



جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية \_ كلية العلوم

قسم علوم الحياة

**اسم البحث : عزل الفطريات من جذور الباقلاء**

**مقدم الى مجلس كلية العلوم / قسم علوم الحياة**

**وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس**

**في علوم الحياة من قبل**

**جنان رياض كاظم**

**بإشراف**

**م.م ولاء ياس**

٢٠١٧ م

١٤٣٨ هـ

## بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(اللَّهُ لَا إِلَهَ إِلَّا هُوَ الْحَيُّ الْقَيُّومُ لَا تَأْخُذُهُ سِنَّةٌ وَلَا نَوْمٌ لَهُ مَا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ مَنْ ذَا الَّذِي يَشْفَعُ عِنْدَهُ إِلَّا بِإِذْنِهِ يَعْلَمُ مَا بَيْنَ أَيْدِيهِمْ وَمَا خَلْفَهُمْ وَلَا يُحِيطُونَ بِشَيْءٍ مِّنْ عِلْمِهِ إِلَّا بِمَا شَاءَ وَسِعَ كُرْسِيُّهُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضَ وَلَا يَئُودُهُ حِفْظُهُمَا وَهُوَ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ )

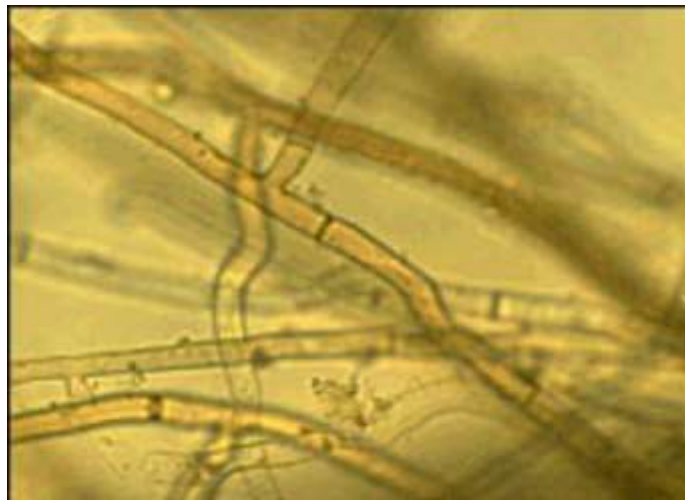
صدق الله العظيم

# الخلاصة

نفذت هذه الدراسة لمعرفة تأثير استخدام زيوت ومستخلصات ثلاث لنباتات مختلفة (حبة البركة , الثوم و القرنفل) و بتركيز ٢٠٠٠٠، ١٠٠٠٠ جزء في المليون (P.P.m) على نمو الفطر (*Rhizoctonia solani*) حيث أظهرت نتائج الاختبار تفوق مستخلص وزيت القرنفل بتركيز ٢٠٠٠٠ جزء في المليون معنويا على بقية الزيوت ومستخلصات النباتات الأخرى حيث بلغت نسبة التثبيط ١٠٠% ويليه زيت الثوم وحبة البركة بنسبة ٨٥,٦٩% و ٨١,٦٦% على التوالي ومستخلص الثوم بنسبة ٨٤,٧٢% ومستخلص حبة البركة بنسبة ٨٢,٣٥% حيث لا توجد فروقات معنوية بينهما في حين اظهر كل من زيت الثوم وزيت القرنفل تفوق معنويا على زيت حبة البركة عند تركيز ١٠٠٠٠ جزء في المليون في تثبيط نمو الفطر وبنسب تثبيط ٨٥,١٣% + ٨٠,١٣% و ٦٠,٧٢% على التوالي وتفوق مستخلص القرنفل بتركيز ١٠٠٠٠ جزء في المليون معنويا على بقية المستخلصات وبنسبة تثبيط ٩١,٣٨% ويليه مستخلص الثوم ٨٢,٥% ثم مستخلص حبة البركة ٥٨,٨٦%.

