



استجابة الصفات النوعية لنبات الريحان (*Ocimum basilicum*) للمخصب الحيوي EM1 وتأثير مستخلصه على نمو فطر *Aspergillus sp*

نجاة إدريس عمر^{1*}، مقبولة محمد حماد²
¹ أستاذ مساعد، مركز البحوث الزراعية والحيوانية، البيضاء، ليبيا
² محاضر مساعد، مركز البحوث الزراعية والحيوانية، البيضاء، ليبيا

Response of qualitative characteristics of basil (*Ocimum basilicum*) plant to the biofertilizer EM1 and the effect of its extract on the growth of *Aspergillus sp*.

Maqboula Muhammad Hammed²، Najat Edrees Omar^{1*}

¹ Assistant Professor, Agricultural and Animal Research Center, Al Bayda, Libya

² Assistant Lecturer, Agricultural and Animal Research Center, Al Bayda, Libya

*Corresponding author: njatalbrsy88@gmail.com

Received: September 06, 2023

Accepted: November 03, 2023

Published: November 10, 2023

المخلص

تناولت هذه الدراسة تأثير أربع مستويات من المخصب الحيوي EM1 (0، 1، 1.5، 2) مل/لتر ماء كغذوية جذرية (حيث تم تحضير المخصب الحيوي مسبقاً) على بعض الصفات النوعية لنبات الريحان. أجريت هذه الدراسة في مدينة البيضاء عام 2023، حيث أظهرت النتائج أن هناك فروقاً معنوية ذات دلالة لوجود فروق بين تراكيز المخصب الحيوي، مع أن التراكيز (1، 1.5، 2) مل/لتر، تفاوتت في تأثيرها على طول النباتات فلعب دوراً مهماً في الصفات النوعية وأعطى المعدل 2 مل/لتر أفضل النتائج، كما سببت طريقة الإضافة الجذرية زيادة في نسبة الزيت، وتحسين نسبة الأزوت والبروتين، كما تم تحضير المستخلص النباتي للريحان واستخدامه في تثبيط نمو فطر *Aspergillus spp* وجد أن له تأثير مثبط لهذا الفطر.

الكلمات المفتاحية: الريحان، EM1، زيت، بروتين، *Aspergillus spp*.

Abstract

This study examined the effect of four levels of EM1 biofertilizer (0, 1, 1.5, 2) ml. 1 liter of water as root nutrition (where the biofertilizer has been prepared previously) according to some qualitative characteristics for the basil plant. This study was conducted in the city of Al Bayda in 2023, and the results showed that There are significant differences between the concentrations of the biofertilizer, although the concentrations(1, 1.5, 2) ml/l, varied in their effect on the length of the plants, thus playing an important role in the characteristics. Quality: The rate of 2 ml/L gave the best results, and the radical addition method caused an increase in... The percentage of oil, improving the percentage of nitrogen and protein, and the plant extract of basil were also used In inhibiting the growth of *Aspergillus spp* fungi, it was found to have an inhibitory effect on this fungus.

Keywords: basil plant, EM1, Oil, Protein, *Aspergillus spp*.

المقدمة:

