Study the antimicrobial activity to parts of *Myrtus communis L.* against some types of pathogenic bacteria

دراسة الفعالية التثبيطية لاجزاء نبات الاس *Myrtus communis L.* ضد بعض انواع البكتيريا المرضية

سند شامل عمر الدوري
جامعة كربلاء/ كلية العلوم/ قسم علوم الحياة

الخلاصة //

تم دراسة التأثير التثبيطي للاجزاء النباتية المختلفة لنبات الاس *Myrtus communis* (الاوراق اليابسة , الاوراق الخضراء ,السيقان والثمار) المستخلصة مائيا بالشكل المغلي والمنقوع ضد البكتيريا المرضية السالبة لصبغة غرام (*Pseudomonas aeruginosa,Proteus spp.,Salmonella spp.*) والبكتيريا المرضية الموجبة لصبغة غرام (*Staphylococcus epidermidis , Streptococcus spp., Enterococcus spp.*) . حيث اظهرت النتائج قابلية اوراق الاس اليابسة قدرتها على تثبيط جميع انواع البكتيريا قيد الدراسة وبكلا نوعيه (المغلي والمنقوع)حيث تراوح معدل قطر التثبيط (20-22) مللمتر مقارنتة مع الاجزاء النباتية الاخرى التي اظهرت نتائج متباينة في قابليتها على التثبيط .كذلك وجد ان قدرة التثبيط تزداد بزيادة تركيز المستخلص النباتي . وقد تم الكشف عن بعض المركبات الفعالة والتي يعزى اليها التأثير التثبيطي حيث وجد ان النبات يحتوي على التانينات والصابونينات والفلافونيدات والفيوكومارينات ويخلو من الكلايكوسيدات ولكن وجودها يختلف باختلاف الجزء النباتي .

Abstract

In this study the antibacterial activity of different plant parts of *Myrtus communis* L. (dried leaves, green leaves, stems and fruits) extracted aqiuosly by boiling and rinsing method against gram negative pathogenic bacteria (*Pseudomonas aeruginosa,Proteus spp.,Salmonella spp.)* and gram posative pathogenic bacteria (*Staphylococcus epidermidis* , *Streptococcus spp.*, *Enterococc*us *spp*.). Results showed that the dried leaves had the ability to inhibit the growth of all tested bacteria , which the inihbition zone was ranged between (20-22) milimeter compared with the other parts of plant . Also it had been seen that the activity increase with the increasing extract concentration .Finally the components of the extracts that evokes the medical action of the plant have been detected and showed that they have tannins, flavonoids,fucomarens, saponine ,resins and not have a glycosidies compound with respect to the parts of plant.

المقدمـــة //

تضم المملكة النباتية العديد من الاصناف النباتية والتي تعد مصدرا لا ينضب للكثير من النواتج الطبيعية Natural product ذات التأثير التثبيطي لانواع مختلفة من الاحياء المجهرية فهي بالاضافة الى كونها مصدرا غذائيا للانسان والحيوان فان منقوعاتها ومستخلصاتها تستخدم في معالجة العديد من الامراض المعدية وحالات المغص الكلوي بوصفها مضادات حياتية ضد العديد من البكتيريا والفطريات (1). ومن بين النباتات المستخدمة في الطب الشعبي هو نبات الاس والذي تبين انه مهم في معالجة الكثير من الامراض العضوية والميكروبية بوصفها عوامل مضادة للبكتيريا لاحتواء مستخلصاته على مركبات فعالة ذات تأثير تثبيطي في نمو الاحياء المجهرية من اهمها التانينات , الصابونينات, الكلايكوسيدات,القلويدات,الفينولات والراتنجات(2).فقد وجد Degtyarova and Pochinok (1960) ان التاثير المثبط في المواد المعزولة من نبات الاس يعود الى وجود الفينولات وانه مثبط للبكتيريا الموجبة لصبغة غرام بصورة خاصة حتى في التراكيز الواطئة (3) , واستطاع Degtyarova (1962) عزل اربعة مضادات ميكروبية بلورية من نبات الاس اظهرت فعاليتها ضد المكورات العنقودية *Staphylococcus aureu*s وعصيات *Bacillus anthrasis* (4) .لقد حظي نبات الاس باهتمام العديد من الباحثين لمعرفة خصائصه الفيزيائية والكيميائية والدوائية لمكوناته المختلفة (5) حيث بدات الدراسة عليه منذ عام 1911 حيث اكد Diamntoglou and Rhizopoulon ان المركبات التي يحتويها نبات الاس تختلف نوعا وكما من نبات لاخر تبعا لمصدره وظروف البيئة وطبيعة التربة (7,6)الامر الذي يدعو الى دراسة هذا

النبات محليا وفي بيئته .وبصورة عامة تبين من خلال العديد من الدراسات ان الزيت الاساس يحتوي على استرات متنوعة وبنسب مختلفة فالسينيول يمثل 36% والفينولات في النبات الطازج تمثل 3% والكيتونات 2% (8).

كذلك وجد ان لنبات الاس استخدامات علاجية مختلفة منها علاج حالات الصرع والهيستيريا , وسوء الهضم , وكغسيل للفم وفي النزف ويستخدم المايرتول Myrtol كمادة مطهرة Antiseptic وفي التهاب المثانة , كما تستخدم الزيوت الاساس المستخلصة من النبات في حفظ الاغذية , وعلاج النبيبات الكلوية وتفتيت حصى الكلية وعلاج الداء السكري , كما تدخل مستخلصاته في صناعة الكثير من العقاقير الطبية. (9)

اما بالنسبة لسمية النبات فان اعراض التسمم تظهر على الجهاز العصبي والجلد بصورة خاصة بعد اخذ جرعات علاجية كبيرة من زيت الاس وانه غير مؤثر في الجرعات القليلة (10).

