الفعالية التشادية لمستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات فرشة البطل *Callislemon rugulosus* في فطر *Aspergillus niger*

انتصار عبد الحميد ألسلامي

قسم المحاصيل الحقلية /كلية الزراعة / جامعة بابل

الخلاصة: -

لقد تمت دراسة الفاعلية التضادية لمستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات فرشة البطل *Callistemon rugulosus* في فطر *Aspergillus niger* المسبب المرضي والذي تم عزله من نبات البصل *Allium cepa* وحددت الفاعلية من خلال تثبيط مايسيلوم الفطر وإنبات السبورات (الابواغ الفطرية) باستخدام تراكيز مختلفة هي (0.5 ، 1.25 ، 2.5 ، 5 ملغم / مل) و كانت أعلى نسبة تثبيط تم الحصول عليها كانت 78.8 % عند تركيز 5 ملغم / مل بالمقارنة مع معاملة السيطرة التي بلغت 0 % في حين كانت اقل نسبة إنبات للابواغ الفطرية (13.2 %) مقارنة مع معاملة السيطرة التي بلغت 78.2 % . يتضح من النتائج الواردة إن هناك علاقة طردية بزيادة نسبة تثبيط مايسيليوم الفطر بزيادة تركيز المستخلص في حين وجدت علاقة عكسية بانخفاض نسبة إنبات الابواغ الفطرية بزيادة تركيز المستخلص .

Abstract:-

The antifungal properties of Ethanolic extract for leaves of *Callistemon rugulosis* was carried out on selective phytopathogen fungi *Aspergillus niger* which isolated from *Allium cepa* .

Determination of activity was done on mycelial inhibition and spore germination by different concentrations of this extract (0.5 , 1.25 , 2.5 and 5 mg/ml) maximum inhibition (78.8%) was obtained by concentration (5 mg / ml) compared with control treatment have 0 % and the less percentage of the spore germination was (13.2 %) at conc. (5 mg / ml) of the extract compared with control treatment the spores reached maximum germination (78.2 %) . It's evidence from the results there is direct correlation when concentration of extract increased the percentage of mycellial inhibition increase but there is reverse correlation when conc. of extract increased the percentage of spore germination decreased .

المقدمة :-

تنتج المركبات الكيمياوية الثانوية المتواجدة في النبات من مركبات الايض الأولية وتوجد داخل أنسجة النبات أثناء العمليات الحياتية له وهي تكون بشكل ثلاث مجاميع رئيسية هي المركبات الفينولية ، القلوانية والتربينية (Harborne , 1984 و Lowan ,1999 , و Dwick ، 2000) وينتجها النبات كمواد دفاعية يحمي بها نفسه من الميكروبات الدقيقة والحشرات والنيماتودا (Schuts, 1983) .

بالنظر للإصابات الشديدة التي تسببها الفطريات والبكتريا والفيروسات للمحاصيل الزراعية في البلدان الاستوائية وشبه الاستوائية من العالم (Serrentino J. ، 1991) وما تلعبه المستخلصات النباتية باعتبارها فاتحة لإشعاع ذلك في السنوات الحديثة لما تملكه من صفات مضادة للإحياء المجهرية وذلك لان اغلب النباتات تحوي عدد من هذه المواد الدفاعية

ISSN 2072-3875

ضد المسببات المرضية (Khafahi and Dewandi , 2000 و Allison , 2008 و Das Anudwipa , 2008) .

ولغرض تجنب المخاطر التي تسببها المبيدات الكيمياوية ومنها مشكلة المقاومة التي تظهرها المسببات المرضية المستخدمة ضد فعل هذه المسببات (Okigbo , 2000) إضافة إلى تأثيرها الضار على البيئة من خلال تلويثها لها وكذلك تأثيرها المؤذي للإنسان (Rakitsky et al , 2000 ، 2005 و Blasco , 2006 و Jawich) . فلا بد من العودة إلى المنتجات الطبيعية النباتية والمتمثلة بالمستخلصات النباتية والتي ليس لها مردود سلبي على البيئة المتمثلة بالزيوت الطيارة المستخلصة من النباتات كبديل للمواد الكيمياوية لفعلها ضد الآفات الزراعية والمسببات المرضية على مختلف المحاصيل الدرنية (Nguefack ، 1998 و Amadioha , 1999 و Dohyme ,2002) .

