مجلة زراعة الرافدين
ISSN: 2224-9796 (Online)
ISSN: 1815 – 316 X (print)
المجلد (٤٠) العدد (١) ٢٠١٢

تقييم القابلية التطفيرية للزيوت الطيارة من نبات النعناع *Mentha longifolia* في سلالة الفطر *Aspergillus amstelodami*

فادية موفق الحيالي جيهان موفق الراوي هديل أحمد العامري
قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصل / جمهورية العراق

الخلاصة

تضمن البحث اختبار القدرة التطفيرية لزيت نبات النعناع *Mentha longifolia* في كونيدات الفطر *Aspergillus amstelodami*، تم تتبع التأثير التثبيطي لتراكيز متصاعدة من زيت النعناع إذ تراوحت النسبة المئوية للتثبيط بين ٢٠,٨٩٪ و ٦٥,٥٪ للتراكيز ٠,٠٠٨ و ٠,١ مل/مل على التوالي، ثم جرى اختبار التأثير التطفيري لأربعة تراكيز تحت قاتلة Sublethal (٠,٠٣و ٠,٠٤و٠,٠٥ و٠,٠٦ مل/مل) باستخدام طرق التطفير الـ ثة المعتمدة وهي المعاملة المسبقة والنمو الوسيط والتضمين بالطبق. لم يسجل البحث للتراكيز الأربعة المدروسة من زيت نبات النعناع *M. longifolia* وجود أي تأثير تطفيري على كونيدات الفطر *A. amstelodami* وبهذا يمكن اعتبار زيت نبات النعناع وبالتراكيز المدروسة آمناً وراثياً.

المقدمة

إن استخدام المستخلصات النباتية في الوقاية والـ ج شهد اهتماماً واسعاً من قبل العديد من المنظمات العالمية لإثبات مدى صحة وأمان استخدامها في تركيبة العديد من الأدوية (Ammon وWahl، ١٩٩١)، وقد أفاد تقرير لمنظمة الصحة العالمية (WHO) أن ٨٠٪ من دول العالم تستخدم المستخلصات النباتية أو مكوناتها الفعالة طبيـ في عـ ج العديد من الأمراض (Anonymous، ١٩٩٣)، ومنها نبات النعناع *Mentha longifolia* الذي ينتمي إلى العائلة الشفوية Lamiaceae، وهو من النباتات العشبية المعمرة المنتشرة في جنوب غرب آسياو أوربا وأفريقيا والمناطق الشمالية من أمريكا الجنوبية (Al-Bayati، ٢٠٠٩). استخدم النعناع وزيته الطيار بشكل واسع في العراق واعتبر أحد النباتات المهمة طبيا لاحتوائه على العديد من المواد الفعالة صيدلانياً والمعزولة من أوراقه مثل Isomenthone، carvone ، 1,8-cineole، pulegone، piperitenone oxide ، 1,8-cineole ، limonene ، Terpenen، Menthol، Phelleudrene، Pinene ، Limonene و p-cymene (Mkaddem وآخرون ، ٢٠٠٩ ؛ Abo-Elgawad وElsayed، ١٩٩٥).استخدم النعناع منذ القدم في عـ ج العديد من الأمراض ولا يزال يستخدم لحد الآن في تخفيف نوبات السعال و الربو ومسكن عام للآلام (Al-Bayati، ٢٠٠٩)، لامتـ ك النعناع فعالية بيولوجية مضادة للعديد من الفطريات و البكتريا السالبة والموجبة لصبغة جرام وخاصة المقاومة منها للمضادات الحيوية (Akroum وآخرون، ٢٠٠٩؛Hajlaoui وآخرون، ٢٠٠٨ ؛ Abu-Shanab وآخرون، ٢٠٠٦ ؛ العامري، ٢٠٠٤)، فقد استخدمت مستخلصاته كغسول لعـ ج تقرحات الفم والحنجرة (Al-Bayati، ٢٠٠٩)، بالإضافة إلى قدرة مركب الـ Menthol على الحماية من الإصابة بالسرطان Anticancerمن خـ ل كونه مضادا للأكسدة Antioxidant (Motamed وNaghibi، ٢٠١٠ ؛ Mimica-Dukic وآخرون، ٢٠٠٣). كما استخدمت مستخلصاته في مستحضرات التجميل ومعاجين الأسنان كمركبات عطرية فضـ ً عن استخدامه كمواد منكهة للأطعمة (Iscan وآخرون، ٢٠٠٢). ونظراً لما تقدم فقد صممت هذه الدراسة للتحري عن أمان استخدام هذا النبات من الناحية الوراثية وذلك بالتقصي عن قدرته على إحداث طفرات جينية في الفطر *Aspergillus amstelodami*.