يصنف نبات الريحان من عائلة Lamiaceae وهو من النباتات العطرية موزعه على نطاق واسع (Okoye FBC, 2010). يعتبر الريحان عشب ذا جذع أرجواني. أوراقه مسننة، لامعة وذات رائحة قوية، والزهور ثنائية الشفة، أنبوبية أرجوانية، معبأة في عناقيد. كما إن الريحان عشبية معمرة. ويعتبر من النباتات السنوية التي تنمو في العديد من المناطق حول العالم، يزرع في جميع بلدان البحر المتوسط الاستوائية، في رومانيا يزرع في كثير من الأحيان لأغراض دوائية، طبية وزينة. يحتوي نبات الريحان على الزيوت الأساسية. فينولات الفينول. (Bruneton 2001) وقد استخدمت أوراق الريحان الزيتية في العلاج بالطب الشعبي لمجموعة متنوعة من الأعراض تتراوح من حمى الاضطرابات التنفسية كعلاج لمرض السيلان، حالات النزلات، السعال، والتهاب الشعب الهوائية وحة الصوت، الإمساك وارتفاع ضغط الدم ولعلاج التشنجات البطنية، وسوء الهضم؟ الغثيان، الصداع النصفي، الأرق، الاكتئاب كما يحسن وظائف الكلي، تم تطبيقها خارجياً لعلاج حب الشباب، لسعات الحشرات ولدغات الثعابين والالتهابات الجلدية (Venancio *et al* 2011)، (Bora *et al* 2011 ; 2011). كما وجد أن له تأثير مفيد علي سكر الدم (Agrawal. Rai. Singh 1996)، ويحتوي النبات الكامل الزيت الأساسي (Ocimumbasilicum). قد أظهرت الدراسات العديد من التأثيرات الدوائية والكيماوية في العديد من الأمراض، مع مضادات الأكسدة القوية ومكافحة الشيخوخة، المضادة للفيروسات، والخصائص المضادة للميكروبات (Al-Sakr، Amoudi، 2012) وقد أفادت الدراسات أن حمض [R A] Rosmarinic الروزمارتيك هو أكثر المركبات النشطة بيولوجياً موجودة في الريحان (Shigat *et al*، 2009). كما أن نبات الريحان شأنه شأن النباتات الطبية والعطرية صديقاً للبيئة، إذ لا يحتاج كميات كبيرة من الأسمدة والمبيدات، إلا أن المخصبات الحيوية تعمل من خلال نشاطها الحيوي علي توفير بعض العناصر الغذائية في وسط الزراعة، في حين يقوم بعضها الآخر في المساعدة بإمداد النبات بتلك العناصر الغذائية اللازمة لنموها، والتي يمكن الاستغناء عنها كلها، كما يعمل بعضها علي توفير توازن هرموني منشط للنمو، من خلال نشاط الكائنات الدقيقة التي يحتويها المخصب الحيوي، واللاكتيك في تحسين النمو الخضري، كونها تعمل كمحفز للنمو كونه يشمل علي مجموعات عدة من الكائنات الحية الدقيقة من البكتريا وفطريات نافعة (Tligha 2006)

لذا تهدف أهمية الدراسة لكون نبات الريحان يمتلك قدرة علاجية تفوق القدرة التي تمتلكها الأدوية المصنعة، هذا بالإضافة لخلوها من الآثار الجانبية الضارة، لذلك تكمن أهمية البحث في محاولة لأهمية المخصب الحيوي في زيادة إنتاج محصول الريحان، كذلك تحسين جودة صفات المجموع الخضري ونمو النبات.

المواد وطرق البحث

تم تحضير المخصب الحيوي بالطريقة التي وصفها عبد الكريم وآخرون (2022)، تصميم التجربة بأخذ أربع مستويات من المخصب الحيوي حيث كل تركيز له ثلاث مكررات، مع وجود ثلاث مكررات بدون معاملة كشاهد، واستخدام المخصب عن طريق اضافته لمياه الري لنبات الريحان.

- K0 المعاملة الأولى: صفر أي ماء بدون مخصب حيوي [شاهد].
- K2 المعاملة الثانية: تحتوي علي 1 مل / لتر ماء.
- K3 المعاملة الثالثة: تحتوي علي 1.5 مل / لتر ماء.
- K4 المعاملة الرابعة: تحتوي علي 2 مل / لتر.

تحضير التربة الزراعية:

تم إجراء العمليات الزراعية المختلفة بحراثة للتربة من اجل تفكيكها وتهويتها، ثم جهزت التربة وذلك بتنعيمها، قسمت إلي أربع قطع، كل قطع قسمت إلي 3 مكررات للشاهد 3 مكررات للتركيز الأول من المخصب، و3 مكررات للتركيز الثاني، و3 مكررات للتركيز الثالث.