يعود نبات فرشة البطل *C. rugulosus* إلى العائلة Myrtaceae وهي الغنية بالمركبات القلوانية والفينولية (Allison ، 2008) وقد أشار (Inderpal and Sand ، 2006) إن المركب Phoroglucinol يعتبر من المركبات الثانوية الواسعة الانتشار في عائلة الـ Myrtaceae التي لها فاعلية مضادة للميكروبات ولهذا الغرض صنف المركب إلى ثلاث مركبات رئيسية هي Monomeric ، Dimeric و Trimeric . واثبت (V. kumar ، 1990) إن المركب Acylphloroglucoual له فاعلية مضادة للفطريات هو (Monomeric) وكذلك المركب المعزول من نبات *C. lanlolatus* ويدعى Myrtucommulone اظهر فاعلية جيده ضد البكتريا عندما استخدم بتركيز 0.5 مايكرو غرام / مل وهو من نوع (Trimeric) .

واظهر المستخلص الايثانولي والمائي لأزهار *C. viminalis* فاعلية تثبيطية ضد الفطريات وكذلك المستخلص المائي لأوراق *C. viminalis* فاعلية مضادة للفطريات (Allion , 2008) . بينما اظهر المستخلص الايثانولي لثمار نبات *C. linales* فاعلية ضد البكتريا الموجبة لصبغة كرام والسالبة لصبغة غرام وكذلك ضد الفطريات (Izzo , 2004) .

يعد الفطر Aspergillus من الفطريات ذات الغزل الفطري المتكون من كتله من الخيوط المتفرعة أو الهايفات الفطرية (الناغي وآخرون ، 2005) المسؤولة عن العفن الذي يحصل للأغذية والنباتات بعض أنواعه تفرز السموم الفطرية Aflatoxines (Samson , 2001 ، و Geiser ,2009) وهذا الجنس واسع الانتشار في الهواء والتربة والماء ويمكن إن يتحمل الجفاف ويلوث مستودعات تخزين الحبوب وينتج السموم الفطرية (الأشقر ، 2009 – 2010) حيث إن ارتفاع درجات الحرارة والرطوبة تساعد على إنتاج السموم ملوثة الأغذية ومن بينها البذور التي تعد أهم أنواع الغذاء للإنسان والحيوان وينتج عن استهلاكها (البذور الملوثة) أخطار سمية شديدة (ميخائيل ، 2000) .

يعود لجنس الـ Aspergillus العديد من الأنواع التي تتواجد في مدى واسع من الظروف المناخية ويطلق على الطور اللاجنسي للسبورات المتكونة و الـ Aspergillum ويقسم هذا الجنس على أساس لون الرأس الكونيدي الذي قد يكون

ISSN 2072-3875

اسود ، اخضر أو ابيض أو أي لون آخر والأنواع التي لم يكتشف الطور الجنسي تكون ضمن الفطريات الناقصة (نخيلان ، 2009) والفطر *A. niger* واحد من أكثر أنواع جنس Aspergillus المعروفة التي تسبب العفن الأسود على الثمار والخضار مثل البصل وفستق الحقل (نخيلان ، 2010) إضافة إلى كونه معروف كملوث للطعام كما يصيب البذور إصابات جهازية عندما تكون الظروف ملائمة للفطر حيث انه بعد الحصاد يمكن ملاحظة الجراثيم الكونيدية على تجمعات أو أعداد كثيفة البصل (Schuste ، 2002) .

المواد وطرائق العمل :-

جمع وتهيئة النبات :-

جمعت أوراق نبات فرشة البطل *C. rogulosus* من الحدائق العامة المنتشرة في جامعة بابل وخلال مرحلة التزهير جففت الأوراق بعد تنظيفها من الأتربة ثم طحنها ووضعها في أكياس سيلفون لحين الاستعمال وتم تشخيص النبات في معشب كلية العلوم / جامعة بابل .

عزل المسبب المرضي من البصل :-

عزل المسبب المرضي من عدة رؤوس البصل مصابة بالمسبب المرضي وذلك من خلال تقطيعها إلى قطع بأبعاد 4 × 4 × 3 ملم من حافات العفن ثم تعقيم سطحها بالكحول الاثيلي بتركيز 70% لمدة دقيقة واحدة وجففت على ورق ترشيح معقم ووضعت في طبق بتري يحوي الوسط الغذائي PDA وحضنت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 28 م^0 لمدة 5 أيام (Okigbo , 2000) .

