



تأثير المستخلصات النباتية الخام لبذور القرنبيط *Brassica oleracea* في بعض البكتريا الممرضة

ماجد رشيد مجيد، حسين علي فرحان

قسم التقنية الاحيائية، كلية العلوم ، جامعة بغداد. بغداد - العراق.

الخلاصة

لقد درست تأثير المستخلصات الخام (المائية و الميثانولية) لبذور نبات القرنبيط في نمو عزلات مختلفة من البكتريا الممرضة الموجبة والسالبة لصبغة كرام . استعملت طريقة التخفيف المتسلسلة في الانابيب لقياس الفعالية المثبطة للنمو البكتيري، فضلا عن إجراء مجموعة من الكشوفات النوعية للتحرري عن وجود المركبات الفعالة في البذور . اظهرت النتائج تأثر البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام بالمستخلص الميثانولي الخام لبذور نبات القرنبيط، وقد كانت البكتريا السالبة لصبغة كرام اكثر تحسسا من البكتريا الموجبة لصبغة كرام تجاه المستخلص حيث كان التركيز المثبط الادنى للبكتريا الموجبة لصبغة كرام 8 ملغم/مل اما البكتريا السالبة لصبغة كرام فكان التركيز المثبط الادنى لها 16 ملغم/مل أي ضعف التركيز المثبط الادنى للبكتريا السالبة لصبغة كرام .في الوقت نفسه، لم تبين النتائج اي تأثير للمستخلص المائي مضاد للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام .

أظهرت نتائج الكشوفات النوعية للمركبات الفعالة احتواء البذور على المركبات التالية: (قلويدات ، صابونينات ، فلافونيدات ، زيوت طيارة ، كليكوسيدات وتربينات) .

لذا يمكن اعتبار المستخلص الميثانولي الخام لبذور نبات القرنبيط (*Brassica oleracea*) ذو فعالية تثبيطية للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام قيد الدراسة.

THE EFFECT OF *BRASSICA OLERACEA* SEEDS EXTRACTS ON SOME PATHOGENIC BACTERIA

Majid R.Majeed, Hussain A.Farhan

Department of Biotechnology, College of Science, University of Baghdad. Baghdad-Iraq.

Abstract

The antibacterial effect of (*Brassica oleracea*) Methanolic and aqueous crud extract was evaluated by an in vitro study testing the growth of various Gram-Positive and Gram-Negative bacteria . The bactericidal activity of this extracts was analyzed by serial dilution in tubes.

In same time, the qualitative chemical tests was done for determine active materials in seeds of plant.

This study, found that Gram-Negative and Gram-Positive bacteria susceptible to very low Methanolic extract concentrations. On the other hand, Gram-positive bacteria were more susceptible than Gram-negative bacteria, the minimal bactericidal concentration of Gram-positive bacteria was (8 mg/100 ml) but minimal bactericidal concentration of Gram-negative bacteria was (16 mg/100 ml) that

mean duble inhibition concentration of Gram-positive bacteria .but in same time ,not susceptible to aqueous extract.

The chemical Test for crude Methanolic Extracts Indicate the Existance of: Glycosides , Alkaloid , Saponine , Essintial oils , Flavonoid and Terpines .

this study suggest that Methanolic extract of (Brassica olercea) seeds have inhibition effect on Gram-Positive and Gram-Negative bacteria

المقدمة

تحتل النباتات الطبية حديثاً و قديماً مكانة كبيرة في الإنتاج الدوائي والصناعي والزراعي . وتهتم العديد من دول العالم بزراعة وأنتاج هذه النباتات الطبيعية لأهميتها الاقتصادية .

أن النباتات الطبية هي المصدر الرئيس لكثير من العقاقير النباتية الطبية لاحتوائها على مواد فعالة تدخل في تحضير الأدوية وتعد النواة للتصنيع الكيميائي لبعض الأدوية المهمة مثل ذلك المواد: كورتيزون Cortisone و هرمونات جنسية Sex Hormones و بلازما Plasma (23).

و من العوامل التي أدت إلى الاهتمام بزراعة النباتات الطبية واستثمارها في السنين الأخيرة هي:

١ . إن تأثير المركبات الفعالة المصنعة كيميائياً ذات مفعول أقل تأثيراً من المركبات ذات المصدر النباتي من الناحية الفسلجية على الرغم من النقاوة العالية للمركبات المصنعة كيميائياً. فضلاً عن التأثيرات الجانبية الطبية للمركبات الكيميائية المصنعة مقارنة بتأثيرات بالمركبات النباتية الفعالة .