الصفات المدروسة:

قياس الطول

أخذ طول النباتات في كل المعاملات بالسنتيمتر وأخذ منها متوسطها، من شهر مايو إلي أغسطس ومقارنة طول نباتات الريحان المعاملة بالمستويات المختلفة من المخصب الحيوي مع النباتات الغير معاملة بالمخصب الحيوي (الشاهد) شكل (1).

نسبة الزيت الثابت في الثمار %

تم تقدير النسبة المئوية للزيت الثابت بطريقة Soxhelt، شكل (2)، أخذت 10 غرام من الثمار لاستخلاص الزيت بعد طحنها باستخدام 100 مل من الهكسان كمذيب عضوي، وبالتسخين على درجة حرارة 60-80 درجة مئوية، لمدة 4-5 ساعات بجهاز Soxhelt مع استمرار التسخين حتى يتبخر المذيب العضوي تماماً ثم جففت البوتقة في الفرن على درجة حرارة 105 درجة مئوية حتى ثبات الوزن، طبقاً A.O.A.C (2005)، وبعدها تم حساب النسبة المئوية للزيت من خلال المعادلة الآتية:

(W وزن البوتقة + W OIL وزن الزيت بعد التجفيف غرام) - WB وزن البوتقة نظيفة وجافة وفارغة غرام / WS وزن البذور المطحونة (غرام) $\times 100$.



شكل (1) يوضح جهاز Soxhlet.

تقدير محتوى المجموع الخضري والثمار من الأوزون

أخذ 0.3 غرام بودرة من مسحوق الثمار ووضعها في أنابيب هضم، وتم هضمها في وسط حمض الكبريتيك حتى أصبحت محاليل الهضم ذات لون شفاف، ثم تركت لتبرد على حرارة الغرفة، أكمل الحجم بالماء المقطر حتى 100 سم 3 بعد ذلك تم تقطيرها لمدة 5 دقائق، واستقبل النواتج في دورق مخروطي يحتوي على 25 سم 3 ماء مقطر، وبضع قطرات من الكاشف المزدوج [البايرودين] $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$ ، تمت معايرة نواتج التقطير بحمض الهيدروكلوريك HCL.

تقدير البروتين في الثمار

قدر البروتين في الثمار من خلال تقدير الأوزون الموجود بطريقة كلداهل بعد هضم العينات في وسط حمض الكبريتيك، وبعد تقدير نسبة الأوزون في كل من المجموع الخضري والثمار وبزورها تم حساب نسبة البروتين وفق [Mcdani 1967 D el.] باستخدام المعادلة الآتية: النسبة المئوية للبروتين = النسبة المئوية للأوزون $\times 6.25$.

طريقة عمل المستخلصات الجافة

تم استخلاصه عن طريق سحق الأجزاء النباتية الجافة باستخدام هاون للحصول على مسحوق ثم تم النقع في الماء المقطر للحصول على المستخلص المائي كذلك نقعت في كحول الإيثانول 70% للحصول على المستخلص الكحولي استعمل 20 غرام من المسحوق النباتي الجاف مع 100 مل من سائل الاستخلاص أي بنسبة 1 غرام من المسحوق لكل 5 مل من السائل وترك الخليط في حمام مائي هزاز Shaker water bath وبدرجة حرارة 37 لمدة 24 ساعة بعدها تم ترشيح النقيع باستعمال عدة طبقات من الشاش الطبي ثم باستخدام أوراق ترشيح وعرض الراشح إلى الطرد المركزي بقوة 2500 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق ثم وضع الراشح في أطباق بتري معقمة ووع الأطباق في الحضان بدرجة 40م لمدة 3 أيام حتى جف المستخلص وتم كشط المستخلص الجاف بواسطة مشرط معقم وحفظ المسحوق الجاف بعد وزنه في أوعية بلاستيكية نظيفة ومحكمة لحين الاستعمال هذه هي طريقة المستخلص المائي الجاف أو المستخلص الكحولي الجاف

الكشف النوعي للمستخلصات النباتية المائية والكحولية

الكشف عن القلويدات باستخدام كاشف واكنر Wagner reagent

حضر هذا الكاشف بإذابة 1.3 غرام من اليود مع 2غم يوديد البوتاسيوم في 100 مل من الماء المقطر ثم أضيف إلى المستخلص النباتي فإذا تكون راسب بني دل ذلك على وجود قلويدات.