تشخيص المسبب المرض :-

تم تشخيص المسبب المرضي *A. niger* في مختبرات قسم وقاية النبات في كلية الزراعة / جامعة الكوفة.

تحضير مستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات فرشة البطل :-

تم اخذ (20 غرام) من المسحوق الجاف لأوراق النبات ووضعت في دورق يحوي 200 مل من الكحول الاثيلي تركيزه 70% وترك لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة بعدها رشح باستخدام قمع بخنر وركز الراشح بحمام مائي على درجة 40م^0 ثم بعد ذلك تم وزنه وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال (Khand ، 2005 و Kokate ، 2001) لغرض تقدير الفعالية الحيوية لمستخلص الكحولي لأوراق نبات فرشة البطل *C. rugulosus* اخذ 0.5 غم من المستخلص المحضر وأضيف له (1) مل من الكحول الاثيلي وأكمل الحجم إلى 100 مل فأصبح تركيز المحلول الأساسي 0.5%

ISSN 2072-3875

ومنه تم تحضير 0.5 ، 1.25 ، 2.5 و 5 ملغم / مل إضافة إلى معاملة السيطرة فكانت 1 مل كحول الاثيلي وأكمل الحجم إلى 100 مل بالماء المقطر ، واخذ 3 مل من كل تركيز من التراكيز المحضرة ووضع في طبق بتري قطره 9 سم ثم صب عليه 12 مل من الوسط الغذائي PDA قبل التصلب وحرك المزيج حتى امتزجا معا وتركت الأطباق لتتصلب إما معاملة السيطرة فأضيف 3 مل من الماء المقطر إلى 12 مل من الوسط الغذائي (Okigbo ، 2006) .

تقييم فاعلية مستخلص الكحول الاثيلي لأوراق *C. rugulosus* في اتساع مايسليوم *A. niger*

تم تقييم فاعلية المستخلص ضد الفطر وذلك بوضع قرص قطره 3 ملم لمزرعة فطر بعمر خمسة أيام من المسبب المرضي *A. niger* في كل طبق من الأطباق المحضرة بواقع ثلاث مكررات لكل تركيز إضافة إلى معاملة السيطرة ووضعت الأطباق في الحاضنة بدرجة حرارة 28 م^0 لمدة 7 أيام وبعد ذلك تم قياس مدى اتساع مايسليوم الفطر من خلال القطرين المتعامدين مارا بالمركز وتم حساب نسبة التثبيط من خلال معدل نمو الفطر في الوسط الحاوي على المستخلص نسبة إلى نموه في الوسط الخالي من المستخلص (Okigbo, R. N. ، 2000)

$$\% \text{ للتثبيط} = \frac{\text{معدل النمو القطري في السيطرة} - \text{معدل النمو الفطري في المعاملة}}{\text{معدل النمو الفطري في السيطرة}} \times 100$$

تقييم فاعلية مستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات *C. rugulosus* في نسبة إنبات الابواغ الفطرية

استعملت ثلاث أقراص بقطر 1 ملم من حافة مزرعة فطرية *A. niger* على وسط PDA بعمر خمسة أيام ووضعت في أنبوبة اختبار وأضيف لكل أنبوبة 1 مل من كل تركيز من التراكيز المحضرة من المستخلص وذلك لتحضير معلق مزرعة فطرية وفي معاملة السيطرة استخدمت نفس القطعة من المسبب المرضي لكن باستخدام الماء المقطر بواقع (ثلاث مكررات لكل تركيز إضافة لمعاملة السيطرة) بعد ذلك تم ترشيح المعلق الناتج من خلال أربعة طبقات من قماش الشاش وأخذت قطرة بحجم 0.5 مل ووضعت على شريحة زجاجية وحضنت على درجة (28) م^0 لمدة 24 ساعة وحسبت نسبة إنبات الابواغ لكل معاملة وقدرت بدقة تحت المجهر باستخدام القوى الصغرى للمجهر (10 X) (Srvivastara ، 1984و Amadioha ، 2000) . حللت تجارب الدراسة وفق التصميم العشوائي الكامل Completely randomized design وتم استخدام اختبار اقل فرق معنوي (L. S. D.) تحت مستوى 0.05 لبيان معنوية النتائج(الراوي وخلف الله ، 2000) .