ونظرا لما يمتلكه قطرنا من ثروة نباتية هائلة وحيث ان الموسوعة النباتية العراقية غنية بالنباتات الطبية المتنوعة (11) ولكثرة استخدام نبات الاس في الطب الشعبي (12) وبهدف تحديد محتواها من المركبات الطبيعية ومعرفة تاثيرها على عدد من انواع البكتريا المرضية فقد شرع البحث الى دراسة التاثير التثبيطي للاجزاء النباتية المختلفة لنبات الاس باستخدام الاستخلاص المائي المغلي والمنقوع على نمو بعض الانواع البكتيرية الممرضة السالبة والموجبة لصبغة الغرام ثم الكشف عن اهم المركبات الفعالة لاجزاء نبات الاس.

المواد وطرائق العمل //

1. عزلات بكتيريا الإختبار

تم الحصول على العزلات البكتيرية الآتية من قسم علوم الحياة – كلية العلوم –جامعة كربلاء.
والتي استخدمت لأختبار فعالية المستخلصات النباتية ضدها

نوع العزلة	أسم العزلة
العزلة البكتيرية الموجبة لصبغة غرام	-*Staphylococcus epidermidis* -*Streptococcus spp.* -*Enterococcus spp.*
العزلة البكتيرية السالبة لصبغة غرام	-*Pseudomonos aeruginosa* -*Proteus spp.* -*Salmonella spp.*

2. العينات النباتية

A- جمع العينات النباتية

جُمِعت مجموعة من الاجزاء النباتية لنبات الاس قيد الدراسة من محافظة كربلاء ونُقِلَت إلى المختبر وغُسِلَت بالماء المقطر ثم جُفِفَ جزء منها بوضعها على أوراق ترشيح كبيرة في مكان مفتوح وفي تيار هوائي مناسب وبدرجة حرارة المختبر ،وأُجريت عليها عملية التقليب بصورة مستمرة لمنع التعفن ثم سحقت العينات بعد تجفيفها بواسطة طاحونة كهربائية ووضعت في أكياس نايلون وحفظت لحين الإستعمال .

B- أستخلاص العينات النباتية

تم تحضير المستخلص المائي وفق طريقة احمد وصلاح (13) على شكل مغلي ومنقوع .حيث حضر المستخلص المنقوع بمزج (20) غم لكل من (الأوراق الخضراء ،الأوراق اليابسة ،السيقان والثمار) مع (400) ملليتر من الماء المقطر في دورق حجمي سعة (1000) ملليتر وترك العالق مع التحريك في حمام مائي هزاز لمدة (24) ساعة بدرجة حرارة (40) مْ ،بعدها رشحت المستخلصات باستخدام عدة طبقات من الشاش الطبي أما بالنسبة للمستخلص المغلي فقد أتبعت نفس الطريقة لكن بغليه إلى درجة حرارة (100) مْ .

C- تحضير التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية المائية

تم تحضير التراكيز الآتية (0.10, 0.15, 0.20) حجم/ حجم من المحلول الخزين الذي تركيزه 0.05 غم/ملليتر لكل نوع من المستخلصات المائية (الأوراق اليابسة ،الأوراق الخضراء ،السيقان والثمار).

3 . تحضير محلول المضادات الحياتية

لغرض أختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحياتية ومقارنتها بالمستخلصات النباتية ومركباتها الفعالة تم أستخدام البنسلين بتركيز (0.20 mg/ml) وذلك باذابة 0.20 ملغرام في كل 1 مل من الماء المقطر.

4. تحضير العالق البكتيري

تم تحضير العالق البكتيري وذلك بتنمية البكتيريا المستخدمة قيد الدراسة في انابيب اختبار تحوي 5 ملليتر من المرق المغذي وحضنت لمده (18) ساعة عند درجة حرارة 37م°.

5. اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحياتية

اتبعت طريقة انتشار المضاد الحياتي في الاكار (Agar well diffusion) لاختبار حساسية العزلات البكتيريه إزاء المضاد الحياتي المستخدم (البنسيلين) (14). اذ تتضمن الطريقة

1 - صب (20) مليليتر من الوسط الزرعي مولر هنتون الصلب Muller Hinton agar في كل طبق.

2 - لقح الوسط الزرعي بالعالق البكتيري حيث تم نشر (100) مايكروليتر من كل مزرعه من المزارع البكتيرية باستخدام الناشر الزجاجي Glass spreader ثم تركت الاطباق مدة نصف ساعه لتجف .

3- عمل حفره محيطية بقطر (6) ملم بواسطة الثاقب الفليني لإحتواء تركيز المضاد الحياتي وبواقع (50) مايكروليتر لكل حفرة بإستخدام الماصة المعقمة , بعدها اضيف المضاد الحياتي في كل حفرة.

أما بالنسبة إلى المقارنة فقد تم زرع الطبق بالبكتيريا وتركه من دون مضاد حياتي كسيطرة موجبة. ثم حضنت الاطباق جميعها في الحاضنة بدرجه حرارة (37)مْ لمدة (18-24) ساعة ، وتم قياس قطر منطقة التثبيط باستخدام المسطرة ، وقورنت النتائج مع نتائج المستخلصات النباتيه .

6. اختبار الفعالية التضادية للمستخلصات النباتية على نمو البكتيريا الممرضة .

اتبعت نفس الطريقه السابقه لكن باستخدام التراكيز المختلفه من المستخلصات المائية لنبات الآس بدل من المضاد الحياتي (14).

7. الكشوفات النوعية للمستخلصات المائيه لنبات الآس

اجريت بعض الكشوفات النوعيه من اجل التعرف على المكونات الكيميائية الاساسية أو المركبات الفعالة الموجودة في هذه المستخلصات وكانت كالآتي:-

الكشف عن التانينات (العفصيات) Tannins

كشف كلوريد الحديديك Ferric chloride test

أضيف عدة قطرات من كلوريد الحديديك $FeCl_3$ تركيز(1%)إلى أنبوبة أختبار تحوي (0.5)ملليتر من المستخلص فكان ظهور لون اخضر مزرق دليلاً على وجود تانينات (15)

الكشف عن الصابونينات Saponins

اضيف (3) مlليتر من المستخلص إلى (2) مlليتر من كلوريد الزئبق $HgCl_2$ بتركيز (1%) فكان ظهور راسب أبيض دليلاً على وجود الصابونينات (16)

الكشف عن الكلايكوسيدات Glycosides

مزج (1) غم من المسحوق النباتي الجاف مع (10) ملليتر من الماء المقطر بعدها رشح المحلول ثم اضيف له كاشف فهلنك فكان ظهور اللون الأحمر الغامق دليلاً على وجود الكلايكوسيدات (15) .