٢ . يحوي النبات الطبي الواحد أكثر من مادة فعالة واحدة ، وان هذه المواد تعمل معاً في علاج المرض بشكل متعاقد وقد يكون العكس وذلك بأن يكون لبعض هذه المركبات سمية تقلل بواسطة المركبات الفعالة الأخرى في النبات نفسه .

٣ . تستعمل بعض النباتات الطبية والعطرية لأغراض اقتصادية أخرى غير صناعة الأدوية مثل: مستحضرات التجميل و صناعة العطور والمبيدات الحشرية (24) .ومن هذه النباتات المهمة طبيياً و دوائياً نبات القرنبيط (*Brassica oleracea*) .

يعود نبات القرنبيط (*Brassica oleracea*) الى العائلة الصليبية Cruciferea التي تحتوي على ٣٠٠ جنسا و يوجد في العراق ٨٠ جنسا (١) .

ونبات القرنبيط من الخضروات الموسمية التي تزرع في فصل الشتاء ، ويمتلك هذا النبات صفات مطهريّة مشابهة الى حد ما

لنبات اللهانة، الا ان الاجزاء النباتية المستعملة كغذاء هي الاوراق و الزهرة.(7).

تحتوي اوراق القرنبيط على مواد دهنية وخليط من فيتامين (A&B) اضافة الحامض أفسفوريك ثنائي الكليسيريد، أما البذور فانها تحوي على زيت طيار، في حين تحوي الزهرة على فيتامين (A) وانزيم (Allantoinase) ومركب (Allantoin) واحماض عضوية (14).

وتكمن الأهمية الطبية لهذا النبات كونه مقلل لمرارة المعدة ومهدئ لالام التهاب القصبات وينصح به في حالات الام الرأس الناتج عن الاجهاد و الحر الشديد أن مستخلص الاوراق الطرية مفيد لعلاج قرحة الامعاء و الاثني عشري (11).

ولعلاج قرحة الجلد (skin ulcer) والتهابه فيخلط مع المستخلص مادة (Boric acid) (12).

أما مسخلص البذور فيمتلك فعالية مضادة و مثبطة لنمو الفطريات ، كما أن بذور نبات القرنبيط تحتوي على مركبات فعالة كلايكوسيدية وقلويدات وزيت طيار وفلافونيدات وراتنجات.(8)

ونظراً لقلة و ندرة البحوث حول الفعالية البيولوجية لمستخلصات بذور نبات القرنبيط ،اجريت هذه الدراسة،

مع الاخذ بنظر الاعتبار كونه نبات غذائي يحتوي على مواد طبيعية ذات تأثيرات جانبية قليلة.

المواد وطرائق العمل

١- العينات

أستعملت عزلات بكتيرية معزولة ومشخصة مسبقاً بواسطة فحوصات مطهريّة واختبارات كيموحياتية وفق ماورد في (2). من عينات سريرية في مراكز طبية مختلفة لمرضى راقدين في بعض مستشفى (مدينة الطب والكرخ التعليمي) للعام ٢٠٠٨ . عزلت المستعمرات ونميت على وسط خاص وخزنت بدرجة حرارة تحت الصفر المئوي للاحتفاظ بها لمدة طويلة. ولحين أستعمالها في الدراسة هذه .

٢- تحضير المستخلصات الخام لبذورنبات القرنبيط

وزرعت في وسط السائل المغذي وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة في الحاضنة لتنشيط العزلة ثم اخذت انابيب حاوية على ٥٠ مليلتر من وسط السائل المغذي عقت الانابيب ثم اضيف لكل منها ٠.١ مل من العالق البكتيري بعد تحديد عدد الخلايا البكتيرية بشكل تقريبي حيث كان عدد البكتريا ١.٥ × ١٠^٨ خلية / مل والذي يعطي طيف امتصاص مقداره (٠.٢) عند قياصة بجهاز المطياف الضوئي بطول موجي مقداره (٦٠٠) نانوميتر. تم اضافة ٠.١ مليلتر من التخفيف (٥، ١٠، ٢٠، ٤٠، ٨٠، ١٦٠) ملغم / ١٠٠ مل للانابيب الحاوية على وسط مغذي مع ترك انبوبة واحدة دون اضافة المستخلص الخام معاملة سيطرة لكل نوع من السلالات البكتيرية الاربعة التي سبق ذكرها ثم حضنت بدرجة حرارة ٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة وتم فحص العكورة الناتجة على طول موجي (٦٠٠) نانوميتر ومقارنتها بانبوبة السيطرة لكل نوع من البكتريا .