الكشف عن التانينات Tannins

حضر المحلول بإذابة 1 غرام من خلاص الرصاص في 100 مل من الماء المقطر ثم أضيف عدة قطرات منه إلى أنبوبة اختبار تحتوي 0.5 مل من المستخلص إذا ظهر راسب أبيض هلامي دل على وجود التانينات (Ahmed et al., 1989).

الكشف عن الجليكوسيدات Glycosidat.

مزج جزءان متساويان من كاشف فهلنج مع المستخلص المائي لنبات الريحان، ثم ترك المزيج في حمام مائي مغلي لمدة 10 دقائق، ويستدل على إيجابية الفحص من خلال ظهور راسب أحمر وهو دليل على وجود السكريات (قطب، 1981).

الكشف عن الفلافونات Flavones.

- حضر المحلول الأول بإذابة 1 غرام من الثمار المجففة لنبات الريحان في 5 مل من الكحول الإيثيلي بتركيز 50% إلى 10 مل ثم رشح المحلول بعد 6 ساعات.
- حضر المحلول الثاني بإضافة 10 مل من الكحول الإيثيلي بتركيز 50% إلى 10 مل هيدروكسيد البوتاسيوم 50%. مزجت كميات متساوية من المحلولين أعلاه. إن ظهور اللون الأصفر يدل على وجود الفلافونات (قطب، 1981).

الكشف عن كلوريد الحديدك Ferric Chloride

أضيفت عدة قطرات من كلوريد الحديدك $FeCl_3$ بتركيز 1% إلى أنبوبة اختبار تحتوي 0.5 مل من المستخلص، ظهور اللون الأخضر المزرق دليل على وجود التانينات.

الكشف عن الصابونينات Saponins

تم تحضير محلول مائي لمسحوق النباتات الجافة ووضعت في أنبوبة اختبار ورجت بشدة فإذا ظهرت رغوة كثيفة تبقى لمدة طويلة دلت على وجود الصابونينات (Harbone, 1984).

الكشف عن الراتنجات Resins

مزج 1 غرام من المسحوق النباتي الجاف مع 10 مل من الكحول الإيثيلي 95% وترك المحلول لمدة دقيقة واحدة في حمام مائي بدرجة حرارة 100م ثم رشح المحلول وأضيف 10 مل من محلول مائي لحمض الهيدروكلوريك 4% واستدل على وجود المواد الراتنجية بظهور العكارة (Shihata 1951).

الكشف عن الكربوهيدرات

حضر كاشف الفينول بإذابة 25 غرام بلورات الفينول في 5009 مل من الماء المقطر، ثم أضيف 0.5 مل من هذا الكاشف إلى 0.5 مل من المستخلص في أنبوبة اختبار ورجت جيداً ثم أضيف 2.5 مل من حامض الكبريتيك المركز إلى المحلول فإذا ظهر اللون الأحمر البني دل على وجود الكربوهيدرات (Meyer and Walther, 1988).

تأثير مستخلص نبات الريحان في نمو الفطر *Aspergillus flavus*

مزجت المستخلصات المائية والكحولية المجففة لنبات الريحان مع الوسط PDA المعقم والمضاف إليه المضاد الحيوي بمعدل 250 مل غرام / لتر قبل التصلب بثلاث تركيزات 10-15-25 مل غرام / مل بمعدل أربع مكررات لكل تركيز، وبعد تصلب الوسط يتم نقل قرص بقطر 5 ملم من مزرعة الفطر بعمر 6 أيام إلى وسط الطبق ومع وجود شاهد لم يضيف المستخلص مع إضافة المضاد الحيوي وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 25م لمدة ستة أيام وتم قياس قطر المستعمرة النامية، (عمر وحمد، 2023).

