرجة حرارة 37 م إلى أن تبخر المذيب وبقي المستخلص و حفظ في الثلاجة لحين الاستخدام. أما المستخلص الكحولي فقد حضر بأتباع نفس خطوات الاستخلاص الزيتي في الفقرة السابقة إلا انه تم استخدام الكحول الاثيلي بدلا من الهكسان وتم تبخير المذيب من المستخلص باستخدام الجهاز المبخر الدوار وتحت الضغط المخلخل و بدرجة حرارة 45 م وضع المستخلص في طبق ثم نقل إلى فرن بدرجة حرارة 37-40م إذ تم الحصول على مسحوق جاف حفظ في الثلاجة لحين الاستخدام.

اختبار فعالية المستخلص النباتي في نمو الفطريات

اجري هذا الاختبار بطريقة Power-plate method إذ مزج المستخلص مع الوسط الزرعي المستخدم (PDA) Potato Dextrose Agar بنسبة 3 مل مستخلص: 17 مل (PDA) ثم مزجت جيدا في الطبق المعقم وترك الطبق حتى يتصلب الآكار تماما بعدها زرعت الفطريات على الآكار بطريقة الطعن (Stabbing) إذ تمتاز هذه الطريقة بدقة و كفاءة نتائجها.

تحضير تراكيز المستخلص الكحولي

تم تحضير محلول الخزين Stock solution من المستخلص النباتي حسب المعادلة :

$$C1V1=C2V2$$

حيث يمثل C1: تركيز المحلول الخزين , V1 : حجم المحلول الخزين , C2 : تركيز المحلول المراد تحضيره. V2: حجم المحلول المراد تحضيره.

حضر المحلول الخزين بإذابة 4 غم من المسحوق النباتي الجاف في 10 مل من محلول Dimethyl Sulfoxide(DMSO) ولذلك حصلنا على تركيز (400 ملغم / 1 مل) وتم اختيار الـ DMSO كمذيب للمستخلص لان المستخلص الكحولي لا يذوب في الماء المقطر كما إن هذا المحلول لا يؤثر على الفطريات سلبا أو إيجابا ولا يؤثر على طبيعة الوسط الزرعي أو خصائص المستخلص المستخدم. عقم المحلول الخزين بترشيحه بمرشحات-Watt man membrane filter (0.22 µm) بعد ذلك تم تحضير التراكيز المحددة و كما يلي (300,200,100,50,20,5,1,0.5,0.25,0.05,0.012) ملغم/1مل ،وتم التأكد من نقاوة المستخلص قبل عمل التراكيز المذكورة حيث مزج 3 مل من المستخلص مع 17 مل من P.D.A. في طبق بتري معقم وبعد مجانستها (pouring) ترك الطبق حتى تصلب الآكار حضن الطبق على درجة حرارة 25م ولمدة 3-5 أيام ثم فحص بعدها للتأكد من خلوه من أي نمو ناتج عن أي تلوث خارجي واعتبر بمثابة معاملة سيطرة للمستخلص.

تحضير العالق الفطري

حضر العالق الفطري بأخذ عدد من المستعمرات الفطرية من العزلات التي تم اختيارها (كلا على حده) بوساطة الإبرة الناقلة (Needle) المعدنية بعد تعقيمها باللهب ونقلها إلى أنابيب حاوية على كمية من الماء المقطر المعقم وتم عد السبورات من كل أنبوب بوضع قطرة على شريحة خاصة لعد كريات الدم البيضاء والحمراء (Hemocytometer) إلى أن نصل إلى التركيز 1 x 10^6 خلية / 1مل والذي يمثل العالق القياسي المستخدم في مثل هذه الدراسات.