الكشف عن الراتنجات Resins

مُزِجَ (1) غم من المسحوق النباتي الجاف مع (10) ملليتر من الكحول الأثيلي (95%) وترك المحلول لمدة دقيقة واحدة في حمام مائي بدرجة حرارة (100)مْ ، ثم رفع المحلول وأضيف إليه (10) ملليتر من محلول مائي لحامض الهيدروكلوريك (4%) واستدل على وجود المواد الراتنجية بظهور العكورة (17).

الكشف عن الفلافونيدات Flavonoids

كشف هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي .مزج 2 مlليتر من المستخلص مع 1 مlليتر من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي. فكان ظهور اللون الأصفر دليلاً على وجود الفلافونيدات .(17)

الكشف عن الفيوكيومارينات fuocoumarins

اضيف 1مlليتر من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي 10% الى 1مlليتر من المستخلص فكان ظهور اللون الاصفر او الاصفر المخضر دليلا على وجود الفيوكيومارينات (18).

النتائج والمناقشة //

1. تأثير المستخلص النباتي لنبات الآس في نمو الاحياء المجهرية

اظهرت النتائج وجود تأثير مثبط لنمو الاحياء المجهرية يختلف باختلاف الجزء النباتي المستخلص ونوع الاستخلاص والتركيز وباختلاف انواع بكتيريا الاختبار وكما ياتي:

تم اختبار اجزاء نباتية مختلفة من نبات الآس (اوراق يابسة، اوراق خضراء، سيقان ، ثمار) واجريت عملية الاستخلاص لهذه النماذج بطريقتين هما الاستخلاص المائي البارد(المنقوع) والاستخلاص المائي الحار (المغلي) واختبرت فعاليته التضادية على بكتيريا الاختبار المستخدمة قيد الدراسة حيث يتضح من الشكل (1) وصورة رقم(2,1) ان اوراق الاس اليابسة قد اظهرت تاثير تثبيطي لجميع انواع البكتيريا المستخدمة قيد الدراسة وبكلا شكليه االمغلي والمنقوع حيث كان اقوى تأثير لها على البكتيريا *Staphylococcus epidermidis* حيث كان قطر منطقة التثبيط (23mm) للمغلي و (12mm) للمنقوع , يليه بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* بقطر تثبيطي (22mm)للمغلي و (20mm) للمنقوع اما باقي انواع البكتيريا فقد تراوح قطر التثبيط للمغلي والمنقوع(21-15mm) . اما بالنسبة للاوراق الخضراء شكل(2) فقد كان لها تاثير تثبيطي للبكتيريا *Staphylococcus epidermidis* ، *Streptococcus* spp. للمستخلص المغلي(8mm) لكلا البكتيريا اما المنقوع فقد كان بين(21-20mm) ، اما باقي انواع البكتيريا فقد بينت النتائج ان *Salmonella spp.* لم تثبط بالمستخلص المائي للاوراق الخضراء المغلية والمنقوعة اما *Enterococcus spp.* فانها قد تم تثبيطها بالمستخلص المغلي بقطر تثبيطي (9mm) اما المنقوع فلم يظهر أي تاثير تثبيطي له. بينما السيقان شكل (3) فلم تظهر أي تأثير تثبيطي على نمو بكتيريا *Salmonella spp.* بكلا نوعيه وبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa , Streptococcus spp. , Enterococcus spp.* بالشكل المنقوع لكنها اظهرت تاثير تثبيطي على *Proteus spp. , Staphylococcus epidermidis* حيث تراوح القطر التثبيطي للمستخلص المغلي بين(21-16mm) اما المنقوع فقد تراوح القطر التثبيطي بين (15-14mm) . اما الثمار فقد اظهرت النتائج شكل (4) عدم وجود أي تاثير تثبيطي لكل انواع البكتيريا المستخدمة قيد الدراسة بكلا نوعيها المغلي والمنقوع حيث تم مقارنة النتائج مع نتائج المضاد الحياتي البنسلين كسيطرة موجبة. السبب الذي تم فيه اختيار هذا المضاد هو اشتراكه مع نبات الاس في ميكانيكة العمل حيث كلاهما يعمل عى الجدار الخلوي للكائن المجهري من حيث ارتباطه مع انزيم transpeptidase وتثبيط فعاليته ومن ثم تحليل جدار الخلية (20).

ان سبب التباين في هذه النتائج يعتمد على ان الفعالية التثبيطية تتأثر بعدة عوامل كدرجات الحرارة المختلفة وزيادة الاس الهيدروجيني pH (4) وكذلك يعتمد على تاثير نوع الاستخلاص على المركبات الفعالة للنبات حيث وجد ان النوع المتطاير من المواد الفعالة قد تضعف او تقل فعاليتها التضادية باستخدام الحرارة ونوع المذيب المستخدم في الاستخلاص . (21)

كما ان لعملية خزن النبات او مستخلصه وظروف الخزن وطبيعة المناخ ونوع التربة للنبات وحجم اللقاح البكتيري اثار متباينة على الفعالية التضادية للنبات (22) واخيرا اجمعت الدراسات على ان الاختلاف في درجة تاثير انواع المستخلصات النباتية في الاحياء المجهرية يعود الى عوامل عدة لعل اهمها نوع المستخلص والطريقة المتبعة في الاستخلاص وقطبية المذيب المستخدم اضافة الى النوع البكتيري الذي يقع تحت تاثير المستخلص(23)