وسجلت النتائج حسب نسبة التثبيط باستعمال المعادلة التالية:

$$\text{نسبة التثبيط} = \frac{\text{معدل قطر الفطر في أطباق الشاهد} - \text{معدل قطر الفطر في إضافة المعاملة}}{\text{معدل قطر الفطر في أطباق الشاهد}} \times 100$$

النتائج:

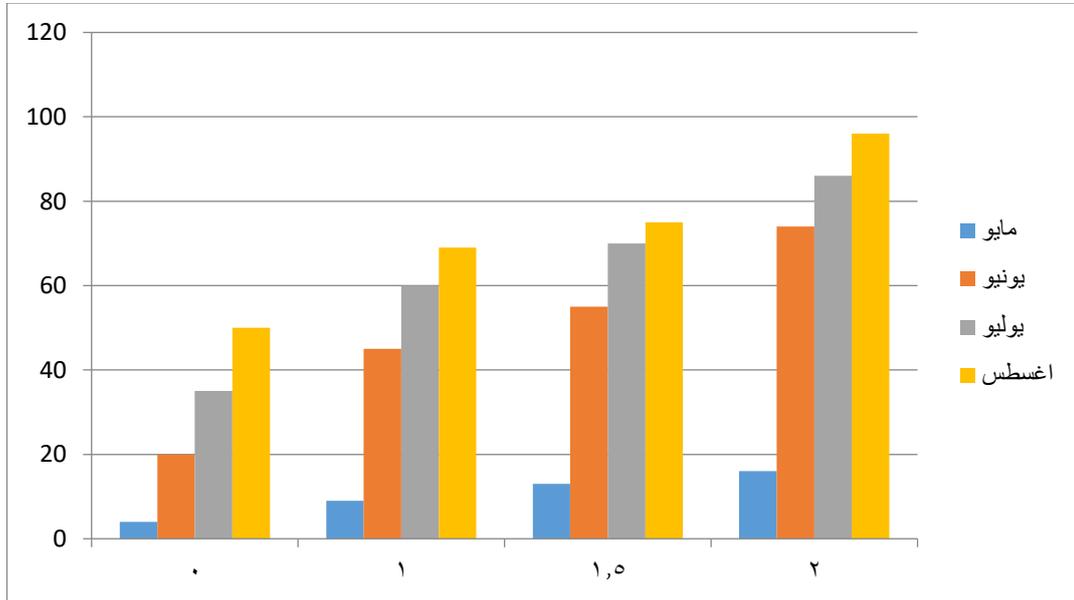
يوضح جدول (1) اطوال نبات الريحان، حيث لوحظ زيادة الطول بزيادة معدلات المخصب الحيوي EM1، أي ان زيادة التراكيز المختلفة من المخصب الحيوي [Em1] [0.5، 1، 1.5، 2]، زيادة في طول نباتات الريحان، حيث وصل متوسط طول النباتات في شهر أغسطس (75سم) عند المستوى (1.5) مل/لتر، و(96سم) عند المستوى (2) مل/لتر، أي تفوق المعدلات [1.5] و [2] على نباتات الشاهد والذي وصل طولها (16) سم، أي أن هناك فروق معنوية مع زيادة معدل المخصب الحيوي ($p < 0.05$)، شكل (2).



شكل (2) يوضح الطول بالسنتيمتر للنباتات المعاملة بالمخصب.

جدول (1) يوضح قياس أطوال نبات الريحان من مايو إلى أغسطس.