ISSN 2072-3875

النتائج والمناقشة :-

أوضحت نتائج الفاعلية التثبيطة لمستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات فرشة البطل C. rugulosus على مايسليوم الفطر A. niger . حيث أثبتت إن التركيز 5 ملغم / مل أعطى أعلى نسبة تثبيط لمايسليوم الفطر بلغت 78.8 % بالمقارنة مع 0.0 % لمعاملة السيطرة وتفاوتت نسب التثبيط لبقية التراكيز وكما موضح بالجدول 1 حيث كانت نسب التثبيط تتناسب طرديا مع التركيز وذات تأثير معنوي عند مستوى 0.05 وحددت تلك الفاعلية باستعمال منطقة التثبيط التي تم قياسها بالمسطرة المترية ثم حسبت نسبة التثبيط وأكد تلك الفاعلية كل من (Gary, S. ، 1982) هذا الرأي يتفق مع (Cowan ,1999و Dewanjee ، 2008) حيث اثبتوا إن مستخلص الكحول الاثيلي لنبات*C. viminales* ذات تأثير مضاد للفطر *A. niger* والبكتريا وأقوى من المستخلص المائي .

وأوضح (Anudwipa ، 2009) إن مستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات *C. linearis* مثبط لمايسليوم الفطر *A. niger* وبكتريا *Bacillus cereus* .

يوضح الشكل (1) إن مستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات *C. rugulosus* قد خفض نسبة إنبات الابواغ الفطرية للفطر *A. niger* حيث بلغت اقل نسبة إنبات 13.2 % عند تركيز المستخلص 5 ملغم / مل مقارنة مع معاملة السيطرة التي أعطت نسبة إنبات عالية بلغت 78.2 % وظهر كذلك التأثير لبقية التراكيز في نسبة الإنبات حيث تراوحت نسبة الإنبات 26 – 43 % عند مقارنتها مع معاملة السيطرة وكانت ذات تأثير معنوي عند مستوى0.05 ولم يكن هناك فرق معنوي بين التركيزين 2.5 و 1.25 ملغم / مل أي يتضح من النتائج العملية في شكل (1) وجود علاقة عكسية بانخفاض نسبة إنبات الابواغ بزيادة تركيز المستخلص .

إن الفاعلية القاتلة للفطر لبعض المستخلصات النباتية لمكافحة مسببات مرضية مختلفة سجلت من كل من (Tewari and Nayak ، 1991و Nemak, 2005)

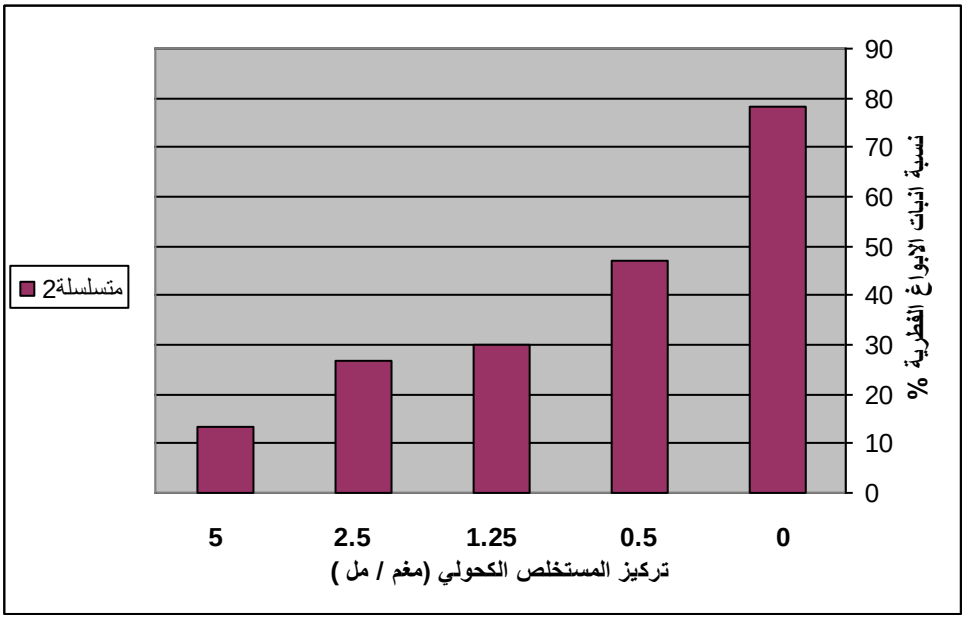
بحثنا أو استقصائنا اظهر إن المستخلص الكحولي لأوراق نبات *C. rugulosus* اثبت أو برهن فاعلية تثبيط النمو الفطري وإنبات ابواغ الفطر *A. niger* أي المستخلص كان قادرا على مكافحة أو مقاومة إنبات الابواغ ومايسليوم الفطر .