تاريخ تسلم البحث ٥/ ١٠ / ٢٠١١ وقبوله ١١ / ٤ / ٢٠١١

ISSN: 2224-9796 (Online)
ISSN: 1815 – 316 X (print)
المجلد (٤٠) العدد (١) ٢٠١٢

مواد البحث وطرائقه

الكائن الاختباري: أجريت تجارب البحث على السلالة $A_1(WA_1)$ من الفطر *A. amstelodami* وهي سلالة برية في احتياجاتها الغذائية، ولكنها تحمل طفرة تلقائية تحيل اللون الأخضر البري لكونيداتها إلى اللون الأبيض (Caten، ١٩٧٩).

الأوساط الزرعية وظروف الزرع: إن الأوساط الزرعية وظروف الزرع هي كما وصفها Caten (١٩٧٩) إذ استخدم وسط الأدنى غير المعضد Minimal medium (M) المتكون من: NaNo3 (٦ غم)، Mgso4 (٠,٥٢ غم)، Kcl (٠,٥٢ غم)، K2HPo4 (٠,٣٧٥ غم)، KH2Po4 (٠,٣٧٥ غم)، ZnSo4.7H2O (٠,٠١ غم)، FeSO4.7H2O (٠,٠٠٥ غم)، CuSO4.5H2O (٠,٠٠٢٥ غم)، Sucrose (٢٠٠ غم)، Agar (١٥ غم)، Distilled Water (١ لتر)، أجريت جميع الاختبارات على هذا الوسط مضافاً إليه مواد الاختبار. وللحصول على اكبر عدد من الكونيدات استخدم وسط مستخلص الشعير – ملح الطعام Malt extract salt medium (MTS) المتكون من: Malt extract (٢٠ غم)، NaCl (٧٥غم)، Agar (٢٠ غم)، Distilled Water (١ لتر). أما للحصول على مستعمرات عديدة ومنفردة يسهل عملية عدها أضيف إلى الوسط الغذائي (M) الملح Sodium deoxycholate (D) وبتركيز نهائي قدره ٤٠٠ مايكرو غرام / مل من وسط النمو. تم تحضين المزارع الفطرية بدرجة حرارة ٣٠ °م، وتراوحت مدة التحضين بين ثلاثة أيام للحصول على الكونيدات إلى ستة أيام للحصول على طافرات.

المحلول الخزين للبينوميل : حضر المحلول الخزين بإذابة ٠,٠٢ غرام من المبيد الفطري بنليت في ٥٠٠ مل من الماء المقطر فتم الحصول على محلول ذي تركيز مقداره ٤٠ مايكرو غرام بنليت/مل أو ٢٠ مايكرو غرام مادة فعالة Benomyl / مل، عقم بعد ذلك بالموصد عند ١٢١°م لمدة (١٥) دقيقة ثم حفظ في الثلاجة لحين الاستعمال (Van Tuyl، ١٩٧٧ ؛ Welker وWilliams ، ١٩٨٠).