إجراء الاختبار التثبيطي لنمو الفطريات

بعد التأكد من استخلاص المركب النباتي تم زرع الأنواع الثلاثة من الأطباق P.D.A. مع المستخلص النباتي بتراكيزه المختلفة والتي تم تحضيرها حيث استخدمت كمية ثابتة من التراكيز المحضرة مع كمية ثابتة من الوسط الزرعي P.D.A. وكما يلي:

3ml(بتركيز محدد من المستخلص النباتي) + 17 ml (P.D.A.). استخدمت طريقة الطعن (stabbing) بوساطة الإبرة المعقمة حيث اخذ القليل من العالق الفطري وزرع على وسط P.D.A. الممزوجة مع المستخلص النباتي بتراكيزه المختلفة وحضنت الأطباق بدرجة 25م وبعد 3-5 أيام قرأت النتائج ومما يجدر الإشارة إليه فقد تم عمل كنترول مع كل فحص لغرض المقارنة أي زرعت الفطريات على أطباق تحوي P.D.A. فقط بدون إضافة المستخلص لمعرفة فعالية المستخلص في تثبيط نمو الفطريات قيد الدراسة. بعد انتهاء فترة الحضن تم قراءة النتائج اذ حددت فعالية كل تركيز من المستخلص بقياس قطر مستعمرة كل نوع من الفطريات الثلاثة في الأطباق الحاوية على المستخلص النباتي ومقارنتها مع أطباق معاملة السيطرة التي تقابلها وملاحظة الفرق في النمو وبذلك حددت الفعالية التثبيطية للمستخلص.

النتائج والمناقشة

يوضح جدول (1) ان الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل عالية جدا في نمو الأنواع الثلاث من الفطريات قيد الدراسة، إذ لوحظ عند الفحص عدم ظهور أي نمو فطري لكافة أنواع الفطريات قيد الدراسة للتراكيز المستخدمة 0.25،0.5،1،5،20،50،100،200،300 ملغم /مل على التوالي بينما كانت أقطار المستعمرات للفطر *Aspergillus niger* في معاملة السيطرة المقابلة للتراكيز أعلاه هي 28، 28، 32،30،32،31،33،33 و28ملم على التوالي وللفطر *Aspergillus flavus* هي 25,28,24,27,24,23,23,24,23 ملم للتراكيز أعلاه على التوالي بينما كان قطر المستعمرات للفطر *Penicillium spp.* في معاملة السيطرة المقابلة للتراكيز أعلاه اقل نسبيا من سابقاتها اذ كانت 15,21,24,14,18,17,20,20 و18 ملم على التوالي، أما الفعالية التثبيطية للمستخلص عند التركيزين 0.05 و0.012 ملغم/مل للفطريات الثلاث سابقة الذكر فقد انخفضت مما ادى الى ظهور نمو المستعمرات لكافة أنواع الفطريات المدروسة، إذ كان قطر المستعمرات للأنواع الثلاث *Aspergillus* niger ، *Aspergillus flavus* و *Penicillium spp.* هو 21،25 و 7ملم على التوالي عند التركيز 0.05 ملغم/مل مقابل 33،38 و21 ملم على التوالي في معاملة السيطرة وكان قطر المستعمرات للانواع الثلاث حسب

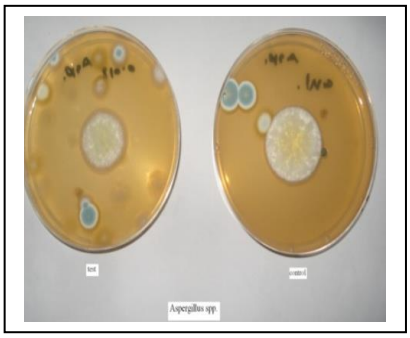
تسلسلها اعلاه هو27،26 و 9 ملم على التوالي عند التركيز 0.012 ملغم/مل،مقابل 38،35 و 20 ملم على التوالي في معاملة السيطرة عند التركيز نفسه جدول (1).