٥- التحليل الاحصائي

حللت النتائج احصائيا باستخدام (SPSS) Version 11.5. ووفقاً لتصميم (CRD) اما نوع الاختبار المقارن فهو (T. test) وعند درجات الحرية (5%) .

اجريت عملية الاستخلاص وفقا لما ورد في (٩). طحنت البذور الجافة لنبات القرنابيط طحنا خشنا ثم وضعت في جهاز السكسوليت (soxhlet) لاستخلاص المواد الفعالة باستخدام الميثانول (٨٠ %) اذ اخذ (٥٠ غم) من البذور المطحونة لنبات القرنابيط واضيف اليه (٢٥٠ مل) من الميثانول وأستمرت عملية الاستخلاص (٤٨) ساعة ثم رشح المستخلص وركز باستخدام المبخر الدوار (Rotary evaporator) للحصول على (٨ غم) من المستخلص الميثانولي المركز. حضرت التراكيز (8 و 16 و 32 و 64 و 128) ملغم / 100 مل مستخلص ميثانولي خام لبذور نبات القرنابيط مع الميثانول بتركيز ٣٥%.

اما المستخلص المائي للبذور فتم تحضيره بنقع (٥٠) غرام من البذور المطحونة في (٢٥٠ مل) من الماء المقطر لمدة (٧٢ ساعة) بدرجة حرارة (50) مئوية، بعدها رشح المستخلص وركز للحصول على (٣ غرام) من المستخلص المائي المركز ثم حضرت منه التراكيز ((8 و 16 و 32 و 64 و 128)) ملغم/100 مل.

٣- ألتحري عن المركبات الفعالة في بذور نبات القرنابيط

أجريت الكشوفات النوعية الخاصة بالمركبات الفعالة للتأكد من وجودها في بذور نبات القرنابيط بعد تحضير المستخلص الميثانولي للبذور .

تم الكشف عن التانينات والصابونينات و الراتنجات وفقاً لما ورد في (١٥) . أما الكشف عن القلويدات و الكلايكوسيدات و الانثراكوينونات فقد اجري اعتماداً على ما ذكر في (١٦)، وكشف عن التربينات و الستيرويدات طبقاً لما جاء في (١٧)، اما فيما يتعلق بالكشف على الفلافونيدات و الكومارينات فقد تمت وفقاً لما ورد في (١٨) .

وأخيراً، فقد تم الكشف على الزيوت الطيارة بالاعتماد على (١٩) مصدراً للكشف . ثم سجلت النتائج في جدول يوضح ذلك .

٤- تقدير الفعالية المضادة لمستخلصات بذور نبات القرنابيط في البكتيريا

قدرت الفعالية للمستخلصات الخام وفقاً لما ورد في (١٠). اخذت عزلات السلالات البكتيرية التي شخصت وهي *Pseudomonas fluorescens* ، *Escherichia coli* ، *Bacillus subtilis* ، *Streptococcus faecalis* ،

ان هذه النتائج تؤكد ما ذكر في (١٣)، بان عائلة النباتات الصليبية (Cruciferea) تمتاز باحتواء اجناسها و انواعها على الزيوت الطيارة والقلويدات والكلايكوسيدات وخاصة الحاوية على مجاميع الكبريت وبشكل مركبات تسمى (glucosinolate).

من الجدول (١-١) نلاحظ ان المستخلص الميثانولي للبنور يحتوي على المركبات الفعالة وهي (قلويدات ، صابونينات ، فلافونيدات ، زيوت طيارة ، كلايكوسيدات وتربينات) ولم تبين الكشوفات وجود المركبات (تانيينات ، راتنجات ، كومارينات ، أنثروكوينونات و ستيرويدات).

نلاحظ من الجدول (٢) تأثير مستخلص بنور نبات القرنابيط على البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام تشير ألتنتائج ألى ان البكتريا السالبة لصبغة كرام E.coli، P. fluoresens تأثرت بتراكيز عالية من مستخلص بنور نبات القرنابيط الميثانولي الخام وكان ألتأثير كبير في التركيز ٦٤ ملغم / ١٠٠ مل حيث كانت قراءة الـ O.D (٠.٢٧ ± ٠.٠١ ، ٠.٢٦ ± ٠.٠١) على

النوعية للمركبات الفعالة في المستخلص ألتام لبذور نبات القرنابيط

لون الكشف	النتيجة
راسب هلامي	+
لون الأزرق	-

النباتي الخام فتكون قد ترسبت في اسفل الانبوب الحاوي على الوسط السائل مما يعني عدم وجود طيف امتصاص لها، واعتماداً على هذا تقاس (O.D.) للوسط السائل المحتوي على البكتيريا .