تحضير زيت النعناع: تم الحصول على أوراق نبات النعناع من حدائق جامعة الموصل، وبعد التأكد من تصنيفه في المعشب النباتي التابع لقسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصل حضر زيت النعناع وذلك بمزج ٥٠ غم من أوراق النعناع مع ٧٥٠ مل من الماء المقطر في دورق سعة ٢ لتر وحضر الزيت بعملية التقطير المائي Hyderodistilation (El–Kady وآخرون، ١٩٩٣)، ثم أذيب ١ مل من الزيت في ٩ مل من مادة Ethylene glycol وعقم باستخدام المرشحات الغشائية بقطر ٠,٢٢ مايكرون واستخدم الزيت المعقم لتحضير التراكيز المستخدمة في البحث. (النعمان، ١٩٩٨)

تحضير العالق الكونيدي: حضر العالق الكونيدي للفطر *A. amstelodami* من مزرعة حديثة عمرها أربعة أيام منماة على الوسط MTS وجرى تحديد تركيز العالق عند $١٠^{٧}$ كونيدة / مل باستخدام شريحة Haemocytometer (جرجيس، ١٩٩٩).

تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC): جرى تحديد التركيز الأدنى المثبط للنمو للزيت الطيار لنبات النعناع باستخدام الوسط M الحاوي على تراكيز تصاعدية من الزيت اعتبارا من التركيز (صفر- ٠,١) مل / مل من الوسط ألزرعي . أتبعت طريقة الوخز Point Inoculation وذلك بعمل ثلاث وخزات من السلالة A1 في طبق حاو على الوسط M مضافا إليه تركيز معين للمادة المدروسة وبواقع ثلاث مكررات لكل تركيز، وبعد أربعة أيام من التحضين تم قياس أقطار المستعمرات النامية

ISSN: 2224-9796 (Online)
ISSN: 1815 – 316 X (print)
المجلد (٤٠) العدد (١) ٢٠١٢

حول نقطة الوخز وجرى قياس أقطار المستعمرات والنسبة المئوية للتثبيط لكل تركيز عن طريق: (الطائي، ٢٠٠٦)

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = ١٠٠ - \frac{\text{متوسط المعاملة التلقائية (.)} - \text{متوسط المعاملة بالمادة}}{\text{متوسط المعاملة التلقائية (.)}}$$

عزل الطافرات وحساب تكرارها: جرى عزل الطافرات التلقائية والمستحثة بزيت النعناع والمقاومة للمبيد بينوميل وبتركيز نهائي قدره ٠,٥ مايكرو غرام/مل من وسط الزرع لأنه التركيز المثبط بنسبة ١٠٠٪ للفطر *A. amstelodami*، (الحيالي، ٢٠١١)، كما تم حساب تكرار حدوث الطافرات على أساس عدد الكونيدات الحية في العالق الكونيدي (جرجيس، ١٩٩٩).

دراسة التأثير التطفيري: جرى دراسة التأثير التطفيري لأربعة تراكيز تحت قاتلة Sub lethal من الزيت الطيار لنبات النعناع وهي ٠,٠٣و ٠,٠٤و ٠,٠٥و ٠,٠٦ مل/ مل من الوسط ألزرعي وذلك بأتباع ثلاثة طرائق هي المعاملة المسبقة والنمو الوسيط والتضمين بالطبق (الطائي، ٢٠٠٦).

السيطرة الموجبة : تم تعريض كونيدات الفطر *A. amstelodami* للمطفر الكيميائي المعتمد حامض النتروز حسب طريقة Azevedok (١٩٧٠) وذلكللتأكد من قابلية السلالة A1 على الطفور عند معاملتها بمطفر معلوم.

التحليل الإحصائي: تم إجراء التحليل الإحصائي لنتائج الطرائق السابقة باستعمال اختبار t وعند مستوى معنوية ٠,٠١ (الراوي، ١٩٨٠).

النتائج والمناقشة

١. **التركيز الأدنى المثبط لزيت النعناع:** جرى تتبع التأثير التثبيطي لتراكيز متسلسلة تصاعديا من زيت نبات النعناع اعتباراً من التركيز صفر إلى ٠,١ مل / مل من الوسط ألزرعي .