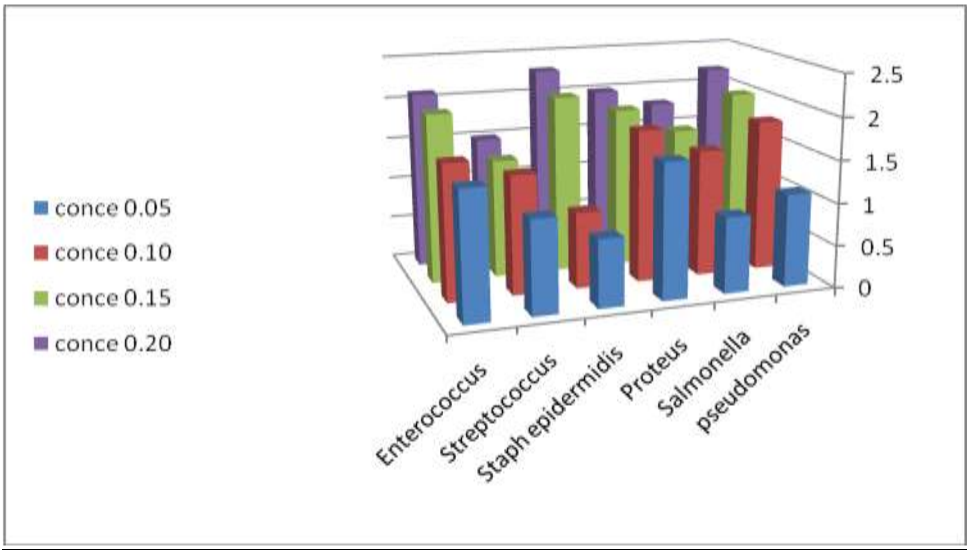
اضافة الى ان تاثير تراكيز المستخلص النباتي للاجزاء النباتية المختلفة قد تباينت في درجة تاثيرها على نمو الاحياء المجهرية قيد الدراسة حيث يتضح من الشكل (1) ان تاثير اوراق الاس اليابسة المغلية والمنقوعة عند التركيز(0.20 v/v) قد اظهر تاثير قوي على جميع انواع بكتيريا الاختبار اما بالنسبة للاوراق الخضراء المغلية الشكل(2) فقد اظهر التركيز (0.20 vlv)تاثير تضادي لكل انواع بكتيريا الاختبار اما النوع المنقوع فقد ثبط نمو كل البكتيريا عدا *Salmonella spp. , Enterococcus spp.* بينما السيقان المغلية الشكل (3) فقد ثبطت نمو كل البكتيريا عدا *Salmonella spp.* عند هذا التركيز, اما المنقوع فقد اثر فقط على بكتيريا *Proteus spp., Staphylococcus epidermidis* . بينما الثمار فلم تظهر أي تاثير تضادي لكل انواع بكتيريا الاختبار بنوعيها المغلي والمنقوع.

نستنتج من الاشكال الانفة الذكر ان عملية التثبيط في البكتيريا تتناسب طرديا مع زيادة التراكيز ويعود ذلك الى زيادة تركيز المواد المثبطة في المستخلص بزيادة تركيزه. وقد جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما اشار اليه *Tyler.,et al*انه كلما زاد تركيز المستخلص الفعال زاد تاثيره على النوع البكتيري(24). كذلك يمكن تفسير النتائج السابقة على اساس ان البكتيريا لم تالف هذه المستخلصات من قبل وبذلك لم تستطع مقاومتها او على اساس ان للمواد الفة كيمياوية للتفاعل مع مكونات الخلية او ربما كانت لها مستلمات خاصة receptors على جدار الخلية البكتيرية ونواقل مناسبة تنقل جزيئاتها الى داخل الخلية لتوقف فعل الانزيمات والانزيمات المساعدة وغيرها من الجزيئات البايولوجية الفعالة.(25,22)

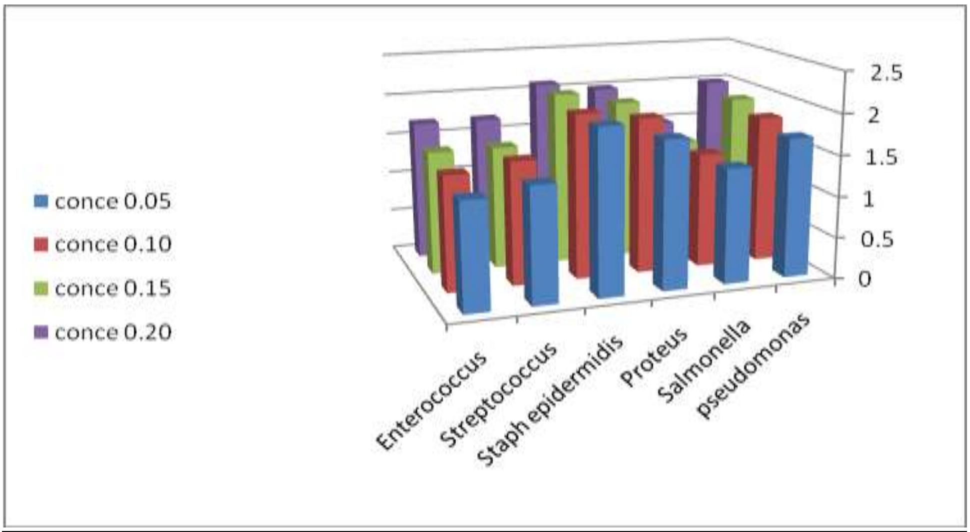
1- الكشف عن المركبات الفعالة في الاجزاء النباتية المختلفة لنبات الاس

نظرا للفعالية التثبيطية التي اظهرتها بعض الاجزاء النباتية المختلفة (الاوراق اليابسة , الاوراق الخضراء ,السيقان والثمار) لنبات الاس ضد البكتيريا قيد الدراسة فقد جرى التحري عن محتواها من المركبات الفعالة وذلك باستخدام الكواشف الكيميائية حيث يتضح من الجدول (2) ان اغلب الاجزاء النباتية لنبات الاس تحتوي على التانينات , الصابونينات, الراتنجيات , الفلافونيدات والفيوكومارينات وخلوه من الكلايكوسيدات.وقد جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما ورد في (26)عدا الكلايكوسيدات على احتواء هذا النبات على المركبات الفعالة الانفة الذكر.