فضلا عما تقدم، أظهرت الدراسة الاحصائية وجود فروق معنوية بين نتائج التثبيط للبكتيريا الموجبة لصبغة كرام والبكتيريا السالبة لصبغة الكرام، وفي الوقت نفسه لم تظهر اي فروق معنوية ما بين المجموعة البكتيرية الواحدة.

ومن الأشكال ١ و ٢ و ٣ و ٤ والتي توضح العلاقة بين اعداد الخلايا البكتيرية والتراكيز المستعملة للمستخلص الميثانولي الخام لبذور القرنابيط، يمكن ملاحظة مايلي :

يوضح الشكلان (١ و ٢) نقص اعداد البكتيريا الحية السالبة لصبغة كرام *E. coli*، *P. fluorescens* في التركيز 64 ملغم / ١٠٠ مل حيث بلغ عدد الخلايا (2.02×10^8 ، 1.95×10^8) خلية / مل على التوالي مقارنة بالسيطرة التي كانت (3.97×10^8 ، 2.55×10^8) خلية / مل على التوالي.

التوالي مقارنة بالسيطرة (0.53 ± 0.1 ، 0.34 ± 0.2) ان التركيز المثبط الادنى قد تحقق في التركيز ١٦ ملغم / ١٠٠ مل كما ويلاحظ ان تأثير المستخلص قد اصبح غير ملحوظ في التركيز الاعلى من ١٢٨ ملغم / ١٠٠ مل.

اما البكتريا الموجبة لصبغة كرام وهي *B. subtilis* ، *St. faecalis* فنلاحظ انهما قد تأثرا بالمستخلص الخام الميثانولي للبذور ولكن بتركيز اقل من التي تأثرت بها البكتريا السالبة لصبغة كرام حيث لوحظ ان التركيز ٣٢ ملغم / ١٠٠ مل اعطى تأثير واضح حيث كانت قراءة ال O.D (0.42 ± 0.1 ، 0.24 ± 0.1) مقارنة بالسيطرة حيث كانت (0.53 ± 0.1 ، 0.38 ± 0.1) على التوالي اما التركيز المثبط الادنى فكان في التركيز ٨ ملغم / ١٠٠ مل حيث تثبطت البكتريا في هذا التركيز .

يعود الاختلاف في درجة الاستجابة بين البكتيريا الموجبة و السالبة لصبغة كرام تجاه تأثير المستخلص الخام للبذور إلى أجدار الخوي البكتيري و ميكانيكية المقاومة للمجموعتين البكتيرية فضلا عن ميكانيكية وطريقة المستخلص النباتي الخام في تثبيط النمو و بشكل مختلف لكل من البكتيريا الموجبة و السالبة لصبغة كرام (22).

الفعالية المضادة لمستخلصات بذور نبات القرنابيط

في البكتيريا

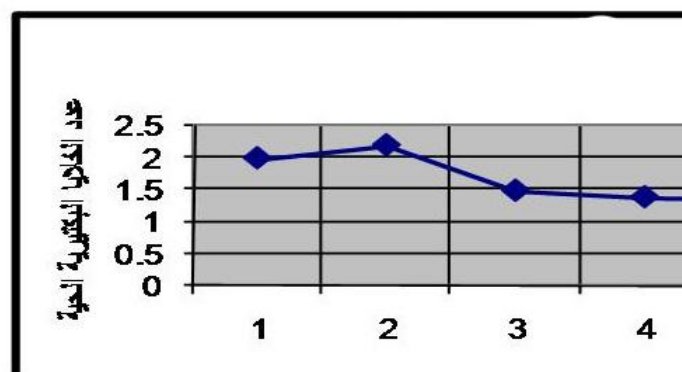
جدول رقم ٢ : تأثير المستخلص الميثانولي لبذور القرنابيط على نمو البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام .

الطيف الضوئي (٦٠٠) نانوميتر						سلالات البكتيريا الممرضة
تركيز المستخلص الميثانولي لبذور القرنابيط (ملغم / مل)						
128	64	32	16	8	السيطرة	
0.27	0.27	0.33	± 0.38	0.52	0.1 ± 0.53	<i>E. coli (gram -)</i>
0.1 ±	0.1 ±	0.1 ±	0.1	0.2 ±		
0.26	0.26	± 0.30	± 0.32	± 0.34	± 0.34	<i>P. fluorescens (gram -)</i>
0.1 ±	0.1 ±	0.2	0.1	0.1	0.2	
± 0.21	± 0.22	± 0.24	± 0.36	± 0.37	± 0.38	<i>B. subtilis (gram +)</i>
0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	

أن اعتماد طريقة (طيف الامتصاص) في دراسة فعالية المستخلصات الخام تجاه البكتيريا الممرضة تعد من الطرق المعتمدة عملياً وعلمياً إذ أن الكثافة الضوئية (O.D) للوسط المزروع تعتمد على أعداد البكتيريا الحية في الوسط والتي تكون في حالة حركة و أنقسام مستمر مما يؤدي الى عكورة الوسط الزراعي السائل، أما البكتيريا المقتولة بفعل تأثير المستخلص

١٠^٨ ، ٣.١٥ × ١٠^٨) خلية / مل على التوالي مقارنة
بالسيطرة التي كانت (٢.٨٥ × ١٠^٨ ، ٤ × ١٠^٨)
خلية / مل على التوالي.

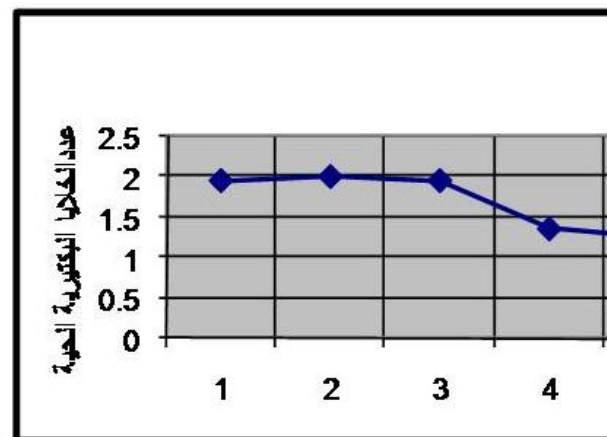
اما في الشكل (٣ و ٤) فنلاحظ ان تناقص اعداد البكتريا الحية
الموجبة لصبغة كرام ، *B. subtilis* ، *St. faecalis* في
التركيز 32 ملغم / ١٠٠ مل حيث بلغ عدد الخلايا (١.٨ ×



]

الكبريت (S-S) disulfide bound (S-S) وبما ان مجموعة الكبريت (-SH) لها محفزات خاصة لتضاعف الخلايا حيث تعمل مركبات الكبريت على تحطيم هذه المجموعة وبالتالي سيتم تثبيط الفعالية الحيوية والتضاعف في الخلية (3). اما القلويدات فميكانيكية عملها تتلخص بايقاف تصنيع الاحماض النووية في الخلية الحية المجهرية وذلك من خلال تثبيط عمل انزيم الـ DNA Gyrase كما تؤثر في نفس الوقت على المساعدات الانزيمية co-enzyme التي تنتجها الخلايا البكتيرية (4). ويعزى تأثير الصابونينات الى ازالة اغشية الاحياء المجهرية حيث تعمل على تحليل الخلايا الحية (5). وتعمل التانينات على تثبيط الانزيمات والبروتينات الناقلة الموجودة في غشاء الخلية والتصاق الخلايا المجهرية (6) . وفي الوقت نفسه ،تعد الزيوت الطيارة في ألبنور ذات اهمية و فعالية كبيرة في تثبيط وقتل الاحياء المجهرية الممرضة اعتماداً على ماتحتويه من مركبات عطرية حلقيه واحماض عضوية تؤثر في تركيب جدار البكتيريا الممرضة و تغير تنافذيته مما

اذا يمكن القول ان المستخلص الميثانولي لبنور القرنبيط يؤثر في نمو البكتريا الموجبة لصبغة كرام اكثر من البكتريا السالبة لصبغة كرام وكما موضح في الشكل (١ ، ٢ ، ٣ ، ٤) ويعزى تأثير هذا المستخلص على البكتريا الى احتوائه على كثير من المركبات الفعالة حيث تحتوي البنور على الكلايكوسيدات، القلويدات ، الفلافونيدات ، الصابونينات، الزيوت الطيارة، ان ميكانيكية عمل الكلايكوسيدات وخصوصا التي تحوي مجاميع كبريتية، تتضمن التفاعل مع مجاميع (-SH) الموجودة في بروتينات الخلية حيث تتفاعل مع الحامض الاميني cysteine وبالتالي تكون اصرة ثنائية