جدول (1): الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل في بعض أنواع الفطريات

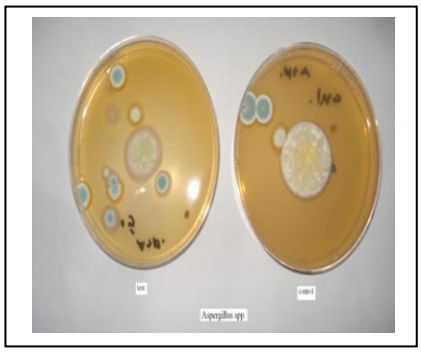
التركيز ملغم/مل	*Aspergillus niger*		*Aspergillus flavus*		*Penicillium spp.*	
	معاملة السيطرة (ملم)	معاملة الاختبار (ملم)	معاملة السيطرة (ملم)	معاملة الاختبار (ملم)	معاملة السيطرة (ملم)	معاملة الاختبار (ملم)
300	28	لا يوجد نمو	25	لا يوجد نمو	18	لا يوجد نمو
200	33	لا يوجد نمو	28	لا يوجد نمو	15	لا يوجد نمو
100	33	لا يوجد نمو	24	لا يوجد نمو	21	لا يوجد نمو
50	31	لا يوجد نمو	27	لا يوجد نمو	24	لا يوجد نمو
20	32	لا يوجد نمو	24	لا يوجد نمو	14	لا يوجد نمو
5	30	لا يوجد نمو	23	لا يوجد نمو	18	لا يوجد نمو
1	32	لا يوجد نمو	23	لا يوجد نمو	17	لا يوجد نمو
0.5	28	لا يوجد نمو	24	لا يوجد نمو	20	لا يوجد نمو
0.25	28	لا يوجد نمو	23	لا يوجد نمو	20	لا يوجد نمو
0.05	38	25	33	21	21	7
0.012	38	27	35	26	20	9

وأظهرت نتائج المعاملة بالتراكيز المختلفة (0.012،0.05) ملغم/مل للمستخلص تباينا واضحا في تثبيط هذه الفطريات، إلا أن نمو جميع أنواع الفطريات قد ثبط نهائيا عند التركيز 0.25 ملغم/مل واستمرت الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي لبذور الحرمل مع ازدياد التراكيز ولحد 300ملغم / 1 مل. وتم التأكد من ذلك من خلال قياس قطر المستعمرات النامية على أطباق السيطرة و مقارنتها مع قطر المستعمرات النامية على الأوساط التي مزج معها المستخلص حيث لوحظ الفرق الواضح في النمو للأنواع الثلاث من الفطريات قيد الدراسة كما في جدول (1).

إن ميكانيكية عمل المركبات الفعالة الموجودة في المستخلصات النباتية في تثبيط عمل الميكروبات فسرها [26] بأنها قد تتضمن تثبيط الإنزيمات بالمركبات المؤكسدة ،وتكون بمثابة مصدر للجذور الحرة المستقرة وغالبا ماتؤدي إلى تعطيل البروتين وفقدان الوظيفة،وان لها القابلية على تكوين معقدات مع السوائل خارج الخلية والبروتينات الذائبة فيها وتكوين معقدات مع جدار الخلايا البكتيرية والجرثومية وتعطيل الأغشية الميكروبية، وبعضها لها القابلية على أن تقحم نفسها مع تكوين الـ DNA وتشكيل القنوات الأيونية في الغشاء الميكروبي، وتنافس البروتينات الميكروبية في الالتصاق بمستقبلات السكريات المتعددة في المضيف [27]. وأكد [28] بان فعالية تلك المستخلصات يعزى الى احتوائها على بعض أنواع الفينولات التي تمتلك قدرات واعدة في معالجة الأمراض الشائعة في المحاصيل مثلا والتي تسببها تلك الفطريات. والاشكال ادناه تتضح فيها الفعالية التثبيطية للفطريات الثلاث قيد الدراسة لبعض تراكيز المستخلص الكحولي لبذور الحرمل المستخدمة في الدراسة.