# المقدمة

يصيب الفطر *Rhizoctonia solani*, نباتات كثيرة ذات أهمية اقتصادية مسببا لها أمراض خطيرة في الحقول والمشاتل وله مدى عائلي واسع فهو يتطفل على ٢٣٠ نوعا نباتيا تنتمي إلى ٦٦ عائلة نباتية (Whitney s Parmeter ١٩٧٠ جبر ٢٠٠٠ ) كذلك يصيب نباتات الزينة والكثير من الأدغال التي تعتبر عوائل ثانوية للفطر ( Schneiders Dijst , ١٩٦٦ , الناصري ٢٠٠١ ) . ينمو الفطر على مدى واسع من درجات الحرارة من ٨-٣٥ م وهو من الفطريات المتوطنة في التربة و التي يمكنها ان تعيش لسنوات طويلة بغياب عائلها بفضل وجود الأجسام الحجرية التي تتحمل الظروف البيئية غير المناسبة كذلك وجد للفطر سلالات عديدة تختلف عن بعضها مورفولوجيا و فسيولوجيا وفي قدرتها المرضية وتختلف في مجموعة الاندماج الخيطي إذ أن للفطر ١٢ مجموعة اندماج خيطي carling واخرون , ( Allen, ١٩٩٤,1997 )



أدى الاستخدام المفرط للمبيدات الكيميائية لمكافحة أمراض النبات إلى أضرار كبيرة في الصحة العامة والبيئة و للحصول على منتجات خالية من الأثر المتبقي للمواد الكيميائية وبيئة سليمة و للحفاظ على التوازن البيئي درس الباحثون البدائل لهذه المبيدات الكيميائية ومنها المركبات العضوية الطبيعية المستخلصة من النباتات وتأثيرها في مكافحة الآفات المختلفة حيث وجد إن المستخلصات و الزيوت النباتية تمتاز بفعالية عالية ضد هذه الآفات و إنها مركبات غير سامة للنبات وسهلة التحطم في البيئة و وهناك العديد من هذه النباتات التي يمكن مستخلصاتها وزيوتها كمضادات طبيعية للمسببات المرضية المختلفة وبكلفة اقل وأمان أكثر ومنها نباتات اقتصادية وأعشاب كثيرة تنتشر في العراق العادل ١٩٧٩ وجد singh (١٩٨٠) إن مستخلص النيم ذو تأثير تثبيطي للعديد من فطريات التربة المسببة لمرض الذبول وتعفن الجذور لنبات الحمص ومنها الفطر *R.solani* وفي اختبار تأثير الزيوت العطرية لستة أنواع من التوابل ويضمنها القرنفل ضد (٣) أنواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام و(٤) أنواع موجبة صبغة كرام واحد الخمائر وجد إنها فعالة لمنع نمو الحياء المختبرية بتركيز ٠,٢٥ - ١٢ ملغم/مل (farag وآخرون ١٩٨٩) كما وجد Lawas و Garcia (١٩٩٠) إن مستخلص نبات الثوم هو الأكثر فاعلية في تثبيط نمو الفطريات *Rhizoctonia solani* و *sclerotium sp* من بين ١٢٧ نوعا نباتيا تم اختيارها ، وأشار (Abdelkader وآخرون ١٩٩٥) إلى تأثير نبات الثوم وحب البركة والحناء في بعض الفطريات الجلدية المسببة لمرض القرع في الإنسان إذ أظهرت جميع النباتات فاعلية تثبيطية عالية ضد الفطريات وفي دراسة حرى حول تأثير مستخلص الثوم على الفطريات (*R solani* , *Fusarium solani*) *Pythium sp*, وجد إن أعلى تركيز مثبط لهذه الفطريات ١٠٠ مل/ لتر ( Bianchi وآخرون ١٩٩٧) و وجد (s Bagy وآخرون ١٩٩٨) إن للمستخلصات المائية لأوراق نبات أم الحليب والسوس و الثوم وعصير أوراق الصبار وزيت البصل تأثيرا على نمو ١٥ نوع من الفطريات , ووجد إن نباتات العائلة الصليبية من سيقان وأوراق وجذور خضراء أو يابسة لها تأثير سام على أحياء التربة الممرضة و منها الفطر *R.solani*: بعد خلطها مع التربة وهي مواد مفيدة في مقاومة مدى واسع من أحياء التربة الممرضة وكبدائل للمواد الكيميائية وذلك الحثوائها على المركب