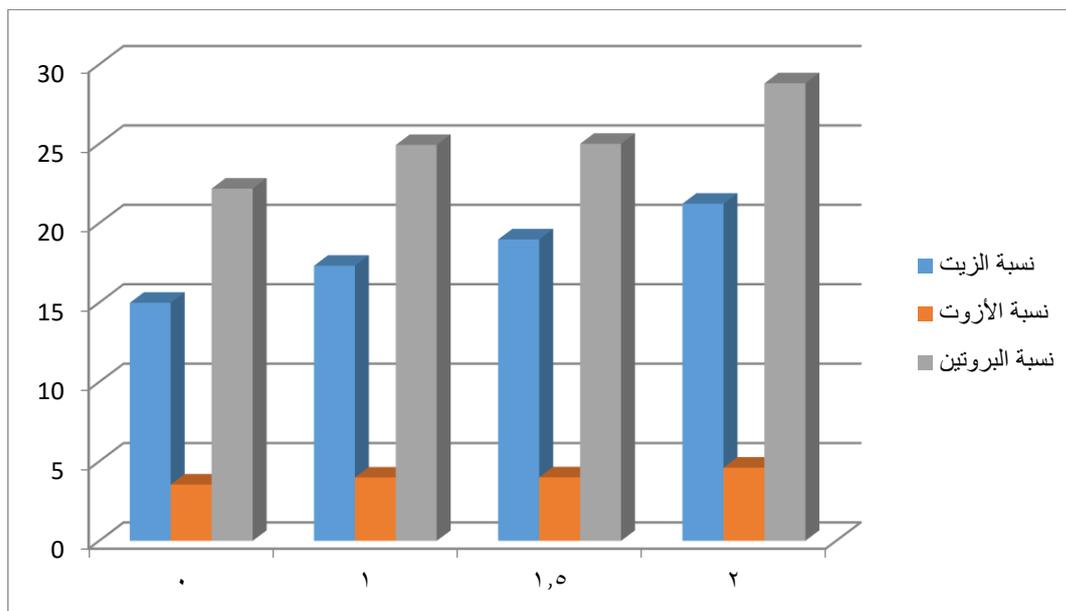
أطوال نبات الريحان بالسنتيمتر				المعاملات
شهر أغسطس	شهر يوليو	شهر يونيو	شهر مايو	
50	35	20	4	0
69	60	45	9	1
75	70	55	13	1.5
96	86	74	16	2



شكل (3) يوضح تأثير معدلات مختلفة من المخصب EM1 على طول نبات الريحان.

جدول (2) يوضح تأثير إضافة المخصب الحيوي على نسبة الزيت والازوت والبروتين في ثمار الريحان.

نسبة البروتين	نسبة الازوت	نسبة الزيت	معدلات Em1
22.18	3.55	14.99	0
24.93	3.99	17.32	1
25	4.00	18.98	1.5
28.81	4.61	21.23	2



شكل (4) يوضح زيادة نسبة الزيت الثابت ونسبة الأروت ونسبة البروتين بزيادة معدلات المخصب الحيوي EM1.