ISSN 2072-3875

جدول (1) تأثير تراكيز مستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات فرشة البطل *C. rugulosus* في نسبة تثبيط نمو الفطر *Aspergillus niger*

تركيز المستخلص ملغم / مل	نسبة تثبيط %
معاملة السيطرة	0.0
0.5	24.4
1.25	34.6
2.5	54.4
5.0	78.8
قيمة L.S.D تحت مستوى 0.05	2.824

شكل (1) تأثير تراكيز مستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات فرشة البطل *Callistemon rugulosus* في نسبة إنبات ابواغ فطر *Aspergillus niger*



قيمة LSD تحت مستوى معنوية 0.05 هي 2.824

ISSN 2072-3875

تعزى الفاعلية التثبيطية لمستخلص أوراق *C. rugulosus* كون النبات يعود للعائلة Myrataceae الغنية بالمركبات القلوانية والفينولية منها الـ Isoflavone بأنها مضادة للفطريات (Dewick ، 2002) وتلك المركبات لها القابلية على الذوبان بالمذيبات العضوية .

أجرى (Sambath , 2001) مسح لـ 13 مادة فينولية من 29 مستخلص كحولي من النباتات فوجد إنها ذات تأثير تثبيطي للفطر *A. niger* والبكتريا *B. subtillus* ، وكذلك شجرة الشاي الزيتية التي تعود إلى نفس العائلة إنها فعالة ضد البكتريا والفطريات كما أشار (Hammer et al , 1996و Messager ، 2005) ويتفق معهم (Park ، 2007) .

وأيضا من الأمور الذي يعزى لها فاعلية النباتات من عائلة Myrtceae ضد البكتريا والفطريات هو احتوائها على Monoterpenoids المؤلف من وحدتين من الـ Isoprene والتي لها الفاعلية مضادة للفطريات (Cowan , 1999) وان أساس الفاعلية المضادة للفطريات لهذه النباتات يعتمد على عوامل منها عمر النبات ، المذيبات ، الاستخلاص وطريقة الاستخلاص ووقت حصاد النبات (Qasem , 1996 و Okigbo , 2005) .

بالإضافة إلى ما ذكر من أسباب الفاعلية فالتباين أو الاختلاف في الفاعلية ضد الفطر ناتج بسبب استخلاص المواد الفعالة في الكحول الاثيلي المتمثلة بالمركبات القلوانية بالدرجة الأولى ثم بعد ذلك المركبات الفينولية بالدرجة الثانية (Harorne , 1984) وهذا يتفق مع ما جاء به كل من (Qasem , 1996 و Griffin willic , 1996 و Amadioh , 2000) .

وعلية من دراستنا يمكن الاستنتاج إن استعمال مستخلص الكحول الاثيلي لأوراق نبات *C. rugulosus* ممكن استخدامه كمبيد فطري من منتجات طبيعية وهذا التقدم في إدارة أمراض النبات مفيد اقتصاديا وذو مخاطر بيئية قليلة وبديل للمبيدات الصناعية فيكون شعارنا هو تطوير المستخلص القياسي ليصارع مدى واسع من الأحياء المجهرية حيث انه سيشجعنا للمزيد من البحث والاستقصاء في مكونات نبات *C. rugulosus* للوصول إلى حلول في أمراض النبات وذلك لكون عدد من المركبات المضادة للمايكروبات تحدث وتتكون في الطبيعة وبالانتظار لاستكشافها .

المصادر العربية :-

الراوي ، خاشع محمود وخلف الله عبد العزيز محمد ، 2000 ، تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، الطبعة الثانية ، جامعة الموصل 484 صفحة .