الكيميائي Glucosinolate وبتراكيز عالية (Subbarao وآخرون؛ ١٩٩٩) (Blok وآخرون ٢٠٠٠) كما وجد إن للمستخلص الكحولي لنبات القرنفل ذو فاعلية تثبيطية عالية للفطرين *Pythium aphanidermatum* R.solani المسببين لمرض سقوط البادرات على الخيار وقد تم تشخيص مركب Eugenol من زيت القرنفل كمادة فعالة في تثبيط الفطرين (كريم + ٢٠٠٠) وفي اختبار كفاءة مستخلص بذور الينسون وزيت الينسون وجد أن الزيت العطري للينسون يمتلك فاعلية عالية ضد خمس أنواع من الخمائر (Kosalec وآخرون, ٢٠٠٥) كما أشار كريم (٢٠١٠) في دراسة عن تقويم فاعلية خمس زيوت نباتية عطرية (زيت حبة البركة، زيت الهيل، زيت الينسون ، زيت الصبار، وزيت البراعم الزهرية للقرنفل) في تثبيط أربعة أنواع من الفطريات ومنها الفطر *R.solani* وبتراكيز ٢٥٠، ٥٠٠، ١٠٠٠ جزء في المليون إلى تفوق زيت البراعم الزهرية للقرنفل في تثبيط الأنواع الأربعة من الفطريات وبفروق معنوية عند التركيز المختبرة

# المواد وطرائق البحث

## عزل الفطر وتشخيصه

عزل الفطر R.solani من جذور نباتات الباقلاء المصابة بمرض تعفن الجذور في حقول كلية الزراعة جامعة ديالى . قطعت النباتات المصابة فوق منطقة التاج وغسلت الجذور بتيار من الماء الجاري لمدة ٢-٣ ساعات قطعت الجذور وقواعد السيقان إلى قطع صغيرة بطول ٥,٠-١ سم وعقمت سطحيا بغمرها لمدة ٢ دقيقة في محلول هاييوكلورات الصوديوم ٠,١% المستحضر التجاري فاست وبعدها غسلت بماء مقطر معقم لمدة ٢ دقيقة ثم جففت بورق ترشيح معقم وزرعت ٣ قطعة في كل طبق بتري قطر ٩ سم حاوية على وسط اكار مستخلص البطاطا و السكر (PSA) المعقم واستخدمت ١٠ أطباق وحضنت على درجة حرارة ٢٥ + ١ م وتم تنقية الفطريات المختلفة وشخص الفطر R.solani باعتماد المفاتيح التصنيفية المعتمدة على الصفات التي ذكرها Parmeter و Whitney (١٩٧٠)

### - الزيوت النباتية

تم الحصول على زيت حبة البركة وزيت القرنفل وزيت الثوم من الأسواق المحلية المستخلصات النباتية

### - الاستخلاص بالماء البارد

اتبعت طريقة Prasad و shekhawat (١٩٦٧) للحصول على المستخلص المائي الخام اخذ ٥٠ غم من المسحوق النباتي الجاف ووضع في دورق زجاجي سعة ١٠٠٠ مل وأضيف إليه ٢٥٠ مل ماء مقطر وترك المدة ٢٤ ساعة على جهاز الرجاج الكهربائي رشح المستخلص خلال ورقة ترشيح الس رقم ٣٣,٠) بواسطة قمع بخنر مع التفريغ الهوائي كررت العملية مرتين وجمع الراشح النهائي ولم تركيزه بواسطة جهاز المبخر الدوار تحت ضغط مخلخل (Evaporator) سهعة ١٠% جتهات؟ ( عند درجة حرارة ٤٠ غ للتخلص من الماء وتم الحصول على سائل كثيف القوام ء وزن ثم وضع في قنينة زجاجية معقمة ومعتمة محكمة الغلق وحفظت في المجمدة لحين الاستعمال.

## - الاستخلاص بالماء الحار

اتبعت نفس الطريقة أعلاه مع وضع الدورق في ماء حار بدرجة الغليان ولمدة ١٥ دقيقة.

## - الاستخلاص بالهسكان

أخذت ٢٠٠ غم من المسحوق النباتي الجاف ووضع في دورق سعة ١٠٠٠ مل ثم أضيف إليه ٤٠٠ مل هكسان ٩٨% وأغلق الدورق ووضع على رجاج كهربائي لمدة ٤٨ ساعة. رشح المستخلص خال ورقة Whitman - C3 (0.33) i قمع بخنر مع التفريغ الهوائي وكررت العملية مرتين ثم جمع الراشح النهائي وركز بواسطة جهاز المبخر الدوار تحت ضغط مخلخل ( ١٥٩٣٠٠١٨٤٠ ححة © ٣٦% ١٠% ) ٨١٠ عند درجة حرارة ٤٠ غ للتخلص من المذيب ثم وزن المستخلص ووضع في قناني زجاجية معتمدة ومحكمة الغلق وحفظ في المجمدة لحين الاستعمال ( Harborne ١٩٧٣؛