يوضح جدول (1) ان زيادة التراكيز المختلفة من المخصب الحيوي EM1 [0.5، 1، 1.5، 2] زيادة في طول النبات حيث وصل متوسط طول النباتات في شهر أغسطس نسبة الزيت الثابت مقارنة بالشاهد وكانت المتوسطات (1 مقارنة الأروت مقارنة بالشاهد، وكانت المتوسطات [3.99، 4.61، 4.00] علي التوالي، نجد أن جميع تراكيز المخصب الحيوي تفوقت علي الشاهد، وحقق المعدل 2مل / لتر تفوقاً معنوياً في متوسط نسبة الزيت والأروت علي المعدلين الآخرين وعلي الشاهد وهذا يعود لدور المخصب الحيوي الذي يحتوي علي منظمات نمو معينة أو كائنات دقيقة، وتؤدي معاملة النباتات بها إلى تحفيز النمو النباتي وزيادة في أطوال النباتات وزيادة المحصول. كما يعمل علي توفير توازن هرموني منشط للنمو من خلال نشاط الكائنات الدقيقة التي يحتويها المخصب الحيوي في حين تساهم المركبات الكيميائية غير الحيوية مثل أحماض الهيوميكو والفولفيكو اللاكتيك في تحسين النمو الخضري كونها تعمل محفزاً للنمو، ويتميز بأنه يتكون من أنواع من الكائنات الحية النافعة، التي تشمل مجموعات عدة من الكائنات الحية الدقيقة من بكتريا وفطريات نافعة [Higha، 2006] كما لعبت طريقة الإضافة دوراً ايجابياً في متوسط نسبة الأروت وكان له أثر معنوي في تحسين نسبة الأروت لبذور نبات الريحان. وهذا مرتبط بمحتوي البذور من الأروت، وهو المكون الأساسي للبروتين (Godara et al، 2014)، كما قد يعزى ذلك إلى أن المخصب الحيوي يؤدي دوراً مهماً في حياة النبات، بطرق مختلفة منها تثبيط الأروت الجوي، إفراز مواد منشطة للنمو، إنتاج الأحماض العضوية، الحماية من المسببات المرضية وامتصاص العناصر الغذائية، وتحسين المحتوى الغذائي للتربة جزئياً من العناصر الأساسية والعناصر الصغرى لتغطية بعض الاحتياجات الغذائية للنبات (الزغبي وآخرون، 2007).

جدول (3) الكشوفات النوعية للمستخلصات النباتية.

مستخلص نبات الريحان		الاختبارات
المائي	الكحولي	
+	+	الكشف عن القلويدات
+	+	الكشف عن التانينات
-	-	الكشف عن الصابونينات
-	+	الكشف عن الكلايكوسيدات
-	+	الكشف عن الراتنجات
+	+	الكشف عن الفلافونيدات
+	+	الكشف عن الكربوهيدرات
+	+	الكشف عن الفينولات

جدول (4) يوضح تأثير التراكيز من المستخلصات على نمو وتثبيط فطر *Aspergillus flavus*

التراكيز				المستخلص
20 ملغرام	15 ملغرام	10 ملغرام	0	
1.6	2	2.7	6.8	النمو
^a 7.5	^a 7.3	6.0	0	التثبيط

تم ذلك باستعمال الكواشف الكيميائية المختلفة إذ أظهرت الكواشف النوعية أن نبات الريحان قيد الدراسة يحوي عدداً من المكونات الفعالة مثل التانينات والكلايكوسيدات والراتنجات والفينولات والقلويدات والفلافونيدات والكاربوهيدرات جدول (3) حيث أن المستخلص الكحولي يحوي على جميع المركبات التي ذكرت ماعدا الصابونينات أما المستخلص المائي للريحان لم يحتوي على الصابونينات والراتنجينات والكلايكوسيدات. تم في هذه الدراسة تشخيص بعض المركبات الفعالة في نبات الريحان وفعاليتها التثبيطية في بعض فطر *Aspergillus spp*. جدول (4) يوضح تأثيرات المستخلص لنبات الريحان والقابلية التضادية لنمو الفطر إذا يعد معدل النمو عند استخدامها بتراكيز 20 غ/مل وسط زراعي 1.6 سم لفطر *Aspergillus flavus* والمساحة التثبيطية وصلت 7.5 سم وقد يعود السبب لاحتواء المستخلص على التانين بنسبة جيدة حيث أن هذه المركبات تعد من المواد المثبطة لنمو فطر *Aspergillus flavus*، وهذا ينطبق مع ما ذكره (مجيد، 1988).