12. Kirkegaard, J. A., Angus, J. F., Gardner, P. O., and Cresswell, H. P. **1993**. Benefits of *Brassica* break crops in the southeast wheatbelt. in: Proc. Aust. Agric. Conf., 7th. G. K. McDonald and W. D. Belloti, eds. Australian Society of Agronomy, Adelaide, Australia.
13. Underhill, E. W. **1980**. Glucosinolates. Pages 493-511 in: *Encyclopedia of Plant Physiology*. Vol. 8. Secondary Plant Products. E. A. Bell and B. V. Charwood, eds. Springer-Verlag, New York.
١٤. شامي ، سامي آغا ١٩٨٢. دراسة بعض الصفات الدوائية والسمية لأزهار القيصوم ، رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري. جامعة بغداد .
1٥. Stahl , Egoned , **1969**. *Thin layer chromatography A laboratory Hand book*, New York springer .
1٦. Conn, E. E. and Stump f, P.K. **1980**. Outlines of Biochemistry. John and Sons inc.university of California at Davis
1٧. Geismann, T. A., **1962**. *Chemistry of Flavonoid compounds*. Macmillan co. New York
1٨. Indian herbal pharmacopoeia , (vol.I) , **1998**. *A joint publication of Regional Research Laboratory, Council of scientific & Industrial Research . Jammutawi*
١٩. Nadkarni, K. M. **1993**. *Indian Materia Medica*, **1**(41):554-555.
2٠. Sivarajan, V. V. **1994**. *Ayurvedic Drugs and their plant sources*, inc. science publ.,503.
2١. Tyler, V. E.; Bradly , L. R. & Robbers , J. E. **1988** .*Pharmacognosy*.19 ed .Lea & Febiger ,P :4-5 .
2٢. قطب ، فوزي طه. ١٩٨١. النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها - دار المريخ للنشر - الرياض.
23. الجبوري ، علي عواد ١٩٩٣. علم الأدوية الطبيعية ، العراق - بغداد.
- يؤدي الى انفجار او بلزمة الكائن المجهرى وبالتالي تثبيته أو قتله (20) و(21).
- أما المستخلص المائي لبذور نبات القرنبيط فلم يظهر اي فعالية بايولوجية مضادة للبكتيريا السالبة و الموجبة لصبغة كرام ،ممايعني عدم كفاءة الماء في استخلاص المركبات الفعالة من البذور وبالتالي تثبيت افضلية وكفاءة كحول الميثانول بتركيز (80% في عملية الاستخلاص.

المصادر

١. شرباش, محمود توفيق محمد. ١٩٩٦. تكنولوجيا الاشعة في الاغذية الزراعية جامعة الدول العربية - المنظمة العربية للتمية الزراعية والهيئة العربية للطاقة الذرية - الخرطوم.
2. Holt, J.G. ; Krieg, N.R. and Williams, S.T. **1994**. *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Williams and Wilkins, U.S.A.
3. Yarnell, E. **1999** . *Garlic continuing education module*. Natural healing track. New Hope Institute (NHI).
4. Ueda, Y. and Sakaguchi, M. **1995**. Characteristic flavor consyituents in water extract of garlic. *Agric. Biol. Chem.* **59**:163-169.
5. Cowan, M.M. **1999**. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews* , **12**(4):564-582.
6. Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley, J.T. and Willims, S.T. **1994**. Gram-negative aerobic / microaerophilie rods and cocci pp.79-150. In *Bergeys manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Williams and Wilkins, USA.
7. Chakravarty, L. H. **1976**. *Plant Wealth of Iraq*. Ministry of Agriculture . Baghdad. Iraq.
8. Kutub, fawzy taha, **1986**. *Medicinal Plants in Libia*. Arab Encyclopedia House. Tarabols, Libya.
9. Harborn, V. B. **1973**. *Phytochemical Methods, Aguide to Modern Techniques of plant analysis*. Chapman & Hall. London.
10. Atals, Ronald M.; Parks, Lawrence C. and Brown, E. **1995**. *Laboratory Manual of Exprimental Microbiology*. Mosby-Year Book, INC (USA).
11. Gamliel, A., and Stapleton, J. J. **1993**. *Characterization of antifungal volatile compounds evolved from solarized soil amended with cabbage residues*. Phytopathology. Macmillan co. New York.