يبين الجدول (١) أن أقطار مستعمرات الفطر أخذت بالتناقص التدريجي مع زيادة تركيز الزيت في وسط النمو إذ تراوحت النسبة المئوية للتثبيط بين ٢٠,٨٩٪ عند التركيز ٠,٠٠٨ مل / مل و ٦٥,٥٪ عند التركيز ٠,١ مل / مل، وهذا يتفق مع ما ذكره العديد من الباحثين عن الفعالية المضادة للفطريات Antifungal لزيت النعناع ومنها الفطر *Aspergillus spp.* (Bansod و Rai، ٢٠٠٨ ؛ Smarth وآخرون، ٢٠٠٦ ؛ Aqil وآخرون، ٢٠٠١)كما نلاحظ من الجدول انه لم يتم الحصول على تثبيط كامل لنمو الفطر وذلك لأن إجراء التطفير يحدث عند تركيز أقل من المستوى القاتل Sub lethal (McCann و Ames، ١٩٧٨) لذا تم اختيار التراكيز ٠,٠٣و ٠,٠٤و ٠,٠٥و ٠,٠٦ مل/مل.

٢.التأثير التطفيري لزيت النعناع : من الجداول (٢ و٣ و٤) تبين أن زيت نبات النعناع لم يظهر أي تأثير تطفيري بشكل معنوي عند $p \geq ٠,٠١$ في كونيدات الفطر *A. amstelodami* وذلك من مقارنة متوسطات تكرار الطافرات المقاومة للبينوميل والمستحثة بزيت النعناع بمتوسط تكرار الطافرات المقاومة للبينوميل التلقائية، إذ كانت قيمة $t_{(4)}$ الجدولية ٤,٦٠٤ أكبر من قيمة $t_{(4)}$ المحسوبة لأربع درجات حرية للتراكيز تحت قاتلة Sub lethal ٠,٠٣و ٠,٠٤و ٠,٠٥و ٠,٠٦مل/مل وباستخدام طرق التطفير الثلاثة المعتمدة وهي المعاملة المسبقة والنمو الوسيط والتضمين بالطبق، بينما عند مقارنة متوسط تكرار الطافرات المستحثة بزيت النعناع المقاومة للبينوميل مع متوسط تكرار الطافرات المستحثة بحامض النتروز المقاومة للبينوميل (سيطرة موجبة) تبين وجود فرق معنوي واضح عند $p \geq ٠,٠١$.

ISSN: 2224-9796 (Online)
ISSN: 1815 – 316 X (print)
المجلد (٤٠) العدد (١) ٢٠١٢

الجدول (١): أقطار المستعمرات (سم) للفطر *A. amstelodami* المزروعة على الوسط (M) مضافا إليه تراكيز مختلفة من زيت نبات النعناع بطريقة الوخز.

تركيز المادة مل / مل	المتوسط	النسبة المئوية للتثبيط
٠	٤,٩٣	–
٠,٠٠٨	٣,٩٠	٢٠,٨٩
٠,٠١	٣,٥٠	٢٩,٠٠
٠,٠١٣	٣,٢٣	٣٤,٤٨
٠,٠٢	٢,٨٧	٤١,٧٨
٠,٠٣	٢,١٧	٥٥,٩٨
٠,٠٤	٢,١٠	٥٧,٤٠
٠,٠٥	١,٩٧	٦٠,٠٠
٠,٠٦	١,٨٣	٦٢,٩٠
٠,١	١,٧٠	٦٥,٥٠

الجدول (٢): تكرار الطافرات (×١٠$^{-٦}$) المقاومة والمستحثة في كونيدات الفطر *A. amstelodami* بعد معاملتها بزيت نبات النعناع بطريقة المعاملة المسبقة.