قائمة المراجع:

- [1] الزعبي، محمد، عيد، هيثم، برهوم، محمد. (2007). دراسة تأثير السماد العضوي والحيوي في إنتاجية البطاطا وفي بعض خواص التربة (محفة طرطوس). مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، المجلد (23)، العدد 2: 151-162.
- [2] عبد الكريم، وسام، عمر، محمد. (2022). تأثير البكتيريوسين المنتج من بكتيريا حمض اللاكتيك *Lactococcus Lactis* في تثبيط بكتيريا *Salmonella spp* واستخدام المخصب EM1 المحتوي على بكتيريا حمض اللاكتيك في تربية الدجاج. العدد 71.
- [3] قطب، فوزي طه. (1981). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر. الرياض- المملكة السعودية.
- [4] مجيد، سامي و محمود. (1988). بحوث علوم الحياة، قسم العقاقير الطبية، دار الثقافة، بغداد.
- [5] A.O.A.C.(2005); Official Methods of Analysis. Association of Official U.S.A.'DC'Analytical Chemists, 18th Edition Washington.
- [6] Agrawal P, Raiv, Singh RB.(1996); Randomized Placebo –Controlled'Singleblind trial of holy basil leave in patients with noninsulin–dependent diabetes mellitus IntJclinPharmacolTher .34:406-409.
- [7] Ahmed, M.; Nazil, S. and Anwar, M. (1989). Studies on tannins. from bark of Pinus roxburghii. J. Chem. Soc. Pakistan., 11: 213 –217.
- [8] Bora Ks, Arora S, Shri R.(2011); Role of Ocimumbasillicum L.in prevention of is chemia and reperfusion–induced cerebral damage, and motor dysfunctions in micebrain. J EThnopharmacol.137;1360-1365.
- [9] Bruneton J.(2001); pharmacognosyphytochemistry .Medicinal .Plants.Paris;Ed.TEC and DOC,526.
- [10] Harborne, J.B. (1984). Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis. 2nd. ed. Chapman and Hall, London, New York.
- [11] Higha, T.(2006); An Earth Saving Revolution, Sunmark Publishers Inc. Tokyo, Japan, 145.
- [12] Influence of .GODARA, A., GUPTA, U., LAL, G. and SINGH, R.(2014); organic and inorganic source of fertilizers on growth, yield and economics of coriander (Coriandrum sativum L.). International J. seed Spices 4(2):77-80.
- [13] Mcdaniel, W. H, R. N. Hemphill., and W. T. Donaldson. (1967); "Automatic Determination of Total Kjeldahl Nitrogen in Estuarine Water". Techicon symposia., vol., PP.362-367.

- [14] Meyer, E. and Wather, A. (1988). Methods for the estimation of protein, lipid, carbohydrate and chitin in freshwater invertebrates. *J. Arch. Hydrofoil.* 13: 161-177.
- [15] Okoye FBC; Osadebe PO, Proksch P, Edrada-Ebel RA, Nworu CS and Esimone CO: (2010); Anti-inflammatory and membrane-stabilizing stigmastane steroids from *Alchornea flonbunda* leaves *Medica*; 76:172-177.
- [16] SAKR, S.A; AL-AMOUDI. W. M. (2012); Effect of leave extract of *Ocimum basilicum* on deltamethrin induced. nephrotoxicity and oxidative stress in albino rats. *J. Appl. Pham. Sci.* , V.2, n.5.
- [17] SHIGA, T.; SHOJI, K; SHIMADA, H.; HASHIDA, S- N.; GOTO, F.; YOSHIHAR, T. (2009); Effect of light quality on rosmarinic acid content and antioxidant activity of sweet basil. *Ocimum basilicum* plant *Biotechnol.*, v.26.n.2) p.255-259.
- [18] Shihata, I.M. (1951). A pharmacological study of *Anagallis arvensis*. M.D. Vet. Thesis. Cairo University.
- [19] Venancio AM, Onofre AS, Lira AF, Alves PB, Blank AF, Antonioli AR, Marchioro M, E stream CS, de Araujo BS. (2011); chemical composition, acute toxicity, and antinociceptive activity of the essential oil of a plant breeding cultivar of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Planta Med.* 77;825-829 .