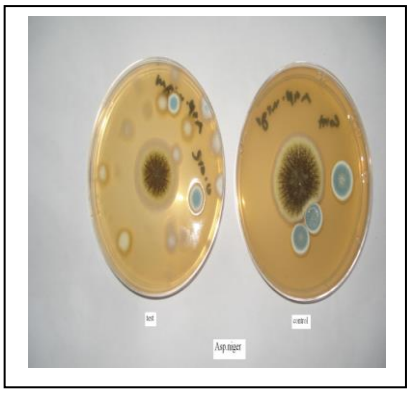
شكل(1): فطر *Aspergillus flavus*. عند التركيز 0.012



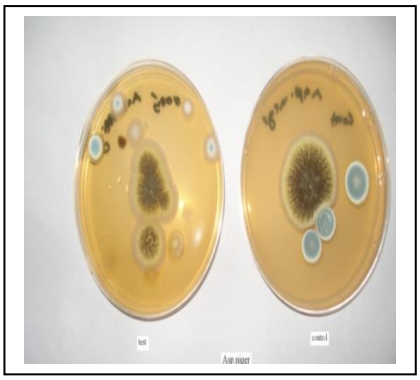
شكل (2): فطر *Aspergillus flavus* عند التركيز 0.05

شكل (3): فطر *Penicillium spp* عند التركيز 0.012 ملغم/مل

شكل (4): فطر *Penicillium spp* عند التركيز 0.05 ملغم/مل

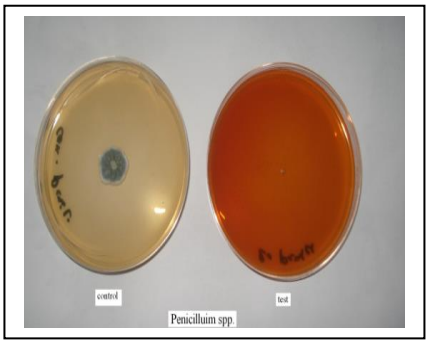


شكل(5): فطر *Aspergillus niger* عند التركيز 0.012 ملغم/مل

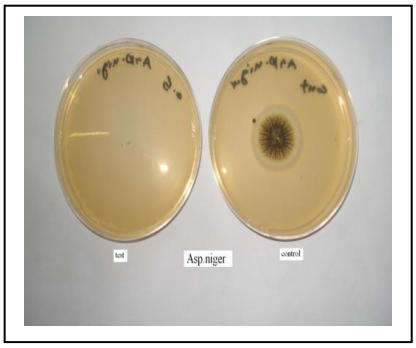


شكل (6): فطر *Aspergillus niger* عند التركيز 0.05 ملغم/مل

شكل(7): فطر *Penicillium spp* عند التركيز 0.5 ملغم/مل

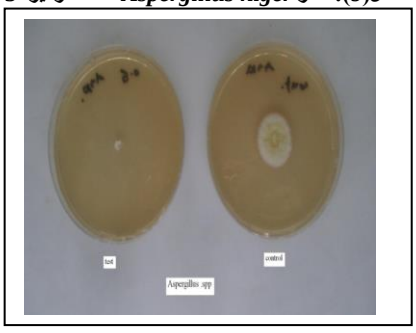


شكل (8): فطر *Penicillium spp* عند التركيز 20 ملغم/مل

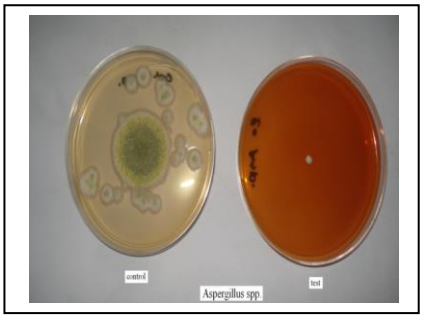


شكل(9): فطر *Aspergillus niger* عند التركيز 5 ملغم/مل

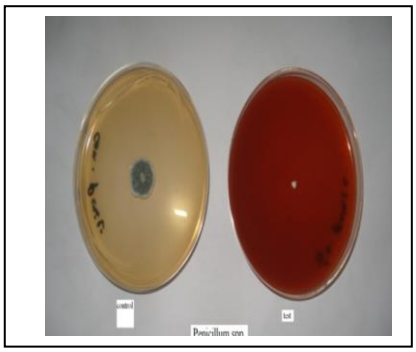
شكل (10): فطر *Aspergillus niger* عند التركيز 20 ملغم/مل