تم تحضير التركيز ٢٠٠٠٠، ١٠٠٠٠٠ جزء في المليون من الزيوت والمستخلصات النباتية اختبار فاعلية الزيوت والمستخلصات في تثبيط نمو الفطس ٥٠٧٦٧١٧ أضيفت الزيوت والمستخلصات النباتية إلى الوسط الغذائي ٩٨ المعقم ثم صب الوسط الغذائي في أطباق زجاجية قطر ٩ سم وبأربعة مكررات لكل تركيز ، عدا معاملة المقارنة بدون إضافة «لقح كل طبق بقطعة من مزرعة الفطرة// ٥٠ % بقطر ٥ ملم \*حضنت الأطباق على درجة حرارة ٢٥ + ١ خ بعد وصول قطر المزارع الفطرية لمعاملة المقارنة إلى حافة الطبق ( ٩ سم) تم قياس أقطار نمو الفطر في أطباق المعاملات وأخذت النتائج بحساب متوسط قطرين متعامدين لكل مستعمرة تم احتساب النسبة المئوية للتثبيط كما في المعادلة

$$\text{النسبة المئوية التثبيط} = \frac{\text{معدل نمو الفطر في معاملة المقارنة} - \text{المعاملة في الفطر نمو معدل}}{100 \times \text{معدل نمو الفطر في معاملة المقارنة}}$$

نفذت التجربة وفق التصميم العشوائي الكامل ( ١٠٩%٠ ) وبأربع مكررات لكل معاملة وتم اختبار معنوية الفروق بين المتوسطات وفق اختبار اقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى معنوية ٠,٠٥ (الراوي وخلف الله ١٩٨٠ .

# النتائج والمناقشة

( " ٠ النتائج والمناقشة أظهرت النتائج ء الجدول ١) إلى تفوق زيت القرنفل بتركيز ٢٠٠٠٠ جزء في المليون في تثبيط نمو حيث أعطى أعلى نسبة تثبيط للفطر % ١٠٠ يليه زيت الثوم بنسب تثبيط للفطر % ٨٥,٦٩ و ١٣ % بالتركيزين ٢٠٠٠٠ و ١٠٠٠٠ جزء في المليون على التوالي في حين أعطى زيت حبة البركة بالتركيز ٢٠٠٠٠ جزء في المليون نسبة تثبيط % ٨١,٦٦ وزيت القرنفل بتركيز ١٠٠٠٠ جزء في المليون نسبة تثبيط % ٨٠,١٣ : ثم زيت حبة البركة % ٦٠,٧٢ عند التركيز ١٠٠٠٠ جزء في المليون وتتفق هذه النتائج مع ما وجدته كثير من الباحثين بامتلاك الزيوت النباتية لنباتات حبة البركة والثوم والقرنفل فاعلية تثبيط

عالية للفطر R. solani (Abdelkadr:1990,lowas,Caricia) وآخرون ١٩٩٥: Bianchi وآخرون & ١٩٩٧: kosalec وآخرون, 2٠٠٥ كريم, ٢٠١٠)

(. جدول ١. تأثير فاعلية الزيوت النباتية على نمو الفطر R. solan على الوسط الغذائي اكار البطاطا والسكروز (PSA)

المعاملات	التركيز جزء في المليون	معدل نمو الفطر (ملم)	التثبيط (%)
المقارنة	١٠٠٠٠ ٢٠٠٠٠	٩٠,٠	٠,٠
زيت حبة البركة	١٠٠٠٠ ٢٠٠٠٠	٣٥,٣٥ ١٦,٥٠	٦٠,٧٢ ٨١,٦٦
زيت الثوم	١٠٠٠٠ ٢٠٠٠٠	١٣,٣٨ ١٢,٨٨	٨٥,١٣ ٨٥,٦٩
زيت القرنفل		١٧,٨٨ ٠٠,٠٠	٨٠,١٣ ١٠٠
اقل فرق معنوي عند مستو ٠,٠٥ هو ٣,٢٥٧			

كل رقم في الجدول يمثل معدل أربع مكررات

وأشارت النتائج في الجدول (٢) كذلك إلى تفوق مستخلص القرنفل في تثبيط نمو الفطر *R. solane* بالتركيزين ١٠٠٠٠٠، ٢٠٠٠٠ جزء في المليون وبنسبة تثبيط ٩١،٣٨% و ١٠٠% على التوالي ء يليه مستخلص الثوم وبنفس التركيزين وبنسبة تثبيط ٨٢،٥٠% و ٨٤،٧٢% ثم مستخلص حبة البركة بنسبة تثبيط ٥٨،٦٨% و ٢،٣٥% على التوالي وبنفس التراكيز وهذا تتفق مع ما وجدته (singh) (١٩٨٠) ؟  
 Lawas Garacia (1990) Branchi واخرون (١٩٩٧) Bagy وآخرون (١٩٩٨) وكريم (٢٠٠٠) بان للمستخلصات النباتية فاعلية عالية في تثبيط نمو الفطريات *R. solani*