ان غالبية النباتات تحوي عدد من المكونات الدوائية الفعالة مثل التانينات والقلويدات والصابونينات والراتنجيات وغيرها وهذه المواد تتواجد في اجزاء مختلفة من النبات كالازهار والثمار والاوراق والسيقان والجذور وقد ذكر Hussein *et al*., ان الكشف عن هذه المركبات وعزلها وتنقيتها له الاثر الفعال في توظيف نتائجها لغرض استخدامها في السيطرة على الامراض التي تصيب الانسان والحيوان والنبات والمتسببة بفعل البكتيريا والفطريات والفايروسات وغيرها (27). كذلك وجد ان مركبات التانين تمتلك خواص قابضة Astringent وعليه فان لها قابلية سريعة في شفاء الجروح وفي التهابات الاغشية المخاطية والتهاب الامعاء وبسبب خصائصه القطبية تبين ان لها تاثيرات فعالة ضد بعض انواع الميكروبات (28). اما بالنسبة الى الصابونينات فانها ذات وظيفة وقائية في النبات ضد الحشرات والكائنات الدقيقة كذلك تعد مركبات الصابونين مواد مقشعة ومزيلة للبلغم(24). كما تعتبر الراتنجات كمواد مضادة للعديد من الجراثيم الممرضة(29).

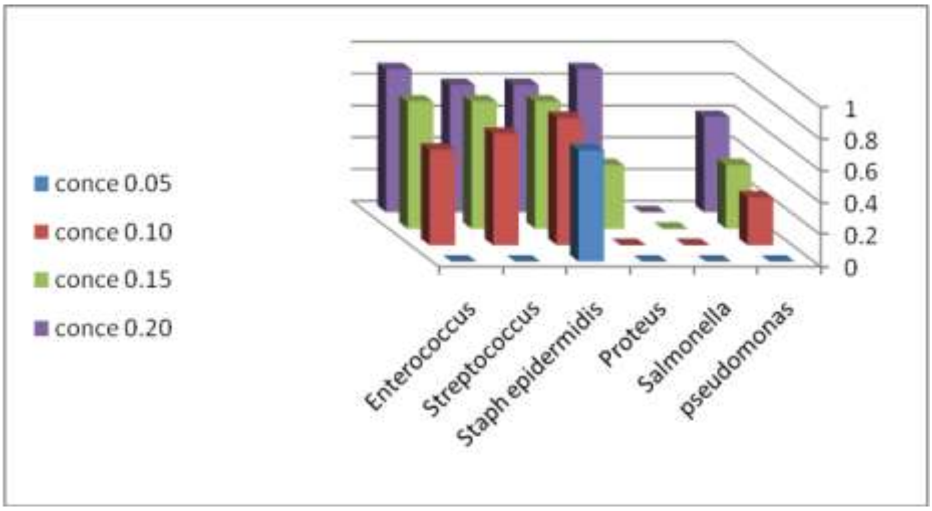


المستخلص المغلي

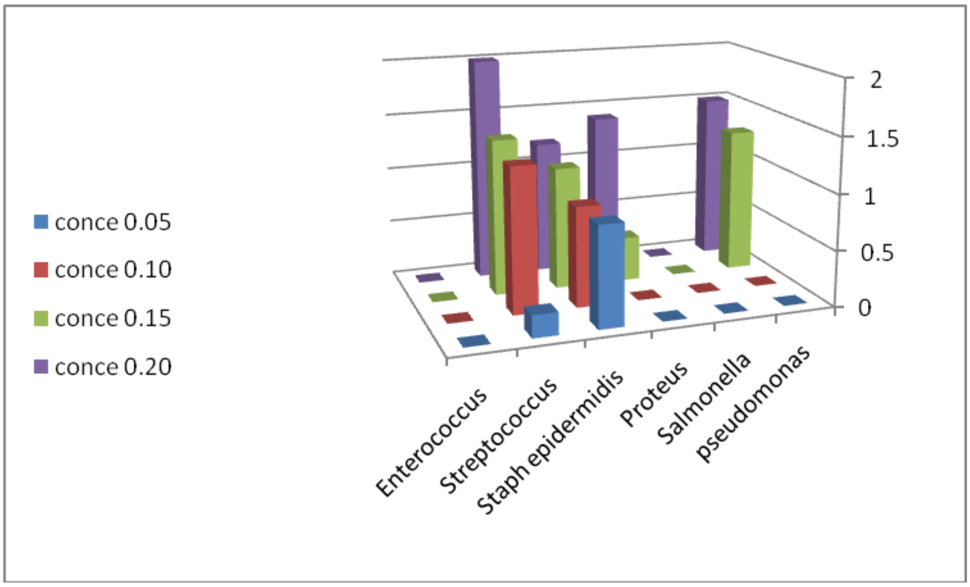


المستخلص المنقوع

شكل (1) بيان تاثير تراكيز المستخلصات النباتية المغلية والمنقوعة لاوراق الاس اليابسة على نمو الاحياء المجهرية