تركيز المادة مل / مل	المتوسط ± الخطأ القياسي	قيمة t_4 المحسوبة
٠	٠,١٢٧ ± ٠,٠٨٦	–
٠,٠٣	٠ ± ٠	١,٤٧٦
٠,٠٤	٠ ± ٠	١,٤٧٦
٠,٠٥	٠,١٢٩ ± ٠,١٢٩	٠,٠١٢
٠,٠٦	٠,٨٤٥ ± ٠,٤٨٤	١,٤٦٠
HNO_2	١٧,٨٨ ± ٠,٤٣	*٣٤,٥٥

٠ : بدون معاملة وتكراراتها تمثل التكرارات التلقائية (السيطرة السالبة)، HNO_2: المعاملة بحامض النتروز (السيطرة الموجبة)، * : معنوية عند مستوى احتمالية ٠,٠١ ≥ p . $t_{(4)}$: قيمة الإحصاء t لأربع درجات من درجات الحرية والتي تقارن متوسط تكرار الطافرات من كل معاملة مع متوسط المعاملة صفر.

نستنتج مما سبق أن زيت نبات النعناع *M. longifolia* لجميع التراكيز المدروسة لم يظهر أي تأثير تطفيري في كونيدات الفطر *A. amstelodami* وبطرائق التطفير الثلاثة المستخدمة ضمن الظروف التجريبية المتبعة وهذا يتفق مع ما أكده Nair (٢٠٠١) أن زيت نبات النعناع لم يظهر أي تأثير تطفيري باستخدام اختبار أمز Ames test المعتمدة على سلالات *Salmonella*، وهذه تعتبر نتيجة ايجابية تضاف إلى الدراسات التي أشارت إلى أهمية هذا النبات بسبب الفعالية التي يمتلكها إذ أشارت العديد من الدراسات إلى قدرة نبات النعناع الوقائية ضد عمل الإشعاع وما ينتجه من عطب في ألDNA (DNA

ISSN: 2224-9796 (Online)
ISSN: 1815 – 316 X (print)

وذلك من خلال قدرته على تعزيز أو تقوية عمل آليات إصلاح ألـ DNA Error–free (Damage repair (Samarth وآخرون، ٢٠٠٦ ؛ Samarth وآخرون، ٢٠٠٢ ؛ Samman وآخرون، ١٩٩٨) وبهذا اعتبر النعناع من النباتات الآمنة وراثياً.

الجدول (٣): تكرار الطافرات ($\times10^{-6}$) المقاومة والمستحثة في كونيدات الفطر *A. amstelodami* بعد معاملتها بزيت نبات النعناع بطريقة النمو الوسيط .

تركيز المادة مل/ مل	المتوسط ± الخطأ القياسي	قيمة t_4 المحسوبة
٠	٠,٠١٦٠ ± ٠,٠٨٣	–
٠,٠٣	٠,٠٢٨٦ ± ٠,٠٥٨	٠,٧٦٤
٠,٠٤	٠,٠٨١١ ± ٠,١٤٠	٠,٦٩٠
٠,٠٥	٠,٠٩٢٥ ± ٠,١٦٥	٠,٨٧٣
٠,٠٦	٠,٣٠٨١ ± ٠,٦٣٢	١,٧٧٩
HNO_2	٠,٤٣ ± ١٧,٨٨	*٣٤,٥٥

٠ : بدون معاملة وتكراراتها تمثل التكرارات التلقائية (السيطرة السالبة)، HNO_2: المعاملة بحامض النتروز (السيطرة الموجبة)، * : معنوية عند مستوى احتمالية ٠,٠١ ≥ p . $t_{(4)}$: قيمة الإحصاء t لأربع درجات من درجات الحرية والتي تقارن متوسط تكرار الطافرات من كل معاملة مع متوسط المعاملة صفر.

الجدول (٤): تكرار الطافرات ($\times10^{-6}$) المقاومة والمستحثة في كونيدات الفطر *A. amstelodami* بعد معاملتها بزيت نبات النعناع بطريقة التضمين بالطبق.