## جدول ٢. تأثير المستخلصات النباتية على نمو الفطر *R. solani* على وسط اكار البطاطة والسكرور (PSA)

المعاملات	التركيز جزء في المليون	معدل نمو الفطر (ملم)	التثبيط (%)
المقارنة	١٠٠٠٠ ٢٠٠٠٠	٩٠،٠	٠،٠
زيت حبة البركة	١٠٠٠٠ ٢٠٠٠٠	٣٧،١٨ ١٥،٨٨	٢٨،٦٨ ٨٢،٣٥
زيت الثوم	١٠٠٠٠ ٢٠٠٠٠	١٥،٧٥ ١٣،٧٥	٨٢،٥ ٨٤،٧٢
زيت القرنفل	١٠٠٠٠ ٢٠٠٠٠	٧،٧٥ ٠٠،٠٠	٩١،٣٨ ١٠٠

اقل فرق معنوي عند مستو ٠،٠٥ هو ٢،٦٦

كل رقم في الجدول يمثل معدل أربع مكررات

وأظهرت نتائج اختبار التداخل بين الزيوت والمستخلصات والتراكيز على نمو الفطر

*R. solani* في الجدول (٣) أن أعلى نسبة للتأثير كانت لنبات القرنفل (الزيت والمستخلص) عند التركيز (٢٠٠٠٠) جزء في المليون وأظهرت النتائج كذلك وجود فروقات معنوية بين تأثير نبات القرنفل وتأثير نباتي حبة البركة والثوم في حين ال توجد فروقات معنوية بين تأثير نبات الثوم وحبة البركة (الزيت والمستخلص) عند

التركيز ٢٠٠٠٠ جزء في المليون في حين أظهرت نتائج تأثير المستخلصات والزيوت النباتية المختبرة وجود فروقات معنوية بين المستخلصات النباتية (مستخلص حبة البركة الثوم والقرنفل) عند التركيز جزء في المليون حيث أعطى مستخلص القرنفل أعلى تأثير على نمو الفطر R. Solani يليه مستخلص الثوم ثم مستخلص حبة البركة وظهر زيت الثوم وزيت القرنفل فروق معنوية كبيرة عنه في زيت حبة البركة و تتفق هذه النتائج مع نتائج العديد من الأبحاث التي أشارت إلى امتلاك نبات القرنفل فاعلية تثبيطية عالية ضد نمو الفطريات وكذلك نبات الثوم (Garcia و Abdelkader,1990,lawas وآخرون Bianchi,1995, وآخرون ١٩٩٧ , كريم . ٢٠٠٠ ، كريم ٢٠١٠)

جدول ٣. تأثير التداخل بين الزيوت والمستخلصات والتركيز على نمو الفطر R. solani

التركيز	معدل النمو
١٠٠٠	<p>الزيت</p> <p>حبة البركة ٣٥,٣٥</p> <p>الثوم 13.38</p> <p>القرنفل 17.88</p> <p>المستخلص</p> <p>حبة البركة ٣٧,١٨</p> <p>الثوم ١٥,٧٥</p> <p>القرنفل ٧,٧٥</p> <p>الزيت</p> <p>حبة البركة ١٦,٥٠</p> <p>الثوم ١٢,٨٨</p> <p>القرنفل ٠,٠٠</p> <p>المستخلص</p> <p>حبة البركة ١٥,٨٨</p> <p>الثوم ١٣,٧٥</p> <p>القرنفل ٠,٠٠</p>
٢٠٠٠	