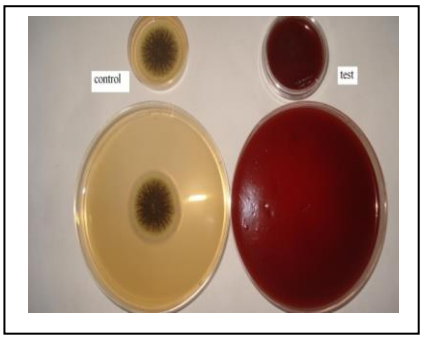
شكل(11): فطر *Aspergillus flavus*. عند التركيز 5 ملغم/مل



شكل(12): فطر *Aspergillus flavus*. عند التركيز 20 ملغم/مل



شكل (13): فطر *Penicillium spp* عند التركيز 50 ملغم/مل



شكل (14): فطر *Penicillium spp* عند التركيز 100 ملغم/مل

نستنتج من هذا البحث بانه يمكن استخدام بعض المستخلصات النباتية في دعم الطب االتقليدي في معالجة مختلف الاصابات المرضية التي تسببها بعض انواع الفطريات المرضية، كما يمكن استخدامها في مخففات السائل المنوي للمجترات بديلا عن المضادات الحيوية المستخدمة لذلك الغرض ونقترح ان يولى مزيد من الاهتمام للنباتات الطبية التي ثبت إنها ذات خصائص صيدلانية علاجية.

المصـــــادر

1. الشماع، علي عبد الحسين. (1989). العقاقير وكيمياء النباتات الطبية. دار الكتب للطباعة والنشر-الموصل.

2. العاني، اوس هلال جاسم. (1998). دراسة مكونات الحبة السوداء المحلية *Nigella sativa* وتاثير مستخلصاتها على بعض الاحياء المجهرية. رسالة ماجستير. كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

3. Saadabi, A.M.A. (2006). Antifungal activity of some Saudi plants used in traditional medicine. *Asian J. Plant Sci.* 5: 907- 909.

4. Omar, S.A., Abd-El-Halim, A.Z. (1992). Fungal growth response to alfalfa (*Medicago sativa* L.) saponin extract. Egyptian J. Appl. Sci., **7:** 24-32.

5. Aly, A.A., Omar, S.A., Zayed, S.M.E., Mansour, M.T.M. (2000). Use of saponin – containing A triplex nummularia to suppress damping of cotton seedling. J. Agric. Sci. Mansura Uni.25: 7621-7631.

6. Aly, M.M., Bafiel, S. (2008). Screening for antimicrobial activity of some medicinal plants in Saudi Arabia. World Conference on Medical and Aromatic

7. Shelef, L.A. (1983). Antimicrobial Effects of Spices. J. Food Safety. 6**:** 29- 44.

8. Shelef, L.A., Naglik, O.A., Bogen, D.W. (1980). Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary, and allspice. J. Food Sci. 45: 1045-1044.

9. عباس، زيد رعد. (2008). تأثير المستخلصات المائية والكحولية لاوراق نباتي العفص *Thuja orientolis* L واذان الصخلة *Plantago lanceolata* L. على بعض البكتريا المسببة لالتهابات جروح الجلد. رسالة ماجستير. كلية العلوم . الجامعة المستنصرية.

10. Misra, P., Khaliq, T. and Dixit, A. (2008) . Antileishmanial activity mediated by poptosis and structure- based target study of peganine hydrochloride dehydrate: an approach for rational drug design .J. Antimicrib. chemother. 62(5):998-1002.