تركيز المادة مل / مل	المتوسط ± الخطأ القياسي	قيمة t_4 المحسوبة
٠	٠,٠٢٧ ± ٠,٠٥٥	–
٠,٠٣	٠,٠٢٨ ± ٠,٠٢٨	٠,٦٩٢
٠,٠٤	٠,٠٩٢ ± ٠,٠٩٢	٠,٣٨٥
٠,٠٥	٠ ± ٠	٢,٠٣٧
٠,٠٦	٠,٠٩٤ ± ٠,٢١٤	١,٦٢٥
HNO_2	٠,٤٣ ± ١٧,٨٨	*٣٤,٥٥

٠ : بدون معاملة وتكراراتها تمثل التكرارات التلقائية (السيطرة السالبة)، HNO_2:المعاملة بحامض النتروز (السيطرة الموجبة)، * : معنوية عند مستوى احتمالي٠,٠١ ≥ p. $t_{(4)}$: قيمة الإحصاء t لأربع درجات من درجات الحرية والتي تقارن متوسط تكرار الطافرات من كل معاملة مع متوسط المعاملة صفر.

مجلة زراعة الرافدين
ISSN: 2224-9796 (Online)
ISSN: 1815 – 316 X (print)
المجلد (٤٠) العدد (١) ٢٠١٢

Evaluation of Mutagenic ability of Volatile oils from *Mentha longifolia* in the Fungus *Aspergillus amstelodami*

Fadeya M. Al-Hyaly Gehaan M. Al-Rawi Hadel A. Al-Amery
Department of Biology / College of Science / Mosul University / Iraq

ABSTRACT

This research involved testing the mutagenic ability of the volatile oil of *Mentha longifolia* on the conidia of fungus *Aspergillus amstelodami* .the inhibitory effect of different concentrations of volatile oil of Mentha were investigated so the percentage of inhibition were 20.89%-65.5% of concentrations(0.008-0.1) ml/ml. The mutagenicity of four sublethal concentrations (0.03 , 0.04 , 0.05 and 0.06 ml/ml) were tested by using three methods namly pretreatment, growth mediated and plate incorporation method, Non of the concentrations tested of volatile oil of *M. longifolia* were showed any mutagenic effect on conidia of fungus *A. amstelodami* ,so we can consider the volatile oil of *M. longifolia* is genetically safe .

المصادر

الحيالي، فادية موفق (٢٠١١). التحري عن التأثير الوراثي لمستخلص نبات الميرامية *Salvia officinalis* على الفطر *Aspergillus amstelodami*، مجلة علوم الرافدين، المجلد٢٢، العدد١.

جرجيس، رافعة قادر (١٩٩٩). التأثير التطفيري للترايسورالين والأشعة فوق البنفسجية القريبة في الفطر *Aspergillus amstelodami* . أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

العامري، هديل أحمد خلف (٢٠٠٤). عزل وتشخيص الفطر *Geotrichum candidum* ودراسة تأثير بعض مستخلصات النباتات الطبية عليه. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل. العراق.

النعمان، أديبة يونس شريف حمو (١٩٩٨). التأثير الجزيئي لبعض المستخلصات النباتية على نمو وايض عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل، العراق.

الطائي، رافع قاسم محمد (٢٠٠٦). تأثير مستخلصات الثوم على القابلية التطفيرية لكل من السورالين والأشعة فوق البنفسجية في الفطر *Aspergillus amstelodami* رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل، العراق.

الراوي، خاشع محمود(١٩٨٠). "مدخل إلى علم الإحصاء" . دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق، ص ٣٠٩-٣٥٤.

Abo-Elgawad ,M.M.; A.O.Elsayed (1995).Effect of essential oils of some medicinal plant on phytonematodes . Anz.Schadling, Pflanzenschutz, Umweltschutz. 68:82-84.

Abu-Shanab,B.;G.Adwan,;N.Jarrar,;A.Abu-Hijleh,;K.Adwan,(2006). Antibacterial activity of four plant extracts used inpalestine in folkloric medicine against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J.Biol. 30: 195-198.

Akroum,S.; D.Bendjeddou; D.Satta; K.Lalaoui (2009).Antibacterial activity and acute toxicity effect of flavonoids extracted from *Mentha longifolia.* J. Scientific Research. 4 (2): 93-96.

Al-Bayati F. A. (2009). Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq.J. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials .116: 403–406..

Ammon,H.P.; M.A.Wahl (1991). Pharmacology of *curcuma longa* .J. Plants Med.57: 1–7.