ميخائيل ، سمير ، 2000 . أمراض البذور ، الطبعة الثالثة ، منشاة المصارف بالإسكندرية . 334 صفحة .

ISSN 2072-3875

الناغي ، محمد عبد الوهاب و وفاء محروس عامر و عادل احمد مكي ، 2005 . أساسيات علم النبات العام . الطبعة الأولى ، مكتبة الدار العربية للكتاب ، القاهرة . 387 .

تخيلان عبد العزيز مجيد ، 2009 الفطريات، الطبعة الأولى ، دار دجلة ، عمان ، المملكة الأردنية الهاشمية . 352 صفحة .

الأشقر ، كمال ، 2009 – 2010 . الفطريات ، الطبعة الأولى ، جامعة دمشق كلية العلوم ، 318 صفحة

تخيلان ، عبد العزيز مجيد . 2010 . أمراض النبات الفطرية ، الطبعة الأولى ، دار دجلة ، عمان ، المملكة الأردنية الهاشمية ، 324 صفحة .

Abarca , M ; Bargulal , C. , and Cabanes G . 1984 . A production by strains of *Aspergillus niger* var niger Appl , Environ . Microbiol , 60 (7) : 2650 – 2

Allison , L. A. 2008 . Anti. Quorum sensing Agents from south Florida Medicinal plants and their Altenuation of *Pseudomonas aernginosa* pathogenicity – Addissertation submitteo in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of philosophy in Biology . Florida international university Miami , Florida . 154 . p .

Amadioha , A.C. 1990 . control of Anthracnose disease of cowpea by *Cymbopogon citvates* and *Ocimum gratissimum* , Acta phytopatholo . Entomol . Hungerica , 34 (1 – 2) 85 – 89 .

Amadioha , A.C. 2000 . Fungitoxic effect of some leaf extracts against *Rhizopus oryzae* causing tuber rot of potato Arch. Phytopathol plan 0 :1 – 9 .

Anud wipa , D ; Zaman , K ; and singh V. A. 2008 . Antimicrobial and antioxidant activities of *Callistemon linearis* Dc leaf extracts , Pharmacology , 3 : 875 – 881 .

Anudwipa , D ;Zaman , K; and singh , V. A. 2009 . Potential of Ethanolic extract of *Callistemon linearis* Dc leaf : Pharmacology 1 : 15 – 21 .

Aswal., 1984 " Screening of Indian Plants for Biological Activity " part x , Indian . J . Exp . Biol. 22 : 312 – 332 .

Bennat , J.W. 2010 . An over review of the Genus *Aspergillus* , Aspergillus Mallecul Biology and Genonics caister Academic : 978 .

Blasco , C ; Font , G .and Manes , P .2005 . Screening and evaluation of fruit samples for four pesticide residue , J. AOAC int. 88 : 847 – 853 .

Cowan ,M.M. 1990 . Plant products as antimicrobial agents – clinmicrobial Rev. 1999 . 22 : 564 – 582 .

ISSN 2072-3875

Dewanjee , S.; Maiti , A; , Majumder , R; Majumder A. 2008 . Evaluation of antimicrobial activity of hudro alcoholic oxtract of *Schma mallichii* bark pharmacology . 1 : 523 – 528 .

Dewick , P.M. 2002 . Medicinal natural products : A Biosynthetic Approach , second edu. New York : Joh wiley and sons .

Dhar. , 1968 . Screening of Indian plants for Biological Activiy : par II Indian Exp Biol. , 6 : 232 – 247 .

Garg , S. C. and Kasera , H.L.1982 . Antihelminthic activity of essential oil of *Callistemon viminalis Fitoterapia* . 53 : 179 – 181 .

Geiser , D. 2009 . Sexual structure in Aspergillus Morpholog . importance and genomics . Medical Mycology : official paplicate of the international society for human and Animal Mycology 47 suppl , 1 : 21 – 26 .

Griffin , S. G. and Wyllie , S. G. 1999 . The vole of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity flavour flag J. 14 : 322 – 332 .

Harborne J.B. 1984 . Phytochemical methods ; Aguide to modern technique of plant analysis . 2nd Ed chapmam and it all . London , uk .

Halcan L. and Milkus , K 2004 . *Staphylococcus aureas* and wound : Areview of tea tree oil as apromising antimicrobial . American Journal of infection control 32 , 402 – 408 .