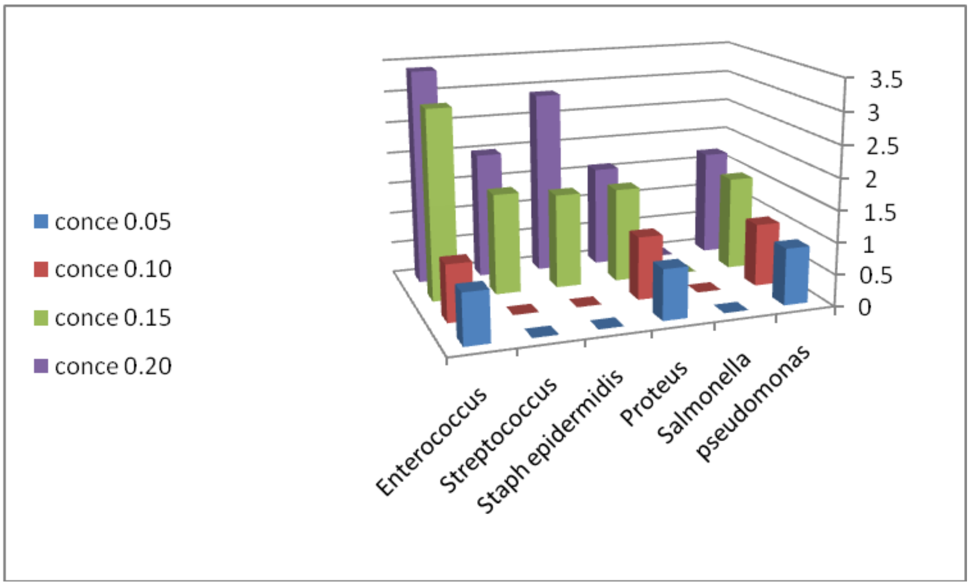


المستخلص المغلي

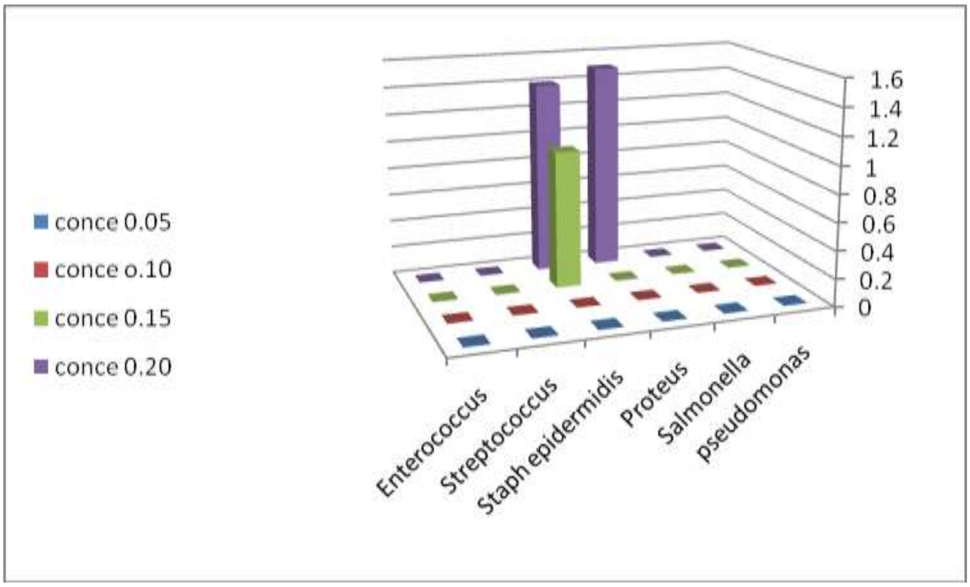


المستخلص المنقوع

شكل (2) بيان تاثير تراكيز المستخلصات النباتية المغلية المنقوعة لاوراق الاس الخضراء على نمو الاحياء المجهرية

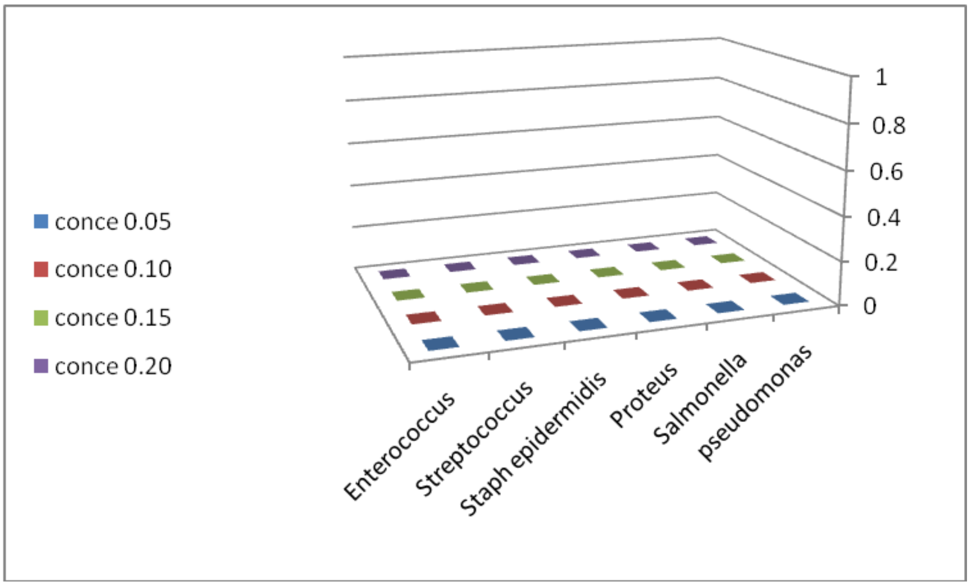


المستخلص المغلي

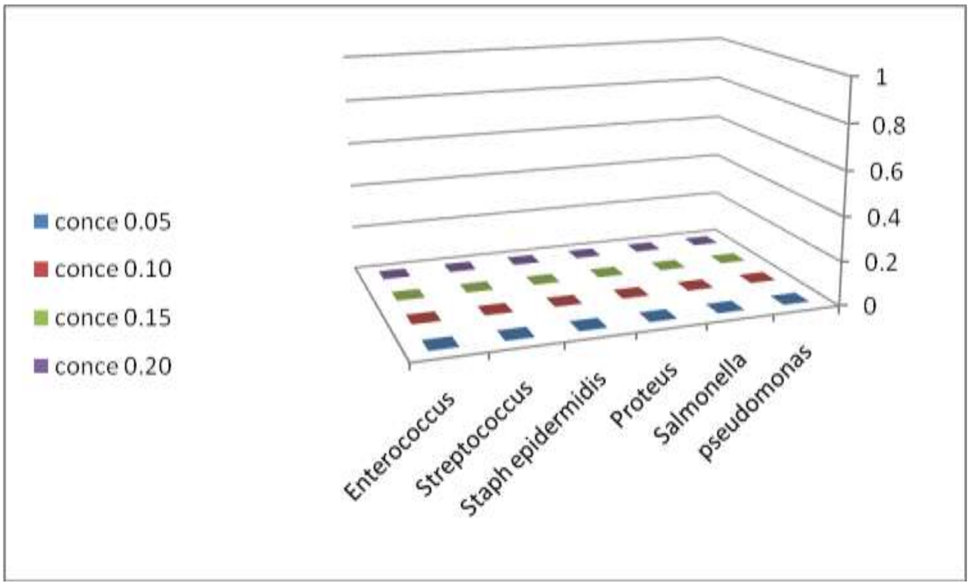


المستخلص المنقوع

شكل (3) بيان تاثير تراكيز المستخلصات النباتية المغلية والمنقوعة لسيقان الاس على نمو الاحياء المجهرية