اقل فرق معنوي عندى مستوى ٠,٠٥ هو ٤,٦١

كل رقم في الجدول يمثل معدل أربعة مكررات

المصادر

١. الراوي خاشع محمود و عبد العزيز محمد خلف اهلل . ١٩٨٠ . تصميم وتحليل التجارب الحقلية دار الكتب للطباعة والنشر جامعة الموصل. ٤٨٨ صفحة
٢. العادل خالد محمد ومولود كامل عبد . ٩٧٩ ١ المبيدات الكيماوية في ٠٠ النبات دان الكتب للطباعة والنشر- جامعة الموصل . ٣٩٧
٣. صفحة الناصري مسارا قحطان سليمان ٢٠٠١١ . المقاومة الإحيائية لبعض فطريات تعفن جذور القرنفل وموتها بواسطة الفطر *Trichoderma S* رسالة ماجستير. كلية التربية للبنات – جامعة بغداد.
٤. جبر , كامل سلمان ٢٠٠٠ , مسح لمرض تعفن جذور وقواعد سيقان الباقلاء وتشخيص الفطريات المسببة له ومكافحته حيويا المؤتمر العربي السابع لعلوم وقاية النبات ٢٢-٢٦ تشرين الأول/اكتوبر. عمان-الأردن
٥. كريم ، طارق عبد السادة . ٢٠٠٠ . فاعلية مستخلص البراعم الزهرية للقرنفل ضد مسببي مرض سقوط البادرات *Rhizoctonia solani & pythium* *aphanidermatum* على الخيار . رسالة ماجستير . كلية الزراعة – جامعة بغداد
٦. كريم ، طارق عبد السادة . ٢٠١٠ . تقويم فاعلية خمس زيوت نباتية عطرية في تثبيط نمو اربعة من الفطريات الممرضة . مجلة ديالى للعلوم الزراعية ٢٢٠(٢)-٢٢٨.

1. Abedlkader, H. ,S. Seddex, and A. EL-shanawany .1995. In vitro study of the effect of some medical plant on the growth of some dermatophytes. Assiut. Vet. Med. 67: 36-42.
2. Allen, D]. 1997. Food legumes in soil borne disease of tropical crops. Hillocks, R..}. and Waller, 1M. CAB International University Prres. Cambridge. PP. 452.

3. Bagy, M.M. , A. EL-shanawany and A.Y. Abedl-mallek .1998. Saprophytic and Cycloheximide resistant fungi isolated from golden hamster, Acta Microbial Immune]. Hung .45: 159-207.
4. Bianchi, A. A. Zambonelli and F. Bellesia .1997. Ultrastructural studies on the effects of Allium sativum on phytopathogenic fungi in Vitro. Plant Dis. 81(11):1241-1246.
5. Blok,W.J., J .G. Lamers , S.K. Termorshuizen and J.B. Gerrit .2000. Control of soil borne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by Tarping. phytopathology. 90.:235-259.
6. Carling,D.E., C.S.Rothrocks G.C.Mac Nish, M.W. Sweetingham and K.A.Brainard.1994.Characterization of anastomosis group 1 1(AG11) of Rhizoctonia solani .Phytopathology. 84.: 13 87 1 3 93.
7. Dijst,G.and HM. Schneider .1996. Flower bulbs diseases incited Rhizoctonia species. In Rhizoctonia species taxonomy Molecular Biology , Ecology ,Pathology and diseases control (EDA) Sneh,B .,Hare,S.J. Neate ,S.and Dij st, J. kluwer Academic publishers, Dordrecht the Netherland: PP.279-288.
8. Farag,R.S., Z.Y.Daw ,F.M. Hewed and G.S.A. ALBaroty.1989. Antimicrobial activity of some Egyption spice essential oils .1. Food protect. 52(9):665~667.

9. Garcia, RP. and M.V.Lawas .1990. Potential plant extracts for the control of azolla fungi pathogens. Philippine Agric. 73:23-4.
10. Harborne, 1B. 1973 .phytochemical methodes champman and Hal, London, New York. Pp.278.
11. Kosalec, I.,S. Pepeljnj ak and D. Kustarak.2005. Antifungal activity of fluid extract and essential from anise fruits (Pimpinell. Anisurn L.). Aetq Pharm. 55:373-385.
12. Parmeter, J .R.Jr. and HS. Whitney. 1970. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state in Rhizoctom'a solani biology. University of California press Berkeley, Los Angeles and London. P.7e19.
13. Shekhawat,P.S. and A.R.Prasad, 1967. Antifungal Properties of some plant extract inhibition of spores germination. Ind. Phytopathology. 24:8000-8002.
14. Singh, U.P. , H.B.Singh and R.B.Singh .1980.The Fungi toxic activity of some essential oils. Economic Botany. 34(2): 1 86-1 90.
15. Subbarao, K.V., J .C.tlubbard and S.T.Koike .1999.Evaluation of broccoli \ residue incorpordtion into field soil for Verticillium wilt Control a]? 5 in Coulinant DisL831124-129.