11. Lala, S.et al. (2004). Harmine evaluation of its antileishmanial properties in various vesicular delivery system. J. of Drug Targeting. 12(3):165-175.

12. Valeria, F.M., Preve, L., Tullio, V. (1996). Fungi responsible for skin mycoses in Turin (Italy). Mycoses, 39: 141-150.

13. Amer, S., Aly, M.M., Sabbagh, S. (2006). Biocontrol of dermatophytes using some plant extracts and actinomycetes filtrates. Egyptian J. Biotechnol. 330-315.

14. Bokhari, F.M. (2009). Antifungal activity of some medicinal plants used in Jaddah, Saudi Arabia, Mycopath.7(1):51-57.

15. Chermette, R., Ferreiro, L., Guillot, J. (2008). Dermatophytoses in animals. Mycopathologia. 166: 385-405.

16. Araujo, C.R., Miranda, K.C., Fernandes, O.F.L., Soares, A.J., Silva, M.R.R. (2009). *In vitro* susceptibility testing of dermatophytes isolated in Goiania, Brazil, against five antifungal agents by broth microdilution method. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo. 51: 9-12.

17. Aly, M.M. (1997). Potancy of selected actinomycete for certain antifungal production. Ph.D. Thesis, Tanta University, Cooperation system between Egypt and France. p.375.

18. Agwa, A., Aly, M.M., Bonaly, R. (2000). Isolation and characterization of two *Streptomyces* species produced non polyenic antifungal agents. J. Union Arab Biol. **7:** 62-84.

19. Nejad, B.S., Deokule, S.S. (2009). Anti-dermatophytic activity of Drynaria quercifolia (L.). Jundishapur J. Microbiol. 2:25-30.

20. Soylu, E.M., Tok, F.M., Soylu, S., Kaya, A.D., Evrendilek, G.A. (2005). Antifungal activities of essential oils on post harvest disease agent Penicillium digitatum. Pak. J. Biol. Sci. 8: 25-29.

21. Yoshida, M., Fuchigami, M., Nagao, T., Okabe, H., Matsunaga, K., Takata, J., Karube, Y., Tsuchihashi, R., Kinjo, J., Mihashi, K., Fujioka, T. (2005). Antiproliferative constituents from Umbelliferae plants VII. Active triterpenes and rosmarinic acid from Centella asiatica. Biol. Pharmacol. Bull. 28: 173-175.

22. Natarajan, V., Venugopal, P.V., Menon, T. (2003). Effect of azadirachta indica (neem) on the growth pattern of dermatophytes. Indian J. Med. Microbiol. 21: 98-110.

23. الخزرجي، عبد الجبار عبد الحميد،ناصر، كلبوي عبد المجيد، عباس،امير خضير، سهيلة غفوري وتويج، مؤيد عبد الصاحب. (2013). التأثير التثبيطي للمستخلص المائي لبذور الحرمل *Peganum harmala* L. في نمو بعض أنواع البكتريا المرضية. مجلة العلوم الزراعية . 44 (2) : 234- 240 .

24. Samson, Robert, A. and Hoekstra, S.Van Reenen. (1988). Introduction to food-Borne Fungi.3rd edn.Centraal Bureau voor Schimmel cultures with contribution by Baarn Deift, Netherland.

25. Desmukh,S.D. and Borle, M.N. (1975). Studies on the insecticidal properties. Indian. J. Enth: Prarm. 37(1):11-18.

26. Ali, A.A. (1999). Studies on some medicinal plants as a source of antifungal substances in North Africa. M.Sc. Thesis, Inst. of African Res. and Studies, Cairo Univ.

27. Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev. 12: 564-582.

28. Winkelhousen, E., Pospiech, R., Laufenberg, G. (2005). Antifungal activity of phenolic compounds extracted from dried olive pomace. Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia. 24, 41–46.