المستخلص المغلي



المستخلص المنقوع

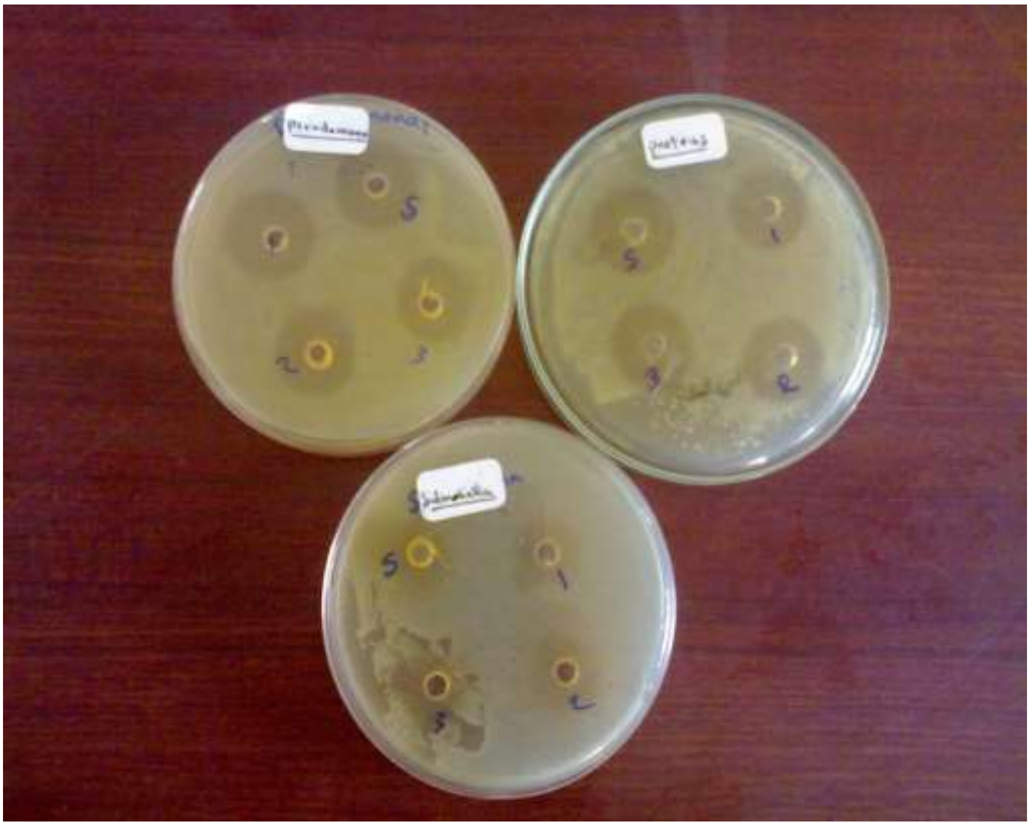
شكل (4) بيان تاثير تراكيز المستخلصات النباتية المغلية والمنقوعة لثمار الاس على نمو الاحياء المجهرية

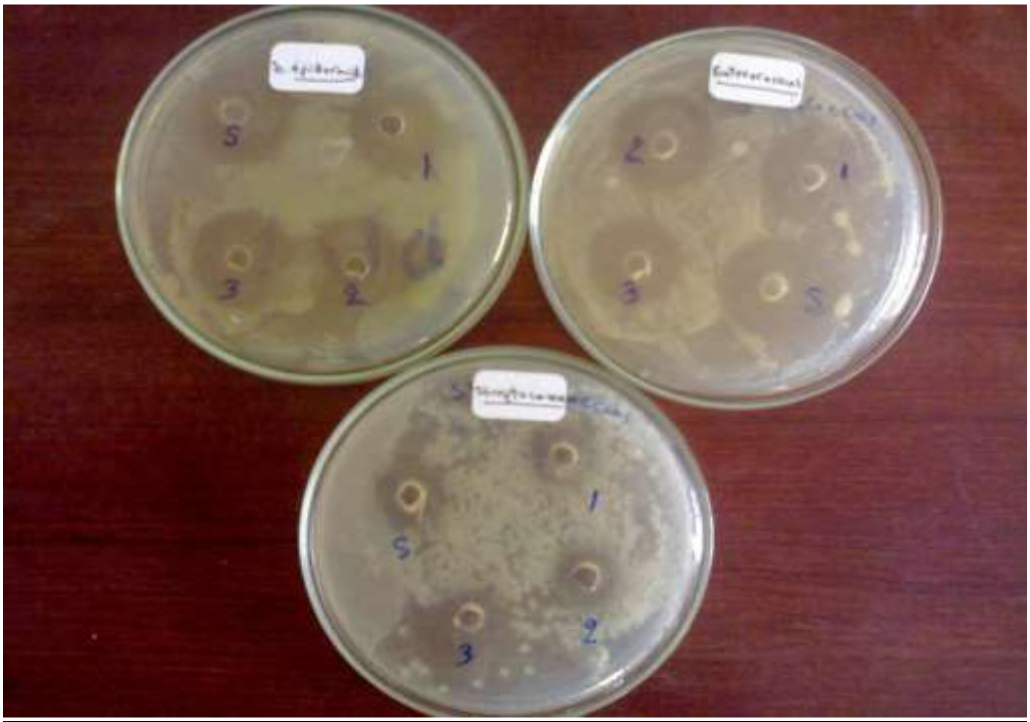
جدول (1): اختبار حساسية البكتيريا قيد الدراسة للمضاد الحيوي البنسلين تركيز (0.20 mglml)

	البكتيريا	قطر منطقة التثبيط(mm)
1	*Pseudomonas aeruginosa*	18
2	*Proteus*	34
3	*Salmonella*	36
4	*Streptococcus*	40
5	*Enterococcus*	40
6	*Staph epidermidis*	30