Anonymous **(**1993**)**. Summary of WHO guidelines for the assessment of herbal medicines. J .Herbal Gram, 28**:**13-14.

Aqil,F.; A.Z.Begand; I.Ahmad (2001). In vitro toxicity of plant essential oils against soil fungi. J. Med. Aro. Plant Sci. 22(23): 177–181.

Azevedok, J. L.(1970). Recessive lethal induced by nitrous acid in *Aspergillus nidulans* .J.Mutat. Res. 10: 11-117 .

Bansod S.; M. Rai.(2008). Antifungal Activity of Essential Oils from Indian Medicinal Plants Against Human Pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. J. Medical Sciences. 3 (2): 81-88

Caten, C. E. (1979). Genetic determination of conidial color in *Aspergillus* hetero-caryoticus and relationship of this species to *Aspergillus amstelodami*.J. Trans. Bri. Mycol. Soc. 73: 65-74.

El-kady,I.A.; S. S. El-Maraghy ; E. M. Mohamed (1993). Antibacterial and antidematophyte activities of some essential oils from species. J.Sci. 1: 63-69.

Hajlaoui,H.; M.Snoussi; H. Jannet; Z.Mighri; A.Bakhrouf (2008). Comparison of chemical composition and antimicrobial activities of *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia* essential oil from two Tunisian localities (Gabesand Sidi Bouzid).J. Annals of Microbiology. 58 (3):513-520 .

Iscan, G. ; N. Kirimer ; M. Kurkcuoglu; K. H. Baser ; F. Demirci. (2002). Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils . J .Agric Food Chem. 50(14):3943-3946.

McCann,J.; B.N. Ames (1978). The *Salmonella* microsome mutagenicity test : Predictive value for animal carcinogenicity. In: W. G. Flamm and M. A. Mehlman (eds.). Mutagenesis. Hemisphere Publishing Corporation, Washington:87 – 108.

Mimica-Dukic,N.; B.Bozin; M.Sokovic; B,Mihajlovic; M.Matavulj (2003). Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha species* essential oils .J. Planta Med. 69(5):413-9.

Mkaddem, M. ; J. Bouaji ; M. Ennajar ; A. Lebrihi ; F. Mathieu ; M. Romdhane (2009). Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activities of Mentha (*longifolia* L. and *Mviridis*) Essential Oils.J.Food Science.74(7): 358 - 363.

Motamed,S.M; F. Naghibi (2010). Antioxidant activity of some edible plants of the Turkmen Sahra region in northern Iran .J. Food Chemistry. 119(4):1637-1642

Nair B.(2001). Final report on the safety assessment of *Mentha Piperita* (Peppermint) Oil, *Mentha Piperita* (Peppermint) leaf extract, *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf, and *Mentha Piperita* (Peppermint) leaf water. J.Toxicol. 3:61-73.

Samarth,R.M.; M.Panwar; M.Kumar; A**.**Kumar (2006). Protective effects of *Mentha piperita* Linn on benzo[*a*]pyrene-induced lung carcinogenicity and mutagenicity in Swiss albino mice.J.Mutagenesis. 21(1):61-66.

Samarth,R.M.; M.R.Saini; J.Maharwal; A.Dhaka; A.Kumar (2002). *Mentha piperita* (Linn.)leaf extract provides protection against radiation induced alterations in intestinal mucosa of Swiss albino mice .J.Exp.Biol. 40:1245–1249.

Samman,M.A.; I.D.Bowen; K. Taiba; J.Antonius; M.A. Hannan (1998). Mint prevents shamma-induced carcinogenesis in hamster cheek pouch. Carcinogenesis. 19: 1795–1801.

Van Tuyl, J. M. (1977). Genetics Of Fungal Resistance To Systemic Fungicides. Ph. D. thesis, Agricultural University, Wageningen, The Netherlands.

Welker,D.L.; K.L.Williams (1980). Miotic arrest and chromosome doubling using thiabendzole, cambendazole, nocodazole and benlate in the slim mold *Dictyostelium discoideum*. J. Gen. Microbiol.116: 407 – 497.