Izzo , A. A. 2004 .Drug interaction with st. Johns wortl *Hypericam perforatus* areview of chemical evidence int. Jclin phar macol . thera . 212 : 131 – 148 .

Inderpal , S. and sandi B. 2006 Phloroglucinol compounds of nature of origin Nat. prod. Rep. 23 : 559 – 578 .

Jawwich , D 2006. Etude dela toxicite de pesticides vis – a – vis de deux genere de levures approach cinetiqe et cintiqe these de Doctorat , universite saint Joseph de Beyrouth Eoole doctorate science at ant specciialite chimic P.134 .

Jusi , P. 2000 . International Journal of food microbiology vol. 56 issue 25 may P. 3 – 13 .

Kanjilal , P.C. and Das A.C. . Flora of Assam , Omsous publicating vol . 11 : 287 .

Kashman , Y, ; Rostein A. and lifshitz . 1974 Tetrahedron , 30 , 991 .

Khafagi , I.K. and Dewedor , A. 2000 . The efficiency of random versus ethno-directed research in the evaluation of sinal medicinal plants for bioactive compounds , Journal of Ethno-pharmacology 71 , 365- 376 .

Khandelwal , K. R. 2005 Practical pharmacognosy , Techniques and Experiments , 3 th Nirali prakashan pune , 149 – 156 .

Kokate , C. K. 2001 . practical pharmalognosy 4 th edition vallabh prakashan . pune ; 122 – 135 .

ISSN 2072-3875

Kumar , V. ; karanar , V ; Sanath , M. R. and Macleod . J. K. . 1990 . Phytochemistry . 29 – 243 .

Naguefack , J; Amvam Z.; Tagne A. and Nangmo , R. F. 1998 sensibille du *Fusarium moniliforume* auxhulles essentially cameroon Biosciences Proceedings , 5 : 17 – 19 .

Okigbo , R. N ; Ajalla A. n. 2005. Inhibition of some human pathogens with tropical plants extracts *Chromdinaena odo* and *citrus aumarttola* and some antibiotics int. J mol. Med. Adv. Sci. (Pakistan) (1) : 34- 40 .

Okigbo R. N. and Ikeding , wn. 2000 . Studies on biological control of post harvest rot of Yams (Dioscrea spp.) with *Trichoderma viride* . J. phytopathology . 148 : 351 – 355

Okigbo, R.N; and Nmeka , I.A; 2005 . Control of yam tuber with leafs extracts of *xylopia aethiopila* and *Zingber officinale* , Afr. J. Biotechnol . 4 (8) :804 – 807 .

Ournasman , M. L. ; puri , H. S. and C. J. 1971 Phytochemistry . 16 – 185 .

Park , H. ; Jang , C. H. ; Cho , Y. B. and C. H. 2007 Antimicrobial effect of tree oil on methicillin – resistant *Staphyloccocus aureus* biofillm formation of thytympanostomy tube an in vitro study . in vivo 21 : 1027 – 1030 .

Qasem JR ; and Abu Blan H. A. 1996 . Fungicidal Activity of some common weed extracts against different plant pathogenic fungi and phytopathology mycoflon 44 : 157 – 161 .

Rakistsky V.N. ; Kobl Yakov , V. A. ; Turusov V.S. 2000 . Nongenotoxic (Epigenotics) caringens : carcinogens) : pesticides as an Example cvit Rev. Tetrat carc. Mut. 20: 229 – 240 .

Samson , R. A, Houbrakeuy ; J. Summer bell , R.C ; Flannigan B. and Miller ; J.D. 2001 , Commonane important species of fungi and a ctinomycetes in indoor environment , in : Microorganisms in home and indoor work Environments , New york : Taylov & francos . PP. 287 – 292 – 1s BW .

Sambath and Kumar . 2006 . Antimicrobial and Antioxidant Activity of care - Ya arborve Roxb-stem Bark-Irania Journal of pharmacology and Theraputics (IJPT) vol. 5 .

Serracution ; Serrentino , J. 1991. How natural Remedies work . Point Robert W A : Handeg and Apply publishers . 20 .

Schuster , E. ; Dunn , C. N. ; Frisvad , J C . and Dijck , P. W. 2002 . on the safety of *Aspergillus niger areview* Applied microbiology and biotechnology 59 (4 – 5) : 426 – 35 .

ISSN 2072-3875