جدول (2) **نتائج الكشوفات النوعية عن بعض المركبات الفعالة للاجزاء النباتية المختلفة لنبات الآس**

	المركبات الفعالة	الأوراق اليابسة	الأوراق الخضراء	الساق	الثمار
1	التانينات	+	+	+	-
2	الصابونينات	+	-	+	-
3	الكلايكوسبات	-	-	-	-
4	الراتنجات	+	+	-	+
5	الفلافونيدات	+	-	-	+
6	الفيوكيومارينات	+	+	+	+





صورة(1) الفعالية التثبيطية للاوراق الآس اليابسة المغلية ضد البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة الغرام

صورة (2) الفعالية التثبيطية للاوراق الاس اليابسة المنقوعة ضد البكتيريا السالبة والموجبة لصبغة الغرام

References

1. Al- Shamma , A. and Mitscher , L.A. (1979). Comparative survey of indigenous Iraqi plants for potential economic .J. Nat.Prod. . 42: 633-642.
2. Al-Jeouri,A.A.(1994). Natural pharmacology. Dar-Al kutob, Baghdad , Iraq.
3. Degtyarova , A,P. and Pochinok,V,Y. (1960). Physicochemical and antibacterial properities of crystalline subs. Isolated from the leaves of Myrtus communis , E. levapinea and E wilkinsoniana .Pharm. J.(Kieve).15(6):47-52
4. Degtyarova, A,P,(1962). Antibiotics in myrtuc communis , eucalyptus levapimea and wilkinsonioona. Tr. Gas. Nikitsk . baton,sada, 36:137-186
5. Chakravarty .H.L.(1976). Plant wealth of iraq, Adictionary of economic plants. Vol.1 .botany direction , Ministry of agriculture and agrarian reform; Baghdad, Iraq
6. Al-Zuhaeri,A.M. (1982). Study of some chemical and pharmacological properities of Myrtus communis. Msc.thesis Baghdad, Iraq.
7. Diamntoglou,S. and Rhizopoulon, S. (1992). Proline accumulation in sapwood ,bark and leaves of three evergreen conifer.J. plant physiol.140: 361-365.
8. Ochoa, J.T. (1952).Essential oils of Spanish. Bull. 16: 101-107 .
9. Pichon,N. ; Joseph,M.J. and Raynand, J.(1993). 3-beta-D-myricetin of Myrtus communis L. plants medicinales at phytoterapie. 26 (2):86-90.
10. Uehleke, H. and Freitas, M.B.(1979). Oral toxicity of an essetial oil from Myrtle and adaptive liver stimulation. Toxicology. 12:335-342
11. Guesi , E. and Al- Rawi,A.(1966). A flora of iraq. Ministry of agriculture , Baghdad.
12 . Saquar, N.H.(1984). Mediacl plant at Arab. Dar Al-Shouon Al-thaqafia.Baghdad.
13. Ahmed, A.A.and Saleh,N.A.(1987). Peganetin, a new branched acetylated tetraglycoside of acacetin from Peganum harmala. J. Nat. Prod..50: 256-258.
14. Perez, C.; pauli,M. and Bazerque, P.(1990). An antibiotic assay by the agar-well diffusion method . J.Actabiology .15: 113-115.
15. diaz , A.M. and Abeger, A. (1986). Quantitative determination of the tannin content of the seeds of Myrtus communis .An.R.Acad.Farm. 52(1): 117-122
16. Al- Khazragi,S.M.(1991). Biopharmacological study of Artemisia herba alba. M.sc. thesis. Univ.Baghdad
17. Shahata,I.M. (1951). A pharmacological study of Anagallis arvensis. M.D.Vet.thesis Cairo Univ.
18. Kuroyonagi , M. ; Arakawa, T. ; Hirayama, Y. and Hayashi.T. (1999). Antimicrobial and antiandrogen flavonoid from Sophora flavescence . J . Nat. Prod. 62(12): 1599 (abstract).
19. Egorove , N.S. (1985). Antibiotics a specific approach . Mir publishers , Moscow.
20. Goodman .L.S. and Gillman, S. (1985). The pharmacological basis of therapeutics , 5th .ed.Macmillan publishing Co.Inc.New York, collier Macmilan Canada Ltd. Toronto , Baillier Tindall,London.
21. Al-Rawi and Chakravarty ,H.I. (1988). Medical plants of iraq. Ministry of agiculture and irrigation, 2nd ed . Baghdad.
22. Mitschrs , L. A. ; Leu , R. ; Bathala , M.S. , WU,W.N ; Beal , J.L. and White , R. (1972) . Antimicrobial agents from higher plants – 1 – Lioydia . 35 (2) : 157-166.
23. Mahasneh,A.M. , Abass and Oqilah,A.A.(1996). Antimicrobial activity of extract of herable plants used in the tradirional medicine of Bahrain phytotheraspy.Res,10:257-253
24. Tyler, V.E. ; Brady ., L.R. ; and Robbes . (1988). Pharmacognosy , 9th ed and Febiger, Philadelphia.

25.Hancock ,R.E.W. and Wang, P.G.V.(1984).Compound which increase the permeability Of the Pseudomonas aeruginosa outer membrane . Antimicrobes agents Chemotherapy .26(1): 48-52.

26. Vanhaelen, M. and Vanhaelen , Fasret, R.(1980). Constituents of essential oil of *Myetus Communis*. Planta.39 :164-167.

27. Hussein , K.A. ; Kadhem , N.H. ; Abbod , Z.H. (2007). Study of the biological activity of aqueous extract of *Cuminum Cyminum L.* and *Hibiscus Sabdariffa* L. and detection of some active groups in them .J.Karbala Univ 5(1) : 65 -86.

28. Taylor, R.S.L., Edel,F., Manandhar, N.P. and Towers, G.H.N.(1996). Antimicrobial activity of southern Nepales medical plants.J.of Ethnopharmacology. 50:97-102

29. Al-Ani, A.B.(1996). Study of the antimicrobial activity of crude Mastic. J. of Al-Anbar univ.1(1):82-86